



Importancia de biomarcadores inflamatorios en la aterosclerosis subclínica asociada a síndrome metabólico: modelo experimental y clínico

Mariana Denise Tarán.

Tesis-Doctor en Medicina y Cirugía-Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas,
2014.

Aprobada: 2014


Este documento está disponible para su consulta y descarga en RDU (Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba). El mismo almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y da visibilidad a nivel nacional e internacional a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los miembros de la Universidad Nacional de Córdoba. Para más información, visite el sitio <https://rdu.unc.edu.ar/>

Esta iniciativa está a cargo de la OCA (Oficina de Conocimiento Abierto), conjuntamente con la colaboración de la Prosecretaría de Informática de la Universidad Nacional de Córdoba y los Nodos OCA. Para más información, visite el sitio <http://oca.unc.edu.ar/>

Esta obra se encuentra protegida por una Licencia Creative Commons 4.0 Internacional



Importancia de biomarcadores inflamatorios en la aterosclerosis subclínica asociada a síndrome metabólico: modelo experimental y clínico by Mariana Denise Tarán is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License.



**IMPORTANCIA DE BIOMARCADORES INFLAMATORIOS
EN LA ATEROESCLEROSIS SUBCLÍNICA ASOCIADA A
SÍNDROME METABÓLICO: MODELO EXPERIMENTAL Y
CLÍNICO**

TESIS DE DOCTORADO EN MEDICINA Y CIRUGÍA

MÉDICA MARIANA DENISE TARÁN

-Facultad de Ciencias Médicas-

-Universidad Nacional de Córdoba-

-Año 2014-

COMISIÓN DE TESIS

Directora:

Prof. Dra. Mónica Moya

Comisión de Seguimiento:

Prof. Dra. Ruth Fernandez

Prof. Dr. Jorge Waitman

(R.D. 3140)

CERTIFICO que el presente trabajo de Tesis de la Médica Mariana Denise Tarán, fue realizado en la Cátedra de Física Biomédica de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba y en el Servicio de Clínica Médica del Hospital Córdoba.-----

Córdoba, Agosto de 2014.

DEDICATORIA

A mis hijos, por ser la luz de mis ojos y con su sonrisa alegrarme todos los días.

A Mariano, por brindarme su amor y acompañarme incondicionalmente alentándome en los momentos más difíciles.

A mis padres y a mi familia, por enseñarme que el esfuerzo siempre es recompensado.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ *A mi directora de Tesis, Prof. Dra. Mónica Moya, por todo lo que me ha enseñado en estos años y por su infinita paciencia.*
- ✓ *A mi compañera y amiga, Dra. María del Carmen Baez; sin su ayuda incondicional este trabajo nunca hubiese sido posible.*
- ✓ *A los Señores Miembros de la Comisión Asesora, quienes me brindaron sus conocimientos del tema y su sentido crítico, además de su apoyo desinteresado para finalizar con éxito este trabajo.*
- ✓ *A todo el personal de la Cátedra de Física Biomédica por brindarme un lugar y el sincero afecto que me han demostrado día tras día, transmitirme sus enseñanzas y paciencia sin los cuales esta tarea hubiese sido más difícil.*
- ✓ *A la Dra. Miriam Binci por la inmensa colaboración en las determinaciones bioquímicas de citoquinas.*
- ✓ *Al personal del Servicio de Clínica Médica y Laboratorio del Hospital Córdoba, por la colaboración brindada para realizar gran parte del trabajo.*
- ✓ *A la Dra. Vilma Campana por brindarme su sincera amistad en todos estos años.*
- ✓ *Al Dr. Ismael Fonseca, quien con sus conocimientos de anatomía patológica procesó el material para este trabajo, brindando sus valiosos aportes incondicionalmente.*

- ✓ *A mis compañeros de laboratorio María de la Paz y Ariel por brindarme su ayuda desinteresada para la realización del presente trabajo.*
- ✓ *A mis amigas en la vida personal, que me alentaron para seguir adelante en los momentos difíciles.*
- ✓ *A mis padres, María Inés y Jorge, por ser incondicionales en su amor y su confianza, por ceder gran parte de su tiempo para la realización de este trabajo. Gracias por creer en mí y estimularme.*
- ✓ *A Clidys y María Ester, por ayudarme a cuidar a Francisquito para poder estudiar.*
- ✓ *A mi Francisco y al bebé por venir, por ser las personas más importante de mi vida. Gracias por existir.*

“LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS NO SE HACE SOLIDARIA CON
LAS OPINIONES DE ESTA TESIS”

(Art. 30 Del Reglamento para la carrera de Doctorado en Medicina y
Cirugía)

El presente trabajo fue realizado en la Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba y en el Hospital Córdoba con fondos de:

- ✓ Secretaria de Ciencia y Técnica (SECYT) de la Universidad Nacional de Córdoba
- ✓ PID 2010- Ministerio Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba.
- ✓ Secretaría Ciencia y Técnica (CYCYT) de la Universidad Nacional de La Rioja.
- A la Doctorando Médica Mariana Denise Tarán se le otorgó Beca Doctoral SECYT-UNC, para la realización de esta tesis.

ÍNDICE

RESUMEN-----	1-
SUMMARY-----	3-
INTRODUCCIÓN-----	5-
OBJETIVOS-----	28-
MATERIALES Y MÉTODOS-----	30-
RESULTADOS-----	38-
DISCUSIÓN-----	82-
CONCLUSIÓN-----	112-
BIBLIOGRAFÍA-----	114-

RESUMEN

Existen evidencias que asocian biomarcadores inflamatorios con síndrome metabólico (SM), insulinoresistencia y enfermedad aterogénica subclínica (ATS), pero no está clara su interrelación y como contribuirían al desarrollo de estas patologías multisindrómicas. El componente inflamatorio sería la vía final común reflejada por la disfunción endotelial y la inducción de estrés oxidativo. Se diseñó un modelo experimental de SM mediante la administración de fructuosa al 10% diluída en agua de bebida por 6 semanas y de ATS inducida por hiperfibrinogenemia (HF) en diferentes periodos experimentales. Se determinó en todos los grupos estudiados: glucemia, insulinemia, perfil lipídico, cálculo de HOMA (homeostasis model assessment) y se cuantificaron por espectrofotometría biomarcadores inflamatorios y de estrés oxidativo: fibrinógeno, óxido nítrico (NO), L-citrulina, adiponectina y superóxido dismutasa (SOD). Se analizó por microscopia óptica la anatomía patológica de aorta torácica e hígado. Se determinaron las probables alteraciones morfológicas mitocondriales en células musculares lisas aórticas por microscopia electrónica y para valorar funcionalidad se determinó la actividad enzimática de Citrato Sintasa y los complejos I, II, III y IV de la cadena respiratoria mitocondrial. Se utilizaron 72 ratas machos, cepa Wistar, distribuidas en 6 grupos (n: 12): control, HF por 30 y 60 días, SM, SM + HF por 30 días e HF por 30 días + SM. Por otra parte, se diseñó un modelo clínico para valorar el comportamiento de los biomarcadores proinflamatorios, prooxidativos y antioxidantes en pacientes con SM. Para el análisis estadístico, las variables cuantitativas se analizaron por MANOVA y la prueba post hoc utilizada fue Hotelling. El grado de correlación de los biomarcadores se estableció con el Coeficiente de Correlación de Pearson. Para el análisis morfológico mitocondrial se utilizó el programa Axiovisión 4.8. Se estableció $p < 0.05$ en todos los casos. Los grupos con SM inducido experimentalmente mostraron hiperglucemia, hiperinsulinemia, aumento de HOMA e hipertrigliceridemia

característicos de este síndrome. Todos los grupos con SM y HF en los distintos períodos experimentales expresaron diferencia significativa de los biomarcadores asociados a cambios patonogmónicos de ATS. Los cortes hepáticos de los grupos con SM presentaron alteraciones compatibles con enfermedad hepática no alcohólica. En todos los grupos se observaron alteraciones morfológicas mitocondriales asociadas a disminución de actividad enzimática de citrato sintasa y de cadena respiratoria, reflejando la disfunción mitocondrial. Los pacientes con SM modificaron significativamente los niveles de los biomarcadores, objetivándose HF, aumento de SOD y disminución de NO. El mayor riesgo cardiovascular que poseen los pacientes con SM se podría explicar por los cambios aterogénicos. El deterioro de la función mitocondrial sería el principal mecanismo unificador de varios factores de riesgo como SM y aterogénesis. La implementación de biomarcadores tempranos en enfermedad vascular isquémica y SM sería una estrategia válida para diagnóstico oportuno en estos pacientes y para superar barreras en el manejo de estas enfermedades de alto impacto epidemiológico en países de bajo presupuesto en salud.

SUMMARY

There is evidence to associate inflammatory biomarkers with metabolic syndrome (MS), insulin resistance and atherogenic subclinical disease (ASD), but it is unclear their interrelationship and how would it contribute to the development and progression of these multisindromical pathologies. The inflammatory component would be the final common pathway reflected by endothelial dysfunction and induction of oxidative stress. An experimental model of MS was designed by administering diluted fructose to 10% in drinking water for 6 weeks and ASD induced by hyperfibrinogenemia (HF) in different experimental periods. Glucose, insulin, lipid profile and HOMA calculation (homeostasis model assessment) was determined in all groups studied. Inflammatory and oxidative stress biomarkers: fibrinogen, nitric oxide (NO), L-citrulline, adiponectin and superoxide dismutase (SOD) were quantified by spectrophotometry. Thoracic aorta and liver histopathology were analyzed by optical microscopy. Probable mitochondrial morphological changes in aortic smooth muscle cells were determined by electron microscopy and functional alterations were measured by the enzymatic activity of citrate synthase and complex I, II, III and IV of the mitochondrial respiratory chain. 72 male rats, Wistar strain, distributed in 6 groups (n12): control, HF for 30 and 60 days, MS, MS + HF 30-day and 30-day HF + MS. In addition, to assess the behavior of proinflammatory, prooxidatives and antioxidants biomarkers in patients with MS, a clinical model was designed. For statistical analysis, quantitative variables were tested with MANOVA. Post hoc test used was Hotelling. The correlation degree between the biomarkers was established with the Pearson correlation coefficient. Axiovision 4.8 program was used to analyze mitochondrial morphology. A $p < 0.05$ was considered in all cases. Groups with MS experimentally induced showed hyperglycemia, hyperinsulinemia, increased HOMA and hypertriglyceridemia typical of this syndrome. All groups with MS and HF in the different experimental periods showed significant difference of the biomarkers associated with ASD pathognomonic changes. The liver sections of the groups with MS compatible changes with nonalcoholic liver disease were observed. In all groups were

observed mitochondrial morphological changes associated with an enzymatic activity progressive decrease of citrate synthase and respiratory chain reflecting mitochondrial dysfunction. Patients with MS showed biomarkers levels significantly altered with HF, SOD increase and NO decrease. The increased cardiovascular risk MS patients have might be explained by the atherogenic changes. The impairment of mitochondrial function would be the main unifying mechanism of various risk factors such as metabolic syndrome and atherogenesis. The implementation of early biomarkers in ischemic vascular disease and MS would be a valid strategy in early diagnosis in patients and to overcome barriers in the management of these diseases with high epidemiological impact in countries with low budget in health.

INTRODUCCIÓN

En la reunión de los jefes de Estado y de Gobierno de las Naciones Unidas, celebrada en septiembre del 2011, se examinó la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles en todo el mundo como parte del seguimiento de resultados de la Cumbre del Milenio. En su declaración final expresaron que la carga y la amenaza mundial de las enfermedades no transmisibles forman parte de los principales obstáculos para el desarrollo en el siglo XXI; también manifestaron que estas enfermedades socavan el desarrollo social y económico y ponen en peligro la consecución de los objetivos de desarrollo consensuados internacionalmente (1).

En esa declaración se expresó preocupación relacionada con la estimación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), referente a las 57 millones de muertes registradas en el mundo en 2008, 36 millones se debieron a enfermedades no transmisibles, principalmente enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades respiratorias crónicas y diabetes. Esa cifra incluyó aproximadamente a 9 millones de personas fallecidas antes de los 60 años de edad y el 80 % ocurrieron en países en desarrollo; las enfermedades no transmisibles figuraron entre las principales causas evitables de morbilidad y discapacidad relacionada, en ese contexto se incluye al síndrome metabólico (SM) (1).

En las últimas décadas una alarma creciente ha surgido por la asociación entre obesidad, SM y complicaciones cardiovasculares. Tanto en los países desarrollados como en países emergentes la epidemiología del síndrome tiene características similares, donde alrededor del 25 % de la población mayor de 20 años padece SM (2). Cuando se observan los datos de prevalencia del SM en diferentes países y grupos étnicos, un concepto resulta relevante, el mismo se comporta como una pandemia y está aumentando de manera significativa, incidiendo negativamente en la calidad de vida y en los gastos de tratamiento y seguimiento de dichos pacientes (3). En EEUU la prevalencia del SM es del 21,8 % con un rango de 6,7 % entre los 20-29 años hasta 43,5% en

edades entre 60-69 años (4). Un metaanálisis realizado sobre 12 estudios transversales en América Latina, comprendió 42 países incluyendo Argentina, expresando una prevalencia global del 24,9%, levemente más frecuente en mujeres (25,3%) que en hombres (23,3%) y el grupo de edad con mayor prevalencia fue a partir de 50 años (5). Hallazgos similares fueron reportados en el estudio multicéntrico CARMELA (Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America) realizado en las capitales de países de América Latina (6) donde también se objetivó que la frecuencia de dicha patología aumenta con la edad. El estudio CARISMA (Caracterización y Análisis del Riesgo en Individuos con SM en Argentina), reveló una elevada prevalencia aplicando cualesquiera de las tres definiciones mundialmente utilizadas, según The Adult Treatment Panel III (ATP-III) fue de 45,7%, de acuerdo a The American Heart Association/ National Heart, Lung and Blood (AHA/NHBLI'05) los valores fueron 48,53% y según la definición the International Diabetes Federation (IDF) era de 55,2% (7). Diferentes causas como aumento demográfico, envejecimiento poblacional, incremento de obesidad, sedentarismo y prevalencia global de Diabetes Mellitus (DM) coadyuvan a que SM aumente con tasas alarmantes (8). Por otra parte, la prevalencia de DM es superior al 6% en población adulta, razón por la cual innumerables estudios básicos y clínicos intentan explicar la compleja relación entre SM, DM y riesgo de enfermedad aterosclerótica. Esta asociación de enfermedades es un problema imperativo de la salud pública dado que los sujetos involucrados pertenecen a un grupo etario económicamente activo y además tiene una íntima relación con opciones terapéuticas que incrementan el gasto en salud (9).

SM se caracteriza por la convergencia de varios factores de riesgo en donde cada uno contribuye de manera individual al riesgo cardiovascular y su asociación lo incrementa en forma exponencial y no solamente aditiva (10). Además de los factores como DM2, obesidad e hipertensión arterial, se asocia con alteraciones protrombóticas,

hipofibrinolíticas y/o proinflamatorias contribuyendo de manera individual al riesgo cardiovascular (Figura 1) (11; 12; 13).

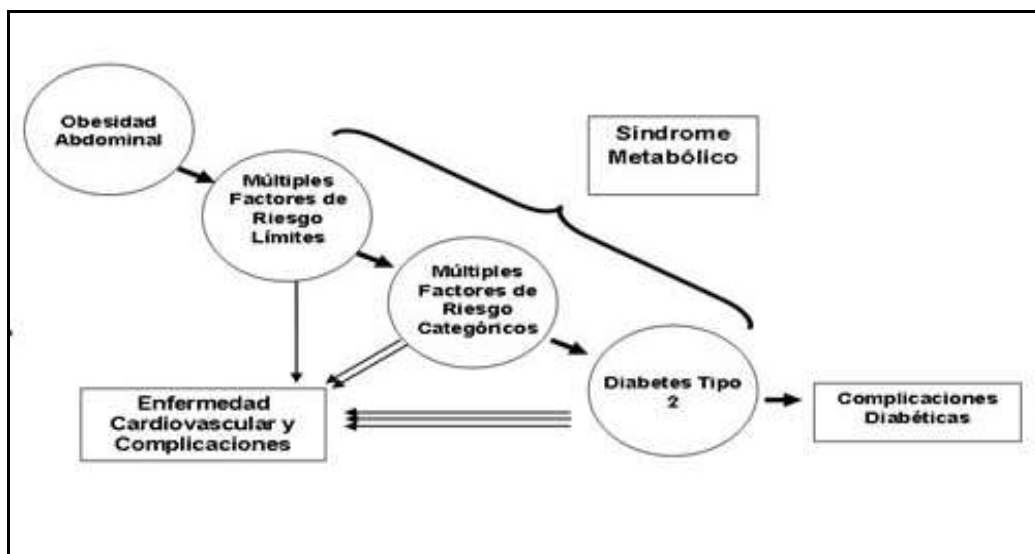


Figura 1: Historia natural del SM (extraído de sitio web: www.fac.org)

Los parámetros bioquímicos que acompañan al síndrome son insulinoresistencia e hiperinsulinismo compensador asociados a trastornos del metabolismo hidrocarbonado, alteraciones lipídicas, tales como hipertrigliceridemia, descenso del colesterol-lipoproteína de alta densidad (c-HDL), presencia del colesterol-lipoproteína de baja densidad tipo B, aumento de ácidos grasos libres, lipemia postprandial, obesidad y cifras elevadas de presión arterial. Por otra parte, se considera un predictor de morbimortalidad cardiovascular, permitiendo la identificación de pacientes en riesgo para padecer DM o enfermedades cardiovasculares (ECV) isquémicas (14).

En su fisiopatología se imbrican además de las alteraciones en el metabolismo glucolipídico, estados proinflamatorios y protrombóticos (15) y está asociado con aumento en prevalencia e incidencia de enfermedad coronaria, accidente cerebro vascular e incremento del grosor íntima-media (IMT) carótidea (16; 17). Entre los estudios pioneros que establecieron las consecuencias sobre el aparato cardiovascular se describe The Risk Factors and Life Expectancies Study sobre 41.000 personas con resultados contundentes, los hazard

ratios ajustados por edad fueron de 1,95 para mortalidad total, 2,49 para enfermedad cardiovascular y 3,01 para enfermedad coronaria para aquellos individuos que reunían al menos tres criterios del síndrome. En la población femenina fue aún más impactante: 2,54, 15,9 y 17,75 respectivamente para las mismas patologías (18; 19).

El estudio europeo conducido por Hu incorporó 11.512 pacientes controlados durante ocho años con una prevalencia del síndrome del 15% asociado con un claro aumento de mortalidad general y de origen cardiovascular (20). En Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study que incluyó 1.209 hombres de edad media entre 42 a 60 años, aquellos que presentaban el síndrome tuvieron 2,6 veces mayor mortalidad cardiovascular y 1,9 veces un incremento de todas las causas de mortalidad (Figuras 2 y 3) (21).

El estudio NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey) encontró en una muestra de 8.814 sujetos adultos sanos, una prevalencia del 23%, que aumentaba con la edad, pero que era similar para ambos sexos (22) de los cinco factores que componen el síndrome, la obesidad abdominal fue el más frecuente (38%) y la glucemia elevada el menos frecuente (12%) (23).

La obesidad, trastorno nutricional frecuente en los países industrializados, también se asocia con aumento de morbimortalidad de ECV isquémica (24) y aumento del estrés oxidativo sistémico de forma independiente a hiperglucemia y/o DM (25). Además, los vasos sanguíneos expresan receptores para la mayoría de los factores derivados de adipocitos desempeñando un papel importante en la fisiología cardiovascular a través de la existencia de una red de señales locales y sistémicas. Es probable que la inflamación inducida por la obesidad acelere la aterogénesis en los pacientes con SM, debido a la producción en adipocitos de hormonas, péptidos y otras moléculas que afectan la función cardiovascular por mecanismos endocrinos, autócrinos y parácrinos (26; 27; 28).

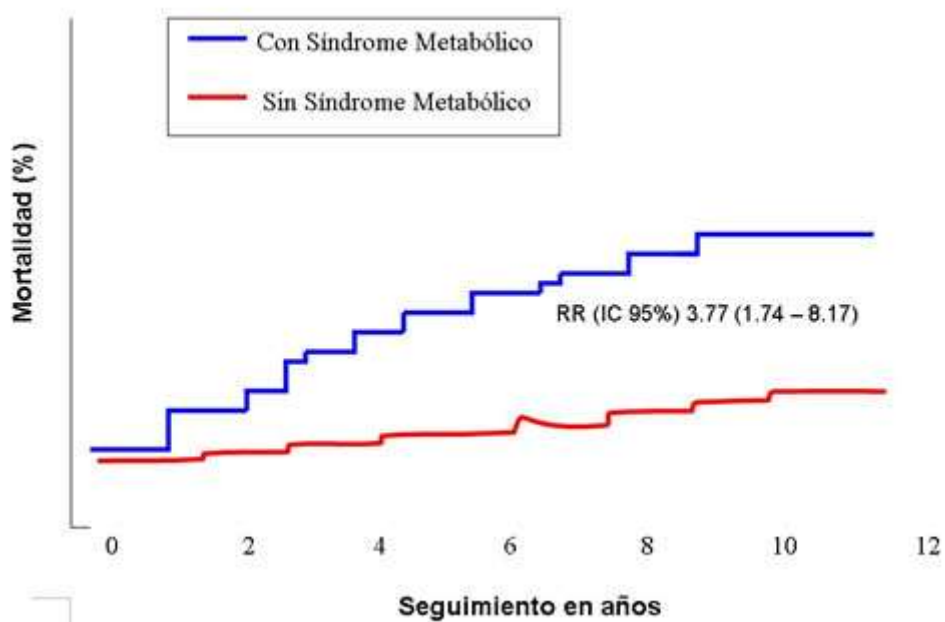


Figura 2: Incremento de la mortalidad coronaria en un seguimiento a 11 años en pacientes portadores de síndrome metabólico (extraído de sitio web: www.fac.org)

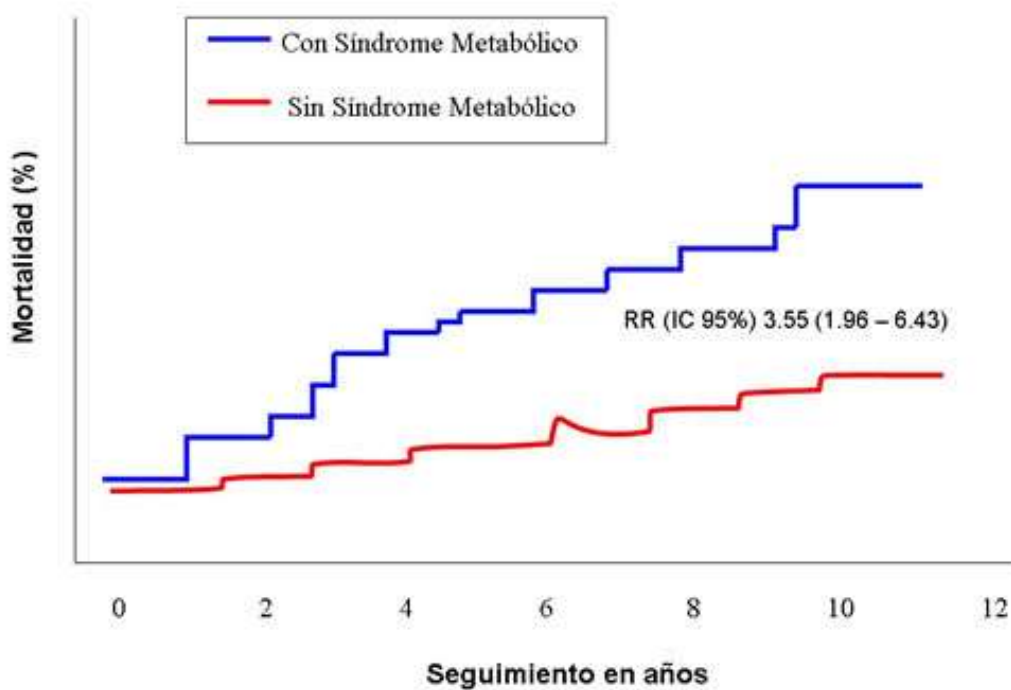


Figura 3: Implicancia pronóstica del síndrome metabólico sobre la mortalidad por enfermedad cardiovascular (extraído de sitio web: www.fac.org)

El parámetro estándar para evaluar la grasa corporal es el índice de masa corporal (IMC), sin embargo, este no proporciona información sobre la distribución regional de la grasa corporal, siendo la circunferencia de la cintura, una medida antropométrica simple de mayor fidelidad que IMC, es la utilizada para determinar la acumulación de grasa visceral, indicador de riesgo sanitario asociado a obesidad visceral (29).

La Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) recomienda utilizar en la práctica clínica la definición postulada por IDF con los nuevos criterios latinoamericanos (30), la cual será utilizada como parámetro en el modelo clínico. La definición de IDF proporciona distintos puntos de corte para obesidad según los diferentes grupos étnicos y considerando para el diagnóstico de SM el parámetro: circunferencia de cintura asociado a dos de cualquiera de los siguientes factores de riesgo cardiovasculares enumerados: niveles de triglicéridos; lipoproteína de alta densidad (HDL); hipertensión arterial (HTA) o glucosa en ayunas (31).

En la actualidad, cada vez hay mayor evidencia científica de que una condición inflamatoria sistémica de bajo grado asociada a la resistencia a la insulina sería la base fisiopatológica del SM, dado que los pacientes reflejarían un estado proinflamatorio con elevación de citocinas y marcadores de inflamación, asociado al aumento del tejido adiposo corporal como consecuencia de dietas hipercalóricas con incremento de grasa visceral abdominal y bajo gasto energético (32). El aumento de insulinemia y resistencia a su acción en tejidos periféricos mencionados anteriormente se produce por aumento de secreción pancreática y disminución de extracción hepática de insulina. Sin embargo, hay pacientes insulinoresistentes sin obesidad, pero también individuos obesos sin insulinoresistencia, estas situaciones demuestran que para explicar el mecanismo de insulinoresistencia existen múltiples factores desencadenantes (Figura 4) (33; 34).

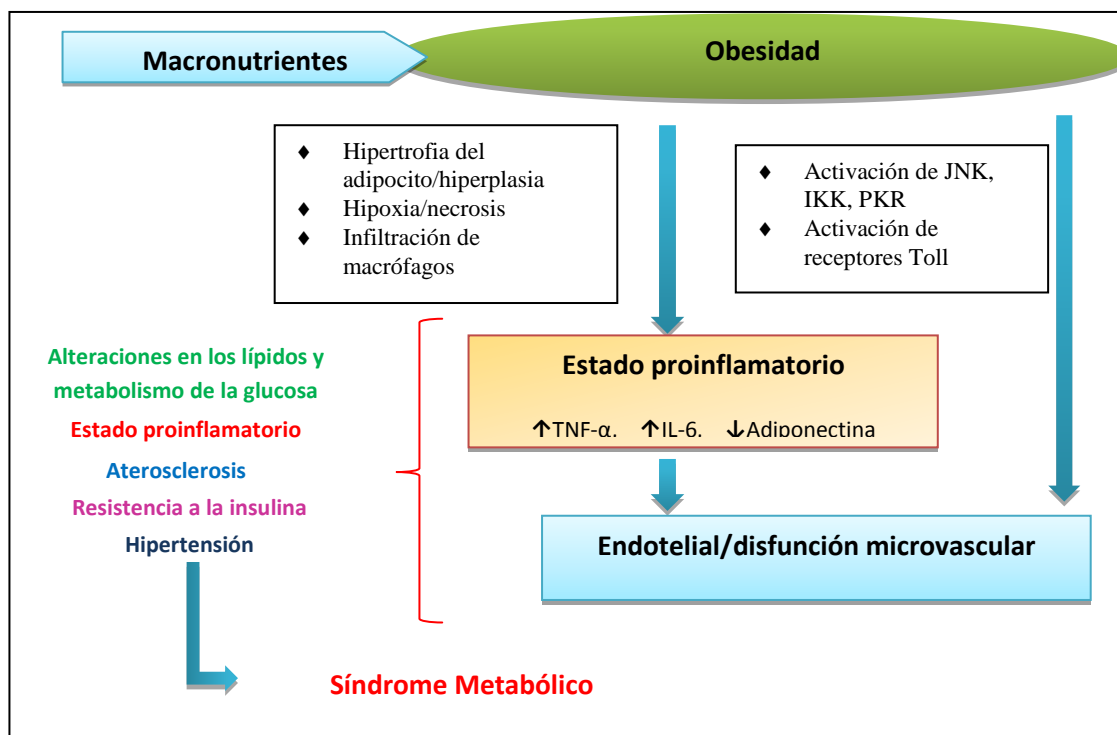


Figura 4: Interrelación entre obesidad, inflamación y síndrome metabólico (modificada JNUME 2012)

La insulina es la hormona anabólica y anticatabólica más potente en el ser humano con efectos sobre músculo, tejido adiposo o hígado. La acción de la insulina se desencadena tras su unión al dominio extracelular de su receptor, induciendo un cambio conformacional que permite la autofosforilación de residuos de tirosina de la subunidad del dominio intracitoplasmático y la consecuente activación del receptor (35; 36). Los mecanismos que conducen a la insulina resistencia (IR) pueden ser varios y todavía no han sido suficientemente estudiados, las alteraciones más frecuentes se dan a nivel post-receptor y se expresan como defectos en la vía de transmisión de señales generadas por la unión de insulina al receptor, manifestado como antagonismo a la acción de la insulina por adipocitocinas derivadas del tejido adiposo, del tipo TNF- α , leptina y adiponectina, antagonismo por niveles elevados de ácidos grasos no esterificados y/o ácidos grasos libres que acompañan a los estados pre-diabéticos, de DM2 y obesidad, interfiriendo en la

captación, transporte y utilización de glucosa en los músculos esqueléticos y cardíacos, pudiendo desencadenar estrés oxidativo asociado a disfunción endotelial que acompañan a componentes del SM, que inhibirían la señalización del receptor de insulina, reduciendo la eficacia de su acción o potenciando la IR (37). Otras investigaciones han establecido que niveles bajos de adiponectina circulantes se asociarían con una mayor IR (38; 39), dicha citocina es una proteína específica del tejido adiposo cuya expresión estaría disminuida en sujetos obesos y en DM2, tiene efectos anti-inflamatorios (40; 41) supresión de la actividad del TNF- α , IL-6 e interferón- γ , conjuntamente con la inducción de otros factores anti-inflamatorios como el antagonista del receptor de IL-1. La administración de adiponectina recombinante en roedores aumenta la captación de glucosa y la oxidación de grasas en el músculo, reduce la captación de ácidos grasos y la producción de glucosa en el hígado, mejorando la insulinoresistencia.

In vivo, adiponectina aumenta el consumo de energía y la oxidación de ácidos grasos en hígado y músculo, disminuyendo el contenido de triglicéridos de esos tejidos, mejorando la sensibilidad a la insulina (42). Se ha demostrado que promueve “downregulation” en la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales y mejora la disfunción endotelial (43; 44) reduciendo la proliferación de células musculares lisas vasculares (45), la acumulación de lípidos y la expresión de receptores scavengers en macrófagos, promoviendo la polarización de los mismos, mecanismos que desempeñan un papel anti-inflamatorio, fenómenos que están en continua revisión (Figura 5) (46).

En relación a la asociación entre RI y la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular, resultan interesantes los resultados aportados por el estudio Bruneck, llevado a cabo sobre 225 sujetos no obesos.

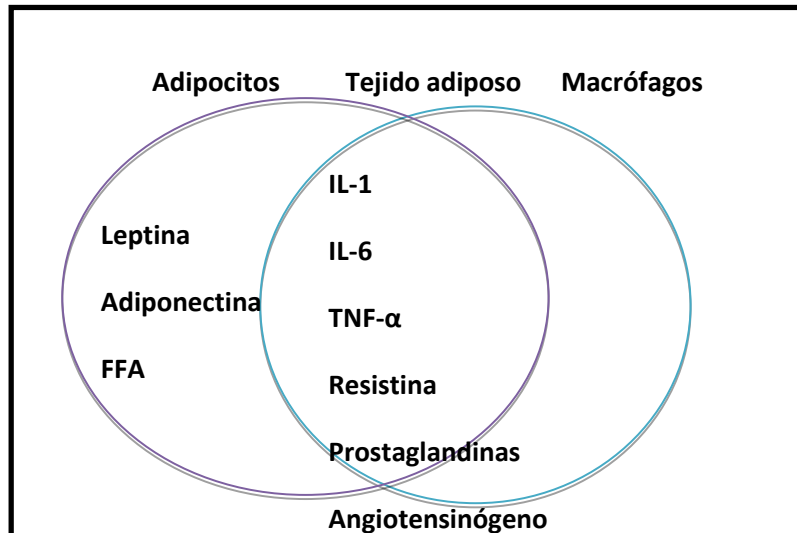


Figura 5: Citocinas secretadas por adipocitos y/o macrófagos en el tejido adiposo humano.(modificada Mediators of Inflammation-2010)

En este estudio, la prevalencia de IR fue del 95,2 % en aquellos individuos con 2 o más de los siguientes factores de riesgo: DM no insulina dependiente/intolerancia hidrogenada, dislipemia, hiperuricemia e hipertensión arterial (47). La hiperinsulinemia expresada en SM ha sido considerada como uno de los probables nexos fisiopatogénicos entre los componentes del síndrome con la existencia de un mayor riesgo cardiovascular (48). Este comportamiento de insulina podría tener junto a los marcadores inflamatorios un rol importante como factor de riesgo cardiovascular acelerando el proceso aterogénico y se ha propuesto al estrés oxidativo como un potencial inductor de inflamación, de susceptibilidad a la obesidad y estados comórbidos (49). Sin embargo, no está claramente dilucidada la interacción entre ellos en el mecanismo patogénico de esta patología multisindrómica (50).

Numerosos investigadores han observado que existe una alta prevalencia de aterosclerosis subclínica (ATS) entre los individuos con SM (51), además han establecido que la presencia de aterosclerosis subclínica en múltiples lechos vasculares podría utilizarse como indicador de la carga aterosclerótica total de los individuos (52). Si bien algunos estudios sugieren mayor prevalencia de aterogénesis

cuando ambas patologías se encuentran presentes, otros justifican modificaciones de los factores de riesgo cardiovasculares para aquellos con SM, con o sin DM asociada (53). Aunque existen evidencias que asocian biomarcadores inflamatorios, SM asociado con insulinoresistencia y ECV, aún no está clara su interrelación y como contribuirían al desarrollo y progresión de las distintas enfermedades. Se postula que el punto de coincidencia sería el componente inflamatorio, debido a la disfunción endotelial e inducción de estrés oxidativo, procesos que generarían un desbalance homeostático con la consecuente progresión de la lesión isquémica a nivel vascular, pero esta hipótesis debe ser aún comprobada (54).

Las ECV representan la primera causa de morbilidad y mortalidad en el mundo occidental y países emergentes. La aterosclerosis constituye una enfermedad vascular crónica y es el sustrato anatomopatológico para los eventos cardiovasculares isquémicos (55). En el año 2008 murieron por esta causa 17,3 millones de personas, representando un 30% de todas las muertes registradas en el mundo, la Organización Mundial de la Salud estima un incremento en la mortalidad de 23,4 millones de personas para 2030 (56). Estas cifras explican el creciente interés de los investigadores por determinar los mecanismos fisiopatogénicos de aterosclerosis subclínica y su asociación a otras patologías como el SM.

La fisiopatología de la enfermedad vascular isquémica se basa en la evolución aterogénica, proceso dinámico de la íntima arterial, durante el cual se establecen interacciones bidireccionales tanto con el endotelio y la sangre como con las células musculares lisas de la capa media (57). Las turbulencias del flujo sanguíneo en determinadas zonas de la circulación junto a fenómenos mecánicos debidos a la presión arterial condicionan la aparición de fenómenos adaptativos en la íntima, lo que explica que su grosor no sea uniforme y justifica la presencia de disfunciones locales en el revestimiento endotelial (58; 59). En esta patología también se asocia un componente inflamatorio multifactorial como respuesta vascular frente a una variedad de estímulos lesivos,

caracterizada por el movimiento de células desde la luz vascular hacia el interior de la pared arterial, por la influencia de factores quimiotácticos producidos localmente (60). Se evidencian mediadores inflamatorios que se reflejan desde el inicio del proceso, activándose por los diferentes sistemas encargados de reestablecer la homeostasis y la reparación tisular. Sin embargo, si la injuria vascular persiste, se produce el paso de mediadores a la circulación, los que estimulan la síntesis de proteínas de fase aguda y moduladores de liberación de antagonistas de la inflamación. En este fenómeno, el desbalance entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias es el principal determinante en la progresión de la enfermedad (61). Existen factores desencadenantes primarios activadores de la cascada inflamatoria, como la presencia de niveles elevados de LDL oxidada inductores precoces de aterogénesis, también se describen otros factores desencadenantes secundarios que participan en el mantenimiento y amplificación de la producción de citocinas incluyendo la presencia de factores mecánicos, niveles de angiotensina II, radicales libres, metaloproteinasas, entre otros (62). Los estímulos proinflamatorios aumentan los reactantes de fase aguda por activación de patrones de producción de citocinas específicas para las diferentes proteínas. Como consecuencia de la activación, algunos marcadores como el fibrinógeno plasmático (FP), la Proteína C Reactiva (PCR), las citoquinas (interleuquina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), las moléculas de adhesión (molécula 1 de adhesión intercelular- ICAM I) y otros factores de la coagulación, pueden encontrarse aumentados en el plasma y tener valor pronóstico para futuros eventos cardiovasculares (63). Si bien estos estímulos aumentan las concentraciones de los reactantes de fase aguda, no todos incrementan uniformemente en la misma o distintas enfermedades, lo que indica que son individualmente regulados (Figura 6) (64).

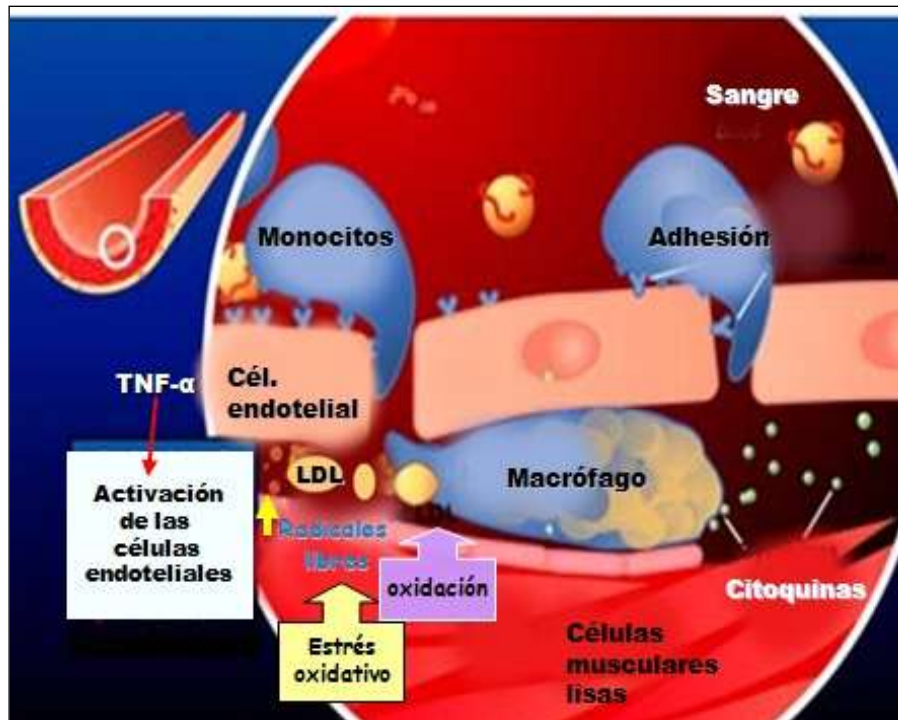


Figura 6: Proceso inflamatorio vascular

Como se ha mencionado anteriormente, numerosas alteraciones presentes en el SM están ligadas a la inflamación con un comportamiento semejante al proceso aterogénico, entre los parámetros de inflamación se expresa fibrinógeno, reactante de fase aguda y marcador sensible del proceso inflamatorio subclínico asociado a estrés oxidativo, resistencia a la insulina, desarrollo de diabetes mellitus y ECV (65; 66). La síntesis de fibrinógeno está regulada por mediadores inflamatorios del grupo de las aminas: histamina y serotonina, las cuales asociadas inducen el incremento del fibrinógeno, aumentando su expresión hepática e incrementando su concentración plasmática con el consiguiente aumento del riesgo cardiovascular. Su concentración plasmática es de 200 a 400 mg/dl y tiene una vida media de 4 a 5 días, es una molécula asimétrica, cuyo peso molecular es de 350.000 Daltons y no es vitamina K dependiente (67; 68).

Los niveles de fibrinógeno son determinados genéticamente a través de los polimorfismos genéticos que presenta, así el gen de cadena beta ejerce su función reguladora, de modo que varios polimorfismos

han sido identificados y están asociados con hiperfibrinogenemia (69; 70; 71).

En trabajos anteriores, se ha demostrado el incremento significativo de fibrinógeno significativamente como respuesta a una injuria tisular persistente (72; 73; 74; 75; 76), lo cual ratificaría que las proteínas de fase aguda son fabricadas a demanda, esta hiperfibrinogenemia (HF) se acompaña de cambios histopatológicos en la aorta torácica de ratas: denudación endotelial, engrosamiento intimal, aumento de la matriz extracelular, protrusión de la luz vascular y presencia de células espumosas, lesiones del tipo I, II y III de la clasificación Stary (77). HF reflejaría tanto la actividad inflamatoria como la disfunción endotelial presente en los estadios precoces de la aterosclerosis, pudiendo ser implementado como marcador no invasivo de aterosclerosis subclínica.

Estos endotelios disfuncionales pierden la capacidad de regular sus funciones vitales adquiriendo propiedades procoagulantes en vez de anticoagulantes y es probable que modifiquen la síntesis de los intermediarios reactivos del oxígeno como el óxido nítrico (NO), molécula sintetizada en el interior de la célula endotelial a partir de la L-arginina y catalizada por la enzima sintasa del NO (NOS), generándose así una reacción equimolar de L-citrulina y NO (78; 79). La inactivación oxidativa de NO debido a la excesiva producción de superóxido y peróxido de hidrógeno en la pared vascular, constituye el fenómeno sistémico más característico y temprano de la disfunción endotelial condición “sine quanon” para la aterogénesis (80; 81; 82). A su vez, el incremento de TNF- α asociado a la hiperfibrinogenemia expresaría la activación endotelial (83; 84) y como consecuencia la pared del vaso lesionado disminuiría la respuesta vasodilatadora, lo cual tendría directa relación con la disfunción endotelial y la modificación en la liberación de óxido nítrico (NO) endotelial, conservando la capacidad de las células musculares lisas de responder al NO (78).

La obesidad, la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo, presentes en el SM concatenados temporalmente, promueven también disfunción endotelial con aumento de la incidencia de ECV, probablemente por vías similares (Figura 7).

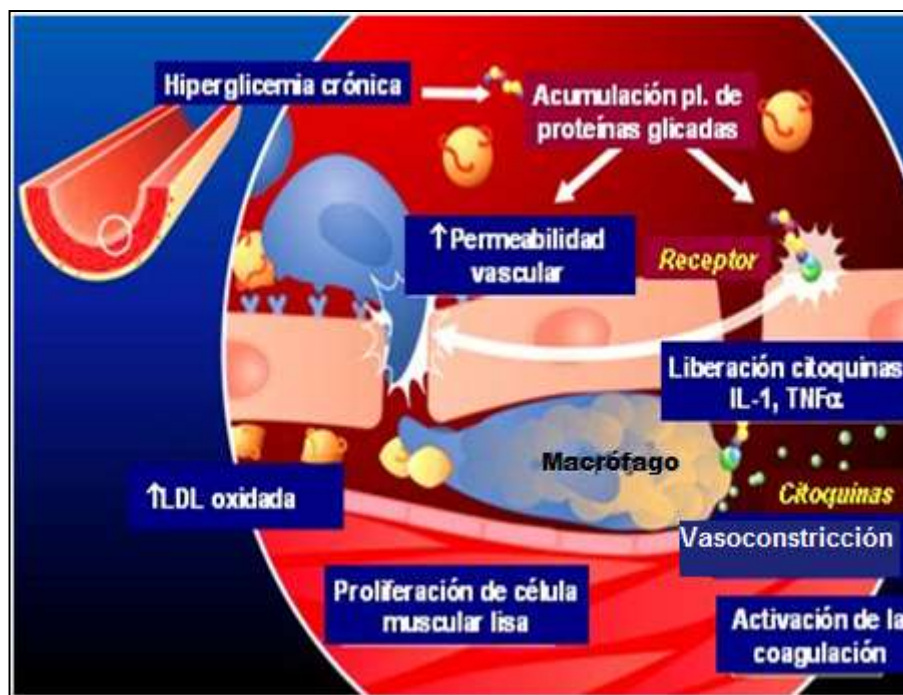


Figura 7: Disfunción endotelial en SM

El NO es el factor endógeno relajante más importante del endotelio, provocando dilatación del músculo liso vascular en respuesta a la estimulación celular endotelial, actuando sobre las plaquetas con un efecto antiadhesivo y sobre el mismo endotelio provocando relajación de su citoesqueleto y aumento de la función de permeabilidad selectiva. Al ser un gas simple de unos 10 seg. de persistencia, su mejor índice total es la suma de sus productos finales nitrito y nitrato “in vivo”. La liberación de NO es catalizada por la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) quien utiliza como sustrato el NADPH (fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina) y el oxígeno. La NOS en actividad continua, asegura la liberación constante de NO, que a su vez es responsable de la transducción de la guanilato ciclasa soluble que incrementa los

niveles de GMPc (monofosfato sódico de guanosina) lo cual induce la fosforilación de las proteínas, proceso asociado a la relajación del músculo liso vascular y consecuente vasodilatación (85).

La actividad enzimática de la NOS depende del sustrato y la disponibilidad de cofactores, en consecuencia, las anomalías en la producción de NO conducirían a la disfunción endotelial presente en el SM y su impacto sobre la ECV asociada y tanto la falta como el exceso en su producción podría tener implicancias patológicas importantes (86). La inducción de iNOS en respuesta a las citocinas pro-inflamatorias está implicada en la disfunción endotelial por hiperfibrinogenemia, como consecuencia, el endotelio activado secretaría intermediarios reactivos de oxígeno, NO y su co-producto L-citrulina (87; 88), que pueden seguir una vía fisiopatológica y como consecuencia ayudaría a que el NO llegara a transformarse en peroxinitritos y/o radicales de hidroxilos (OH) por la reacción con el anión superóxido (O_2^-) y la subsiguiente nitración de proteínas con daño tisular (89; 90).

Diversos trabajos relacionan al estrés oxidativo al SM (91; 92) y lo responsabilizan de importantes daños que ocurren en éste, tales como la peroxidación lipídica, daño en las membranas celulares, daño del ADN, trastorno en la expresión de genes y disfunción endotelial (93), tal como ocurre en la ECV, además se relaciona con obesidad, hipoadiponectinemia y alteraciones cardíacas, endoteliales y renales del SM (94; 95).

Se plantea que la existencia de un estado prooxidativo desencadenado por estrés oxidativo puede inducir insulinoresistencia al provocar fosforilación de los receptores de insulina (96), otros han postulado que los mecanismos antioxidantes serían los responsables del deterioro de la acción de la insulina (97). Se ha descrito el papel de estrés oxidativo sobre la insulinoresistencia a través de las citocinas pro-inflamatorias, cuyos niveles se encuentran elevados en el SM (98). La activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona también se

involucra en la producción del mismo y el consiguiente daño endotelial en el SM (99). Además, la presencia de estrés oxidativo implica un desbalance de oxido-reducción generado por la producción no controlada de especies reactivas del oxígeno (ROS) y de nitrógeno (ERN) (100). El exceso en la formación de estas moléculas altamente reactivas, altera la actividad de enzimas antioxidantes que catalizan la descomposición de estos oxidantes nocivos, neutralizan su toxicidad y evitan que sus concentraciones se conviertan en patológicas (101; 102; 103).

Es sobre el complejo proceso de disfunción endotelial, donde la hiperfibrinogenemia podría reflejar el estado proinflamatorio del SM y promover aterogénesis probablemente a través de la vía fisiopatológica del NO. Si se acepta que NO es un importante antagonista de la proliferación celular, es probable que el mecanismo de acción de hiperfibrinogenemia se debería a la menor producción de NO y a la modificación en la enzima antioxidante SOD; afectando el equilibrio entre la relajación-contracción del músculo liso vascular y el balance entre acciones proliferativas y antiproliferativas (Figura 8) (104). La existencia de una asociación transversal y prospectiva entre la medición plasmática del estrés oxidativo y el riesgo de presentar SM y aterogénesis sería independiente, ya que la asociación prospectiva persiste aún después de incluir en el análisis los factores de riesgos clásicos (105; 106). Sin embargo, el organismo humano posee un sistema de detoxificación oxidante mediante la enzima superóxido-dismutasa (SOD), cuyos niveles plasmáticos son indispensables para preservar la disponibilidad de NO. La SOD es la capturadora natural del anión superóxido, cataliza su conversión enzimática a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a una velocidad muy superior de la conversión espontánea, evidentemente la cadena antioxidante debe continuar con la reducción definitiva a agua, por parte de peroxidasas o catalasas del peróxido formado, pero la importancia de dicha reacción es que a nivel

de la pared endotelial, la producción masiva de superóxido disminuye la biodisponibilidad del NO.

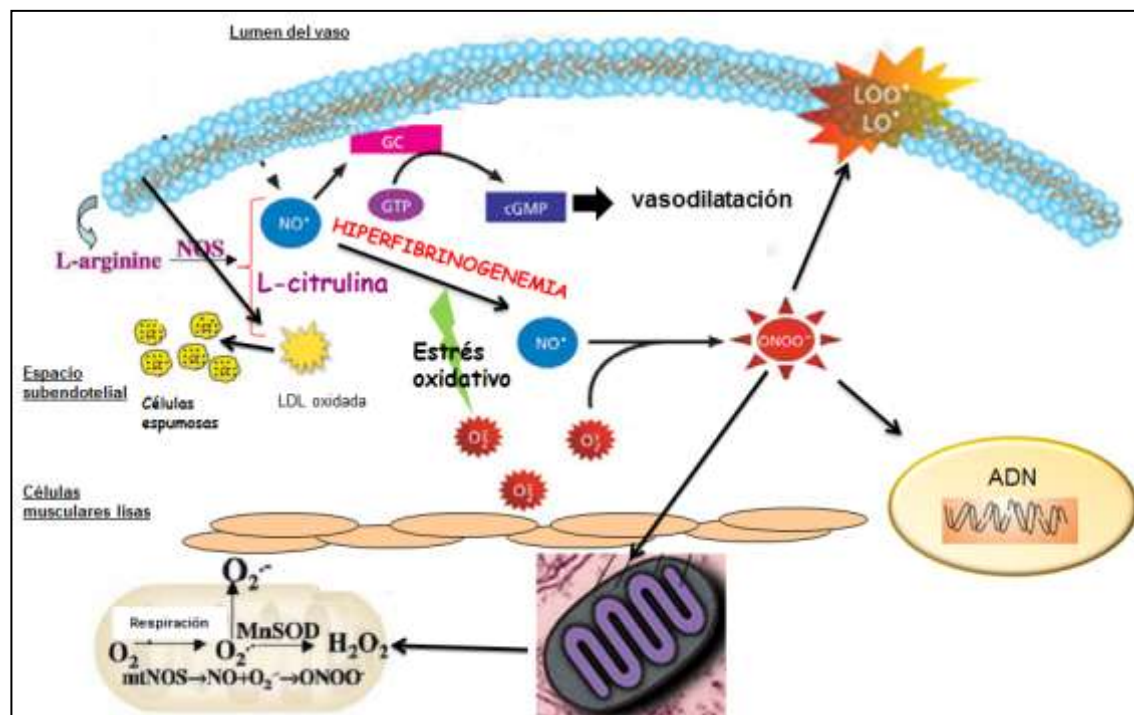


Figura 8: Variables asociadas a SM y aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia

Estudios experimentales han demostrado una inhibición en la actividad enzimática de la SOD y éste mecanismo podría ser relevante en la disfunción endotelial que se observa en patologías como las estudiadas (107; 101; 108). Esta enzima establece una “vigilancia” bioquímica, pues el anión superóxido generalmente se forma como intermediario en las reacciones de oxigenación de sustratos, así se protegen los tejidos de la acción deletérea del radical superóxido (Figura 9) (109; 110).

En SM existiría una relación directa entre la producción de radicales libres por inducción de estrés oxidativo y el sistema antioxidante endógeno específicamente SOD, sin embargo no existen en la bibliografía datos concluyentes con relación al binomio SM y SOD, por eso la importancia de estudiar el comportamiento de SOD en los modelos experimental y clínico con diferentes alteraciones metabólicas asociadas al SM (110; 111).

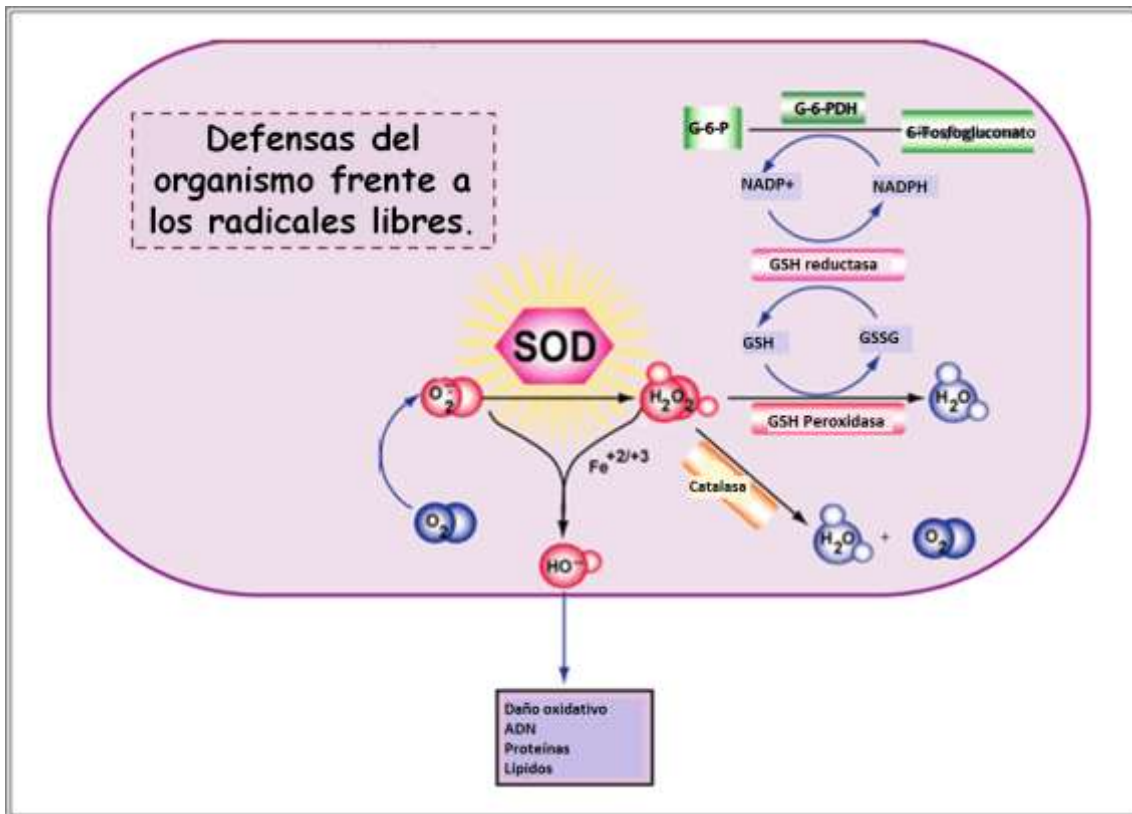


Figura 9: Mecanismos antioxidantes endógenos: Superóxido dismutasa.

Similar comportamiento se produce durante la isquemia vascular asociada al estrés oxidativo, generando exceso de radicales libres superando los mecanismos defensivos antioxidantes, cambiando el tono vascular por alteraciones en el estado redox celular, aumentando la agregación plaquetaria, proliferación y migración del músculo liso, adhesión de monocitos y expresión de moléculas de adhesión (112).

Por otra parte, la producción no controlada de ROS repercutiría también a nivel celular generando daño sobre el ADN e induciendo la peroxidación lipídica de la membrana celular afectando su permeabilidad y funcionalidad, generando acumulación de peróxidos lipídicos que pasan al torrente sanguíneo y aumentando la peroxidación de lipoproteínas circulantes promoviendo disfunción endotelial generada por SM o aterogénesis (113). La ruptura celular generaría un ingreso masivo a la célula de iones de Ca⁺, Na⁺ y un incremento del volumen celular por el ingreso de agua, induciendo alteraciones a nivel mitocondrial iniciándose un incremento de ROS en el interior de dicha

organelas, proceso que podría contribuir a la iniciación de patologías vasculares en las cuales las defensas antioxidantes mitocondriales son superadas; por lo tanto si la concentración de ROS mitocondrial se redujera, probablemente se controlaría o se podría revertir la disfunción endotelial y sus consecuencias en los estadios iniciales de SM y aterogénesis (114; 115). De este modo, el mecanismo unificador para explicar la acción aterogénica de factores de riesgo cardiovasculares incluido SM, sería la disfunción mitocondrial (116). La producción de superóxido mitocondrial es un importante mediador de la injuria oxidativa celular, así mismo, la succinato-citocromo c reductasa (SCR) presente en la cadena transportadora de electrones podría estar implicada como mediadora en la generación y como blanco alternativo de NO en la regulación de la respiración mitocondrial (117; 118; 119)

El control de las funciones mitocondriales depende de dos variables; la concentración de NO y el nivel de oxígeno, cada una actúa sobre un intervalo de concentraciones y gradientes, existiendo puntos críticos en los cuales ambas variables se interceptan generando peroxinitrito. De esta manera el NO, el anión superóxido y el peroxinitrito desempeñan un papel crucial en la regulación de la función mitocondrial ya que utilizan ROS para la señalización intracelular de la cadena respiratoria mitocondrial (120; 121; 122). La generación de ROS en mitocondrias es influenciada por factores múltiples, incluyendo la eficacia de la cadena de transporte de electrones, la concentración de oxígeno, la disponibilidad de los donantes de electrones como el NADH y FADH₂, de citocinas y la actividad de las defensas antioxidantes (123).

Aunque la capacidad de la matriz mitocondrial para producir NO tiene varias implicancias: por una parte, el NO actuaría como mensajero fisiológico que modula la velocidad del flujo de electrones en ciertas condiciones fisiológicas uniéndose al sitio activo del oxígeno en la citocromo oxidasa de manera competitiva, regulando así el consumo de oxígeno representando un efecto benéfico. Sin embargo, si dicha unión

(NO+O₂) es prolongada, ocasiona la generación del anión superóxido el cual a su vez reaccionaría con NO para formar el anión peroxinitrito que inhibiría irreversiblemente diferentes componentes de la cadena respiratoria mitocondrial a través de la inactivación enzimática de la NADH deshidrogenada (complejo I), la succinato deshidrogenada (complejo II), además de inhibir a la ATP sintasa (124). Como radical libre, el NO sufre fácilmente reacciones químicas de adición, sustitución y oxidación, dichas reacciones constituyen las bases moleculares de sus diferentes efectos biológicos.

El NO reacciona con el hierro (Fe) del hem para formar un complejo de inclusión nitrosilado que al reaccionar con los grupos hem prostéticos de los citocromos produce la interrupción de la fosforilación oxidativa y consecuentemente, alteraría la actividad metabólica celular (125). Además, la eNOS requiere de la presencia del ión Ca²⁺ para su actividad catalítica y en las células involucradas en la respuesta inflamatoria sistémica la homeostasis del Ca²⁺ intracelular, que cumple un papel importante en la regulación energética mitocondrial, regulada mediante la liberación de peróxido de hidrógeno, el cual es transformado a radical hidroxilo. En situaciones de estrés oxidativo, el radical hidroxilo inhibiría la actividad ATPasa de la bomba Na⁺/ Ca²⁺ y causaría daño a la membrana celular, la cual incrementaría su permeabilidad. El continuo flujo de Ca²⁺ no controlado activa diferentes enzimas: proteasas, endonucleasas y fosfolipasas creando un círculo vicioso, lo cual contribuiría a una mayor producción de radicales libres afectando así la fosforilación oxidativa y, por ende, la producción de antioxidantes en un proceso que requiere de energía (125; 126).

Además, el peroxinitrito llevaría a cabo la nitración de tirosinas en varias proteínas mitocondriales, como la ferro-sulfurada del ciclo de Krebs aconitasa y la gliceraldehído-3P deshidrogenada implicada en la glicólisis; llevando a una inhibición de la respiración mitocondrial y a una caída de la síntesis de ATP, repercutiendo sobre la homeostasis celular. Como resultado de la inhibición respiratoria mitocondrial se

acumularían electrones en la cadena respiratoria, lo cual provocaría que en el complejo NADH-ubiquinona reductasa (complejo I) y la ubiquinol-citocromo c reductasa (complejo III) que poseen ubiquina como componente común, se aumente la generación de superóxido y consecuentemente peroxinitrito y peróxido de hidrógeno, perpetuando las lesiones generadas por estrés oxidativo (127).

Las modificaciones generadas serían las responsables de la alteración morfofuncionales mitocondrial, cambios a los que contribuirían probablemente los biomarcadores inflamatorios modificados, variaciones en la concentración de adiponectina, insulinoresistencia e hiperinsulinismo. Está demostrado que los daños mitocondriales se relacionan con la patogénesis de varios trastornos metabólicos especialmente aquellos relacionados con la resistencia a la insulina, tales como la obesidad y DM2 (128). Los cambios observados a nivel mitocondrial afectan principalmente las enzimas y transportadores implicados en el Ciclo de Krebs, la oxidación de ácidos grasos, la respiración aeróbica, relacionada con la fosforilación oxidativa mitocondrial y la síntesis de ATP. Por lo tanto la reducción del transporte de electrones y el estrés oxidativo podrían representar un importante objetivo para la modulación de la función de los adipocitos en el SM (129). DM asociada a trastornos metabólicos puede conducir a la disfunción mitocondrial, activación de NADPH oxidasa (NOX) y exceso en la producción de ROS, lo que resulta en estrés oxidativo y promueve trastornos cardiovasculares (130)

Por otra parte, las mitocondrias proporcionarían desencadenantes redox para el daño oxidativo presente en las ECV y actuarían como amplificadores aumentando la carga de estrés oxidativo lo que implicaría que todo factor que aumente la producción de superóxido disminuiría la eficiencia del acoplamiento de la cadena respiratoria (131).

De lo mencionado anteriormente, se entiende la importancia de estudiar la implicancia del fenómeno inflamatorio y el estrés oxidativo

en patologías con componentes vasculares para establecer los probables mecanismos fisiopatogénicos con el objetivo de generar estrategias que prevengan la aparición de eventos al disminuir o controlar los factores de riesgo. Para esto es necesario identificar los determinantes de la enfermedad para así implementar medidas preventivas para control y seguimiento como así también estudiar estrategias terapéuticas que se puedan implementar para disminuir la incidencia de dicha enfermedad.

Dado que los individuos con SM y evidencias de aterosclerosis subclínica presentan tasas de enfermedad cardiovascular elevadas es fundamental diagnosticar SM y evaluar la presencia de marcadores de aterosclerosis subclínica, no sólo para realizar el tratamiento específico, sino para identificar a aquellas personas cuyo estado metabólico adverso justifica su identificación precoz y control posterior. La importancia clínica de la identificación de marcadores precoces ayudaría a encontrar vías que permitiesen prevenir o retardar el desarrollo de DM2 y la progresión de la aterosclerosis ya que la intolerancia a la glucosa es una condición proinflamatorio, proaterogénica, protrombótica y facilitadora de Diabetes Mellitus (132; 133).

El reconocimiento, control y seguimiento en estadios avanzados es relativamente sencillo, pero durante la etapa asintomática es necesario recurrir a metodologías más sensibles y presentes en períodos tempranos, los biomarcadores estudiados tienen la ventaja de determinarse en muestras de sangre y están relacionados con el componente inflamatorio de SM y la enfermedad vascular isquémica, con implicancias diagnósticas, pronósticas y terapéuticas (111). Se pueden medir de forma rápida y sencilla, con una relación costo-efectividad óptimo y facilitarían el diagnóstico precoz.

La implementación de marcadores tempranos científicamente justificados en patologías de alta prevalencia como SM y aterogénesis, serían estrategias innovadoras para superar las múltiples barreras en el

manejo de esta enfermedad de alto impacto epidemiológico, en países de bajo presupuesto en salud.

Hipótesis

En pacientes con SM la carga aterogénica incrementa, generando eventos cardiovasculares agudos con mayor frecuencia y en ATS. La determinación en plasma de biomarcadores proinflamatorios, prooxidativos y antioxidante están relacionados con ambas patologías con implicancias diagnósticas, pronósticas y terapéuticas. Por consiguiente, se justificaría el estudio del componente inflamatorio en la enfermedad vascular isquémica y en otras entidades mórbidas que coexisten y aumentan el nivel de riesgo cardiovascular con el objetivo de elaborar estrategias que prevengan el desarrollo de dichas patologías.

El presente proyecto estudió en un modelo experimental de SM y de aterogénesis inducido por hiperfibrinogenemia la importancia de los biomarcadores inflamatorios; estableció la relación entre componente inflamatorio y estrés oxidativo asociado a insulinoresistencia para determinar su participación en las probables lesiones hepáticas y vasculares isquémicas a nivel de aorta torácica por microscopía óptica, como así también las posibles alteraciones morfofuncionales mitocondriales en células musculares lisas de aorta torácica en ambos modelos. Además, se analizaron en pacientes con síndrome metabólico, parámetros clínicos, bioquímicos y biomarcadores prooxidativos y proinflamatorios para instrumentarlos como acción preventiva para la detección temprana de SM con el objeto de disminuir las complicaciones relacionadas.

Objetivos Generales

- ✚ Se estudió en un modelo experimental de Síndrome Metabólico y de aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia los biomarcadores inflamatorios: fibrinógeno y adiponectina, de estrés oxidativo: óxido nítrico, L-citrulina y superóxido dismutasa y los posibles cambios hepáticos y de aorta torácica. Además, se analizó la probable alteración en la morfofuncionalidad mitocondrial del musculo liso vascular aórtico. Por otra parte, se valoraron en pacientes parámetros clínicos y bioquímicos de Síndrome Metabólico y se estudiaron los biomarcadores para establecer la carga aterogénica en dichos pacientes.

Objetivos Específicos

En el modelo experimental:

- ✚ Determinar en ratas con síndrome metabólico inducido, las concentraciones de glucemia, insulinemia, perfil lipídico para corroborar el estado de SM.
- ✚ Valorar los niveles plasmáticos de adiponectina en ratas en un modelo experimental de SM.
- ✚ Estudiar la relación de hiperfibrinogenemia con óxido nítrico, L-citrulina y superoxido dismutasa en ratas con SM inducido.
- ✚ Analizar por microscopía óptica las probables lesiones histopatológicas hepáticas y de aortas torácicas de ratas con hiperfibrinogenemia y SM inducido en forma experimental.
- ✚ Observar por microscopía electrónica la morfología mitocondrial en células musculares lisas en aorta torácica en ambos modelos experimentales.

- + Cuantificar la actividad enzimática de complejos mitocondriales para inferir alteraciones funcionales en la fosforilación oxidativa en ratas con SM y aterogénesis inducida.
- + Establecer la relación entre los biomarcadores, concentraciones de lípidos totales, glucemia y niveles de adiponectina en los modelos experimentales de SM y aterogénesis para establecer su importancia en dichas patologías.

En el modelo clínico:

- + Estratificar en pacientes las variables demográficas edad y sexo.
- + Determinar los componentes de SM: insulinemia, glucemia, HOMA, hipertensión arterial, colesterol HDL y triglicéridos. Además, otros factores de riesgo asociados a SM como el perfil lipídico: colesterol total y LDL, diabetes y tabaquismo en los diferentes grupos de pacientes estudiados.
- + Estudiar los biomarcadores: fibrinógeno, NO y SOD en grupos de pacientes con SM y grupo control.
- + Establecer la correlación entre hiperfibrinogenemia, NO y SOD en pacientes con SM.

MATERIAL Y MÉTODOS

Modelo experimental

Animales

Se utilizaron ratas machos Cepa Wistar, endocriadas en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de Universidad Nacional de Córdoba, de peso promedio 280 ± 20 g, alimentadas con dieta balanceada para ratas con un mínimo de 17% de contenido proteico. Los procedimientos que se aplicaron han sido aprobados por el Comité Institucional para el cuidado y uso de animales de Laboratorio de la Facultad de Ciencias Médicas de Universidad Nacional de Córdoba y según la guía publicada por el Instituto Nacional de Salud (NIH) (n° 85-23, revisado 1996).

Grupos estudiados

Se usaron 72 ratas machos, cada uno de los grupos estuvieron constituidos por 12 animales, siendo estudiados en forma secuencial y encuadrados en diferentes situaciones experimentales:

- A) Control (n=12)
- B) ATS inducida por hiperfibrinogenemia por 30 días (HF x 30 ds) (n=12).
- C) ATS inducida por hiperfibrinogenemia por 60 días (HF x 60 ds) (n=12).
- D) SM inducido por dieta hídrica suplementaria con fructosa al 10% en agua de bebida durante 6 semanas (n=12).
- E) SM + ATS inducida por hiperfibrinogenemia por 30 días (HF x 30 días) (n=12).
- F) ATS inducida por hiperfibrinogenemia por 30 días (HF x 30 días) + SM (n=12).

Inducción de la hiperfibrinogenemia

La inducción de hiperfibrinogenemia para desencadenar el proceso proinflamatorio y prooxidativo, se realizaron mediante laparotomías medianas y paramedianas, una laparotomía cada 7 días en el grupo de 30 días y cada 15 días en el grupo de 60 días. (73), previa anestesia con ketamina (Ketal®) (16,25mg/Kg/rata) y xylazina 2% (Alfasan®) (2mg/Kg/rata).

Inducción del Síndrome Metabólico

El SM se indujo por la administración de fructuosa al 10% diluida en agua de bebida durante 6 semanas (134).

Preparación del material experimental

a- Obtención del plasma

La sangre se obtuvo por decapitación de los animales, previamente anestesiados con ketamina (Ketal®) (16,25mg/Kg/rata) y xylazina 2% (Alfasan®) (2mg/Kg/rata), a las 72 horas de la última injuria, coincidiendo con los 30 y 60 días. La sangre así obtenida se recogió en cápsulas de Petri con una mezcla de anticoagulante constituido por oxalato de amonio y de potasio en una proporción de 2:1 y para superóxido dismutasa (SOD) se utilizó como anticoagulante EDTA, posteriormente se centrifugó a 3000 r.p.m durante 15 minutos para obtener el plasma y el lisado de glóbulos rojos, respectivamente. El dosaje de adiponectina (ug/dL) se realizó en suero de ratas por Elisa, utilizando Human Serum Adipokyne, panel A: HADK1-61K-A Linconl Research (135).

b- Obtención del material para anatomía patológica por Microscopia Óptica

En todos los grupos estudiados se seleccionaron cortes de aorta torácica desde su origen hasta la última porción, debido que en las

ratas se ha comprobado que las lesiones se presentan preferentemente en esta porción aórtica, a diferencia de los seres humanos en donde las lesiones se encuentran habitualmente en aorta abdominal. Se realizaron 30 secciones de 4 μm cada corte, por animal seleccionado por simple ciego. El material procesado para anatomía patológica se conservó en formol bufferizado al 10% y se coloreó con hematoxilina-eosina. Los preparados se analizaron por microscopía óptica en 40X, 60X y 400X.

Para el análisis histopatológico de hígado, se seleccionaron aleatoriamente dos ratas de cada grupo estudiado; luego de la extracción del órgano se realizaron 15 secciones de 3-5 μm cada corte. El material fue conservado en formol bufferizado al 10% y teñidos con hematoxilina-eosina a fin de objetivar la repercusión en este órgano del SM. Los preparados se analizaron por microscopía óptica en 40X y 60X.

c- Obtención del material para técnica por Microscopia Electrónica

El material se obtuvo por cortes “in toto” en forma de anillos de 2 mm de aorta torácica en todos los lotes estudiados. El tejido se fijó en Karnovsky (136). Las secciones ultrafinas, obtenidas en un ultramicrotomo Jeol Jum-7 con cuchilla de diamante, se montaron en grillas de níquel y se colorearon con acetato de uranilo en solución alcohólica y citrato de plomo y fueron observadas y fotografiadas en un microscopio electrónico Leo 906E. Para valorar las características morfológicas de las mitocondrias se realizaron las mediciones en un total de 8 fotos por grupo (n=8), en forma aleatoria, en aquellas que presentaban 27800X.

La microscopía electrónica se realizó en el Centro de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Médicas, UNC.

d- Actividad enzimática

Aislamiento mitocondrial

Todas las aortas torácicas extraídas (aproximadamente 200mg c/u) de las ratas de los diferentes grupos fueron lavadas y suspendidas en un buffer de aislamiento helado (5 mM HEPES, pH 7.2 conteniendo 210 mM manitol, 70 mM sacarosa, 1 mM EGTA y 0.5 % BSA, libre de ácidos grasos, 1:10 p/v) e inmediatamente homogeneizado. Los homogeneizados se centrifugaron a 1500 g, 4° C por 20 minutos y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo, se centrifugó nuevamente a 10000 g 4°C por 5 min. Se desechó el sobrenadante y el pellet mitocondrial se lavó con buffer, centrifugando nuevamente a 10000 g a 4°C por 10 min, descartando el sobrenadante y volviendo a centrifugar el pellet mitocondrial (purificación). Este pellet rico en mitocondrias se resuspendió en buffer de aislamiento (relación tejido/buffer: 1/1) y las alícuotas se guardaron a -80°C. La concentración de proteínas se midió por el método de Bradford (137).

Este pellet mitocondrial sirvió para determinar:

- Funcionamiento del Ciclo de Krebs:

Mediante la determinación espectrofotométrica de la actividad de Citrato Sintasa (138).

-Actividad de los complejos de la cadena respiratoria:

Para cuantificar la actividad enzimática de los complejos (I - IV) de la cadena respiratoria mitocondrial: **CI**: NADH-ubiquinona reductasa, **CII**: succinato-ubiquinona-reductasa; **CIII**: ubiquinona-citocromo c-reductasa; **CIV**: citocromo c-oxidasa, se realizaron procedimientos espectrofotométricos, según las técnicas de Trounce, Jarreta y Vyatkina (139; 140; 138).

Modelo Clínico

Se realizó un estudio descriptivo transversal, comparativo y prospectivo en pacientes ambulatorios que concurrieron espontáneamente a la consulta del Servicio de Clínica Médica del Hospital Córdoba, luego de haber firmado el consentimiento informado, siguiendo las normas de Bioética según Declaración de Helsinsky. La recolección de las muestras se realizó entre Marzo 2013 y Noviembre de 2013, las determinaciones bioquímicas se realizaron en el Servicio del Laboratorio Central de dicho nosocomio. Este trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Córdoba, Resol N° 14/2013.

Criterios de inclusión: se incluyeron aquellos pacientes que presentaron criterios de SM según la IDF : obesidad central definida por circunferencia de cintura: hombres ≥ 94 cm y mujeres ≥ 88 cm y dos de cualquiera de los siguientes factores de riesgo cardiovasculares: niveles de triglicéridos ≥ 150 mg/dL; HDL < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres o estén siendo tratados por dislipidemia; HTA: presión arterial sistémica (PAS) ≥ 130 mmHg y presión arterial diastólica (PAD) ≥ 85 mmHg o estén siendo medicados para HTA y glucosa en ayunas: ≥ 100 mg/dL o estén en tratamiento para hiperglucemia.

Criterios de exclusión: Pacientes con DM tipo 1 y/o 2 o insulinoquiriente, intervenciones quirúrgicas realizadas con 2 meses de anterioridad, infecciones recientes, crónicas o en curso, neoplasias, enfermedades reumatológicas, consumo de fármacos hormonales y antiinflamatorios no esteroideos < 1 mes, enfermedad hepática, enfermedad renal u otras enfermedades metabólicas.

Los grupos de pacientes se dividieron de la siguiente manera:

A-Grupo Control: se conformó al azar entre los sujetos sanos o sin SM que concurrieron al Servicio de Clínica Médica del Hospital Córdoba y que hayan firmado el consentimiento informado.

B- Grupo con Síndrome Metabólico: pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión.

Los individuos se seleccionaron por técnica aleatoria simple y se formaron grupos de ambos sexos, sanos y enfermos cuyas edades oscilaron entre 25 y 70 años, residentes en Provincia de Córdoba y que concurren espontáneamente a la consulta del Servicio de Clínica Médica del Hospital Córdoba.

Todos los pacientes fueron indagados acerca de las variables demográficas edad y sexo siendo utilizadas para estratificar los grupos.

En todos los grupos se realizaron mediciones de circunferencia abdominal y se indagó sobre tabaquismo. A todos los pacientes se les controló PAD y PAS y se solicitaron las siguientes mediciones bioquímicas: Perfil Lipídico: colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos. También se valoró: glucemia, insulinemia, fibrinógeno, óxido nítrico y superóxido dismutasa.

Las variables anteriormente descriptas se operacionalizaron de la siguiente manera:

-Variables demográficas: sexo y edad (años)

-Variables clínicas:

Presión Arterial: Se registró con el sujeto sentado, y el brazo derecho a la altura del corazón, luego de por lo menos de 5 minutos de reposo, sin haber fumado o ingerido cafeína durante los 30 minutos previos a la medición en 2 ocasiones separadas, cada una por 5 minutos. Se emplearon tensiómetros anaeroides calibrados con escala de mercurio siguiendo la técnica auscultatoria. Se consideró Presión Arterial Sistólica (PAS) a la medida cuando se hace audible el primer ruido arterial (fase I de Korotkoff), y Presión Arterial Diastólica (PAD) a la que coincide con la desaparición de los ruidos (fase V de Korotkoff). Los resultados de la medición de PA fueron clasificados de acuerdo al VII Informe del Joint National Comité (JNC) (141).

Circunferencia Abdominal (CA): La medición se realizó con el paciente de pie, en posición relajada, con el torso desnudo, se midió con una cinta métrica a nivel del ombligo, entre el borde inferior de la última costilla y la cresta iliaca en espiración. Los resultados se expresaron en centímetros.

Tabaquismo: Se indagó sobre el hábito de fumar en todos los pacientes y se lo expresó como variable atributo.

HOMA: Homeostasis Model Assessment, desarrollado por Matthews (142), se calculó multiplicando la insulina en ayuno ($\mu\text{UI/ml}$) por la glucosa plasmática en ayunas (mmol/l) y luego dividiendo el resultado por la constante de 22,5.

Variables de laboratorio clínico:

Obtención del plasma y procesamiento del material

Para la determinación de las variables bioquímicas se extrajeron 5 ml de sangre de la vena cubital, se recogió en jeringas con una mezcla de anticoagulante constituido por oxalato de amonio y de potasio en una proporción de 2:1 y para SOD se utilizó como anticoagulante EDTA, posteriormente se centrifugó a 3000 r.p.m durante 15 minutos para obtener el plasma y el lisado de glóbulos rojos, respectivamente.

-**Glucemia**(mg/dL): se dosó por espectrofotometría según método enzimático (143).

-**Insulinemia**($\mu\text{U/mL}$): se midió con técnica de enzimoanálisis (144).

-**Perfil lipídico**(mg/dL): por método enzimático (145).

-**Fibrinógeno**(mg/dL): se determinó por espectrofotometría según método de Ratnoff y Menzie (146).

-**Oxido Nítrico**(μM): por Reacción de Griess por espectrofotometría (147).

-**Actividad enzimática de Superóxido Dismutasa**(U/ml): Por espectrofotometría en lisado de glóbulos rojos utilizando un kit Randox (148).

Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados de las variables estudiadas se utilizó el programa Infostat; las pruebas de normalidad y homogeneidad se realizaron con prueba de Shapiro-Wilks y luego se estudiaron con MANOVA y la prueba post hoc utilizada fue Hotelling. Para establecer el grado de correlación entre los biomarcadores se utilizó el Coeficiente de Correlación de Pearson. En el modelo experimental para la observación de lesiones anatomopatológicas se analizaron los campos de fotografías con una magnificación 400X obtenidas de los diferentes cortes estudiados. Para el análisis de la morfología mitocondrial se analizaron los campos de fotografías con una magnificación de 27800X. Se estableció un nivel de significación de $p < 0,05$ para todos los casos.

RESULTADOS

Modelo Experimental

Con el objetivo de estudiar el probable mecanismo de acción de los componentes inflamatorios en el Síndrome Metabólico se analizaron las relaciones entre hiperfibrinogenemia y las variables producidas por estrés oxidativo en las diferentes situaciones experimentales, como así también el impacto morfofuncional a nivel mitocondrial en las células musculares lisas de aorta torácica. Para su mejor comprensión se describieron en módulos de acuerdo a los distintos marcadores estudiados.

Se analizó en ratas con Síndrome Metabólico inducido las variables plasmáticas: glucemia, insulinemia, perfil lipídico y adiponectina, complementando con valoración de HOMA para validar dicha patología en todos los grupos estudiados. Posteriormente, se estudiaron las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno, óxido nítrico, L-citrulina y superóxido dismutasa en el modelo experimental de aterosclerosis subclínica (ATS), para corroborar la carga aterogénica inducida. En estos mismos grupos, se expresaron los estudios histopatológicos por microscopía óptica de aortas torácicas y preparados de cortes hepáticos, como así también el análisis de la morfología mitocondrial en células musculares lisas estudiadas por microscopía electrónica. Luego, se describió la actividad enzimática de la cadena respiratoria mitocondrial en células musculares lisas aórticas. Por último, se estableció la relación entre los marcadores de Síndrome Metabólico y los indicadores del componente inflamatorio aterogénico.

Concentración plasmática de glucemia, insulinemia, perfil lipídico y HOMA en ratas con SM.

Las características bioquímicas que complementan el diagnóstico de SM en todos los grupos estudiados se expresan en la Tabla 1.

Como se observa en la tabla 1, los valores de glucemia ($176 \pm 17,3$ mg/dL), insulinemia ($29,5 \pm 4,52$ uU/mL), colesterolemia ($133 \pm 9,6$ mg/dL), HDL ($28,3 \pm 1,14$ mg/dL) y triglicéridos ($75 \pm 12,9$ mg/dL) incrementaron significativamente en los animales con SM inducido comparados con el grupo control de cada una de las variables estudiadas

($p < 0,001$), similar comportamiento presentó el HOMA calculado en el grupo con SM ($11 \pm 1,3$) respecto al control ($3 \pm 0,38$) ($p < 0,001$), valores que se muestran en la Figura 1. Estos resultados validarían el modelo experimental de SM.

Tabla 1: Niveles plasmáticos de glucemia, insulinemia y perfil lipídico en grupo control y grupo SM.

	Control (A)	SM (D)
Glucemia (mg/dL)	$115 \pm 1,1$	$176 \pm 17,3$
Insulinemia (uU/mL)	$4 \pm 0,82$	$29,5 \pm 4,52$
HDL (mg/dL)	$61 \pm 0,01$	$28,3 \pm 1,14$
Colesterol Total (mg/dL)	$69,7 \pm 1,6$	$133 \pm 9,6$
Triglicéridos (mg/dL)	$46,2 \pm 6$	$75 \pm 12,9$

Media \pm ES: Glucemia: (A) vs. (D): $p < 0,001$. Insulinemia: (A) vs. (D): $p < 0,001$. HDL: (A) vs. (D): $p < 0,001$. Colesterol total: (A) vs. (D): $p < 0,001$. Triglicéridos: (A) vs. (D): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
SM (síndrome metabólico)

Los índices de HOMA mensurados en los grupos control y SM se muestran en Figura 1.

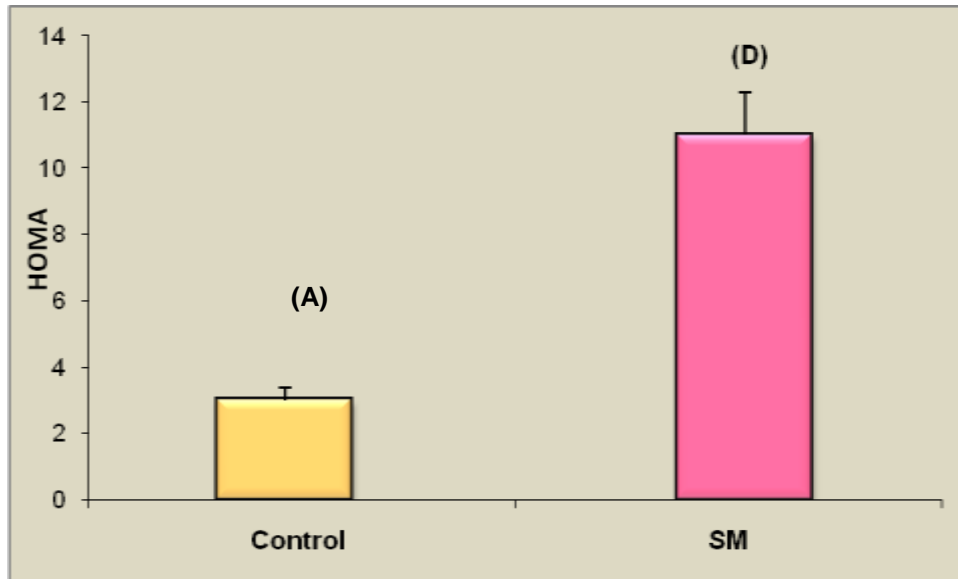


Figura 1: Índice HOMA en grupo control y grupo con SM.

Media ± ES: (A) vs. (D): $p < 0,001$ (n=12 por grupo)

SM (síndrome metabólico); HOMA (homoeostasis model assessment)

Valoración anatomopatológica en preparados de hígado de ratas con SM.

Además, para corroborar la presencia de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), sello hepático distintivo del síndrome metabólico, se analizaron por microscopía óptica 15 cortes hepáticos de 3-5 μm cada uno, en todos los lotes estudiados, objetivando lesiones significativas consistentes en vacuolización y vasculatura congestiva compatibles con EHNA en el grupo (B) (Figura 2) con respecto a los preparados del grupo control (A) donde no se evidenciaron cambios anatomopatológicos (Figura 3).

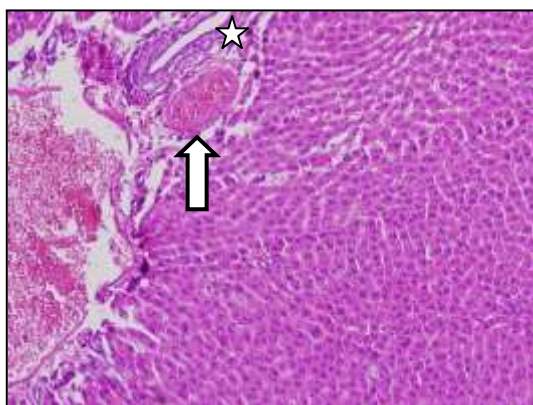


Figura 2: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con SM inducido. La MO muestra vacuolización (estrella) y vasculatura congestiva (cabeza de flecha). (H-E X 40).

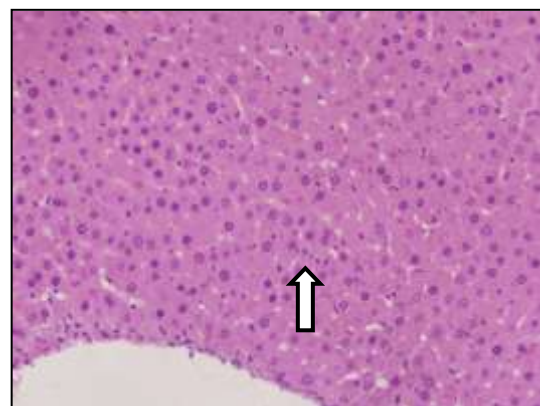


Figura 3: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales control. La MO evidencia histología hepática normal (H-E X 40).

Para demostrar la intervención de variables proinflamatorias y prooxidativas en un modelo experimental de ATS se determinaron las concentraciones de las mismas en los grupos estudiados que se muestran en la Tabla 2.

Se observó incremento significativo del fibrinógeno plasmático en los grupos con aterogénesis inducida por HF x 30 días (B) (266 mg/dL \pm 13) y HF x 60 días (C) (359 mg/dL \pm 11,7) cuando se los comparó con el grupo control (A) (203 mg/dL \pm 9) ($p < 0,001$). También hubo diferencia significativa entre los niveles plasmáticos de fibrinógeno al comparar los grupos con HF entre sí (B) vs. (C) ($p < 0,001$).

La biodisponibilidad del NO disminuyó significativamente en los grupos con HF x 30 días (B) (15,1 uM \pm 0,68) y HF x 60 días (C) (18,83 uM \pm 1,7) con respecto al grupo control (A) (23,58 uM \pm 1,4) ($p < 0,001$) respectivamente. También existió diferencia significativa cuando se realizó la comparación del grupo (B) con respecto a (C) ($p < 0,001$).

Los niveles plasmáticos de L-citrulina se encontraron incrementados en los grupos con HF x 30 días (B) (4,24 mM \pm 0,14) y HF x 60 días (C) (4,56 mM \pm 0,09) con respecto al control (A) (3,03 mM \pm 0,13) ($p < 0,001$) respectivamente, mientras que al comparar los grupos con HF entre sí no mostraron diferencias significativas.

La actividad de SOD aumentó en los grupos con aterogénesis inducida por HF x 30 días (B) (264 U/ml \pm 7,6) y HF x 60 días (C) (225,42 U/ml \pm 6) con respecto a los animales sanos (A) (138,5 U/ml \pm 3,6) ($p < 0,001$). La actividad de SOD tuvo similar comportamiento al comparar los grupos (B) y (C).

Tabla 2: Niveles plasmáticos de fibrinógeno, NO, L- citrulina y actividad enzimática de SOD en lisado de glóbulos rojos en ratas control y con ATS experimental.

	Control (A)	HF x 30 días (B)	HF x 60 días (C)
Fibrinógeno (mg/dL)	203 ± 9	266 ± 13	359 ± 11,7
NO (µM)	23,58 ± 1,4	15,1 ± 0,68	18,83 ± 1,7
L-citrulina (mM)	3,03 ± 0,13	4,24 ± 0,14	4,56 ± 0,09
SOD (U/mL)	138,5 ± 3,6	264 ± 7,6	225,42 ± 6

Media ± ES: Fibrinógeno: (A) vs. (B), (C): p<0,001; (B) vs. (C): p<0,001. NO: (A) vs. (B), (C): p<0,001; (B) vs. (C): p<0,001. L-citrulina: (A) vs. (B), (C): p<0,001; (B) vs. (C): NS. SOD: (A) vs. (B), (C): p<0,001; (B) vs. (C): NS. (n=12 por grupo)

HF: (hiperfibrinogenemia); SOD: (superóxido dismutasa); NO: (óxido nítrico)

Estudio histopatológico en ratas con hiperfibrinogenemia inducida por injurias tisulares múltiples.

Se estudiaron por microscopía óptica la aorta torácica en todos los lotes. Al analizar los 300 cortes de anatomía patológica del grupo control (A) (Figura 4), no se observaron modificaciones en las capas vasculares respecto al grupo HF x 30 días (B) (Figura 5) donde se evidencio múltiples sectores de denudación endotelial con hematíes adheridos y engrosamiento de la íntima en 279 de los 300 cortes estudiados (93%) (p<0,001); en comparación al lote HF x 60 días (C) (Figura 6), que presentaron cambios mixoides en la matriz extracelular y protusión roma hacia la luz vascular en 283 de los 300 cortes analizados (94,33%) (p<0,003).

Los resultados anteriormente descriptos corroboran el estado proinflamatorio expresado por la hiperfibrinogenemia y su repercusión sobre las paredes vasculares aórticas.

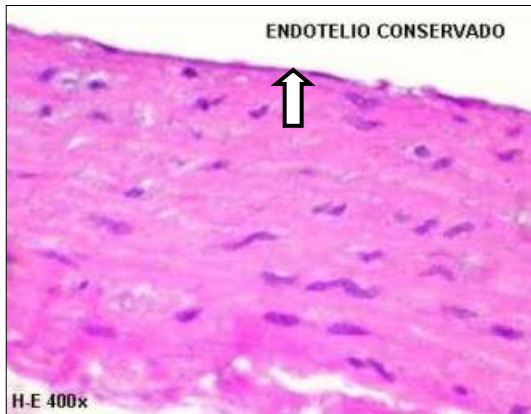


Figura 4: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote control. La MO muestra: Endotelio indemnes y pared con varias capas limitantes elásticas (cabeza de flecha). (H-E X 400).



Figura 5: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote HF x30 días. La MO muestra denudación endotelial con hematíes adheridos y engrosamiento intimal (cabeza de flecha) (H-E X 400).

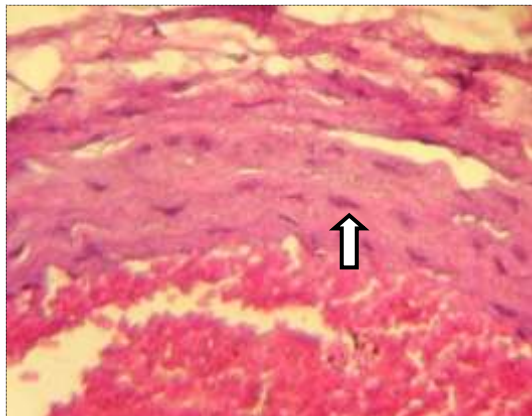


Figura 6: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote HF x 60 días, se observa engrosamiento intimal, cambios mixoides en la matriz extracelular y hematíes adheridos (cabeza de flecha). (H-E X 400).

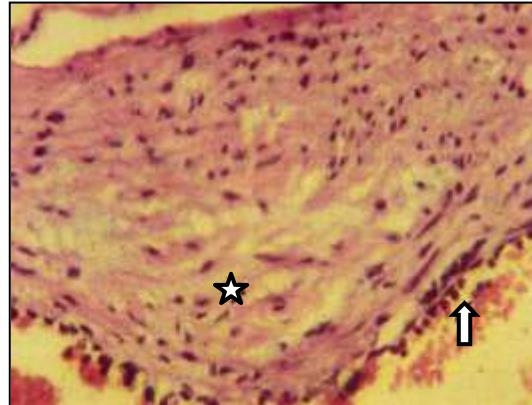


Figura 6: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote con HF x 60 días, se observa protusión roma hacia la luz vascular, focos de denudación endotelial (cabeza de flecha), engrosamiento de la íntima y aumento de la matriz extracelular (estrella). (H-EX 400).

Análisis de las variables bioquímicas.

La Figura 7 muestra las concentraciones de glucemia en todos los grupos estudiados. Cuando se analizó la variable glucemia, se observó que la administración crónica de fructosa al 10%, produjo en el grupo con SM experimental (D) (176 mg/dL \pm 9,3) un incremento estadísticamente significativo de los niveles plasmáticos de glucemia en comparación con el grupo control (A) (115 mg/dL \pm 2,1) y con los grupos con HF x 30 (B) (120 mg/dL \pm 3), HF x 60 días (C) (114 mg/dL \pm 2,6) y

SM + HF (E) (115 mg/dL \pm 6,2) ($p < 0,001$). Similar comportamiento se observó al comparar la glucemia del grupo HF+SM (F) (147 mg/dL \pm 11,5) con respecto al control (A) ($p < 0,001$). Las concentraciones de glucemia entre los grupos SM (D) y HF + SM (F) mostraron una diferencia significativa ($p < 0,01$), este último expresó un incremento respecto a los demás grupos analizados ($p < 0,01$).

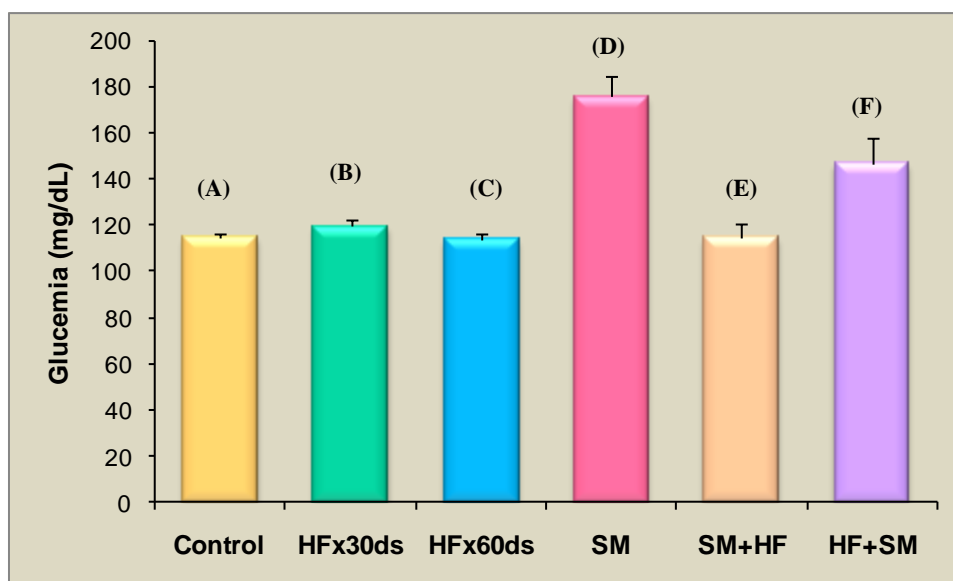


Figura 7: Evaluación de las concentraciones de glucemia en ratas con SM, HF y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME \pm ES: (D) vs. (A), (B), (C) y (E): $p < 0,001$; (D) vs. (F): $p < 0,01$; (F) vs. (A), (B), (C) y (E): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)

SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

En la Figura 8 se expresan los niveles de insulinemia en los diferentes lotes estudiados. La insulinemia incrementó significativamente en los animales con SM (D) (29,5 μ UL/mL \pm 4,52) comparado con el grupo control (A) (4 μ UL/mL \pm 0,82), HF x 30 días (B) (4,52 μ UL/mL \pm 1,72), HF x 60 días (C) (6,22 μ UL/mL \pm 1,3), SM + HF (E) (9,68 μ UL/mL \pm 1,61) y HF + SM (F) (13,7 μ UL/mL \pm 3,4) ($p < 0,001$). Cuando se combinaron ambos modelos SM + HF (E) y HF + SM (F) no hubo diferencia significativa entre ellos y cabe destacar que el incremento no logro el nivel de concentración significativo del grupo con SM (D).

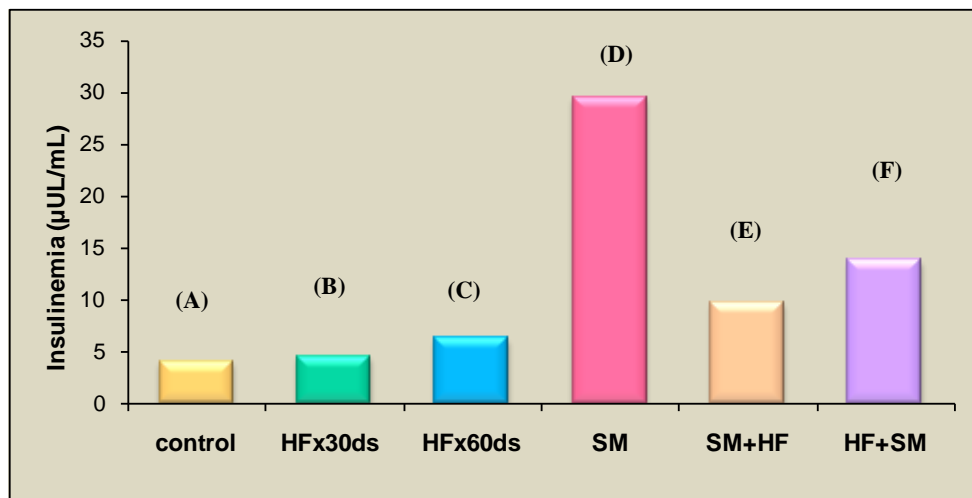


Figura 8: Análisis de los niveles de insulina en animales con SM, HF y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME ± ES: (D) vs. (A), (B), (C), (E) y (F): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
 SM (síndrome metabólico); HF (hiperfibrinogenemia)

El análisis de la relación HOMA se presentan en la Figura 9. Los resultados muestran que la relación de insulina y glucosa plasmática en ayuno incrementó significativamente en el grupo con SM (D) ($11 \pm 1,3$) respecto a los grupos control (A) ($3 \pm 0,38$), SM + HF (E) ($2,7 \pm 0,4$) y HF + SM (F) ($4,9 \pm 1,1$) ($p < 0,001$) respectivamente. Este aumento del índice HOMA muestra la insulinoresistencia (IR) presente en el modelo SM, dado que el valor infiere un riesgo de IR elevado.

Las determinaciones en plasma de triglicéridos se muestran en la Figura 10. En nuestros resultados se observó un incremento estadísticamente significativo al comparar los niveles de triglicéridos en el grupo control (A) ($46 \text{ mg/dL} \pm 1$) respecto al grupo con SM inducido experimentalmente (D) ($75 \text{ mg/dL} \pm 2$) ($p < 0,01$), corroborando una de los indicadores de dicho síndrome.

Además, se objetiva diferencias significativas entre SM + HF (E) ($108 \text{ mg/dL} \pm 12$) ($p < 0,01$) y HF + SM (F) ($175 \text{ mg/dL} \pm 18$) respecto al control (A) ($p < 0,001$). Cabe destacar la hipertrigliceridemia significativa en el grupo (F) comparado al grupo con SM (D) ($p < 0,001$), evidenciando

que el incremento de marcadores inflamatorios contribuye al aumento de dicho parámetro bioquímico en forma significativa.

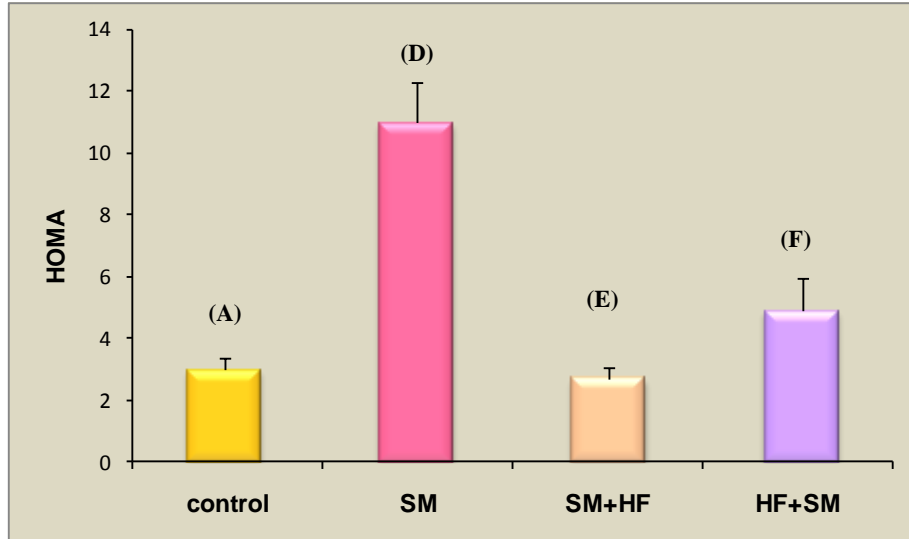


Figura 9: Índice HOMA en ratas con SM y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME \pm ES: (D) vs. (A), (E) y (F): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
HOMA: (homoeostasis model assessment); SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

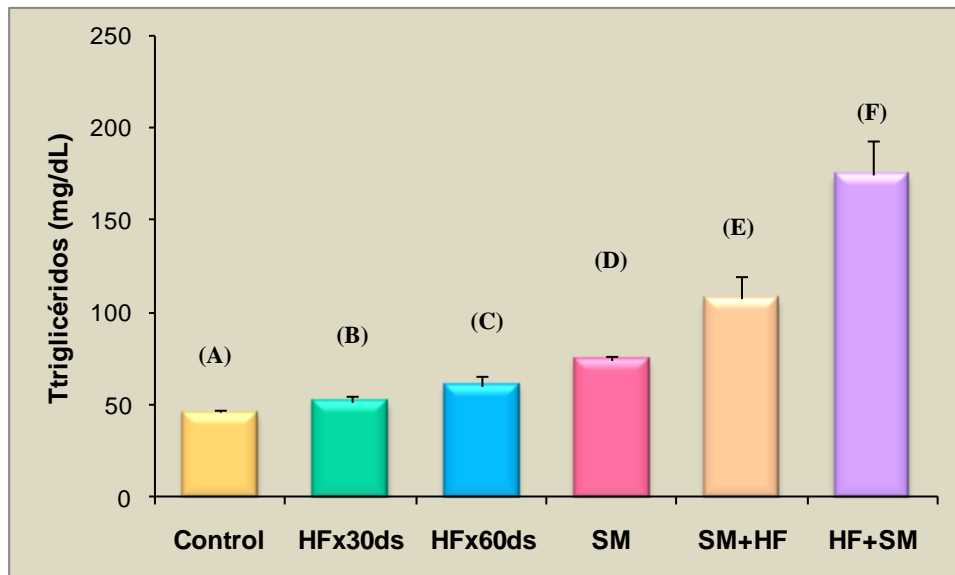


Figura 10: Valores de triglicéridos en ratas con SM, HF y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs (B) y (C) NS; (A) vs (D), (E): $p < 0,01$; (A) vs (F) $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Las mediciones plasmáticas de HDL se objetivan en la Figura 11. Cuando se analizaron los resultados de otra variable bioquímica que coadyuva al diagnóstico de SM tanto en el modelo experimental como en la clínica, se observó una disminución significativa en los grupos con SM (D) (28 mg/dL \pm 1,14), SM+HF (E) (17 mg/dL \pm 0,29) y HF+SM (F) (35 mg/dL \pm 3,3) respecto al control (A) (61 mg/dL \pm 0,91) ($p < 0,001$ respectivamente). Similar comportamiento se observó al comparar los grupos con HF x 30 días (B) (61 mg/dL \pm 0,81) y HF x 60 días (C) (57 mg/dL \pm 0,62) respecto a los grupos (D), (E) y (F) ($p < 0,001$ respectivamente). También se evidenció una disminución significativa al comparar (E) con respecto a (D) ($p < 0,01$), manifestando nuevamente como el componente inflamatorio de la enfermedad acentúa la disminución del factor protector vascular expresado por el HDL.

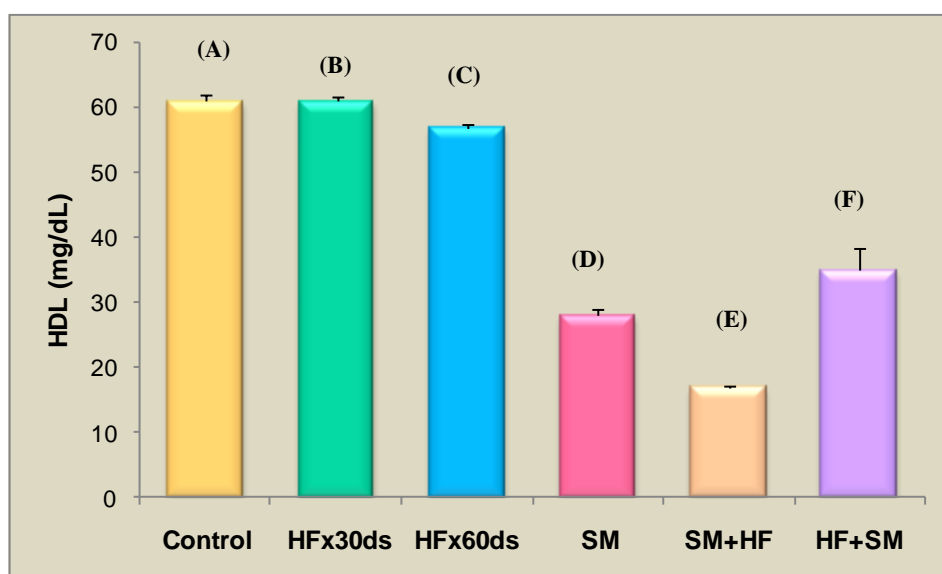


Figura 11: Niveles de HDL en ratas con SM, HF y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME \pm ES: (D) vs. (A), (B), (C): $p < 0,001$; (D) vs. (B), (C): $p < 0,001$; (D) vs. (E): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)

SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Los resultados de las variaciones plasmáticas de colesterol total se muestran en la Figura 12.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar la colesterolemia del grupo SM (D) (133 mg/dL \pm 9,6) respecto al control

(A) ($69,7 \text{ mg/dL} \pm 1,6$) ($p < 0,001$). No se encontró diferencia significativa al realizar la comparación entre los otros grupos estudiados.

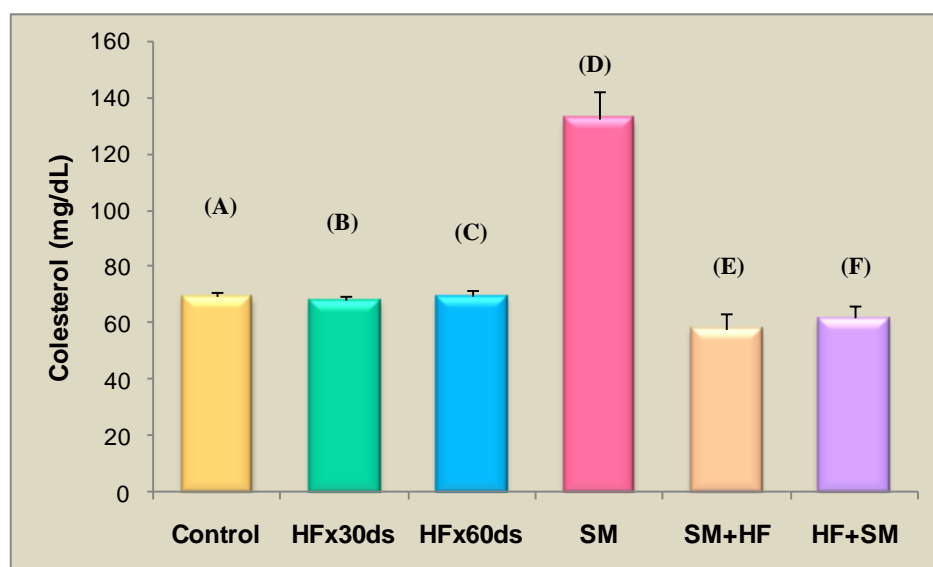


Figura 12: Colesterolemia en ratas con SM, HF y la combinación de ambos modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (D): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Los resultados del patrón lipídico observado en nuestro modelo experimental: hipertrigliceridemia en ayunas, HDL disminuido e incremento de colesterol es característico del conjunto de entidades clínicas definidas por defectos en la tolerancia a la glucosa, DM2 y SM.

El tejido adiposo contiene diversas citoquinas relacionadas con la inflamación, entre ellas adiponectina, cuya concentraciones disminuidas contribuyen a IR. Los resultados en la Figura 13 muestran las variaciones plasmáticas de adiponectina en los diferentes grupos estudiados. Se observó una disminución significativa en los grupos (B) ($7,45 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,43$) y (C) ($6,79 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,18$) respecto al control (A) ($11,17 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,11$) ($p < 0,001$). Sin embargo la disminución de los grupos (D) ($8,34 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,2$), (E) ($8,64 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,32$) y (F) ($9,57 \text{ } \mu\text{g/dL} \pm 0,28$) en comparación con el grupo control (A) fue significativamente menor ($p < 0,01$). También se observó valores disminuidos significativamente en el grupo (C) respecto a (F), expresando la participación del componente inflamatorio y la relación directa entre el

valor aumentado de insulina asociado a la disminución de adiponectina en el grupo con SM, lo cual estaría indicando la insulinoresistencia característica de este síndrome.

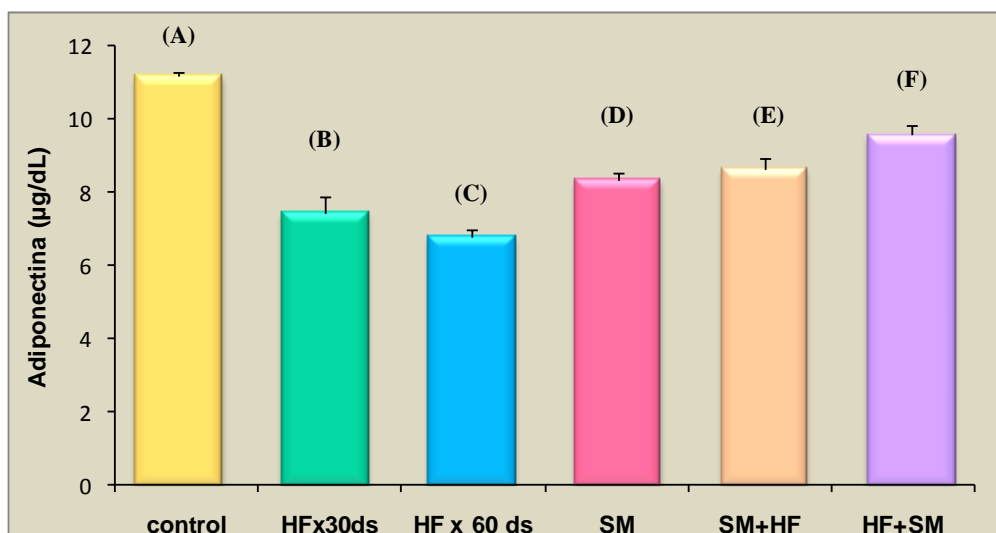


Figura 13: Evaluación de las concentraciones plasmáticas de adiponectina en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (C): $p < 0,001$; (A) vs. (D), (E), (F): $p < 0,01$; (B) vs. (F): $p < 0,01$; (C) vs. (D), (E): $p < 0,01$; (C) vs. (F): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
 SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Niveles plasmáticos de fibrinógeno, óxido nítrico, L-citrulina y actividad enzimática de superóxido dismutasa en lisado de glóbulos rojos en ratas con SM y HF inducido experimentalmente.

Los resultados de las variaciones plasmáticas de fibrinógeno se muestran en la Figura 14. Como puede observarse tanto en el grupo con HF x 30 días (B) (266 mg/dL \pm 13) inducida como así también el grupo con SM (D) (292 mg/dL \pm 11) experimental y los grupos SM + HF (E) (286 mg/dL \pm 16) y HF + SM (F) (295 mg/dL \pm 18) se determinó un incremento significativo de fibrinógeno cuando se los comparó con el grupo control (A) (203 mg/dL \pm 9) ($p < 0,01$). En los animales con HF x 60 días (C) (359 mg/dL \pm 11,7) se generó un aumento significativo en los niveles de fibrinógeno comparado con el lote control (A) ($p < 0,001$).

Similar comportamiento se observó en las concentraciones de fibrinógeno entre los grupos (B) y (C) ($p < 0,01$) demostrando que a medida que la injuria tisular persiste la HF se mantiene e incrementa significativamente en el tiempo. Además, se evidenció que la combinación de factores proinflamatorios presentes en los grupos (D), (E) y (F) respecto al grupo (C) modificaron los valores de fibrinógeno de manera significativa ($p < 0,01$).

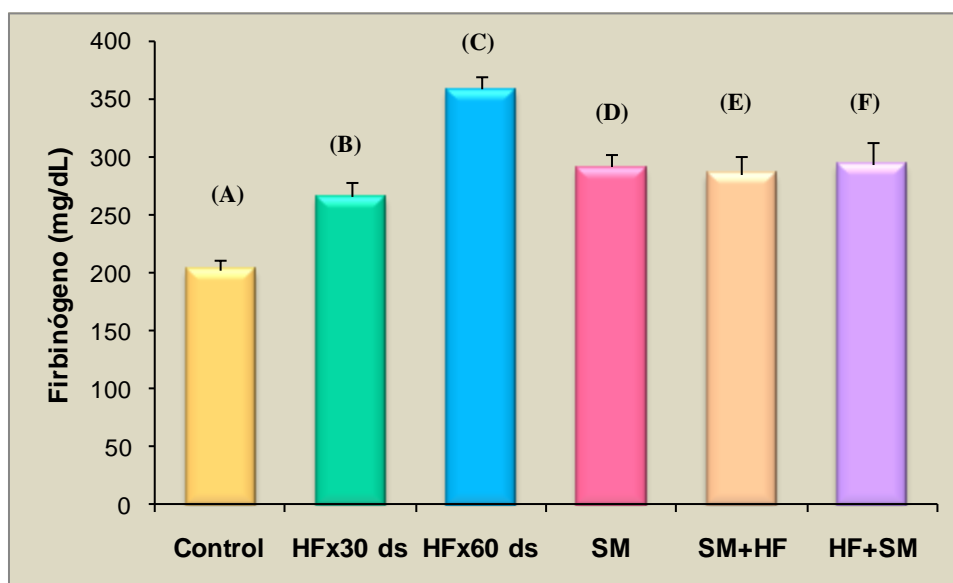


Figura 14: Análisis de las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (D), (E) y (F): $p < 0,01$; (A) vs. (C): $p < 0,001$; (B) vs. (C): $p < 0,01$; (C) vs. (D), (E) y (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)
 SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

En la Figura 15 se observan las modificaciones plasmáticas de NO en todos los grupos estudiados. La biodisponibilidad de NO disminuyó significativamente en los grupos HF x 30 días (B) ($15,1 \mu\text{M} \pm 1,7$), HF x 60 días (C) ($18,83 \mu\text{M} \pm 1,5$), SM + HF (E) ($14,76 \mu\text{M} \pm 1,05$) y HF + SM (F) ($18,26 \mu\text{M} \pm 1,6$) respecto al grupo control (A) ($23,58 \mu\text{M} \pm 1,4$) ($p < 0,01$ respectivamente). Cuando se analizó el grupo con SM inducido (D) ($8,7 \mu\text{M} \pm 1,2$) comparado al control (A) se evidenció una disminución significativa ($p < 0,001$). Similar comportamiento

presentaron los grupos (B), (C), (E) y (F) al compararlos con (D) ($p < 0,01$), demostrando que los factores proinflamatorios inducen estrés oxidativo. Las mediciones plasmáticas de L-citrulina en los grupos estudiados se muestran en la Figura 16. Cuando se analizaron los resultados de L-citrulina, aunque es una molécula equimolar del NO, demostró un comportamiento en su síntesis plasmática diferente al mismo. Las concentraciones aumentaron significativamente en todos los grupos estudiados en diferentes condiciones experimentales: (B) ($4,24 \text{ mM} \pm 0,14$), (C) ($4,56 \text{ mM} \pm 0,09$), (D) ($4,01 \text{ mM} \pm 0,1$), (E) ($3,9 \text{ mM} \pm 0,12$), (F) ($4,1 \text{ mM} \pm 0,2$) respecto al grupo control (A) ($3,03 \text{ mM} \pm 0,13$) ($p < 0,01$), mientras que al comparar los grupos (B), (C), (D), (E) y (F) entre sí no mostraron diferencia significativa.

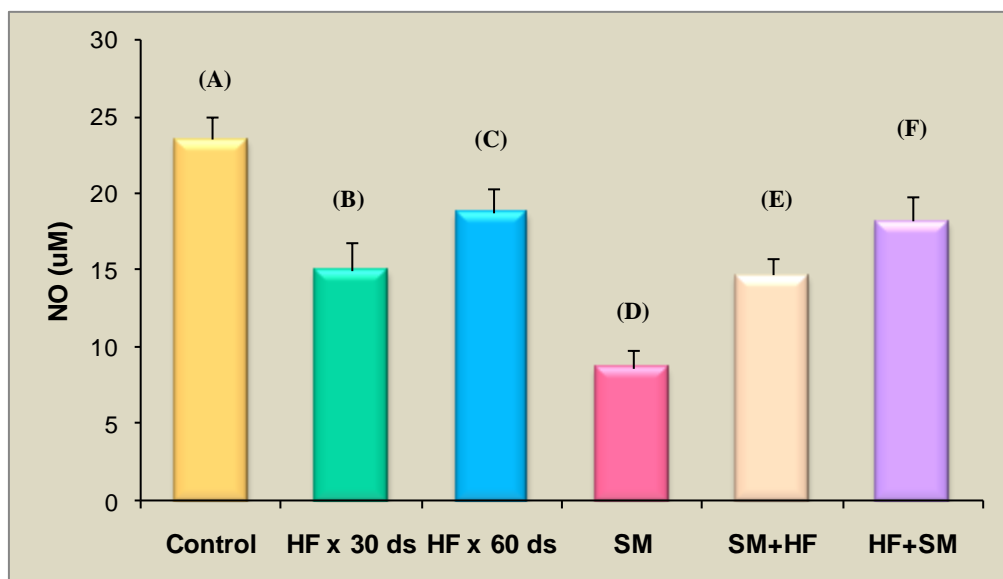


Figura 15: Modificaciones plasmáticas de NO en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (C), (E) y (F): $p < 0,01$; (A) vs. (D): $p < 0,001$; (D) vs. (B), (C), (E) y (F): $p < 0,01$.

(n=12 por grupo)

NO: (óxido nítrico), SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

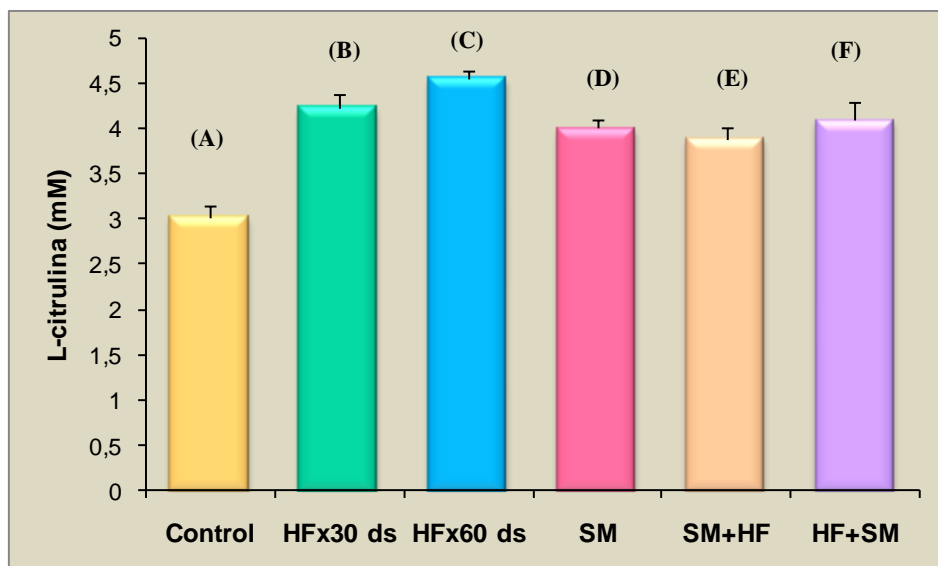


Figura 16: Mediciones plasmáticas de L-citrulina en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (C), (D), (E) y (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)
 SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Los resultados de la actividad enzimática de SOD en lisado de glóbulos rojos en ratas se observan en la Figura 17.

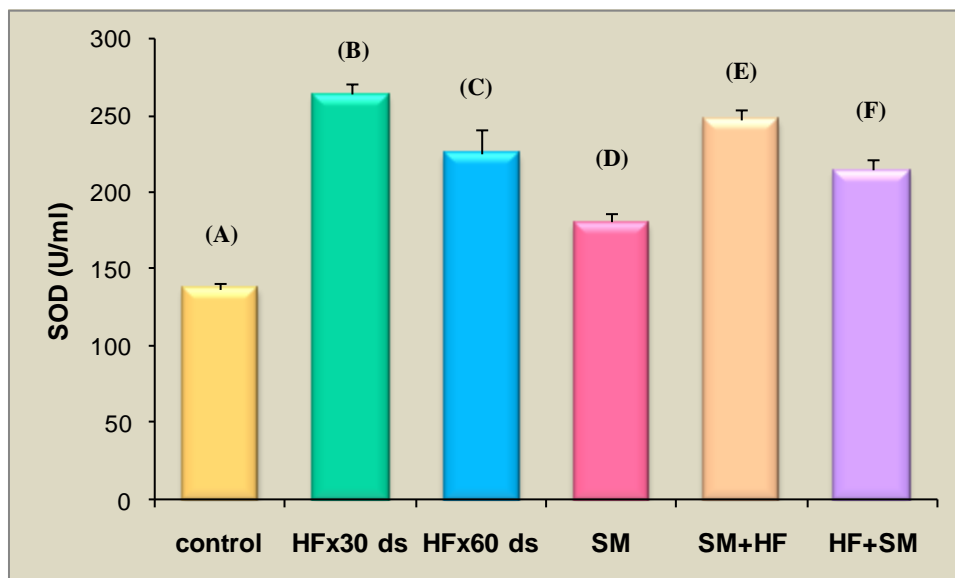


Figura 17: Análisis de la actividad enzimática de SOD en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (C), (E) y (F): $p < 0,001$. (A) vs. (D): $p < 0,01$. (D) vs. (B), (C), (E) y (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)
 SOD: (superóxido dismutasa); SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

La persistencia del estímulo inflamatorio y oxidativo en los grupos con HF x 30 días (B) (264 U/mL \pm 7,6), HF x 60 días (C) (226 U/mL \pm 15), SM + HF (E) (248 U/mL \pm 6,26) y HF + SM (F) (215 U/mL \pm 7,3) generó un incremento significativo en la actividad enzimática de SOD cuando se los comparó con el grupo control (A) (138 U/mL \pm 3,6) ($p < 0,001$ respectivamente). Similar comportamiento se evidenció al contrastar el grupo con SM (D) (181 U/mL \pm 6) respecto al control (A) ($p < 0,01$). También se visualizó diferencia significativa en el comportamiento de la enzima al comparar los grupos (B), (C), (E) y (F) respecto a (D) ($p < 0,01$). Al analizar la actividad de SOD en los diferentes modelos experimentales, muestra que su nivel de síntesis es un indicador antioxidante endógeno de estrés oxidativo.

Valoración anatomopatológica de aorta torácica en ratas con HF y SM inducido experimentalmente.

Para determinar la repercusión a nivel vascular de HF y de SM, conjuntamente con la determinación de los marcadores plasmáticos se realizó el estudio de aorta torácica en los lotes con SM (D), SM+HF (E) y HF+SM (F).

Cuando se estudiaron los 300 cortes anatomopatológicos en el grupo SM (D), se observaron múltiples sectores de denudación endotelial y desorganización con cambios mixoides en la matriz extracelular en 265 de los 300 cortes estudiados (88,33%) (Figura 18) en comparación al lote SM + HF (E), que presentó similares lesiones en 291 de los 300 cortes analizados (97%) ($p < 0,003$) (Figura 19). Cuando los cortes analizados correspondieron al lote con HF + SM (F) las lesiones presentadas fueron similares a las del grupo (E) en 278 de los 300 cortes estudiados (92,66 %) (Figura 20) comparándolo al control ($p < 0,001$) (Figura 4). No se observaron diferencias significativas con respecto a las lesiones descritas en los cortes de los grupos (B) y (C) respecto a los grupos (D), (E) y (F). Cabe destacar que el desarrollo de éstas lesiones endoteliales han generado los cambios bioquímicos expresados por los biomarcadores estudiados cuyos resultados indican

disfunción endotelial que se produce durante las primeras etapas de aterosclerosis subclínica.

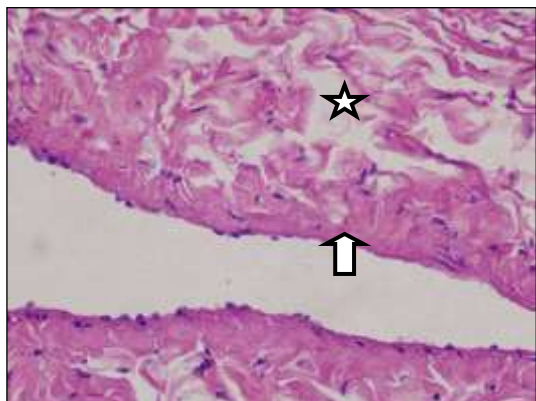


Figura 18: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote con SM. La MO muestra denudación endotelial (cabeza de flecha), desorganización y cambios mixoides en la matriz extracelular (estrella). (H-E X 60).

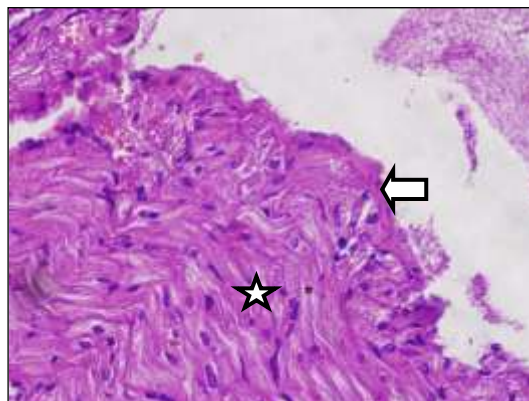


Figura 19: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote con SM + HF. La MO muestra denudación endotelial, desorganización de la lámina muscular interna (cabeza de flecha). (H-E X 60).

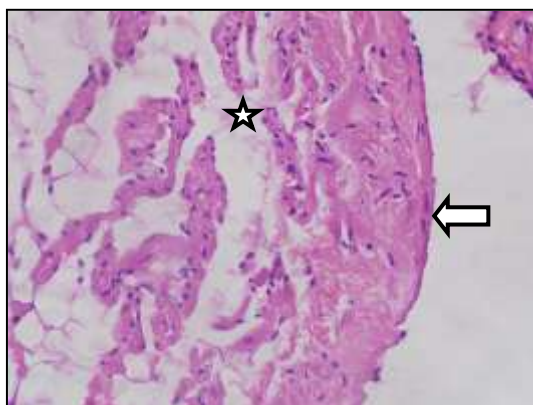


Figura 20: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote con HF + SM. La MO muestra denudación endotelial (cabeza de flecha), cambios mixoides en la matriz extracelular y desorganización de la lámina muscular interna (estrella) (H-E X 60).

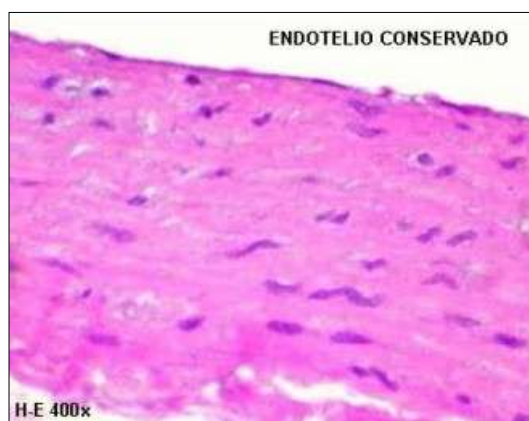


Figura 4: Corte histológico de aorta torácica correspondiente al lote control. La MO muestra: Endotelio indemnes y pared con varias capas limitantes elásticas (cabeza de flecha). (H-E X 400).

Lesiones histopatológicas analizadas por microscopía óptica de hígado en ratas con HF y SM inducido experimentalmente.

Cuando se analizaron las microfotografías de los cortes hepáticos de los animales con HF x 30 días (B) (Figura 21) y HF x 60 días (C) (Figura 22) no se evidenciaron alteraciones, es decir que dichos grupos sólo presentaron lesiones a nivel de la pared vascular aórtica. En contraposición, las modificaciones en el grupo con SM (D) (Figura 23) fueron binucleación en hepatocitos e infiltrado inflamatorio periporta en

13 de los 15 cortes estudiados (86,66%) comparados con el grupo SM + HF (E) (Figura 24) donde se observó colestasis y binucleación en hepatocitos en 11 de los 15 cortes estudiados (73,33%) ($p < 0,01$). El grupo con HF + SM (F) (Figura 25) evidenció en los cortes histológicos de hígado colestasis y congestión sinusoidal en 10 de los 15 cortes analizados (67%) observándose una diferencia significativo con respecto a (E) ($p < 0,01$), en estos dos últimos lotes también presentaron lesiones a nivel vasculoendotelial asociadas. Los cortes histopatológicos de los grupos (D), (E) y (F) analizados presentaron diferencia significativa con respecto al control (A) ($p < 0,001$) (Figura 3).

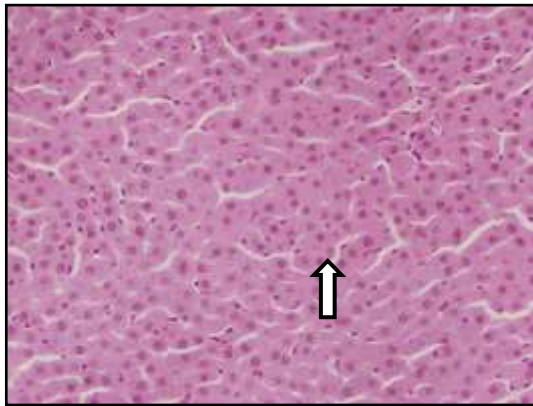


Figura 21: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con HF x 30 días. La MO muestra histología hepática normal (H-E X 40).

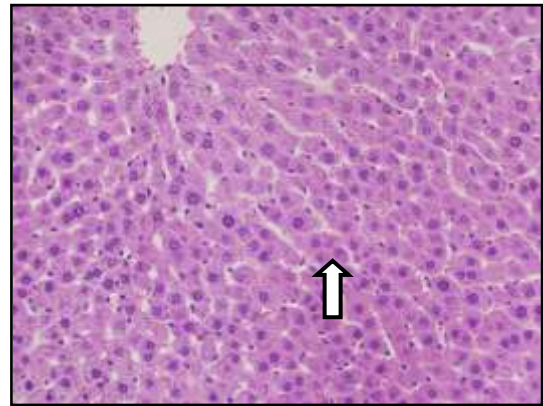


Figura 22: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con HF x 60 días. La MO muestra histología hepática normal (H-E X 40).

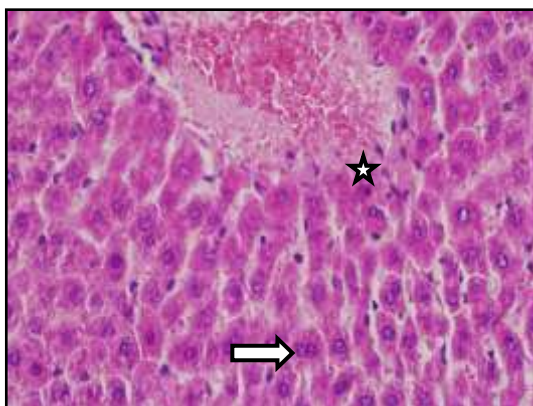


Figura 23: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con SM. La MO muestra binucleación (cabeza de flecha) e infiltrado inflamatorio periporta (estrella) (H-E X 60).

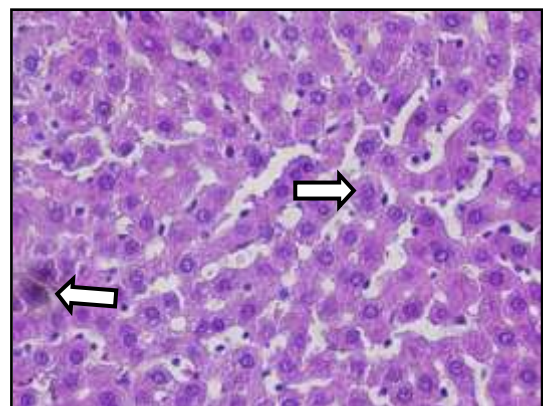


Figura 24: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con SM + HF. La MO muestra colestasis y binucleación (cabeza de flechas) (H-E X 60).

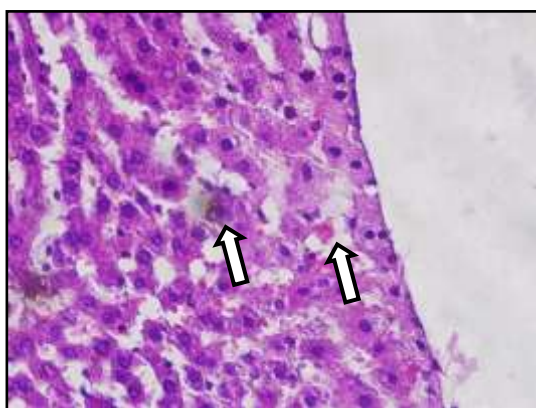


Figura 25: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales con HF + SM. La MO muestra colestasis y congestión sinusoidal (cabeza de flechas) (H-E X 60).

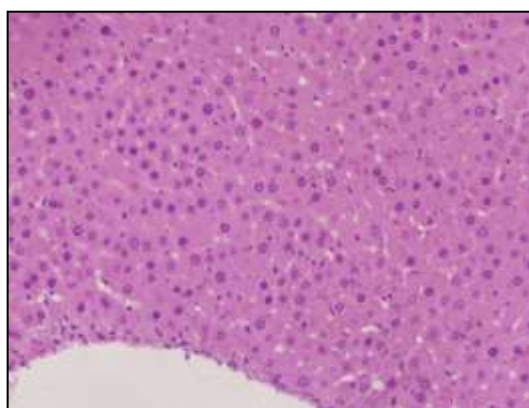


Figura 3: Corte histológico de hígado correspondiente al grupo de animales control. La MO evidencia histología hepática normal (H-E X 40).

Estudio de la morfología mitocondrial de células musculares lisas de aorta torácica de ratas con SM y HF inducidos y su asociación.

Cuando se analizó la microfotografía en el grupo control (A) (Figura 26) se observaron mitocondrias de forma, características y tamaño normal. Los resultados en el grupo con HF x 30 días (B) (Figura 27), mostraron un aumento del tamaño de la organela con dilatación del espacio intermembranoso y desorganización de las crestas, gránulos electrodensos posiblemente debidos a la entrada del ión Ca^+ que genera depósitos de sales insolubles cuando se lo comparó con el grupo (A). Mientras en el grupo con HF x 60 días (C) (Figura 28), al persistir la HF se evidenció tumefacción de la organela, aclaración de la matriz con vacuolas, ausencia de crestas y gránulos electrodensos, dichas alteraciones acentuaron los cambios morfológicos respecto al grupo (B).

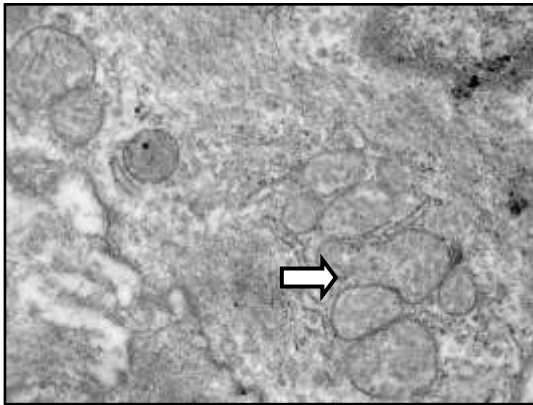


Figura 26: ME correspondiente al grupo control. Se observan mitocondrias de forma y tamaño normal (1-7um), sin alteraciones a nivel de las crestas (cabeza de flecha). (27800X).

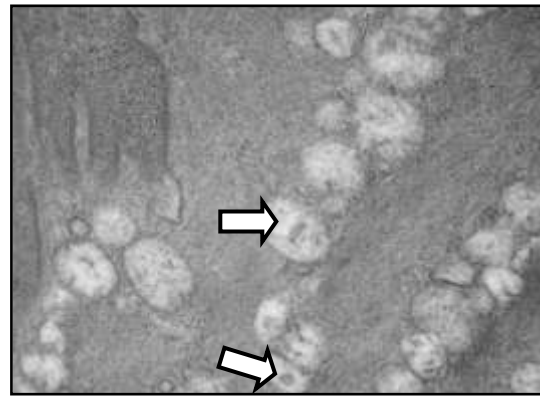


Figura 27: ME correspondiente al grupo HF x 30 días. Se observan mitocondrias con un aumento de tamaño, dilatación del espacio intermembranosos y desorganización de crestas con presencia de gránulos electrodensos (cabeza de flechas). (27800X).

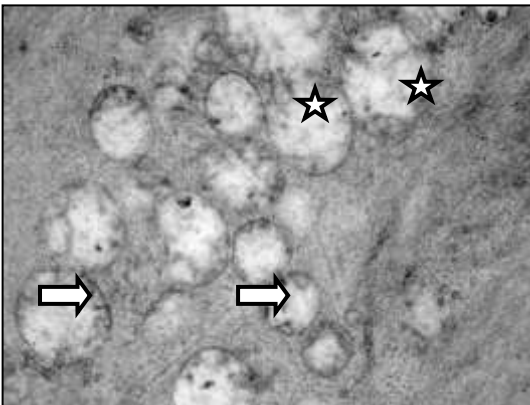


Figura 28: ME correspondiente al grupo HF x 60 días. Se evidencia tumefacción, aclaración de la matriz con vacuolas y sin crestas (estrellas) y gránulos electrodensos, tanto en membranas como en crestas (cabeza de flechas). (27800X).

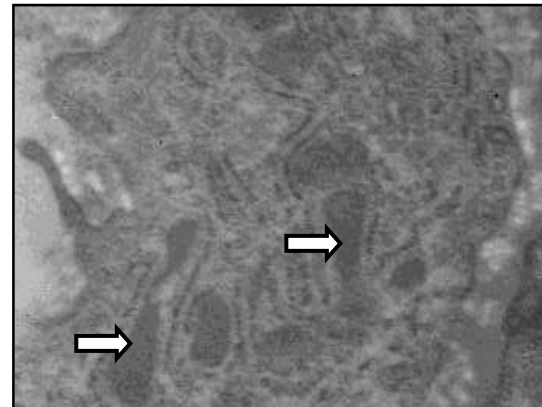


Figura 29: ME correspondiente al grupo con SM. Se observan agrupaciones mitocondriales con deformaciones estructurales y áreas de tumefacción (cabeza de flechas). (27800X).

Los resultados de los grupos con SM (D) (Figura 28), SM + HF (E) (Figura 29) e HF+ SM (F) (Figura 30), mostraron agrupaciones mitocondriales con deformaciones en su estructura, áreas de tumefacción y disminución de las crestas. Así mismo, se observaron alteraciones en la forma e irregularidades en el número de mitocondrias en todos los lotes. Como la mayoría de las células, las células de las capas musculares lisas contienen mitocondrias para la producción de ATP. Además, las mitocondrias tienen un papel central en el

mantenimiento del equilibrio normativo entre las concentraciones de calcio mitocondrial, ROS y NO. Por lo tanto, el daño a la mitocondria objetivado en los grupos con SM tendría repercusiones en el desarrollo de dicha patología.

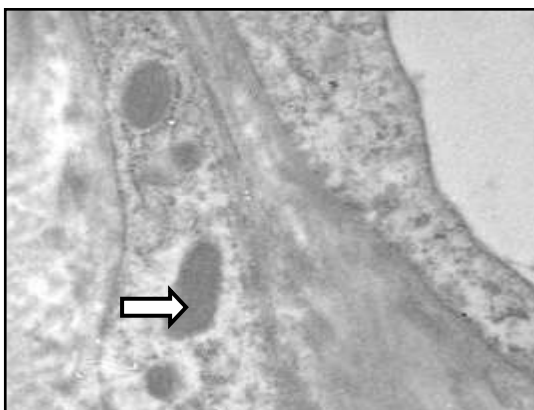


Figura 30: ME correspondiente al grupo SM+HF. Se evidencia disminución del número mitocondrial e irregularidades en la forma, no visualizándose crestas en su interior (cabeza de flecha). (27800X).

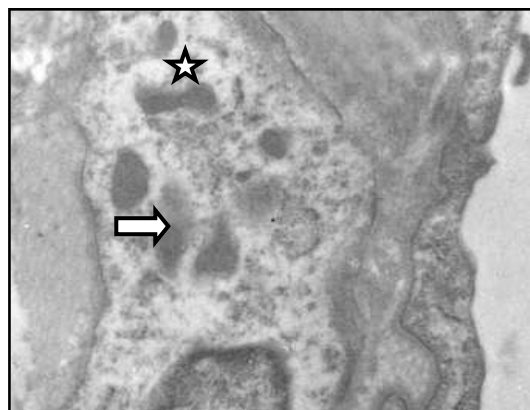


Figura 31: ME correspondiente al grupo HF + SM. Se observa aclaración de la matriz mitocondrial (cabeza de flecha), alteraciones en la forma y no se observan crestas (estrella). (27800X).

Análisis de la actividad enzimática mitocondrial en aorta torácica de ratas con SM y HF inducidos.

Conjuntamente con las alteraciones morfológicas mitocondriales descritas, se analizó la actividad enzimática de los complejos de la cadena transportadora de electrones.

Los resultados de la actividad enzimática de citrato sintasa (μmol de Co. A/min. mg de proteína) se muestran en la Figura 32.

La actividad de Citrato Sintasa disminuyó significativamente en los grupos HF x 30 días (B) ($0,27 \mu\text{mol}$ de Co A/min. mg de proteína $\pm 0,003$), HF x 60 días (C) ($0,21 \mu\text{mol}$ de Co A/min. mg de proteína $\pm 0,01$) y SM (D) ($0,25 \mu\text{mol}$ de Co A/min. mg de proteína $\pm 0,02$) al compararlos con el control (A) ($0,36 \mu\text{mol}$ de Co. A/min. mg de proteína $\pm 0,01$) ($p < 0,001$, respectivamente). De manera similar los grupos SM + HF (E) ($0,07 \mu\text{mol}$ de Co. A/min. mg de proteína $\pm 0,01$) y HF + SM (F) ($0,1 \mu\text{mol}$ de Co. A/min. mg de proteína $\pm 0,002$) disminuyeron su

actividad enzimática significativamente respecto al control ($p < 0,001$). Se observó diferencia significativa entre los grupos con HF x 60 días (C) cuando se lo comparó con HF x 30 días (B) y SM (D). La actividad enzimática disminuyó significativamente en los grupos (E) y (F) respecto a las cuantificaciones de los grupos (B), (C) y (D) ($p < 0,001$).

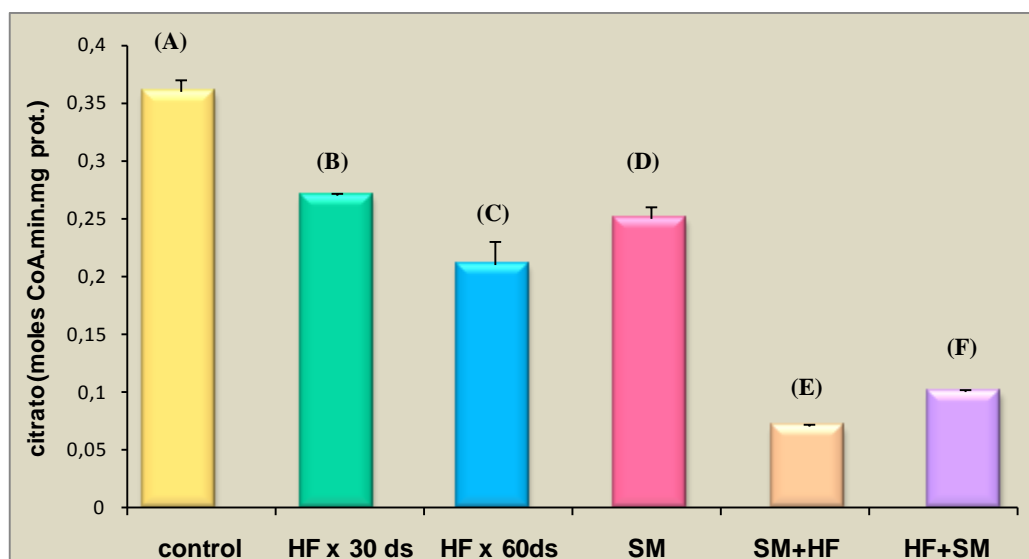


Figura 32: Actividad enzimática de citrato sintasa en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (C), (D): $p < 0,001$; (A) vs. (E), (F): $p < 0,001$; (C) vs. (B), (D): $p < 0,01$; (B) vs. (F), (E): $p < 0,001$; (C) vs. (F), (E): $p < 0,001$; (D) vs. (E), (F): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
 SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Actividad enzimática de los complejos de la Cadena Respiratoria (I a IV) en aorta torácica de ratas con SM y HF inducidos.

Los resultados de la actividad enzimática de NADH ubiquinona reductasa ó complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial (μmol de NADH/min. mg de proteína), se expresan en la Figura 33.

La actividad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial disminuyó de manera significativa en los grupos con HF x 30 días (B) ($0,025 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,001$), SM (D) ($0,02 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,002$), SM + HF (E) ($0,02 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,001$) y HF + SM (F) ($0,01 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,001$) cuando se los comparó respecto al

grupo control (A) ($0,0646 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,0031$) ($p < 0,001$, respectivamente). Similar comportamiento se observó entre los grupos HF x 60 días (C) ($0,0393 \mu\text{mol}$ de NADH/min. mg de proteína $\pm 0,002$) y el grupo (A) ($p < 0,01$). Incluso hubo disminución significativa en la actividad del complejo I en los grupos (B), (D) y (E) al compararlos con el grupo (C) ($p < 0,01$), objetivando similar comportamiento cuando se contrastó el grupo (F) con (C) ($p < 0,001$). Además, la actividad enzimática del complejo I evidenció una disminución significativa en el grupo (F) cuando fue comparado con los grupos (D) y (E) ($p < 0,01$) y no existió significación entre los grupos (D) y (E).

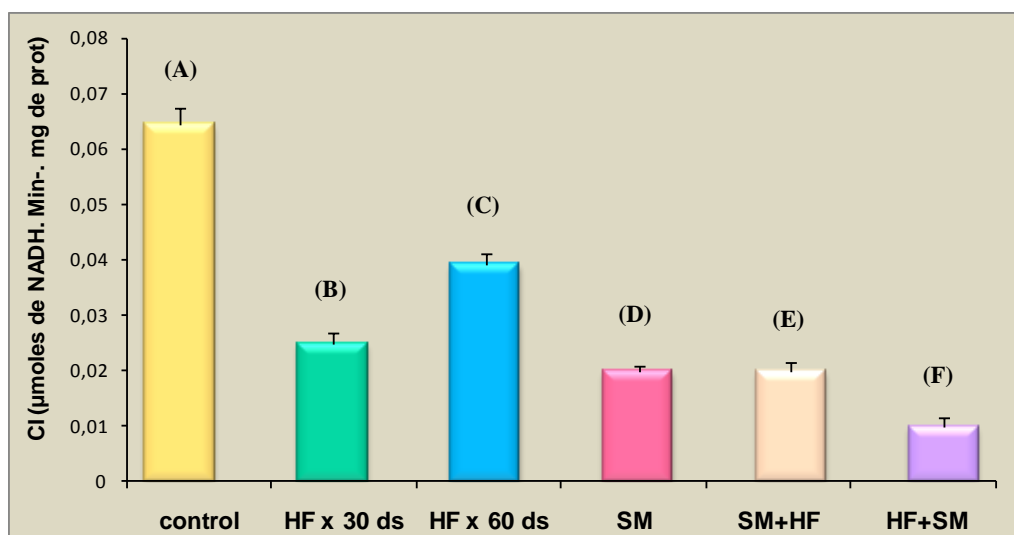


Figura 33: Actividad enzimática del complejo I en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B), (D), (E): $p < 0,001$; (A) vs. (C): $p < 0,01$; (B) vs. (C): $p < 0,01$; (B) vs. (F): $p < 0,01$; (C) vs. (D), (E): $p < 0,01$; (C) vs. (F): $p < 0,001$; (D) vs. (F): $p < 0,01$; (E) vs. (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)
SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Los resultados de la actividad enzimática de Succinato ubiquinona reductasa ó complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial (μM de succinato/min. mg de proteína), se exponen en la Figura 34.

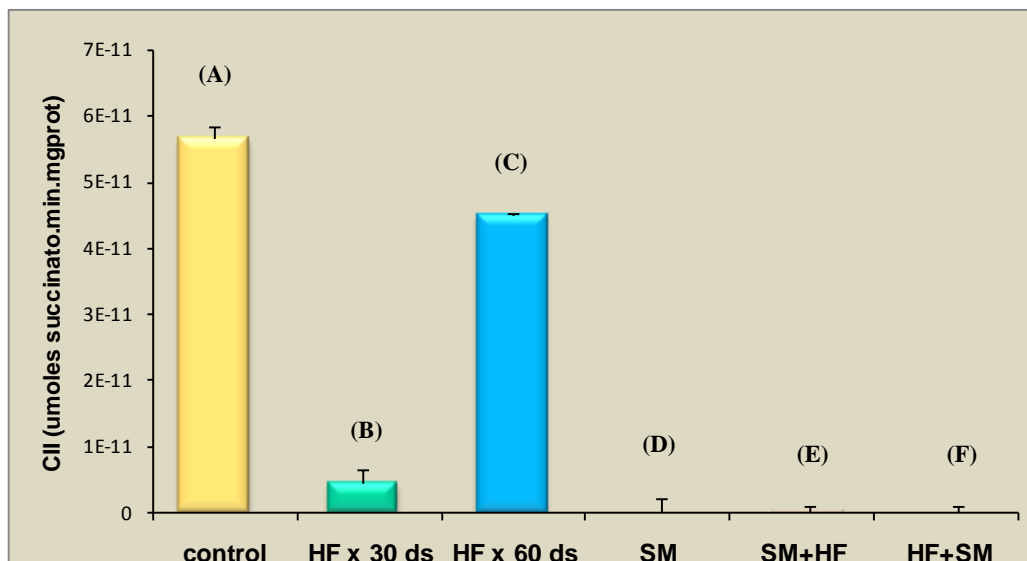


Figura 34: Actividad enzimática del complejo II en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME ± ES: (A) vs. (B), (D), (E), (F): $p < 0,0001$; (A) vs. (C): $p < 0,01$; (B) vs. (C): $p < 0,001$. (C) vs. (B), (D), (E), (F): $p < 0,001$. (n=12 por grupo)
 SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

La actividad del complejo II disminuyó de manera significativa en los grupos con HF x 30 días (B) ($4,42E-12 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 2,21E-12$), SM (D) ($6,4E-14 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 2E-12$), SM + HF (E) ($4,5E-14 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 2E-12$) y HF + SM (F) ($6,81 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 1E-12$) cuando se los comparó respecto al grupo control (A) ($5,66E-11 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 1,84E-12$) ($p < 0,0001$, respectivamente). Similar actividad se evidenció entre el grupo HF x 60 días (C) ($4,5E-11 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 2,21E-12$) respecto al control (A) ($p < 0,01$). Cuando se analizó la actividad enzimática del complejo II del grupo (C) se comprobó una disminución significativa respecto a los grupos (B), (D), (E) y (F) ($p < 0,001$, en los grupos respectivos).

Los resultados de la actividad enzimática de Citocromo c reductasa ó complejo III de la cadena respiratoria mitocondrial (μM ubiquinona/min. mg de proteína), se presentan en la Figura 35.

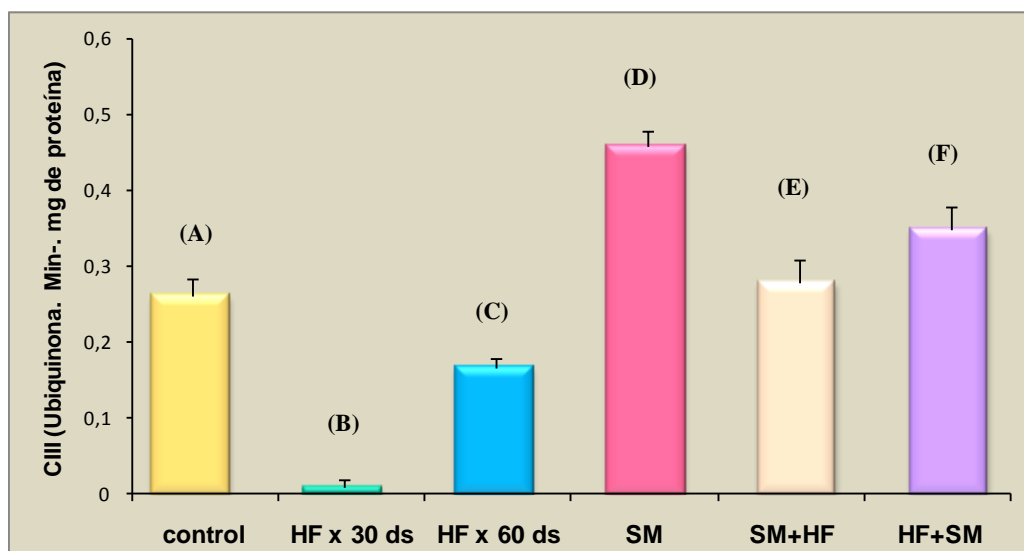


Figura 35: Actividad enzimática del complejo III en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B): $p < 0,001$; (A) vs. (C), (D): $p < 0,01$; (B) vs. (C): $p < 0,01$; (B) vs. (E), (F): $p < 0,001$; (B) vs. (D): $p < 0,0001$; (C) vs. (D): $p < 0,001$; (C) vs. (E), (F): $p < 0,01$; (D) vs. (E), (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)
SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

Cuando se analizó la actividad enzimática del complejo Citocromo c reductasa se evidenció una disminución significativa en los grupos HF x 30 días (B) ($0,01 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,01$) y HF x 60 días (C) ($0,1674 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,029$) respecto al grupo control (A) ($0,2617 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,022$) ($p < 0,001$ y $p < 0,01$, respectivamente). Diferente respuesta enzimática presentó el grupo SM (D) ($0,28 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,03$) cuya actividad incrementó significativamente respecto al grupo (A) ($p < 0,01$). También se observó un aumento en la actividad enzimática del complejo III en el grupo (C) respecto a (B) ($p < 0,01$), similar comportamiento presentó el grupo (D) al compararlo con los grupos (B) ($p < 0,0001$) y (C) ($p < 0,001$). Al realizar la asociación de ambos modelos experimentales se observó una disminución significativa en la actividad enzimática del complejo en los

grupos SM + HF (E) ($0,28 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,02$) y HF + SM (F) ($0,35 \mu\text{M}$ ubiquinona/min. mg de proteína $\pm 0,03$) al compararlos con el grupo (D) ($p < 0,01$, respectivamente). Por otra parte, diferente comportamiento se observó cuando se compararon los grupos (E) y (F) respecto a los animales estudiados en (B) y (C), donde la actividad enzimática de Citocromo c reductasa disminuyó significativamente ($p < 0,001$ y $p < 0,01$, en los grupos correspondientes). Por último, cabe destacar que la asociación de ambos modelos en los grupos (E) y (F) no mostraron diferencia significativa respecto al control (A).

Los resultados de la actividad enzimática de Citocromo C Oxidasa, complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial (μM de succinato/min. mg de proteína) se muestran en la Figura 36.

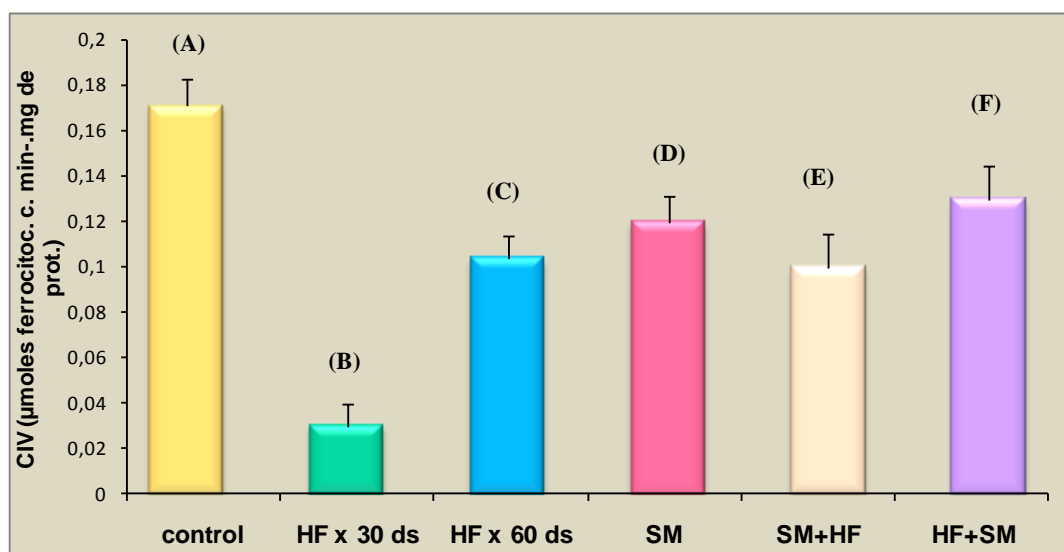


Figura 36: Actividad enzimática del complejo IV en ratas con SM, HF y la asociación de los modelos experimentales.

ME \pm ES: (A) vs. (B): $p < 0,001$; (A) vs. (C), (D), (E), (F): $p < 0,01$; (B) vs. (C), (D), (E), (F): $p < 0,01$. (n=12 por grupo)

SM: (síndrome metabólico); HF: (hiperfibrinogenemia)

El análisis de la actividad enzimática del complejo IV evidenció una disminución significativa en el grupo HF x 30 días (B) ($0,03 \mu\text{M}$ de succinato/min. mg de proteína $\pm 0,01$) respecto al grupo control (A)

(0,1712 μ M de succinato/min. mg de proteína \pm 0,012) ($p < 0,001$). Sin embargo, los demás grupos HF x 60 días (C) (0,1039 μ M de succinato/min. mg de proteína \pm 0,02), SM (D) (0,12 μ M de succinato/min. mg de proteína \pm 0,01), SM + HF (E) (0,1 μ M de succinato/min. mg de proteína \pm 0,011) y HF + SM (F) (0,13 μ M de succinato/min. mg de proteína \pm 0,015) presentaron una diferencia significativamente menor respecto al grupo control (A) ($p < 0,01$, respectivamente). Similar comportamiento presentó el grupo (B), evidenciando una disminución significativa en la actividad enzimática del complejo IV respecto a los grupos (C), (D), (E) y (F) ($p < 0,01$ respectivamente).

Modelo Clínico

Cuando se analizaron los resultados de los pacientes con SM, para su mejor comprensión se describen de acuerdo a las variables estudiadas.

La muestra estuvo constituida por 150 personas de las cuales 60 conformaron el grupo control (sanos) y los restantes 90 fueron pacientes con diagnóstico de SM. Para un análisis criterioso del factor de riesgo no modificable como es la edad, en los sujetos sanos y los pacientes con diagnóstico de SM se estratificó en tres subgrupos.

Los resultados de distribución de edad y sexo entre 25-40 años se presentan en la Figura 37.

Cuando se analizaron las variables demográficas se observó que el grupo con SM presentó una edad de $34,29 \pm 1,77$ años respecto al grupo control de $32 \pm 1,1$ años, demostrando la homogeneidad de edades analizadas en la muestra.

La distribución de este subgrupo en función del sexo, no muestra diferencia significativa entre los sujetos masculinos del grupo control (A) (58,82%) con respecto a los pacientes con SM (B) (62,96%).

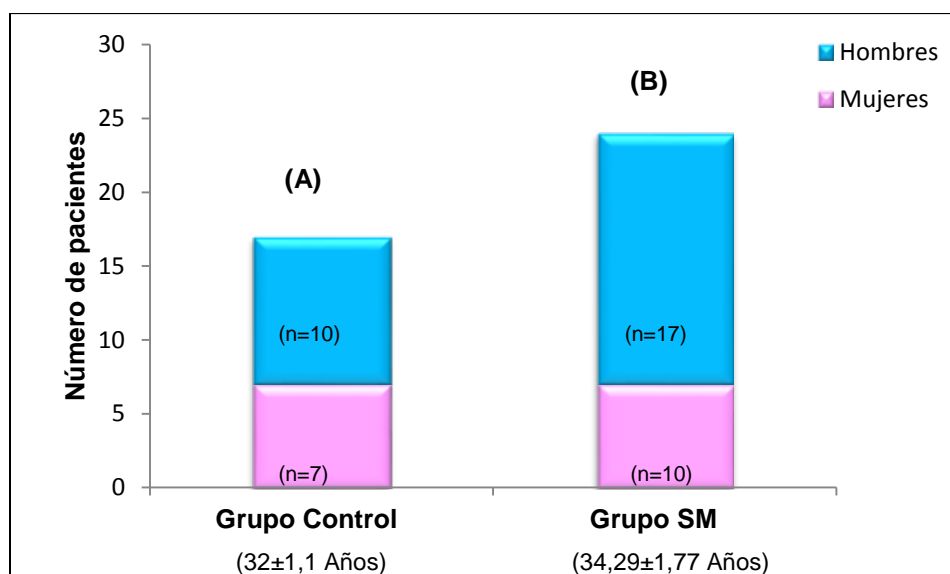


Figura 37: Distribución de los pacientes de acuerdo a factores de riesgo no modificables.

ME ± ES: Sexo y Edad: (A) vs. (B): NS. (n= 44)

Cuando se analizaron los resultados derivados de la medición de la circunferencia abdominal se observó una diferencia significativa entre los pacientes con SM (B) ($117,29 \pm 5,43$) respecto al control (A) ($79,56 \pm 1,71$) ($p < 0,01$), siendo este indicador un parámetro de diagnóstico para SM. En los pacientes con SM se objetivó que el 42,86% padecen de hipertensión arterial, mientras que el 57,14% de los pacientes de la muestra en este grupo etario no manifiestan hipertensión arterial, esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,02$).

Respecto a la variable DM2 se evidenció que 96,29% de los pacientes con SM, no padecían esta patología, sin embargo la circunferencia abdominal estaba incrementada y eran hipertensos, sólo un porcentaje de 3,71% padecían la enfermedad.

Los resultados respecto al tabaquismo en los pacientes con SM (B) muestran que la adhesión al cigarrillo fue de 14,29%, mientras que los no fumadores representaron un 85,71%.

Los pacientes con SM de este grupo etario presentan como indicadores modificados un incremento de la circunferencia abdominal, baja prevalencia de DM2 y HTA al igual que el tabaquismo. En el grupo control, los sujetos presentaron una CA dentro de rangos normales así como los otros parámetros, dado que era indispensable para el criterio de inclusión al grupo control.

Los resultados de las variables analizadas se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Análisis de variables diagnósticas para SM en pacientes entre 26-40 años.

Grupos (26-40 años)	Circunferencia abdominal (cm)	HTA (%)		DM2 (%)		Tabaquismo (%)	
		Si	No	Sí	No	Sí	No
Control (A) (n=17)	79,56 ± 1,71	-	100	-	100	-	100
SM (B) (n=27)	117,29 ± 5,43	42,8*	57,14*	3,71*	96,29*	14,29*	85,71*

ME ± ES: Circunferencia abdominal: (A) vs. (B): $p < 0,01$. HTA*: $p < 0,02$. DM 2*: $p < 0,001$. Tabaquismo*: $p < 0,001$.
(n= 44)

Cuando se analizaron los parámetros bioquímicos de SM se objetivó un incremento significativo en los niveles de glucemia (124 mg/dL ± 7,13) e hipertrigliceridemia (165,43 mg/dL ± 16,41) en el grupo SM (B) respecto al control (A) (82,11 mg/dL ± 2,98) (88,44 mg/dL ± 7,58) respectivamente, expresando ambas variables (p<0,001). Sin embargo, se observó que HDL disminuyó significativamente en SM (39,71 mg/dL ± 3,98) comparado al control (49,07 mg/dL ± 2,39) (p<0,01).

Los resultados analizados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Evaluación de los parámetros bioquímicos de Síndrome Metabólico en pacientes entre 26-40 años.

Grupos (26-40 años)	Glucemia (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
Control (A) (n=17)	82,11 ± 2,98	49,07 ± 2,39	88,44 ± 7,58
SM (B) (n=27)	124 ± 7,13	39,71 ± 3,98	165,43 ± 16,41

ME ± ES: Glucemia: (A) vs. (B) p<0,001; HDL: (A) vs. (B) p<0,01; Triglicéridos: (A) vs. (B): p<0,001.
(n= 44)

Los indicadores de Síndrome metabólico en el grupo con SM (B): insulinemia (26,43 uU/mL ± 3,23) y HOMA (4,79 ± 0,60) aumentaron significativamente con respecto al grupo control (A) (13,22 uU/mL ± 1,28) y (2,64 ± 0,30) respectivamente, obteniendo (p<0,02) para ambas variables, en tanto que colesterol total si bien incrementó su concentración en los pacientes con SM (175,63 mg/dL ± 2,02) comparado al control (167,43 mg/dL ± 3,57) (p<0,02), los valores se mantuvieron por debajo del gold estándar (200mg/dL). También se observa un aumento significativo de la

concentración de LDL en los pacientes con SM (B) (113,59 mg/dL \pm 4,62) respecto al grupo control (A) (98,14 mg/dL \pm 5,95) ($p < 0,02$).

Los resultados de las variables analizadas se visualizan en la Tabla 5.

Tabla 5: Variables bioquímicas asociadas a Síndrome Metabólico en pacientes entre 26-40 años.

Grupos (26-40 años)	Insulinemia (uU/mL)	*HOMA	Colesterol Total (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Control (A) (n=17)	13,22 \pm 1,28	2,64 \pm 0,30	167,43 \pm 3,57	98,14 \pm 5,95
SM (B) (n=27)	26,43 \pm 3,23	4,79 \pm 0,60	175,63 \pm 2,02	113,59 \pm 4,62

ME \pm ES: Insulinemia, HOMA, Colesterol Total y LDL: (A) vs (B): $p < 0,02$. (n= 44)

Análisis de los biomarcadores inflamatorios en sujetos sanos y pacientes con SM entre 26-40 años.

Los resultados de las mediciones plasmáticas de fibrinógeno se exponen en la Figura 38.

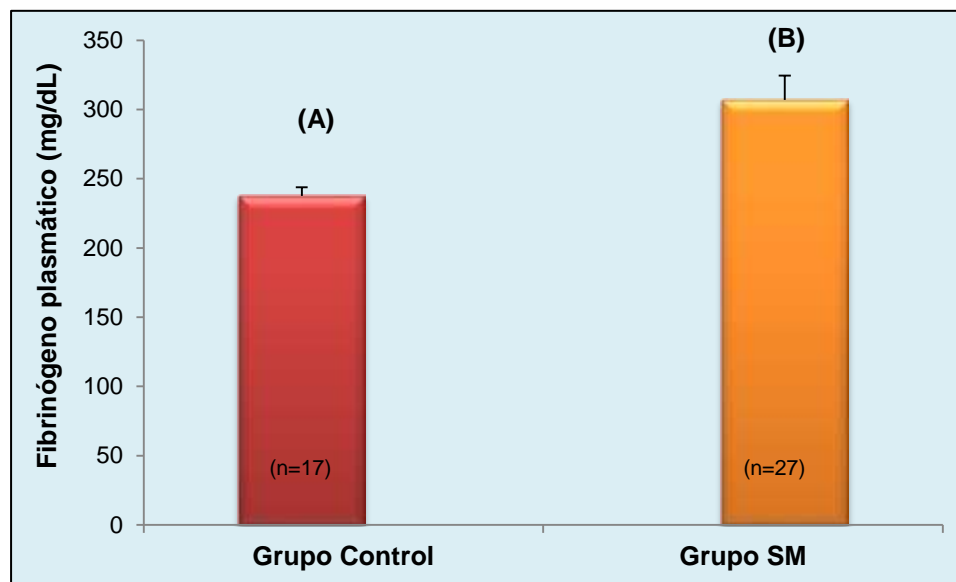


Figura 38: Variaciones plasmáticas de fibrinógeno en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME \pm ES: (A) vs. (B): $p < 0,001$. (n= 44)

En este rango etario se observa hiperfibrinogenemia significativa en los pacientes con SM (B) (306,96 mg/dL \pm 17,47) comparados al grupo control (A) (237,56 mg/dL \pm 6,36) ($p < 0,001$). Cabe destacar que estos pacientes con SM (B) (13,37 μ M \pm 1,87) que expresan un estado proinflamatorio reflejado por el aumento de fibrinógeno, la biodisponibilidad de óxido nítrico disminuyó significativamente respecto al grupo control (18,06 μ M \pm 1,03) ($p < 0,01$). Estos resultados muestran la asociación entre el proceso epiinflamatorio y el estrés oxidativo desencadenado en los pacientes con SM.

La biodisponibilidad de NO se expresa en la Figura 39.

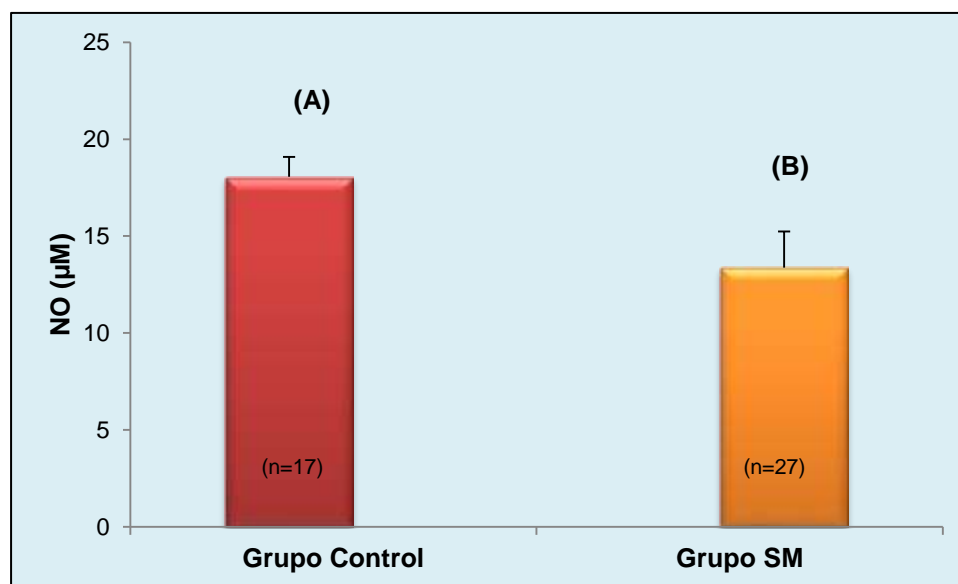


Figura 39: Modificación de óxido nítrico en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME \pm ES: (A) vs. (B): $p < 0,01$. (n= 44)

Los resultados de la actividad enzimática de SOD se exponen en la Figura 40.

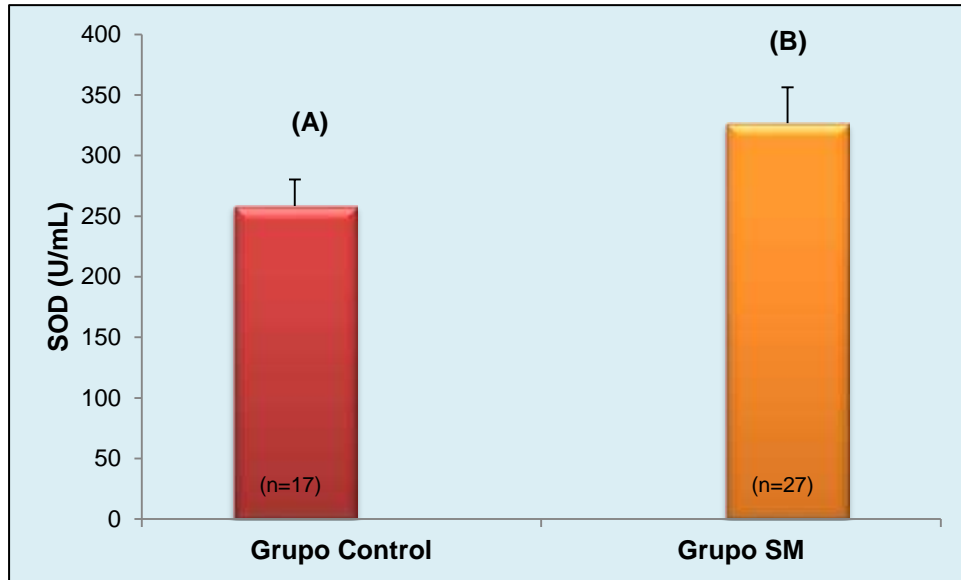


Figura 40: Actividad enzimática de superóxido dismutasa en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME \pm ES: (A) vs. (B): $p < 0,001$. (n= 44)

Al examinar la actividad enzimática de SOD se verificó un incremento significativo en este antioxidante endógeno en los pacientes con SM (B) (326,67 U/mL \pm 29,71) respecto al grupo control (A) (258,42 U/mL \pm 21,84) ($p < 0,001$).

Estudio de variables modificables y no modificables en pacientes entre 41-55 años.

En este rango etario cuando se observó la distribución de pacientes con SM (B₁), la diferencia es significativa respecto al sexo comparado al control (A₁) ($p < 0,02$), pero no hubo diferencia significativa al analizar la variable edad. Los resultados se muestran en la Figura 41.

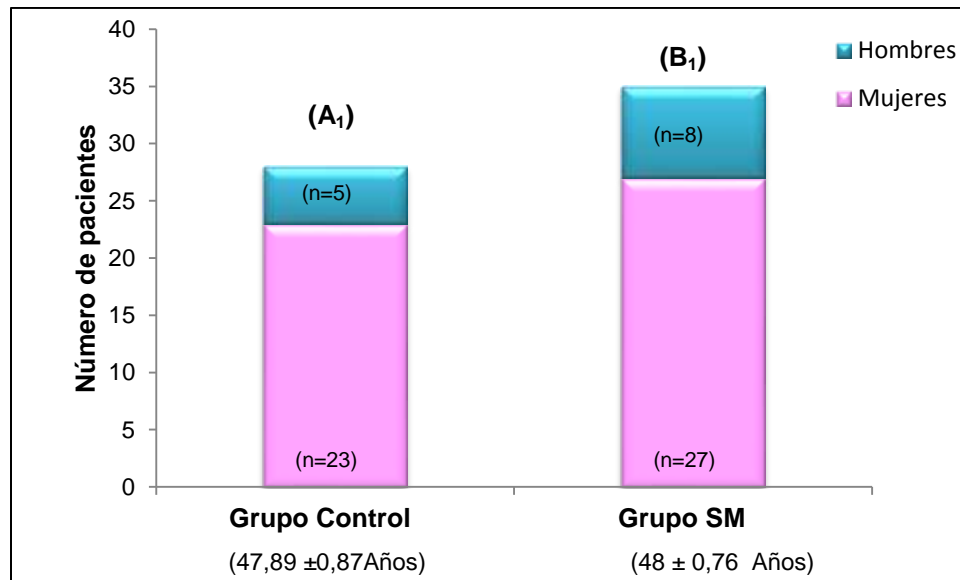


Figura 41: Distribución de los pacientes de acuerdo a las variables no modificables

ME ± ES: Sexo: (A₁) vs. (B₁): p<0,02; Edad: (A₁) vs. (B₁): NS. (n=63)

La circunferencia abdominal en los individuos con SM (B₁) ($100,76 \pm 1,84$) evidencia un incremento significativo de la misma comparado al control (A₁) ($85,36 \pm 2,22$) ($p < 0,001$) siendo un indicador positivo para dicha enfermedad. Los pacientes que conformaban el grupo con SM presentaron HTA (71,43%) marcando una diferencia significativa respecto a los normotensos (28,57%) ($p < 0,001$); similar diferencia se constató en este grupo cuando se mensuró diabetes, donde se observa mayor número de pacientes con SM y DM2 (82,86%) con respecto a los que no expresan la enfermedad (17,14%) ($p < 0,001$). El hábito tabaquismo presentó una diferencia significativa entre los pacientes con SM no fumadores (80%) respecto a los que consumían tabaco (20%) ($p < 0,001$). Los resultados mencionados se visualizan en la Tabla 6.

Tabla 6: Análisis de variables diagnósticas en pacientes entre 41-55 años.

Grupos (41-55 años)	Circunferencia abdominal (cm)	HTA (%)		DM2 (%)		Tabaquismo (%)	
		Sí	No	Sí	No	Sí	No
Control (A₁) (n=28)	85,36 ± 2,22	-	100	-	100	32,15	67,85
SM (B₁) (n=35)	100,76 ± 1,84	71,43*	28,57*	82,86*	17,14*	20*	80*

ME ± ES: Circunferencia abdominal: (A₁) vs. (B₁): p<0,001; HTA*: p<0,001; DM2*: p<0,001; Tabaquismo*: p<0,001. (n= 63)

En la tabla 7 se muestran los resultados de los parámetros bioquímicos de pacientes con SM. La concentración de glucemia en el grupo con SM (B₁) (125,72 mg/dL ± 11,08) fue estadísticamente significativa comparada al grupo control (A₁) (84,79 mg/dL ± 2,45) (p<0,001), este resultado se relaciona directamente con el porcentaje de diabetes tipo II analizado en la Tabla 6.

HDL, otro indicador de SM, en los pacientes con esta patología (B₁) (43,88 mg/dL ± 2,27) evidenció una disminución significativa respecto a los individuos control (A₁) (51,82 mg/dL ± 2,45) (p<0,02). Diferentes comportamiento se observó al analizar el nivel de triglicéridos en el grupo (B₁) (155,12 mg/dL ± 5,14) donde se observó un aumento estadísticamente significativo comparado al grupo (A₁) (101,32 mg/dL ± 7,62) (p<0,001).

Tabla 7: Evaluación de los parámetros bioquímicos de Síndrome Metabólico en pacientes entre 41-55 años.

Grupos (41-55 años)	Glucemia (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
Control (A₁) (n=28)	84,79 ± 2,45	51,82 ± 2,45	101,32 ± 7,62
SM (B₁) (n=35)	125,72 ± 11,08	43,88 ± 2,27	155,12 ± 5,14

ME ± ES: Glucemia: (A₁) vs (B₁): p<0,001; HDL (A₁) vs (B₁): p<0,02; Triglicéridos: (A₁) vs (B₁): p<0,001. (n= 63)

En la Tabla 8 se expresan los resultados de las variables bioquímicas en pacientes con SM.

El análisis de la variable insulinemia en el grupo con SM (24,50 uU/ml \pm 1,99) evidenció un incremento significativo en su concentración cuando se contrastó con el grupo control (13,93 uU/ml \pm 1,13) ($p < 0,001$). Similar comportamiento presentó el parámetro HOMA en los pacientes con SM (7,97 \pm 1,67) cuyo valor fue significativamente mayor respecto al control (3 \pm 0,30) ($p < 0,02$). Además, este grupo de pacientes con SM manifestó un incremento estadísticamente significativo de colesterol total (215,32 mg/dL \pm 7,05) y LDL (144 mg/dL \pm 5,99) al compararlo con los individuos control (190,43 mg/dL \pm 6,60); (123 mg/dL \pm 4,61) ($p < 0,01$, respectivamente).

Tabla 8: Variables bioquímicas asociadas a Síndrome Metabólico en pacientes entre 41-55 años.

Grupos (41-55 años)	Insulinemia (uU/mL)	*HOMA	Colesterol Total (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Control (A ₁) (n=28)	13,93 \pm 1,13	3 \pm 0,30	190,43 \pm 6,60	123 \pm 4,61
SM (B ₁) (n=35)	24,50 \pm 1,99	7,97 \pm 1,67	215,32 \pm 7,05	144 \pm 5,99

ME \pm ES: Insulinemia: (A₁) vs. (B₁): $p < 0,001$; HOMA: (A₁) vs (B₁): $p < 0,02$; Colesterol Total y LDL: (A₁) vs. (B₁): $p < 0,01$. (n= 63)

Análisis de los biomarcadores inflamatorios en pacientes control y pacientes con SM entre 41-55 años.

Asociado a esta condición metabólica, el parámetro proinflamatorio fibrinógeno, evidenció niveles plasmáticos incrementados significativamente en el grupo de pacientes con SM (293,38 mg/dL \pm 9,18) al compararlo con los individuos control (247 mg/dL \pm 8,3) ($p < 0,01$). Los resultados de la variable fibrinógeno se muestran en la Figura 42.

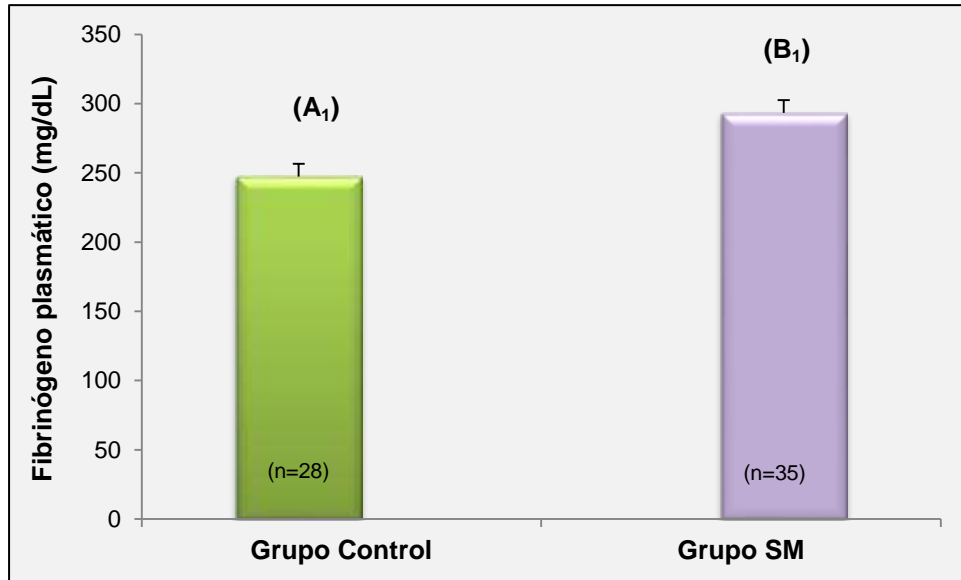


Figura 42: Niveles plasmáticos de fibrinógeno en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME ± ES: (A₁) vs. (B₁) p<0,01. (n= 63)

Por otra parte, al analizar las concentraciones de óxido nítrico que se exponen en la Figura 43, se verificó una disminución significativa en la biodisponibilidad de este marcador de estrés oxidativo en el grupo con SM (9,54 μ M ± 1,04) al contrastarlo con el grupo control (14,6 μ M ± 0,82) (p<0,001).

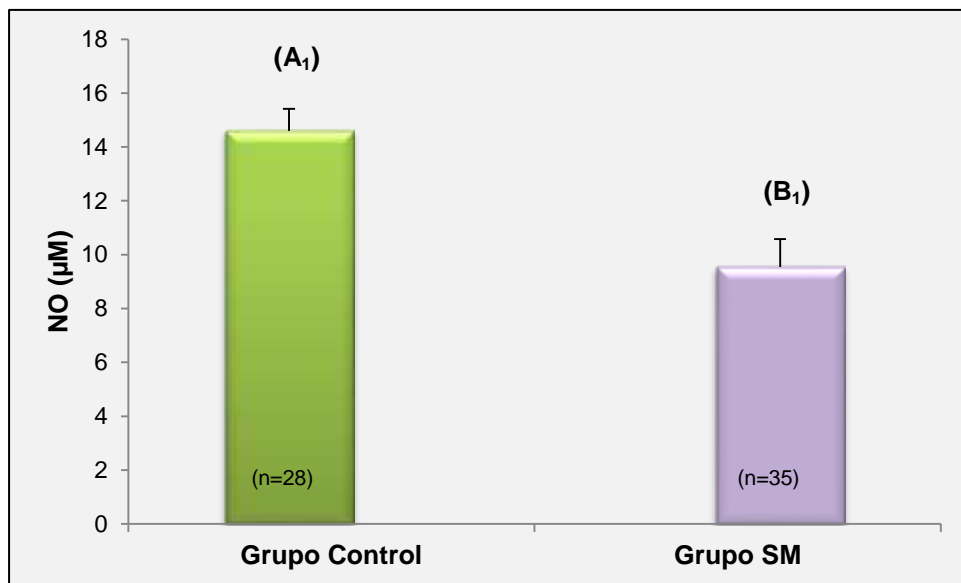


Figura 43: Concentraciones plasmáticas de óxido nítrico en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME ± ES: (A₁) vs. (B₁) p<0,001. (n= 63)

En la Figura 44 se muestran los resultados de la actividad enzimática de SOD en pacientes con SM.

Al analizar la respuesta enzimática de este antioxidante endógeno, se evidenció que el grupo con SM presentó un incremento significativo en su actividad ($344,05 \text{ U/ml} \pm 10,78$) cuando se comparó con el grupo control ($257,5 \text{ U/ml} \pm 21,09$) ($p < 0,001$).

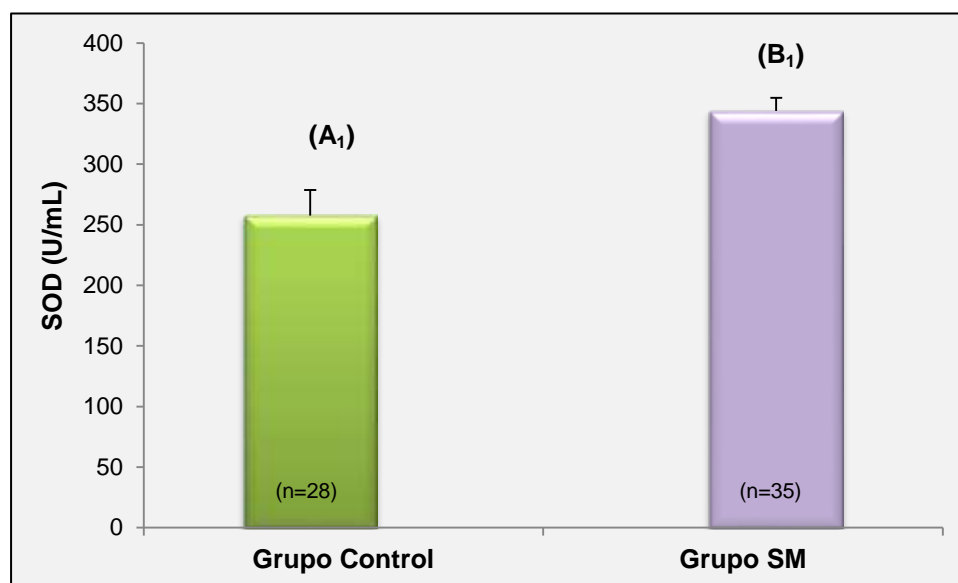


Figura 44: Actividad enzimática de superóxido dismutasa en pacientes con Síndrome Metabólico.

ME \pm ES: (A₁) vs. (B₁) $p < 0,001$. (n= 63)

Estudio de variables modificables y no modificables en pacientes entre 56-70 años.

En este estrato al analizar la distribución de pacientes con SM (B₂), no hubo diferencia significativa respecto a edad y sexo comparado al control (A₂). Los resultados se muestran en la Figura 45.

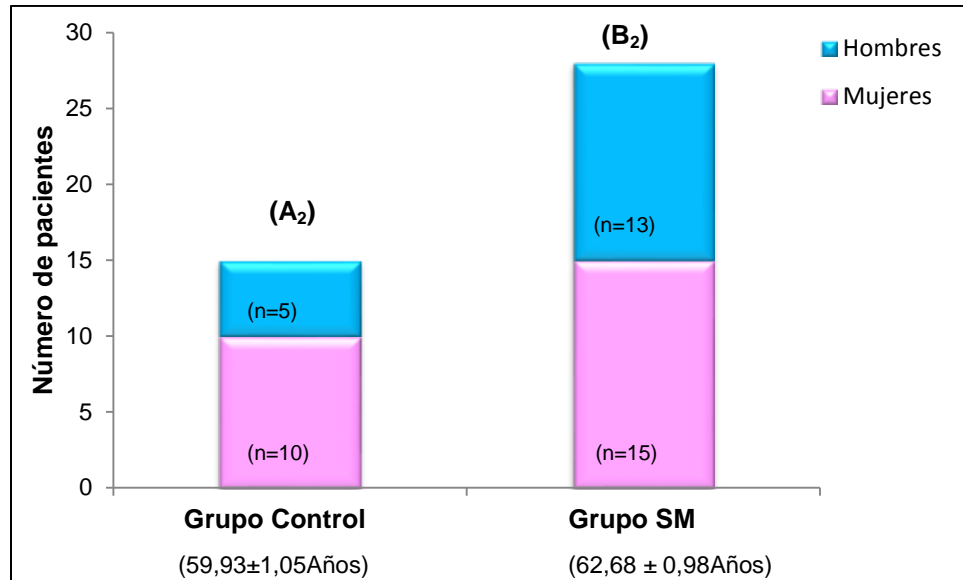


Figura 45: Distribución de los pacientes de acuerdo a las variables no modificables.

ME ± ES: Sexo y Edad: (A₂) vs. (B₂): NS. (n=43)

Al analizar la variable edad se observó que el grupo con SM presentó un promedio de 62,68 ± 0,98 años respecto al grupo control 59,93 ± 1,05 años, demostrando la homogeneidad de edades analizadas en la muestra.

La distribución de este subgrupo en función del sexo, muestra que existe un predominio de mujeres tanto en el grupo control (A₂) (66,66%) como en el grupo de pacientes con SM (B₂) (53,57%).

Tabla 9: Análisis de variables modificables en pacientes entre 56-70 años.

Grupos (56-70 años)	Circunferencia abdominal (cm)	HTA (%)		DM2 (%)		Tabaquismo (%)	
		Sí	No	Sí	No	Sí	No
Control (A ₂) (n=15)	83,33 ± 1,49	-	100	-	100	-	100
SM (B ₂) (n=28)	108,25 ± 1,51	82,14*	17,86*	71,43*	28,57*	10,71*	89,29*

ME ± ES: (A₂) vs. (B₂): p<0,001; HTA*: p< 0,001; DM2* y Tabaquismo*: p<0,01. (n=43)

En este subgrupo de pacientes, la circunferencia abdominal en los individuos con SM (B₂) (108,25 ± 1,51) presentó un incremento significativo respecto al control (A₂) (83,33 ± 1,49) (p<0,001). Los pacientes del grupo SM presentaron HTA (82,14%) marcando una diferencia significativa respecto a los normotensos (17,86%) (p<0,001); también se evidenció diferencia al comparar la prevalencia de DM2 observando mayor número de pacientes con SM y DM2 (71,43%) respecto a los que no expresan la enfermedad (28,57%) (p<0,01). En relación al tabaquismo, se constató una diferencia significativa entre los pacientes con SM no fumadores (89,29%) respecto a los que si presentaban el hábito (p<0,01). Los resultados mencionados se visualizan en la Tabla 9.

Tabla 10: Evaluación de los parámetros bioquímicos de Síndrome Metabólico en pacientes entre 56-70 años.

Grupos (56-70 años)	Glucemia (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
Control (A ₂) (n=15)	93,73 ± 3,10	55,27 ± 1,76	106 ± 9,68
SM (B ₂) (n=28)	127,89 ± 9,07	46,61 ± 2,60	150,96 ± 10,37

ME ± ES: Glucemia: (A₂) vs. (B₂): p<0,001; HDL y Triglicéridos (A₂) vs. (B₂): p< 0,01. (n=43).

En la tabla 10 se muestran los resultados de los parámetros bioquímicos de pacientes con SM. Los valores de glucemia en el grupo con SM (B₂) (127,89 mg/dL ± 9,07) fueron estadísticamente significativos comparados con grupo control (A₂) (93,73 mg/dL ± 3,10) (p<0,001). La variable HDL en los pacientes con SM (B₂) (46,61mg/dL ± 2,60) evidenció una disminución significativa respecto a individuos control (A₂) (55,27 mg/dL ± 1,76) (p<0,01). Al analizar la trigliceridemia en el grupo (B₂) (150,96 mg/dL ± 10,37) se observó un aumento estadísticamente significativo comparado al grupo (A₂) (106 mg/dL ± 9,68) (p<0,01).

Tabla 11: Variables bioquímicas asociadas a Síndrome Metabólico en pacientes entre 56-70 años.

Grupos (56-70 años)	Insulinemia (uU/mL)	*HOMA	Colesterol Total (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Control (A ₂) (n=15)	14,09 ± 1,71	3,26 ± 0,40	191,20 ± 12,94	117,20 ± 11,75
SM (B ₂) (n=28)	27,04 ± 2,75	8,36 ± 1,06	245,07 ± 8,99	145,96 ± 6,99

ME ± ES: Insulinemia: (A₂) vs. (B₂): p<0,001; HOMA: (A₂) vs. (B₂): p<0,01; Colesterol Total (A₂) vs. (B₂): p<0,001 y LDL: (A₂) vs. (B₂): p<0,01. (n=43)

En la Tabla 11 se expresan los resultados de las variables bioquímicas en pacientes con SM.

Insulinemia (27,04 uU/ml ± 2,75) (B₂) evidenció un incremento significativo en la concentración cuando se contrastó con el grupo control (A₂) (14,09 uU/ml ± 1,71) (p<0,001). El mismo comportamiento presentó el parámetro HOMA (8,36 ± 1,06) cuyo valor fue significativamente mayor respecto al control (A₂) (3,26 ± 0,40) (p<0,01). Colesterol total (245,07 mg/dL ± 8,99) incrementó en (B₂) comparado con el grupo control (A₂) (191,20 mg/dL ± 12,94) (p<0,001). También se observó un aumento significativo de la concentración de LDL en estos pacientes (B₂) (145,96 mg/dL ± 6,99) respecto al grupo control (A₂) (117,20 mg/dL ± 11,75) (p<0,01).

Análisis de los biomarcadores inflamatorios en pacientes control y pacientes con SM entre 56-70 años.

Las variaciones observadas respecto a los niveles plasmáticos de fibrinógeno evidenciaron aumento significativo en los pacientes con SM (B₂) (306,75 mg/dL ± 10,55) comparados al grupo control (A₂) (253,09 mg/dL ± 11,29) (p<0,001).

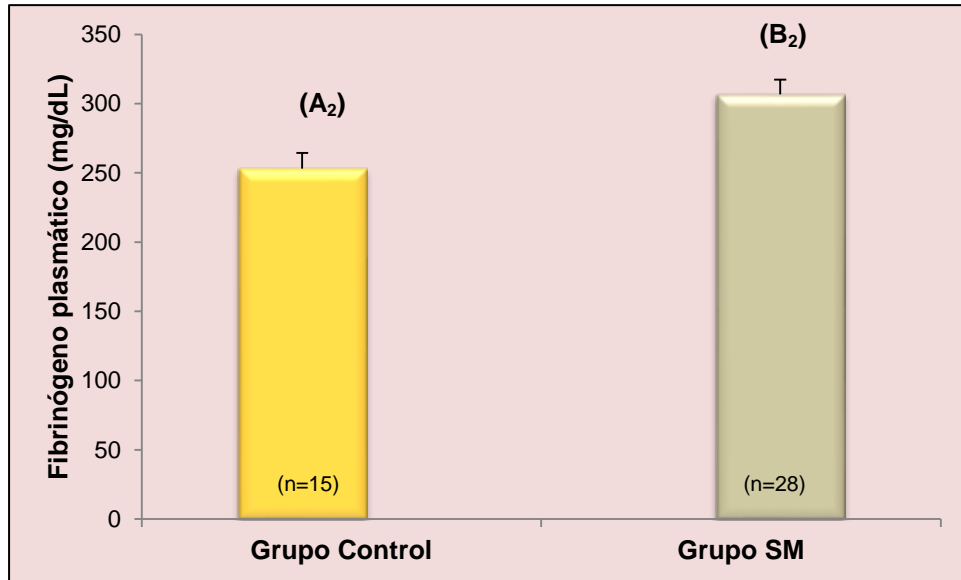


Figura 46: Modificaciones plasmáticas de fibrinógeno en pacientes con Síndrome Metabólico

ME ± ES: (A₂) vs (B₂): p<0,001. (n=43)

La biodisponibilidad de óxido nítrico disminuyó significativamente en el mismo grupo de pacientes (B₂) (10,76 μ M ± 1,12) respecto al grupo control (15,74 μ M ± 1,73) (p<0,01) reflejando el estado proinflamatorio característico del SM. La concentración de NO se expresa en la Figura 47.

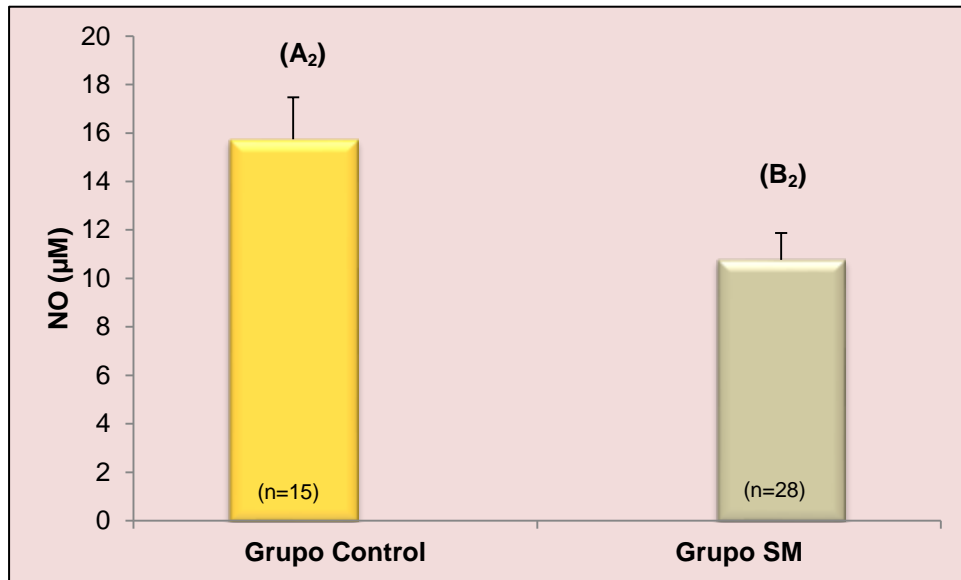


Figura 47: Variaciones plasmáticas de óxido nítrico en pacientes con Síndrome Metabólico

ME ± ES: (A₂) vs (B₂): p<0,001. (n=43)

Cuando se analizó el comportamiento de la enzima antioxidante SOD se observó un incremento significativo de la actividad antioxidante en los pacientes con SM (B₂) (308,27 U/mL ± 3,13) respecto al grupo control (287 U/mL ± 2,83) (p<0,001). Las modificaciones de la actividad enzimática de SOD se visualizan en la Figura 48.

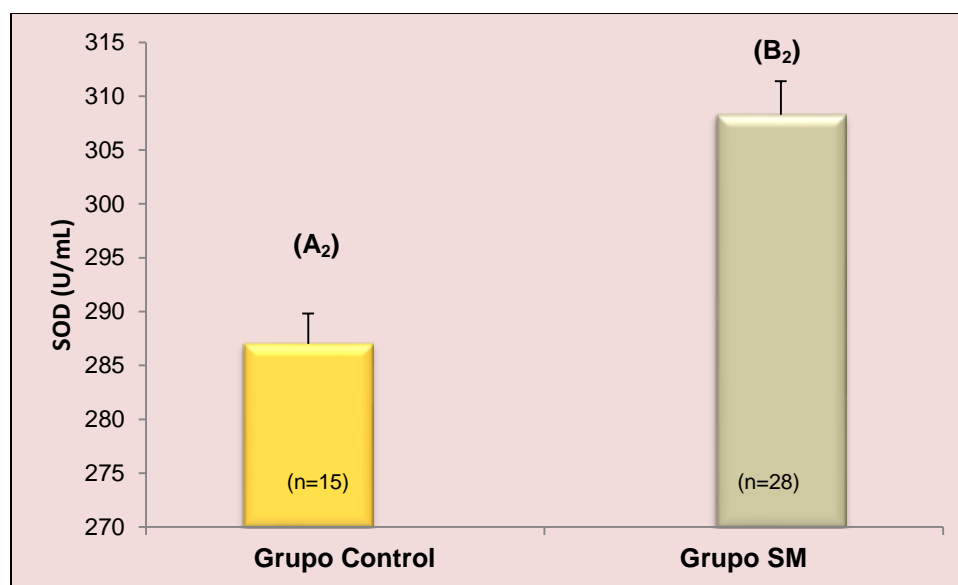


Figura 48: Actividad enzimática de superóxido dismutasa en pacientes con Síndrome Metabólico

ME ± ES: (A₂) vs (B₂): p<0,001. (n=43)

Por último, se analizaron los coeficientes de correlación entre los distintos biomarcadores inflamatorios en todos los pacientes con SM, observando que existe una correlación directa ($r = 0.91$) entre FP y SOD e inversa ($r = - 0.90$) entre FP y NO. Similar correlación inversa se objetivó al calcular el coeficiente entre las variables SOD y NO ($r = - 0.92$). Estos valores permitirían afirmar que la tendencia de los valores de FP, SOD y NO en todos los pacientes con SM es independiente de la edad, el sexo y de la presencia de otros factores de riesgo establecidos como la HTA, DM2 y el hábito de fumar, demostrando que el fenómeno inflamatorio reflejado a través del estrés oxidativo es un componente establecido de este síndrome, sin embargo los resultados demostraron que FP y SOD aumentaron y NO

disminuyó significativamente fundamentalmente a partir de los 50 años. El análisis de correlación de los biomarcadores descritos se muestra en la Figura 49.

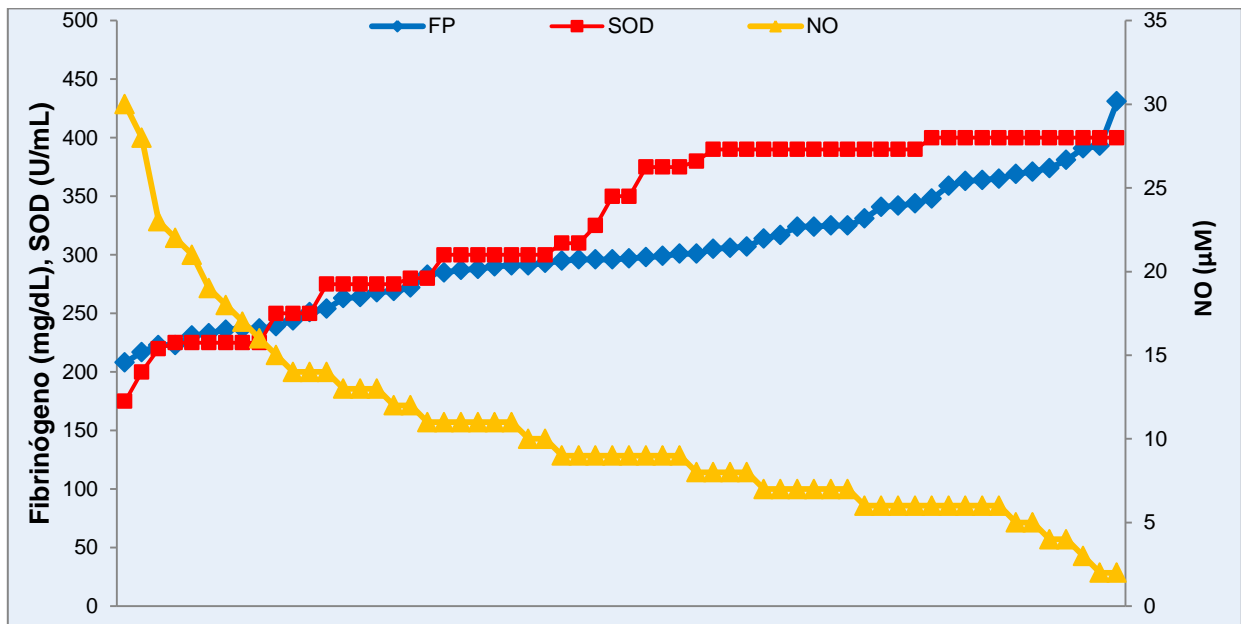


Figura 49: Correlación entre hiperfibrinogenemia, óxido nítrico y actividad enzimática de superóxido dismutasa en pacientes con Síndrome Metabólico.
FP: (Fibrinógeno Plasmático), SOD: (Superóxido Dismutasa), NO: (Óxido Nítrico).

DISCUSIÓN

En el modelo experimental de SM, los resultados demostraron que las ratas que reciben fructosa en el agua de bebida en forma crónica proveen un modelo útil para el diagnóstico de los factores que configuran SM, este se induce por cambios en la ingesta y expresa numerosas alteraciones similares al sujeto humano con SM (134). A diferencia de la glucosa, las dietas con niveles altos de fructosa, por ser moléculas pro-inflamatorias inducen en roedores, intolerancia a la glucosa, dislipemia por lipólisis, angiogénesis, disfunción endotelial, vasoconstricción, fibrinólisis y resistencia a la insulina (149; 150) tal como se demostró en nuestros resultados. La administración de fructosa al 10% generó en el grupo con SM inducido experimentalmente hiperglucemia, hipertrigliceridemia, disminución de niveles de HDL y aumento de niveles circulantes de colesterol total junto con hiperinsulinemia, corroborando que el modelo experimental presenta las manifestaciones características del SM (151). Además el cálculo del HOMA constituye un modelo útil para la cuantificación de la insulinoresistencia, reflejando la función de las células beta necesitando solamente una muestra de suero en ayuno (142; 152). En nuestros resultados se obtuvo un incremento del valor de HOMA en el grupo SM validando en el modelo experimental de SM la presencia de insulinoresistencia. Hipertensión Arterial, Diabetes y Obesidad son patologías comunes pero no independientes y su combinación se refleja en el SM (153). Múltiples mediadores inflamatorios anormalmente secretados por el tejido adiposo y la interrelación entre las células inmunes y metabólicas pueden afectar la señalización de la insulina e inducir estrés oxidativo y disfunción endotelial, que conduce a IR y ECV (154). La inflamación del hipotálamo, puede ser inducida experimentalmente por una dieta alta en grasa ó por la administración de fructosa (155) provocando hiperfagia y se ha documentado que perjudica la liberación de insulina de las células β y la acción periférica de la insulina. Por lo tanto, el exceso crónico de nutrientes, tales como lípidos y glucosa pueden

desencadenar simultáneamente respuestas inflamatorias, que interrumpen la función metabólica, generando estrés oxidativo, inflamación y SM. También se objetivaron alteraciones en la histología hepática consistentes en colestasis, congestión sinusoidal, binucleación e infiltrado inflamatorio periporta, compatibles con los primeros cambios de la Esteatosis Hepática No Alcohólica lo que corrobora las lesiones hepáticas características del SM (156).

EHNA se considera la enfermedad hepática más común en pacientes obesos y con SM (157; 158), el estrés oxidativo, la lipoperoxidación y la producción anormal de adipocitocinas proinflamatorias han sido ligadas al daño y apoptosis del hepatocito. Estudios experimentales han encontrado que adiponectina, una de las adipocitocinas que disminuye en el SM tal como se observa en los resultados, antagoniza el exceso de almacenamiento de lípidos en el hígado protegiendo contra la inflamación y la fibrosis, por lo que su disminución se asocia con la gravedad de la esteatosis hepática, necroinflamación y fibrosis. La llegada masiva de ácidos grasos libres al hígado vía portal, provenientes principalmente de la lipólisis del tejido adiposo visceral generan una disminución del clearance de insulina, expresándose hiperinsulinismo, incrementos en la gluconeogénesis reflejado como hiperglucemia y en la síntesis de VLDL responsable de la dislipidemia cuantificada (159; 160). La lipólisis de la grasa abdominal tiene especial importancia en la patogenia de EHNA (161), en efecto, la resistencia a la insulina, los niveles periféricos de adiponectina, la presencia de otras citocinas como TNF- α y IL-6, PCR, insulina y glucosa, permanecen invariables tras la eliminación de la grasa subcutánea. La reducción de la grasa visceral mejora la resistencia a la insulina y los restantes trastornos metabólicos asociados a EHNA (162), la misma es particularmente resistente a la acción de la insulina (163) y en consecuencia, es hidrolizada con más facilidad. Además, el hígado, al ocupar un lugar estratégico en la circulación portal, recibe directamente los ácidos grasos libres (AGL) liberados durante la lipólisis de la grasa abdominal. En animales con EHNA se puede comprobar que las

concentraciones plasmáticas de estos ácidos y del glicerol están muy aumentadas y que la insulina tiene una capacidad reducida para impedir la liberación de estos productos de la lipólisis (164).

Los AGL que llegan al hígado, activan al receptor nuclear PPAR α (*Peroxisome proliferator activated receptor*) induciendo la transcripción de numerosos genes implicados en el catabolismo y eliminación de los ácidos grasos (165). Este conjunto proteico interviene en la utilización de AGL, en la síntesis de triglicéridos induciendo esteatosis y en los fosfolípidos influyendo en la gluconeogénesis lo que se expresa en hiperglucemia; también modifican la oxidación en mitocondrias, en peroxisomas o en los microsomas y estas tres oxidaciones tienen gran trascendencia ya que pueden contribuir al estrés oxidativo celular. La interacción de estos mecanismos serían los responsables de la hiperfibrinogenemia, la disminución de la biodisponibilidad de NO y el aumento de la actividad de SOD demostradas en los resultados del estudio asociados a los cambios hepáticos observados. La hipertrigliceridemia mensurada en los animales con SM, se debería a la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos como consecuencia del ingreso de AGL al hígado en niveles superiores a las necesarias, por lo tanto el remanente es exportado a la circulación sanguínea (166).

Algunos autores sugieren que la inflamación del hígado y la IR podrían desempeñar un rol importante en el desarrollo de la disfunción endotelial y la aterosclerosis en los pacientes con EHNA, especialmente jóvenes y de mediana edad, quienes podrían beneficiarse de estrategias de prevención temprana para ayudar a disminuir el riesgo de desarrollar ECV manifiesta (167).

La aterosclerosis es una causa importante de muerte en los países desarrollados y con frecuencia debuta con un evento fatal; de ahí el interés en detectarla en sus etapas subclínicas (52). Existen evidencias de que aterogénesis es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por la acumulación progresiva de colesterol con participación de células inflamatorias tales como linfocitos, macrófagos, neutrófilos y mastocitos

(168); este componente inflamatorio participaría en la injuria endotelial reflejada por la hiperfibrinogenemia, factor asociado a la iniciación y progresión en la aterosclerosis subclínica (102). La hiperfibrinogenemia es un factor de riesgo emergente que se encuentra presente como un marcador biológico temprano reflejando el proceso inflamatorio que acompaña a la aterogénesis desde su estadio inicial (169; 170). Numerosos estudios epidemiológicos avalan la hipótesis de que concentraciones altas de fibrinógeno plasmático representan un factor de riesgo mayor para aterogénesis. En un estudio de personas sin enfermedad cardiovascular conocida con riesgo intermedio de padecerla, se determinó que la evaluación del nivel de fibrinógeno podría ayudar a prevenir un evento adicional durante un período de 10 años por cada 400 a 500 personas examinadas (171). Los niveles circulantes de fibrinógeno están reguladas en condiciones inflamatorias, por lo tanto serviría como un importante marcador de inflamación, siendo un predictor bien establecido de evolución de las enfermedades cardiovasculares como el infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y tromboembolismo venoso (71). Los resultados encontrados en nuestro modelo experimental de aterogénesis demostraron un incremento significativo del fibrinógeno plasmático en los grupos con aterogénesis inducida por HF x 30 y 60 días. Dichos resultados junto con los hallazgos de los cortes anatomopatológicos en los grupos con hiperfibrinogenemia inducida, justificarían la utilidad este biomarcador proinflamatorio en estadios tempranos de aterogénesis.

Asociado a HF, se encontraron valores plasmáticos de NO disminuidos el cual ejerce efectos como vasodilatador, antiagregante plaquetario, antioxidante, antiadherente y posee efectos antiproliferativos a nivel vascular (172). La liberación desregulada de esta molécula o alteraciones en la disponibilidad de su precursor L-arginina contribuirían al desarrollo de aterogénesis (173). La biodisponibilidad del NO disminuyó significativamente en los grupos con HF inducida reflejando la existencia de estrés oxidativo desencadenado por la hiperfibrinogenemia persistente

en el modelo experimental de ATS. Si bien la producción de L-citrulina es “x” molar con respecto a la producción de NO, el aumento en plasma observado en los grupos con HF inducida, se debería a un mecanismo fisiológico mediante el cual se intenta compensar la baja biodisponibilidad del NO en el proceso aterogénico llevado a cabo en las células de la pared vascular aórtica durante la iniciación del mismo y se asociaría a una biodisponibilidad sistémica disminuída de arginina, indicando una reducida capacidad de síntesis de NO y aumento de concentraciones de L-citrulina; este aumento de L-citrulina también se relacionaría con la presencia de estrés oxidativo (174).

Para compensar este desbalance oxidativo con aumento de indicadores proinflamatorios y prooxidantes, se verificaron niveles incrementados de SOD posiblemente para revertir el estrés oxidativo desencadenado por la hiperfibrinogenemia reforzando la defensa antioxidante endógena que posee el organismo; este aumento de SOD permitiría inferir que la disfunción endotelial de la pared vascular, inicialmente sería un estímulo para su síntesis y posteriormente descendería por saturación enzimática (175).

La disfunción endotelial es un factor común para el desarrollo de SM y ECV, una prolongada o exagerada activación endotelial conduce a la acumulación de ésteres de colesterol en el citoplasma de macrófagos transformándose en células espumosas proceso característico de las primeras etapas aterogénicas (176). Estos macrófagos también proliferan y amplifican la respuesta inflamatoria a través de la secreción de numerosos factores de crecimiento y citocinas, incluyendo TNF- α , IL-1 e IL-6 (177). Las células endoteliales (EC) normalmente resisten la adhesión de leucocitos pero la presencia de estímulos proinflamatorios, como son una dieta alta en grasas saturadas, obesidad, hiperglucemia, IR, hiperfibrinogenemia, disminución de adiponectinas y NO, aumento de actividad de SOD e hipertensión arterial, desencadenan la expresión endotelial de moléculas de adhesión como P-selectina y la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM -1), que modulan la unión de

monocitos y linfocitos circulantes, perpetuando y complicando la disfunción endotelial (178).

Los resultados histopatológicos han demostrado que HF inducida generó en las paredes de aorta torácica lesiones del tipo denudación endotelial, dejando el colágeno subyacente expuesto facilitando la agregación plaquetaria y reflejando además de la disfunción endotelial, la actividad inflamatoria focal a nivel de la pared vascular presente en la aterogénesis; también se observó engrosamiento de la íntima vascular, probablemente como resultado de una serie de estímulos fisiológicos que constituyen un intento del tejido para mantener condiciones normales de flujo, geometría arterial y resistencia al flujo en los segmentos vasculares dañados. Además en el lote con HF x 60 días, se observó un aumento en la matriz celular, cambios mixoides subendoteliales y protusión de la pared vascular hacia la luz de la aorta torácica; las lesiones descritas en el presente modelo experimental se corresponden al tipo II de la clasificación de Stary, que definidas microscópicamente, consisten sobre todo en macrófagos-monocitos que han acumulado lípidos en su interior que sumada a la denudación endotelial, dejan expuesto el colágeno subendotelial (179). Algunos autores postulan que el aumento de matriz extracelular podría deberse a varias causas relacionadas entre sí, y proponen que el fibrinógeno posee un potencial aterogénico que dependería de la molécula misma y de sus concentraciones hemáticas, o podría ser dependiente de alteraciones genéticas de la molécula o de sus modificaciones catabólicas (sistema fibrinolítico) y sus productos de degradación (180).

Además, como se observa en los resultados, cuando la evolución de la IR se acompaña de hiperinsulinismo compensador, aparece glucemia aumentada en ayunas desencadenada por factores metabólicos, aumento de AGL, lipotoxicidad y glucotoxicidad, y si esta expresión bioquímica se asocia conjuntamente con una predisposición genética, podría desarrollar diabetes. La hiperglucemia con hiperinsulinismo compensador presente en el SM, es causante de la glucosilación de las proteínas e inducción de

estrés oxidativo, facilitando la oxidación de lipoproteínas, la progresión aterogénica y al mismo tiempo reduciendo la capacidad antioxidante de las células, induciendo daño oxidativo al ADN, y aumento de la liberación de citocinas pro-inflamatorias (181).

La hiperglucemia observada en los grupos SM y HF + SM se asoció con un comportamiento similar de la insulinemia, la IR posee importancia central en el SM, debido a que un tercio de la población aparentemente sana es suficientemente resistente a la insulina como para desarrollar enfermedad clínicamente significativa. La IR se ha definido como una reducción de la actividad periférica de la insulina que resulta en disminución de la utilización de la glucosa, hiperinsulinemia en ayunas e incapacidad de mantener euglucemia (182). La insulina induce la expresión de la enzima óxido nítrico-sintetasa y este efecto es inhibido por las citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α , que se encuentran incrementadas e intervienen en la patogénesis del SM. La IR, evidenciada en nuestros resultados por el hiperinsulinismo y el HOMA en el grupo SM, se asocia frecuentemente con la disfunción endotelial y se ha propuesto que juega un papel importante en las enfermedades vasculares. Se ha demostrado en numerosos trabajos, la asociación existente entre dislipemia, DM 2 y SM como factor coadyuvante en el aumento del riesgo cardiovascular.

La hipertrigliceridemia significativa observada en los grupos con SM y SM + HF por 30 o 60 días estaría demostrando una concentración de triglicéridos ricos en lipoproteínas anómalas o modificadas lipoproteína-a, altamente aterogénicas y fuertemente asociada con estados protrombóticos. Por otra parte, la falta de acción inhibitoria de la lipólisis sobre los adipocitos produce una activación de la lipólisis de triglicéridos y la liberación a la circulación periférica de ácidos grasos libres. Tanto la hiperinsulinemia como estos ácidos grasos libres disminuyen la acción en el tejido adiposo de una enzima catalítica, la lipoproteinlipasa, generando un aumento de producción de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (183), evidenciando el incremento en plasma asociado a

marcadores inflamatorios, hiperglucemia e IR que acentúan el aumento de dicho parámetro bioquímico en forma significativa.

Cuando se analizaron los resultados de otro parámetro del perfil lipídico como es colesterol-HDL, se observó una disminución significativa en todos los grupos con SM, ATS inducida en ambos modelos analizados individualmente o combinados. Esta disminución se debería al efecto metabólico global de la IR que aumenta la lipólisis, con mayor disponibilidad de AGL, aumento la síntesis hepática de VLDL lo que sumado al componente inflamatorio de la aterogénesis inducida por HF acentuaría la disminución del factor protector vascular expresado por el HDL. Esta lipoproteína además del significativo papel en promover el eflujo de colesterol celular y el transporte inverso de colesterol (184; 185; 186) en sitios específicos de las membranas celulares llamadas caveolas en las células vasculares, HDL ejerce una actividad ateroprotectora mediante la prevención de la disfunción endotelial, proceso relevante en el desarrollo de la aterosclerosis. Esta protección de HDL se produce mediante la regulación entre la disminuida expresión de moléculas de adhesión celular (CAMs) y el aumento de la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) modificando la activación, liberación y biodisponibilidad de NO (187), pero cuando este mecanismo no funciona debido a la disminución de HDL circulante en plasma, se traduce en incremento de las propiedades relacionadas con inflamación, disbalance endotelial y mecanismos de aterotrombosis y fibrinólisis. Por otra parte, normalmente la formación inicial de HDL se secreta en partículas discoidales del hígado, cuando el mismo presenta alteraciones del tipo EHNA la síntesis de esta lipoproteína se vería afectada, así como la producción de los precursores: pre-beta-HDL, HDL tipo LpA-I o LpE, aceptor preferido de colesterol de los tejidos periféricos. También se modificaría la síntesis de la lipoprotein-lipasa cuya actividad es inducida por la insulina y la lipasa hepática responsable de la hidrólisis de los fosfoglicéridos de las HDL (188).

Si bien colesterol total no es indicador específico del SM se observó hipercolesterolemia en el grupo SM, resultado que muestra la relación inversa con HDL; al disminuir esta última lipoproteína se dificulta el transporte reverso de los ésteres de colesterol desde el tejido periférico hacia el hígado y por ende se expresa aumento de colesterol plasmático. Numerosas investigaciones han demostrado que el tejido adiposo intraabdominal promueve numerosas de las anormalidades presentes en el SM. El tejido adiposo también puede diferenciarse morfológica y funcionalmente en tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo pardo o marrón. En los individuos obesos se produce un notable aumento del TAB debido a hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos, el mismo había sido considerado tradicionalmente como un reservorio energético pasivo, donde la energía se acumula en forma de triglicéridos durante períodos de consumo alimentario excesivo y es movilizada cuando el aporte calórico es insuficiente como en períodos de ayuno o ejercicio prolongado. Sin embargo, algunos estudios recientes indican que el TAB es en realidad un órgano endocrino que secreta numerosas proteínas, denominadas colectivamente adipocitocinas (189). Estas proteínas desarrollan un papel autocrino importante para la fisiología del TAB y el control de la homeostasis energética, y están implicadas en diferentes alteraciones ligadas a la obesidad, incluidas las reacciones inmunológicas e inflamatorias (190). Entre las diferentes adipocitocinas, la adiponectina es una de las más interesantes por la creciente evidencia que la relaciona con el metabolismo hidrocarbonado y lipídico y con la carga aterogénica en los pacientes con SM. La unidad estructural básica de esta molécula es un trímero fuertemente asociado, formado por la unión de 3 monómeros mediante el dominio globular. Estos trímeros pueden asociarse a su vez en grupos de 4 a 6 mediante el dominio colágeno, formando estructuras altamente ordenadas u oligómeros. El estado de oligomerización de la adiponectina también es un factor importante en la regulación de su función (191). Así, el dominio globular sería importante para la estimulación de la oxidación de ácidos grasos en tejido muscular,

mientras los hexámeros y oligómeros activarían la señalización a través del factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B). Por tanto, todos los procesos en que los multímeros de adiponectina sufren una interconversión tendrán importancia fisiológica. Ciertos análisis funcionales han demostrado que la forma glucosilada de la adiponectina presenta mayor actividad de sensibilización a la insulina que el producto recombinante bacteriano no glucosilado, lo que sugiere que estas modificaciones postraduccionales son necesarias para su actividad biológica óptima (192). La concentración de adiponectina en el plasma, además de correlacionarse negativamente con el índice de masa corporal y el porcentaje de grasa corporal, lo hace también negativamente con la concentración de triglicéridos en plasma, mientras que es proporcional al colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL), resultados similares a los determinados en este estudio. Este efecto se produce por un aumento en el catabolismo lipídico derivado de una estimulación de la expresión de enzimas implicadas en el transporte y el metabolismo de los ácidos grasos en el músculo esquelético y el hígado, como por ejemplo la acil-CoA oxidasa y la 5'-AMP cinasa (AMPK) (Figura 50).

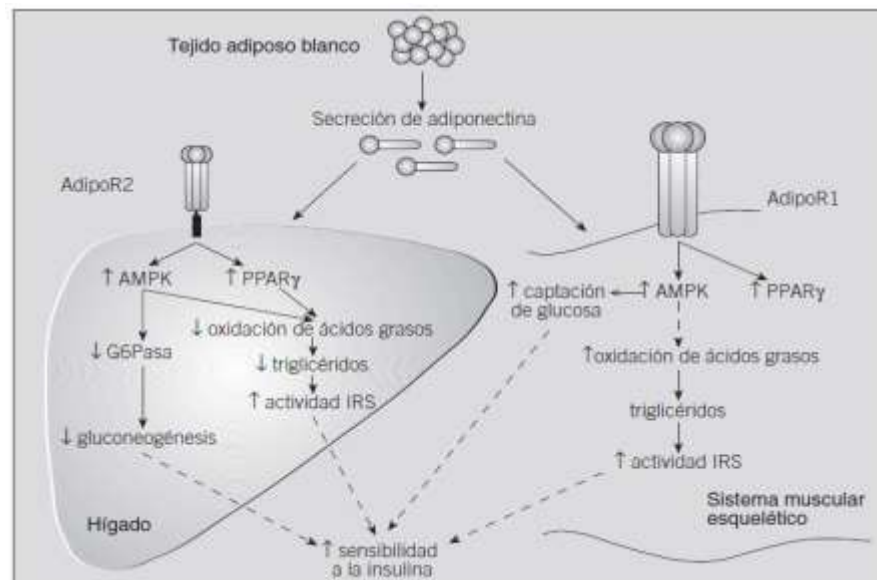


Figura 50: Mecanismo de acción de la adiponectina sobre la sensibilidad en el hígado y en el sistema muscular (extraída de: Med Clin (Barc). 2005; 124: 388).

Desde una perspectiva “adipocéntrica” se postula que la expansión del tejido adiposo es un factor importante en el desarrollo del SM como nexo entre obesidad e IR, debida a la liberación de adiponectina, proteína que mejora la sensibilidad a la insulina y evita la acumulación de ácidos grasos en músculo esquelético y en otros órganos internos aumentando su oxidación (193). Probablemente es la acción de la insulina, incluida la transducción de su señal, el factor que regula estos valores modificados de adiponectina, más que las concentraciones absolutas de insulina presentes en la sangre. A favor de esta hipótesis está el hecho de que la secreción de adiponectina requiera PI-3K, un intermediario principal de la vía de señalización de la insulina. Así, por ejemplo, la actividad del sustrato receptor estimulado por insulina (IRS-1), que está asociada a la vía de señalización PI-3K, también está reducida en adipocitos de individuos con diabetes tipo 2. Por lo tanto, es probable que la reducción de la actividad PI-3K en adipocitos de pacientes con diabetes tipo 2 contribuya a los valores reducidos de adiponectina. En conjunto, estos datos sugieren que la adiponectina es requerida para la regulación de la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa *in vivo* y, por tanto, podría ser útil como agente terapéutico de la resistencia a la insulina (194).

Por otra parte, numerosos estudios han demostrado que adiponectina posee propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas, mediadas por TNF- α , factor regulador clave en el metabolismo de los adipocitos, por disminuir la lipogénesis, aumentar la lipólisis y coadyuvar al desarrollo de resistencia a la insulina en el tejido adiposo, por interferencia en la señalización del receptor de insulina. La adiponectina y TNF- α parecen inhibir mutuamente su producción en el tejido adiposo y, además, la adiponectina puede contrarrestar los efectos proinflamatorios de TNF- α en células vasculares. Por lo tanto, la resistencia a la insulina inducida por TNF- α podría explicarse parcialmente por la inhibición de la secreción de adiponectina, también suprime la secreción y señalización de TNF- α en cultivos celulares de macrófagos y células endoteliales, e inhibe

el proceso de adhesión celular. Estos efectos resultan de la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión células vasculares-1 (VCAM-1) e (ICAM-1) y selectina-E (195).

También se ha demostrado que la administración de adiponectina estimula la formación de NO por incremento de la actividad de la NO sintetasa endotelial (eNOS) e inhibe la proliferación celular, mediante la supresión de la formación de especies reactivas de oxígeno y la inhibición de la actividad cinasa activada por mitógenos (MAPK), suprime de forma específica la fosforilización de I κ B inducida por TNF- α (lo que impide la degradación de este inhibidor de NF- κ B) y la activación posterior de NF- κ B en células endoteliales, a través de la proteína cinasa A AMP cíclica, expresando modificaciones en NO y L-citrulina, como se observa en los resultados de los biomarcadores proinflamatorios y prooxidantes tanto en el modelo de SM como en los asociados con hiperfibrinogenemia (196). Las lesiones histopatológicas observadas en los cortes estudiados serían compatibles por un lado con HF, estrés oxidativo e hipoadiponectinemia que suprime la proliferación y migración de células musculares lisas a la pared arterial, así como la proliferación y la capacidad fagocítica de los monocitos, células clave en la progresión y la formación de la lesión vascular con engrosamiento intimal (197). Dadas estas características que expresa la adiponectina se asocia con una variedad de enfermedades: DM2, IR, HTA, dislipidemia, SM e hiperuricemia, con eventos vasculares isquémicos como enfermedad coronaria, accidente cerebro vascular y arteriopatía periférica y enfermedad hepática compatible con EHNA (198; 199). Un bajo nivel de adiponectina circulante se puede utilizar como predictor del futuro desarrollo de SM en la población general y en obesos, además se correlaciona significativamente con el fenotipo clínico del SM en hombres y mujeres. Por otra parte, tendría potencialidad de retrasar el proceso aterogénico por sus efectos pleiotrópicos reflejados en inhibición de adhesión de monocitos, reducción de la capacidad fagocítica y disminución de acumulación de lipoproteínas modificadas en la pared vascular, influyendo en el equilibrio de las lipoproteínas aterogénicas y

antiaterogénicos en el plasma. Los resultados observados en los modelos experimentales estudiados demuestran que existe asociación entre valores bajos de adiponectina, IR y enfermedad cardiovascular indicando que la cuantificación de esta proteína en el plasma podría ser un nuevo biomarcador biológico para el SM y aterogénesis (Figura 51) (37; 200).

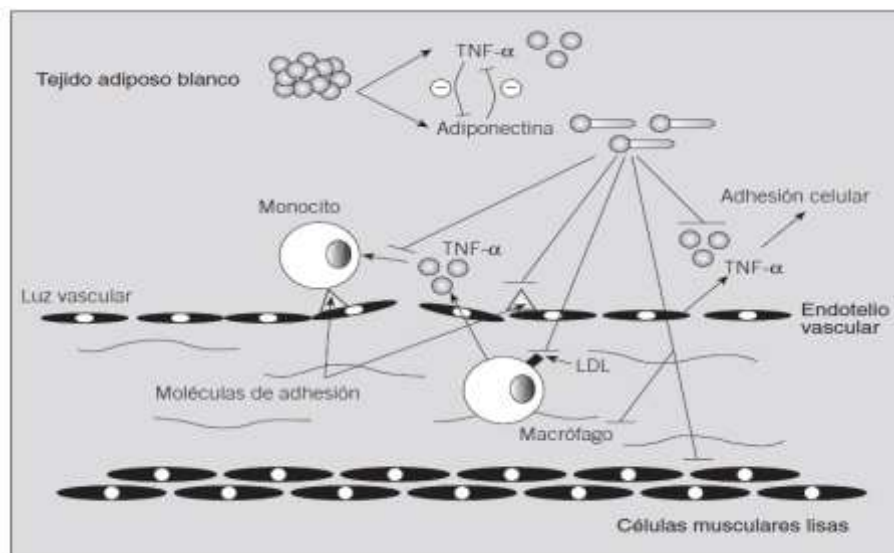


Figura 51: Efectos antiaterogénicos de adiponectina (extraída de: Med Clin (Barc). 2005; 124: 388).

La HF cuantificada en todos los grupos estudiados evidencia que los niveles de fibrinógeno aumentan significativamente, comportándose como un predictor independiente en ambas patologías y establece una estrecha relación con el estrés oxidativo reflejada por las modificaciones de NO, a través de la producción de anión superóxido. Se ha demostrado que el aumento de las concentraciones de ROS reducen la cantidad de NO bioactivo por inactivación química para formar peroxinitrito tóxico (201), lo cual guarda relación con los valores plasmáticos de NO disminuidos en los animales con inducción proinflamatoria y SM inducido, esto nos permitiría inferir que la hiperfibrinogenemia generaría estrés oxidativo con probable pérdida de la capacidad de las células endoteliales para regular sus funciones vitales en la producción de sustancias vasoactivas como sería el NO (202).

Al analizar las mediciones plasmáticas realizadas de L-citrulina (co-producto del NO) en los grupos estudiados se observó un comportamiento inverso respecto a los valores dosados de NO bajo la misma situación experimental. Este incremento sugiere que la síntesis de NO ingresa en una vía fisiopatológica aumentando el estrés oxidativo, pues el NO puede ser transformado en una entidad significativamente citotóxica (203) y para compensar esta agresión L-citrulina aumenta intentando suplir la baja disponibilidad del NO que genera alteraciones funcionales a nivel vascular y del tejido adiposo (74; 204).

Por otra parte, se ha demostrado que la L-arginina, sustrato de la L-citrulina, presenta un índice de biodisponibilidad modificada en pacientes con DM2 y SM (205) asociado con disfunción endotelial y progresión de enfermedades cardiovasculares indicando una reducida capacidad de síntesis de NO, aumento de las concentraciones de L-citrulina y presencia de estrés oxidativo. En modelos experimentales desarrollado por otros investigadores, se demostró aumento de los niveles plasmáticos de L-citrulina cuando los ratones presentaban un estado de obesidad asociada con hiperglucemia y desarrollo de EHNA (206) tal como se objetivó en nuestro modelo experimental.

Un mecanismo importante en la disfunción endotelial presente en la aterosclerosis y en SM está dado por la producción endotelial de especies reactivas del oxígeno, probablemente múltiples procesos estarían asociados a estas condiciones pro-inflamatorias y de estrés oxidativo generadas por el estado de IR, hipoadiponectinemia e hiperfibrinogenemia. La enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) puede generar O_2^- en lugar de NO ó O_2^- y NO al mismo tiempo, (207) sin embargo, el óxido nítrico no alcanza sus blancos biológicos al reaccionar con el O_2^- , cuyas concentraciones se encuentran elevadas frente a una situación de estrés oxidativo. Esta reacción del NO con el O_2^- se caracteriza por ser seis veces más rápida que la unión del anión superóxido con la enzima superóxido dismutasa (SOD) y conduce a una menor biodisponibilidad de NO, que se desvía hacia la formación de peroxinitritos, potente oxidante biológico,

incrementando aún más la condición de estrés oxidativo (208; 209; 210) debido a la eficiencia de la reacción del superóxido con el NO la concentración local de la SOD es un determinante clave de la bioactividad del NO.

Al analizar los valores de SOD en los modelos experimentales hubo incremento de la actividad SOD, sería una respuesta adaptativa, característica de los sistemas biológicos, tendiente a compensar el estrés oxidativo, lo que puede interpretarse como una situación de aumento del entorno redox, probablemente las señales inflamatorias desencadenadas por los biomarcadores proinflamatorios presentes en ambos modelos experimentales activen al endotelio utilizando el radical superóxido para generar la reacción en cadena de radicales libres que inician la peroxidación lipídica, característica común del estrés oxidativo causando pérdida de la estructura y la función celular como se observa en los grupos estudiados (211).

El organismo humano posee un importante sistema defensivo oxidante, de prevención en la generación, intercepción una vez formados y reparación del deterioro oxidativo o eliminación de las moléculas dañadas. Los antioxidantes enzimáticos endógenos se caracterizan por utilizar iones metálicos (Fe, Zn, Cu, Mn y Se) como elementos catalíticos específicamente SOD, la cual cataliza una reacción de dismutación que consiste en la oxidación de un radical superóxido a oxígeno molecular y la reducción de otro radical superóxido a peróxido de hidrogeno, el cual puede producirse espontáneamente bajo condiciones específicas, en cuyo caso se trata de una reacción de segundo orden dependiente de la concentración de radical o ser acelerada 10000 por la acción de SOD siendo esta última una reacción de primer orden, lo cual demuestra que superóxido es independiente de su concentración (212).

El aumento de la actividad de la enzima SOD observada en los resultados asociada a las modificaciones de glucemia en ayunas, dislipidemia por disminución de HDL e hipertrigliceridemia, IR, hipoadiponectinemia, aumento de los componentes inflamatorios y

oxidativos, todos indicadores de estrés oxidativo presentes en ambos modelos experimentales tanto en forma individual como combinada, reflejaría la importancia de SOD como mecanismo antioxidante endógeno que intenta compensar el aumento de radicales libres; sin embargo a veces es insuficiente ya sea por baja productividad o por superar la tasa de producción de esta enzima, lo cual permitiría que en ambos modelos las alteraciones progresen (213).

Simultáneamente con los parámetros bioquímicos analizados, los estudios anatomopatológicos por MO en aorta torácica demostraron que tanto SM como la persistencia de HF generaron denudación endotelial, engrosamiento de la íntima, aumento en la matriz extracelular, cambios mixoides subendoteliales y protrusión de la pared vascular hacia la luz de la aorta, cambios que objetivan la repercusión a nivel vascular de ambas patologías y cuya expresión funcional sería la disfunción endotelial.

Varios estudios clínicos reconocen al SM como responsable de disfunción endotelial desencadenado por la resistencia a la insulina y al hiperinsulinismo, pero también es la primera lesión en la enfermedad aterogénica. En pacientes con SM se ha observado asociación entre un aumento del grosor de íntima-media de carótida, siendo también esta imagen marcador de aterosclerosis subclínica (214). La aterosclerosis subclínica conduciría a un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares, especialmente si se asocia con SM y factores de riesgo emergentes como HF (215; 216).

Las lesiones histopatológicas de hígado en ratas con SM inducido y HF experimental presentaron lesiones características de EHNA que representa el componente hepático del SM, que demuestra la presencia de estrés oxidativo, lipoperoxidación y producción de adipocitocinas proinflamatorias ligadas al daño del hepatocito. Esta patología que comienza con la acumulación excesiva de grasa llamada esteatosis, tiene vinculación con enfermedades altamente prevalentes como diabetes mellitus tipo 2, IR, obesidad central, hiperlipidemia por bajos niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL)/colesterol, hipertrigliceridemia e

hipertensión, se tornará un problema hepático cada vez más común, tanto en los países ricos como en los pobres, aumentando la carga mundial de las hepatopatías y afectando la salud pública y los costos de la atención sanitaria a nivel mundial (217). Se estima que EHNA ha de aumentar un 26% los costos médicos directos e indirectos en un quinquenio y aumentará el riesgo de cirrosis, falla hepática y carcinoma hepatocelular.

Debido a su íntima vinculación a IR, obesidad y SM, se entiende la importancia de estudiar la implicancia del fenómeno inflamatorio y el estrés oxidativo asociados, para establecer los probables mecanismos fisiopatogénicos con el objetivo de generar estrategias que prevengan la incidencia y prevalencia de esta patología. Para esto es necesario identificar los determinantes de la enfermedad para así implementar medidas preventivas para control y seguimiento como así también estudiar estrategias terapéuticas que se puedan implementar para disminuir la incidencia (218).

Los resultados plasmáticos obtenidos de los indicadores de SM y aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia y las lesiones histopatológicas en los grupos estudiados, demuestran una vía final común que es el estrés oxidativo y la disfunción endotelial. Estos procesos tienen estrecha relación con alteraciones morfológicas y funcionales de las mitocondrias en las células musculares lisas de la pared vascular, expresando un importante papel tanto en el inicio como en el progreso de estas patologías multisindrómicas (219; 220). Numerosas investigaciones aportaron evidencias que sugieren que la disfunción mitocondrial es una de las causas principales de IR y de enfermedades cardiometabólicas relacionadas (221).

A medida que la hiperfibrinogenemia persistió los resultados del análisis morfológico mostraron aumento del tamaño mitocondrial con dilatación del espacio intermembranoso y desorganización de las crestas mitocondriales con gránulos electrodensos, posiblemente debidos a la entrada del ión Ca^+ quien genera depósitos de sales insolubles. Además, se observó disminución de la estructura de las crestas mitocondriales y

condensación de la matriz, condición denominada tumefacción mitocondrial y bajo esta condición los gránulos de la matriz desaparecen conservando una apariencia aclarada. Así mismo, hubo aumento del agua en la matriz de dicha organela como consecuencia de la alteración en la integridad de la membrana celular, probablemente debido a la apertura transitoria de los poros de transición, que se abrirían durante la isquemia, causando la despolarización del potencial de membrana mitocondrial y afectando la homeostasis iónica tanto de la célula como de la mitocondria, al conducir a la tumefacción de la matriz y la posterior ruptura de la membrana mitocondrial externa. Este último evento lleva a la liberación de mediadores moleculares pro-apoptóticos, como el citocromo C (138; 222). Por otra parte, se observó que seguida a la tumefacción turbia se produjo una desaparición de las crestas mitocondriales denominada cristólisis. También se observó una correlación entre el tiempo de persistencia de la hiperfibrinogenemia y el grado de alteración que éstas presentaron, cuanto mayor fue el tiempo de exposición a la HF, la alteración morfológica mitocondrial aumentó considerablemente. Además, se observaron alteraciones en la forma e irregularidades en el número de mitocondrias en los lotes con HF; lesiones similares presentaron los animales con SM y SM + HF que también presentaron alteraciones en la morfología de la organela e irregularidades en su número. La capacidad oxidativa mitocondrial en el SM está totalmente correlacionada con el número y tamaño de las mismas (223), estas modificaciones se deberían a la acción de los AGL y a las enzimas que generan o catabolizan la regulación de la morfología, por eso la importancia de controlar el perfil lipídico plasmático como así también la síntesis de adiponectina, que al estar disminuida en el SM experimental, condiciona la aparición de productos proinflamatorios y prooxidativos que incrementan la peroxidación de HDL, generando repercusiones en el desarrollo de las alteraciones metabólicas y en aterogénesis subclínica (224).

Otra causa probable de estas modificaciones morfológicas se debería a que esta organela constituye una red compleja, interconectada y

altamente dinámica, mantenida por eventos permanentes, opuestos y balanceados de fusión y fisión mitocondrial (225; 226).

Tanto el número de túbulos como sus conexiones, así como la distribución subcelular del organelo, son controlados activamente. De esta forma se ha acuñado el término «dinámica mitocondrial» para englobar, al menos, tres procesos distintos: *a)* el remodelado del retículo mitocondrial mediante procesos de fusión/fisión, el cual se encuentra estrechamente vinculado al estado metabólico celular y es controlado por la actividad de un grupo de proteínas hidrolasas de trifosfato de guanosina (GTPasas) relacionadas con la familia de las dinaminas, *b)* la motilidad mitocondrial subcelular, particularmente relevante en células polarizadas y que corresponde al desplazamiento de las mitocondrias dependiente de los motores kinesina 1 y 3 y de los adaptadores Milton y Miro (227), lo que asegura el suministro local de ATP en procesos biológicos con elevados requerimientos energéticos y el uso de estos organelos como tampones de calcio (228) y *c)* el remodelado de la ultraestructura mitocondrial y la condensación de su matriz, procesos considerados clásicamente como un reflejo del estado metabólico mitocondrial. La interrelación entre los distintos estados funcionales de la mitocondria y su ultraestructura es el remodelado de las crestas mitocondriales como lo observado en los resultados (229).

Por otra parte, las proteínas mitocondriales están codificadas por genes mitocondriales y nucleares, por lo tanto las mutaciones en el ADN mitocondrial y la transcripción alterada de genes nucleares que codifican proteínas mitocondriales darán lugar a la disfunción mitocondrial presente tanto en SM como en aterogénesis inducida por HF y se ha demostrado que el daño del ADN mitocondrial en las células de la pared de los vasos conlleva un mayor riesgo de aterogénesis (230). Dado que las mitocondrias están organizadas formando intrincadas redes mitocondriales, y estas redes trabajan como unidades eléctricas para transmitir el potencial de membrana mitocondrial, se requiere una función mitocondrial normal para la correcta homeostasis de substratos

oxidativos, ya que una disfunción mitocondrial puede conducir a enfermedades metabólicas o contribuir a la fisiopatología de la obesidad; conjuntamente con las alteraciones morfológicas mitocondriales descritas se observaron modificaciones en la funcionalidad de estas organelas.

Cuando se analizaron las mediciones de la actividad de la cadena de electrones, se evidenció una progresiva disminución de la actividad de Citrato Sintasa, lo cual indicaría una depreciación del ciclo de Krebs. Esto repercute disminuyendo la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial reflejada en la depleción de la actividad de las enzimas NADH Deshidrogenasa (CI), Succinato ubiquinona reductasa (CII), Citocromo C reductasa (CIII) y Citocromo C Oxidasa (CIV). Debemos destacar que este deterioro de la función mitocondrial es progresivo y acentuado, manifestando por vía del estrés oxidativo que los indicadores proinflamatorios y prooxidativos en ambos modelos experimentales repercuten en la morfofuncionalidad mitocondrial. Los procesos patológicos como la inflamación, la hipoxia/isquemia y el estrés oxidativo ejercen efectos nocivos sobre la estructura y función de las mitocondrias; como resultado, sobreviene una disminución del potencial de fosforilación que conlleva directamente a la depresión de la energía celular, debido a que el ATP producido durante el normal funcionamiento mitocondrial es la principal fuente de energía celular y en consecuencia se produce disminución de la capacidad de la célula para realizar el control de la homeostasis. Si la depresión de energía celular progresa conduce a la muerte celular, que está íntimamente vinculada al estado funcional mitocondrial y la asociación de estos factores produciría la acentuación de las lesiones mitocondriales en las capas vasculares con la reducción del número medio y total de mitocondrias con aumento del área debido a la tumefacción con el máximo grado de lesión, tal como se observó en los resultados (231; 232; 233).

Además, la alteración de transporte de electrones conduce a la generación aumentada de ROS, que daña macromoléculas biológicas

como ADN y produce peroxidación lipídica. Como ya se mencionó, la capacidad de las mitocondrias está determinada por el nivel de expresión de las subunidades de la fosforilación oxidativa (223), una disminución en la misma, se relaciona con expresión reducida de proteínas mitocondriales codificadas tanto por el genoma nuclear: succinato deshidrogenasa y piruvato deshidrogenasa, como mitocondrial: citocromo c y oxidasa subunidad II. Las lesiones mitocondriales son reversibles en períodos cortos de tiempo e irreversibles cuando los estímulos nocivos persisten, ya que el estrés oxidativo en la mitocondria a través de la formación de peroxinitritos (ONOO-), inhibe muchas proteínas mitocondriales incluyendo las subunidades de los complejos I y II de la cadena respiratoria, lo cual se traduce en la depleción de la fosforilación oxidativa tal como se observó en nuestros resultados (234; 233).

Esta producción incrementada de ROS alteraría la morfofuncionalidad mitocondrial y se conoce que los principales sitios de producción de superóxido mitocondrial derivan principalmente de los complejos I y III. Sin embargo en algunas situaciones patológicas como hipoxia, el complejo II también sería un productor de ROS mitocondrial fisiológicamente relevante (235). En ausencia de ADP, los electrones derivados de succinato (sustrato FADH₂-vinculados al complejo II) pueden fluir en sentido inverso aumentando la producción de O² por el complejo I; por esta razón, el complejo I es considerado el sitio principal fisiológica y patológicamente generador de ROS en mitocondria (236; 237). Hay dos sitios principales de fuga de electrones en la cadena de transferencia de electrones el Complejo I y III (238), siendo el complejo I el más vulnerable.

En el modelo experimental de SM, la actividad de citrato sintasa y complejo I disminuida se debería al aumento de oxidación y reducción de almacenamiento de glucosa conjuntamente a la actividad reducida del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, la oxidación β y la disminución de la cadena de transferencia de electrones (239), como se ha descrito en obesidad y DM2 (239). En otros modelos experimentales de obesidad e IR, se encontró reducción en la expresión de eNOS, en ADNmt y en proteínas

respiratorias como la Citocromo C Oxidasa, complejo IV de la CRM y Citocromo c, así como en el consumo de oxígeno y producción de ATP junto con cambios en la morfología mitocondrial. Similar comportamiento se observó en el Complejo IV, debido a las modificaciones en la biodisponibilidad del NO, molécula que modula el consumo de O² mitocondrial mediante la inhibición mitocondrial del complejo IV, el cual regula la biogénesis mitocondrial (241; 242).

Por otra parte, la menor biodisponibilidad de NO implicaría disminución de eNOS y reducción de Citocromo C Oxidasa junto a alteraciones morfológicas en mitocondrias de músculo liso vascular, al inducir experimentalmente SM e HF+ SM. La disfunción mitocondrial se caracteriza por inhibición del consumo de O² mitocondrial, cambios en el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) y reducción en los niveles de ATP debido a un desequilibrio entre la ingesta y el gasto de energía (243). Los cambios en $\Delta\Psi_m$ se deberían tanto a una actividad reducida en los complejos de la cadena de transporte de electrones (ETC) y por lo tanto un reducido bombeo de protones o al aumento de desacoplamiento producido por la actividad de las proteínas desacoplantes (UCPs) o del translocador ATP /ADP, también llamado translocasa de nucleótidos de adenina, ANT. Además, es necesario tener en cuenta que el exceso de oferta de nutrientes, en particular de AGL, puede inducir el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (244). Otras investigaciones han demostrado que la alimentación de animales con una dieta rica en grasas durante varias semanas es suficiente para reducir la tasa mitocondrial de síntesis de ATP y producir downregulation de genes que codifican proteínas implicadas en la biogénesis mitocondrial y fosforilación oxidativa en el músculo esquelético humano (245). La obesidad, DM2 e insulinoresistencia producirían una elevación crónica de AGL circulantes que pueden llegar a ser citotóxicos, el aumento de fuga de electrones y del desacoplamiento en la mitocondria es un problema grave en estas condiciones ya que los ácidos grasos causarían estrés oxidativo y alteraciones en la estructura y en la función mitocondrial. Es decir, la interacción de los AG con los

carriers de membrana puede conducir a la despolarización de la membrana mitocondrial que resulta en la apertura del poro de transición de permeabilidad (PTP) y la iniciación de apoptosis, debido a que la principal función de la mitocondria es la oxidación de metabolitos (ciclo de Krebs, beta-oxidación de ácidos grasos) y la obtención de ATP mediante la fosforilación oxidativa, que es dependiente del transporte de electrones (246). La cadena respiratoria mitocondrial se encuentra en la membrana interna, consta de cinco complejos de proteína multimérica, cuyos sustratos requeridos, NADH y FADH₂, para producción de energía son generados por la vía del ácido tricarbóxico, donando electrones a los complejos I (oxidación del NADH) y II (oxidación del FADH₂) de la cadena respiratoria mitocondrial. Cuando se ubican en esa posición, los electrones fluyen al complejo IV, los protones son bombeados de los complejos I y IV y trasladados del complejo III al espacio intermembrana para crear un gradiente de protones. El complejo V, mediante este gradiente, fosforila ADP a ATP por la ATP sintasa. El oxígeno representa el último aceptor de electrones en la CRM, aceptando 4 electrones al complejo IV para ser reducidos a agua. Por eso la mitocondria desempeña una participación central en situación de estrés oxidativo y la disminución de los Complejos I, II y IV reflejarían la disfunción presente en ambos modelos experimentales (247; 219). El comportamiento del complejo III y la baja eficacia del resto de las enzimas de la cadena respiratoria, podrían deberse a que todas las subunidades del complejo II están codificados por genes nucleares, presentando una mayor resistencia a los daños oxidativos, mientras que las subunidades de los restantes complejos están codificados tanto por ADN nuclear como ADN mitocondrial, este último al carecer de histonas y muchos de los mecanismos de reparación que tiene el ADN nuclear y por estar situado cerca de la fuente generadora de ROS (membrana mitocondrial interna), es más vulnerable a los daños causados por las ROS (248;249; 250).

La evidencia demuestra que el daño oxidativo a las proteínas mitocondriales conduce a la disfunción progresiva y que el deterioro de la

función mitocondrial es un mecanismo unificador de varios factores de riesgo como el SM y la aterogénesis.

Cuando se analizaron los pacientes con SM estudiados, considerando que la edad es el factor de riesgo con mayor valor predictivo y no modificable, observamos que la distribución de las edades en nuestros resultados presentaron valores que oscilaron entre los 35 y 60 años, observando que aún siendo adultos jóvenes (límite inferior del rango) expresaron factores de riesgo tanto tradicionales como emergentes, con actividad laboral y expectativa de vida de unos 40 años promedio, lo cual sugiere incrementar las medidas de prevención tanto primarias como secundarias para mantener la calidad de vida y reducir la morbimortalidad asociada a esta patología (251). El SM implica un riesgo mayor de enfermedad cardiovascular en edades temprana, la suma de los factores que lo componen supera el equivalente a la simple adición de los inherentes a cada uno de ellos considerados individualmente, incrementando el riesgo de forma geométrica y no linealmente. En segundo lugar, los scores habituales para el cálculo del riesgo cardiovascular no incluyen diversos factores metabólicos que manifiestan un riesgo independiente de complicaciones vasculares, tales como el estado protrombótico, situación inflamatoria e hipertrigliceridemia, superando al correspondiente a los factores de riesgo convencionales. En tercer lugar, se debería a otros indicadores llamados emergentes, que quizás no estén incorporados en las determinaciones habituales y como el SM con frecuencia progresa y culmina en el desarrollo de DM2, esta potencialidad se añade a los ya citados (252). En cuanto a la participación por género, se observó que ambos sexos manifestaron la enfermedad ya que desde 1998, la Organización Mundial de la Salud considera a la obesidad una epidemia global que constituye un importante problema de salud pública, independientemente del sexo. Los estudios epidemiológicos sugieren que las causas principales se relacionan con los cambios ambientales y del estilo de vida ocurridos en las últimas décadas. Además, 30 a 60% de la población no logra siquiera realizar el mínimo de

actividad física recomendado (253). En la actualidad, los patrones de comportamiento se han modificado repercutiendo en un estilo de vida no saludable donde las conductas de riesgo como tabaquismo, consumo de alcohol, exceso de peso, sedentarismo, dieta pobre en granos y frutas y verduras son responsables de la gran carga mundial de morbilidad de enfermedades crónica degenerativas o sus complicaciones. En el 2010, la muerte y la carga de enfermedad atribuible a factores de riesgo conductuales y dietéticos, se superpuso con algunos otros agentes como el Índice de Masa Corporal (IMC) alto que es un indicador de obesidad y niveles de colesterol y glucosa elevados, asociándose los factores de riesgo a estilos de vida poco saludables (254).

En nuestros resultados la distribución de las edades presentaron valores similares a los publicados en la literatura, mostrando que la prevalencia de SM aumentó de forma paralela con la edad y que la mayor incidencia de SM fue en los subgrupos entre 41-70 años, en cuanto a la participación por género, se observó predominancia en las mujeres, datos que coinciden con algunos estudios (255), aunque esta diferencia no ha sido objetivada en otros trabajos donde no se observaron diferencias en cuanto a la distribución por sexo del SM.

Cuando se valoraron en los pacientes los diferentes componentes del SM como circunferencia abdominal (CA), HTA, hipertrigliceridemia, HDL, glucemia en ayunas con o sin expresión clínica de DM2, se observó que los valores de CA tuvieron similar comportamiento en todos los grupos etarios, dado que todos padecían obesidad central. La obesidad es factor de riesgo de aterosclerosis por múltiples mecanismos y la resistencia a la insulina, su vínculo común con el síndrome metabólico, generando hiperglucemia, hiperinsulinemia, HDL disminuida e hipertrigliceridemia como las mediciones observadas en nuestros resultados en los diferentes grupos estudiados.

La hipertensión arterial, el segundo componente más frecuente en nuestros resultados (65,5%), es una de las variables más relevantes del SM, según algunos autores, la HTA está presente en un mayor porcentaje

de pacientes con SM, por otra parte, la HTA es más frecuente en pacientes con obesidad abdominal (256; 257). Las interrelaciones existentes entre hipertensión arterial y el síndrome metabólico obedecen a nexos fisiopatológicos comunes como resistencia insulínica, inflamación o disfunción endotelial; la mayoría de los estudios coinciden en que los sujetos que presentan HTA tienen más frecuentemente alteraciones del metabolismo hidrocarbonado o dislipemia (258).

Estudios clásicos pusieron de manifiesto que los pacientes hipertensos mostraban más frecuentemente curvas de sobrecarga de glucosa anormal e hiperinsulinemia, resultados similares encontrados en este estudio. Reaven que propuso la primera definición de SM, defiende que la HTA es una manifestación más de la resistencia insulínica en base a tres observaciones: la primera, que las alteraciones metabólicas no aparecen en las formas de HTA secundarias; la segunda, que tales alteraciones no mejoran cuando se controlan las cifras de presión arterial, y por último, pueden empeorar con algunos tratamientos antihipertensivos (259; 182).

En nuestros resultados el 55.5% de los pacientes con SM tenían glucemia en ayunas >100 mg/dl o DM2 previamente diagnosticada y todos los grupos independientemente de la estratificación por edad, presentaron IR objetivada a través del hiperinsulinismo y el valor de HOMA, condición sine qua non para el desarrollo de DM2.

La DM2 se caracteriza fisiopatológicamente, por la IR y el deterioro de la función de células beta pancreáticas. Es probable que la IR preceda al inicio de la enfermedad en varios años y aunque no todos los sujetos con IR desarrollen diabetes, se sabe que la RI es el factor predictivo más seguro para el desarrollo de DM2 y que estos pacientes y sus familiares de primer grado no diabéticos expresarían IR. Recientemente se ha reconocido que SM es un buen método para identificar a sujetos con alto riesgo para DM2 y enfermedad cardiovascular; la presencia de SM en pacientes con DM2 multiplica por cinco el riesgo cardiovascular y coronario. Por ello y por la alta prevalencia de DM2 asociada con este

síndrome y debido al incremento de enfermedad coronaria asociada a la fase de prediabetes, es preciso realizar su diagnóstico precoz aun en ausencia de DM. Es recomendable que el 50% de los pacientes estudiados que padecían SM pero no DM2, dado que ya presentaban hiperinsulinismo e incremento de HOMA, deben ser controlados en el tiempo para evitar el desarrollo de la misma (260; 261).

La relación entre SM y tabaquismo en estos pacientes, si bien no fue significativa, hay que tener presente que el consumo de tabaco en las personas con DM2 y SM aumenta las consecuencias negativas para la salud en forma exponencial, como así también las tasas de mortalidad (262). Si bien algunos autores describen que el tabaquismo disminuye la sensibilidad a la insulina, induce IR e incrementa la sensibilidad a otros factores de riesgos relacionados como hipertrigliceridemia, disminución de HDL-colesterol e hiperglucemia, como se observó en nuestros resultados, en este caso no habría una relación causal directa entre tabaquismo y SM (263).

La dislipidemia, se demostró en el 33% de los pacientes por incremento de triglicéridos y en el 60% por disminución del colesterol HDL. En los adultos la hiperinsulinemia se asocia con un perfil de riesgo aterogénico que incluye niveles bajos de HDL- colesterol, niveles elevados de triglicéridos y presión arterial elevada, tal como observamos en nuestros resultados (264; 265). La IR induce a una dislipidemia aterogénica de varias maneras; en primer lugar, normalmente la insulina suprime la lipólisis en los adipocitos, así cuando se deteriora la señalización de insulina aumenta la lipólisis, resultando en aumento de los niveles de AGL, los cuales a nivel hepático sirven como sustrato para la síntesis de estos triglicéridos aumentados. En segundo lugar, la insulina normalmente degrada apo-B a través de las vías de PI3K dependiente, así la IR aumenta directamente la producción de VLDL. En tercer lugar, la insulina regula la actividad de la lipoproteína lipasa, mediador principal y limitador de la tasa de depuramiento de VLDL. Por lo tanto, la hipertrigliceridemia en el SM es el resultado de un aumento en la

producción de VLDL y una disminución de su clearance. Además, el HDL, TG-enriquecido es un mejor sustrato para lipasa hepática, eliminándose rápidamente de la circulación, dejando menos partículas de HDL para el transporte de colesterol inverso en la pared endotelial. En su mayor parte, se cree que la dislipidemia asociada con IR es una consecuencia directa de la secreción de VLDL aumentada por el hígado (266). Estas anomalías están estrechamente asociadas con un aumento del estrés oxidativo y una disfunción endotelial, reforzando así la naturaleza proinflamatoria del SM (267).

Los biomarcadores proinflamatorios y antioxidativos estudiados en los pacientes entre los 25-40 años, mostraron que los niveles incrementados de fibrinógeno se correlacionaron positivamente con la circunferencia abdominal y con otros componentes del SM, como la HTA, TG, colesterol HDL bajo, historia de DM2 e HTA. La HF se comportó en forma independiente a otros factores de riesgo tales como DM2 y tabaquismo, ya que sólo un paciente de este grupo de SM tenía diagnóstico previo de DM2 y 4 eran fumadores. Las citocinas proinflamatorias del tipo interleucina-6, TNF- α , leptina y una probable disfunción de adiponectina, mediarían estas asociaciones a través de respuestas inflamatorias de bajo grado presentes en el SM (267). Por otra parte, existen varios mecanismos por los cuales la enfermedad puede inducir inflamación, durante la hiperglucemia, la concentración de productos avanzados de glucosilación aumenta y se ha observado que estos productos activan macrófagos, aumentan el estrés oxidativo e incrementan la síntesis de interleucina IL-1, IL-6, factor de necrosis tumoral alfa y fibrinógeno modificando el balance homeostático endotelial (268). La función endotelial se encuentra alterada en el obeso, presentando una reactividad endotelial anormal, debida a una disminución en la liberación y acción del óxido nítrico, tal como muestran nuestros resultados donde la disminución del NO y la hiperfibrinogenemia potenciarían el riesgo cardiovascular en los pacientes con SM (269; 270).

Esta biodisponibilidad disminuída de NO ratificaría la participación de biomolécula en éste síndrome y que su determinación podría representar el componente inflamatorio presente desde el inicio de esta patología. Los efectos vasodilatadores de la insulina están mediados por la liberación de NO y su disminución podría inducir IR e inhibir la captación de glucosa mediada por la vasodilatación inducida por insulina en el músculo esquelético. La disfunción endotelial caracterizada por la producción reducida de NO y la liberación exagerada de endotelina, es una característica clave del SM demostrada en nuestros resultados (271).

El estrés oxidativo demostrado en los resultados contribuye al deterioro de la función vascular, inflamación, trombosis y aterogénesis, otros estudios han evidenciado en los pacientes con enfermedad arterial coronaria que la actividad SOD puede aumentar para proteger contra la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo (272). Además, se verificó en hombres obesos jóvenes y en adultos mayores incremento de la actividad SOD (273), similar comportamiento de SOD se constató en los pacientes con SM.

Por otra parte, se conoce que los depósitos de LDL oxidada se correlacionan negativamente con la expresión de SOD e inhiben su expresión en los macrófagos *in vitro*.

Se ha demostrado que la expresión de SOD está regulada positivamente por ROS lo que indica que el aumento en los niveles de H₂O₂ en los sujetos con cuatro o cinco componentes del SM podrían explicar el mayor aumento en las actividades de SOD en estos grupos de sujetos; la actividad de SOD fue menor en los sujetos con dos componentes del síndrome metabólico en comparación con sujetos que presentaban tres, cuatro y cinco de los componentes del SM (110). Todos nuestros pacientes presentaban tres ó más componentes del SM, lo que explicaría el aumento de la actividad de SOD obtenido en nuestros resultados. Los sujetos con SM se encuentran bajo una situación de mayor estrés oxidativo; la obesidad que típicamente presentan es también una carga oxidativa. La SOD modificaría su concentración para ajustarse a niveles más altos de

ROS por lo que la determinación de la actividad de SOD podría ser uno de los biomarcadores más relevantes del estado inflamatorio presente en los pacientes con SM y su medición serviría como herramienta predictiva para determinar el grado de estrés oxidativo subyacente en esta enfermedad (274).

La misma variación de los biomarcadores se observó en el grupo entre 41-55 años donde FP, NO y SOD modificaron sus concentraciones, por otra parte en este rango etáreo fue mayor el número de pacientes con HTA y DM2, probablemente por este motivo la disminución de NO fue más acentuada que en el grupo entre 25-40 años.

El mismo comportamiento se observó en el grupo entre 56-70 años donde los tres biomarcadores modificaron sus concentraciones con valores semejantes al subgrupo 41-55 años. Los resultados obtenidos en los pacientes estudiados permiten aseverar que SM es un estado de inflamación crónica de bajo grado, como consecuencia de la compleja interacción entre factores genéticos y ambientales, con parámetros bioquímicos alterados reflejados por resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia, HDL disminuído (dislipidemia aterogénica) asociado a signos clínicos como obesidad central y presión arterial elevada que impacta sobre el balance homeostático endotelial, generando estrés oxidativo y activación de los antioxidantes endógenos como SOD.

Teniendo en cuenta que estos biomarcadores ayudarían a valorar la evolución y progreso de la enfermedad y estos pacientes estudiados tienen la potencialidad de desarrollar complicaciones cardiovasculares, los mismos deben continuar los controles clínicos para evitar eventos cardiovasculares agudos.

CONCLUSIONES

- La IR evidenciada por hiperinsulinismo, HOMA modificado, niveles disminuidos de HDL e hipertrigliceridemia se asocia con propiedades proinflamatorias y disfunción endotelial demostrada en el modelo experimental de SM.
- La adiponectina por sus propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas regularía la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de glucosa evitando la acumulación de ácidos grasos en varios órganos. Sus concentraciones se correlacionaron negativamente con la grasa corporal, niveles de triglicéridos y positivamente con el HDL. La cuantificación de esta proteína podría ser un nuevo biomarcador biológico para SM y aterogénesis.
- La EHNA representa el componente hepático del SM: el estrés oxidativo asociado a HF, disminución de biodisponibilidad de NO y aumento de actividad de SOD, asociados a lipoperoxidación y producción anormal de adiponectina, serían los responsables de los cambios hepáticos observados.
- El incremento del fibrinógeno plasmático, la biodisponibilidad disminuída del NO y el aumento de concentración de L-citrulina y SOD en los grupos con SM y aterogénesis inducida, junto con los hallazgos anatomopatológicos demostrarían estrés oxidativo y justificarían la utilidad de estos biomarcadores en estadios tempranos de SM y aterogénesis.
- La HF inducida generó en las paredes de aorta torácica lesiones del tipo denudación endotelial, reflejando además de la disfunción endotelial, la actividad inflamatoria focal a nivel de la pared vascular.
- El estrés oxidativo desencadena alteraciones morfológicas y funcionales de mitocondrias de células musculares lisas de la pared vascular, expresando un papel primordial tanto en el inicio como en el progreso del SM y de enfermedad vascular aterogénica.

- El deterioro de la función mitocondrial progresivo y acentuado demostrado por la disminución de los Complejos I, II y IV reflejarían la disfunción presente en ambos modelos experimentales, evidenciando que el estrés oxidativo sería el mecanismo unificador en ambos modelos experimentales.
- En el modelo clínico, en todos los rangos etarios estudiados el fibrinógeno plasmático modificó sus concentraciones en forma independiente de otros factores de riesgo ya establecidos como HTA, DM2 y tabaquismo.
- Queda demostrada la hipótesis de una etiología inflamatoria, tanto para el SM como para la aterosclerosis. La reducción de NO, un regulador clave de la homeostasis del endotelio y el aumento de especies reactivas de oxígeno resultan en la disfunción endotelial y en un lecho vascular proaterogénico.
- La determinación de los biomarcadores inflamatorios debería tenerse en cuenta al evaluar el riesgo cardiovascular que presentan los pacientes con SM, ya que este no puede ser explicado sólo por los factores de riesgo tradicionales tal como se demostró en nuestro trabajo.
- Se ha verificado en los pacientes con SM, independientemente de los componentes diagnósticos que presenten, incremento del estrés oxidativo con modificaciones de biomarcadores proinflamatorios, prooxidativos y antioxidantes que reflejan el aumento de la carga aterogénica total.
- La identificación precoz de biomarcadores en los pacientes con SM posibilitaría la intervención en fases preclínicas y reversibles, previniendo o retardando el desarrollo de DM2 y de aterogénesis.

BIBLIOGRAFÍA

1-Organización de Naciones Unidas. Proyecto de resolución presentado por el Presidente de la Asamblea General. Declaración Política de la Reunión de Alto Nivel de la Asamblea General sobre la Prevención y el Control de las Enfermedades No Transmisibles. 16 de septiembre de 2011.

2-Santos AA, Severo M, Barros H: Incidence and risk factors for the metabolic syndrome in an urban South European population. *Prev Med* 50:99-105; 2010.

3-Alberti G, Zimmet P, Shaw J, Grundy SM. The IDF consensus worldwide definition of the Mets. www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf. 2012.

4-Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes care* 27:2444-2449; 2004.

5-Márquez-Sandoval F, Macedo-Ojeda G, Viramontes-Hörner D, Fernández-Ballart JD, Salas Salvadó J, Vizmanos B. The prevalence of metabolic syndrome in Latin America: a systematic review. *Public Health Nutr* 14:1702-13; 2011.

6-Escobedo J, Schargrotsky H, Champagne B, Silva H, Boissonnet CP, Vinueza R et al. Prevalence of the metabolic syndrome in Latin America and its association with sub-clinical carotid atherosclerosis: the CARMELA cross sectional study. *Cardiovasc Diabetol* 6:8-52; 2009.

7-Vicario A, Cerezo G, Zilberman J, Del Sueldo M. Prevalencia del síndrome metabólico en la consulta cardiológica y utilidad de la percepción médica como herramienta diagnóstica. Estudio CARISMA (Caracterización y Análisis del Riesgo en Individuos con SM en la Argentina). *Rev Fed Arg Cardiol* 40 (2): 152-157; 2011.

8-Ginter E, Simko V. Type 2 diabetes mellitus, pandemic in 21st century. *Adv Exp Med Biol*. 771:42-50; 2012.

9-Escande C, Nin V, Price NL, Capellini V, Gomes AP, Barbosa MT, O'Neil L, White TA, Sinclair DA, Chini EN. Flavonoid apigenin is an inhibitor of the NAD⁺ ase CD38: implications for cellular NAD⁺

metabolism, protein acetylation, and treatment of metabolic syndrome. *Diabetes* 62(4): 1084–1093; 2013.

10-Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab* 92:399–404; 2007.

11-Palomo IG, Moore-Carrasco R, Alarcon M, et al. Pathophysiology of the proatherothrombotic state in the metabolic syndrome. *Frontiers in Bioscience* 2:194–208; 2010.

12-Palomo IG, Gutiérrez CL, Alarcón ML, et al. Increased concentration of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen in individuals with metabolic syndrome. *Molecular Medicine Reports* 2(2):253–257; 2009.

13-Fernández-García JC, Cardona F, Tinahones FJ. Inflammation, oxidative stress and metabolic syndrome: dietary modulation. *Curr Vasc Pharmacol* 11(6): 906-19; 2013.

14-Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international Diabetes Federation Task force on epidemiology and prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American heart Association; World heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the study of obesity. *Circulation* 20: 1640-5; 2009.

15-Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, Badimon L, Palomo I. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013: 136584.

16-Ballantyne CM, Hoogeveen RC, McNeill AM, Heiss G, Schmidt MI, Duncan BB, Pankow JS. Metabolic syndrome risk for cardiovascular disease and diabetes in the ARIC study. *Int J Obes (Lond)* 32:21-24; 2008.

17-Sipila K, Moilanen L, Nieminen T: Metabolic syndrome and carotid intima-media thickness in the Health 2000 Survey. *Atherosclerosis* 204:276–281; 2009.

- 18-Trevisan M, Liu J, Bhasas F. Syndrome X and mortality: a population based study. Risk Factor and Life Expectancy Research Group. *Am J Epidemiol* 148:958-66, 1998.
- 19-Tan MC, Wong TW, Ng OC, Joseph A, Hejar AR. Metabolic syndrome components and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients in Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 45(1): 226-35; 2014.
- 20-Hu G, Qiao O, Tuomilehto J. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all cause and cardiovascular mortality in non diabetic European men and women. *Arch Intern Med* 164: 1066-76; 2004.
- 21-Lakka H, Laaksonen D, Lakka T. The metabolic syndrome and total cardiovascular disease mortality in middle aged men. *JAMA* 288: 2709-16; 2002.
- 22-Ford ES, Giles WH, Dietz W. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 287:356-359; 2002.
- 23-Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care* 27:2444-9; 2004.
- 24-Okamoto T, Morimoto S, Ikenoue T, Furumatsu Y, Ichihara A. Visceral fat level is an independent risk factor for cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 39(2):122-9; 2014.
- 25-Gutiérrez L, García JR, Rincón MD, Ceballos GM, Olivares IM. Effect of a hypocaloric diet in the oxidative stress in obese subjects without prescription of exercise and antioxidants. *Med Clin (Barc)*. 2014 Mar 12. pii: S0025-7753(14)00083-9. doi: 10.1016/j.medcli.2013.12.015. [Epub ahead of print].
- 26-O'Rourke R. Inflammation in obesity-related diseases. *Surgery* 13(3):255-259; 2009. Zeyda M, Stulnig TM. Obesity, inflammation, and insulin resistance—a mini-review. *Gerontology*. 2009;13(4):379-386;2009.

- 27-Sell H, Eckel J. Adipose tissue inflammation: novel insight into the role of macrophages and lymphocytes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13(4):366–370; 2010.
- 28-Neuhofer A, Wernly B, Leitner L, Sarabi A, Sommer NG, Staffler G, Zeyda M, Stulnig TM An accelerated mouse model for atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Cardiovasc Diabetol* 13: 23; 2014.
- 29-Eckel RH, Alberti KG, Grundy SM and Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 375: 181–183; 2010.
- 30-Rosas Guzman J., Gonzalez Chavez A., Aschner P., Bastarrachea R. y col. Epidemiologia, Diagnostico, Control, Prevencion y Tratamiento del Síndrome Metabolico en Adultos. Consenso Latinoamericano de la Asociacion Latinoamericana de Diabetes (ALAD) VOL. XVIII - No 1 - Año 2010.
- 31-Mottillo S, Filion KB, Genest J, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 56:1113–32; 2010.
- 32-Nikolopoulou A, Kadooglou NP. Obesity and metabolic syndrome as related to cardiovascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 10(7):933-9; 2012.
- 33-Utzschneider KM, Van de Lagemaat A, Faulenbach MV, Goedecke JH, Carr DB, Boyko EJ, Fujimoto WY, Kahn SE. Insulin resistance is the best predictor of the metabolic syndrome in subjects with a first-degree relative with type 2 diabetes. *Obesity* 18(9):1781-7; 2010.
- 34-Wing RR, Lang W, Wadden TA, Safford M, Knowler WC, Bertoni AG, Hill JO, Brancati F, Peters A, Wagenknecht L. Benefits of Modest Weight Loss in Improving Cardiovascular Risk Factors in Overweight and Obese Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 34(7): 1481–1486; 2011.
- 35-Lorenzo M, Fernández-Veledo S, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L,C. De Alvaro C, Nieto-Vazquez I. Insulin resistance induced by tumor necrosis factor- α in myocytes and brown adipocytes. *J ANIM SCI* 86(14):94-104; 2008.
- 36-Rao VS, Nagaraj RK, Hebbagodi S, Kadarinarasimhiah NB, Kakkar

- VV. Association of inflammatory and oxidative stress markers with metabolic syndrome in asian indians in India. *Cardiol Res Pract* 2011:295976. doi: 10.4061/2011/295976, 2010.
- 37-Kajikawa Y, Ikeda M, Takemoto S, Tomoda J, Ohmaru N, Kusachi S. Association of circulating levels of leptin and adiponectin with metabolic syndrome and coronary heart disease in patients with various coronary risk factors. *Int Heart J* 52(1):17-22; 2011.
- 38-Rasmussen-Torvik L, Wassel C, Ding J, Carr J, Cushman M, Jenny N, and Allison M. Associations of BMI and insulin resistance with leptin, adiponectin, and the leptin to adiponectin ratio across ethnic groups: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) *Ann Epidemiol* 22(10): 705–709; 2012.
- 39-Yadav A, Kataria M, Vandana Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica Chimica Acta* 417: 80-84; 2013.
- 40-Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta - analysis. *JAMA* 302(2): 179–188; 2009.
- 41-Padmalyam I, Suto M. Role of adiponectin in the metabolic syndrome: current perspectives on its modulation as a treatment strategy. *Curr Pharm Des* 19 (32):5755-63; 2013.
- 42-Stofkova A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocrine Regulations* 43 (4): 157–168; 2009.
- 43-Deng G, Long Y, Yu Y, and Li M. Adiponectin directly improves endothelial dysfunction in obese rats through the AMPK-eNOS Pathway. *International Journal of Obesity* 34 (1):165–171; 2010.
- 44-Ran J, Xiong X, Liu W, Guo S, Li Q, Zhang R, Lao G. Increased plasma adiponectin closely associates with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 88 (2):177–183; 2010.

- 45-Peña A, Belobrajdic D, Wiltshire E, Gent R, Hirte C, and Couper J. Adiponectin relates to smooth muscle function and folate in obese children. *International Journal of Pediatric Obesity* 5(2):185–191; 2010.
- 46-Ohashi K, Parker J, Ouchi N et al. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype. *The Journal of Biological Chemistry* 285(9): 6153–6160; 2010.
- 47-Bonora E, Kiechl S, Willeit J, et al. Prevalence of Insulin Resistance in Metabolic Disorders. The Bruneck Study. *Diabetes* 47:1643-49; 1998.
- 48-Zhang PY. Cardiovascular disease in diabetes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 18(15):2205-14; 2014.
- 49-Vazzana N, Santilli F, Sestili S, Cuccurullo C, Davi G. Determinants of increased cardiovascular disease in obesity and metabolic syndrome. *Curr Med Chem* 18(34):5267-80; 2011.
- 50-Monteiro R, Azevedo I. Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators of Inflammation* 2010; Article ID 289645.
- 51-Herder M, Arntzen KA, Johnsen SH, Mathiesen EB: The metabolic syndrome and progression of carotid atherosclerosis over 13 years. The Tromsø study. *Cardiovasc Diabetol* 11: 77; 2012.
- 52-Novo S, Peritore A, Trovato R, Guarneri F, Di Lisi D, Muratori I, Novo G. Preclinical atherosclerosis and metabolic syndrome increase cardio- and cerebrovascular events rate: a 20-year follow up. *Cardiovascular Diabetology* 12:155; 2013.
- 53-Chen K, Lindsey J, Khera A, De Lemos JA, Ayers C, Goyal A, Vega G, Murphy S, Grundy SM, Mcguire DK. Independent associations between metabolic syndrome, diabetes mellitus and atherosclerosis: observations from the Dallas Heart Study. *Diab Vasc Dis Res* 5(2):96-101; 2008.
- 54-Fearon IM, Faux SP. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol* 47(3):372-81; 2009.

- 55-Frostegård J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BMC Med* 11:117. doi: 10.1186/1741-7015-11-117; 2013.
- 56- Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva, World Health Organization, 2011.
- 57-Galkina E. and Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol* 27:165-97; 2009.
- 58-Esteller Pérez A. Biología de la pared vascular y síndrome metabólico. *Nutr. Hosp.* 20(1): 5-17; 2005.
- 59-Fu Y, Duru EA, Davies MG. Effect of metabolic syndrome on the response to arterial injury. *J Surg Res.* doi: 10.1016/j.jss.2014.05.051; 2014 [Epub ahead of print].
- 60-Montagnana M, Danese E, Lippi G. Genetic risk factors of atherothrombosis. *Pol Arch Med Wewn.* 2014; pii: AOP_14_062. [Epub ahead of print].
- 61-Golia E, Limongelli G, Natale F, Fimiani F, Maddaloni V, Pariggiano I, Bianchi R et al. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep.* 16(9):435. doi: 10.1007/s11883-014-0435-z; 2014.
- 62-Krintus M, Kozinski M, Kubica J, Sypniewska G. Critical appraisal of inflammatory markers in cardiovascular risk stratification. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 11: doi:10.3109/10408363.2014.913549; 2014.
- 63-Stoner L, Lucero AA, Palmer BR, Jones LM, Young JM, Faulkner J. Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. *Clin Biochem* 46(15):1353-71; 2013.
- 64-Packard RR, Libby P. Inflammation in Atherosclerosis: From vascular biology to biomarker discovery and risk prediction *Clin Chem* 54(1):24-38; 2008.
- 65-Kafle DR, Shrestha P. Study of fibrinogen in patients with diabetes mellitus. *Nepal Medical College Journal* 12(1):34-37; 2010.
- 66-Ndrepepa G, Braun S, King L, et al. Relation of fibrinogen level with cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *American Journal of Cardiology* 111(6):804-810; 2013.

- 67-Kampoli AM, Tousoulis D, Antoniadis C, Siasos G, Stefanadis C. Biomarkers of premature atherosclerosis. *Trends Mol Med.* 15(7): 323-32; 2009.
- 68-Tousoulis D, Papageorgiou N, Androulakis E, Briasoulis A, Antoniadis C, Stefanadis C. Fibrinogen and cardiovascular disease: genetics and biomarkers. *Blood Rev.* 25(6): 239-45; 2011.
- 69-Dehghan A, Yang Q, Peters A, Basu S, Bis JC, Rudnicka AR et al. Association of novel genetic Loci with circulating fibrinogen levels: a genome-wide association study in 6 population-based cohorts. *Circ Cardiovasc Genet* 2(2):125-33; 2009.
- 70-de Moerloose P, Boehlen F, Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 36(1):7-17; 2010.
- 71-Sabater-Lleal M, Huang J, Chasman D, Naitza S, Dehghan A, Johnson AD et al. Multiethnic meta-analysis of genome-wide association studies in >100 000 subjects identifies 23 fibrinogen-associated Loci but no strong evidence of a causal association between circulating fibrinogen and cardiovascular disease. *Circulation* 128(12):1310-24; 2013.
- 72-Moya M; Campana V; Gavotto A; Spitale L; Simes J y Palma JA. Lesiones en aorta de ratas producidas por hiperfibrinogenemia compatibles con aterogénesis. *Medicina* 5: 507; 2002.
- 73-Moya M; Campana V; Gavotto AC; Spitale L; Simes J; Palma JA. Simvastatin: pharmacological response in experimental hyperfibrinogenaemias. *Acta. Cardiol* 60(2): 159-64; 2005
- 74-Baez MC, Tárán MD, Campana V, Simes JC, Pons P, Palma JA, Moya M. Marcadores de estrés oxidativo en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. *Arch Cardiol Méx.* 79(2):85-90; 2009.
- 75-Llorens C, Baez MC, Tarán M, Campana V, Fonseca I, Oyola E, Palma J, Moya M. Rol Antioxidante de la vitamina E en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia . *Rev Argent Cardiol* 78(5):405-410; 2010.
- 76-Baez MC.; Llorens C; Tarán MD; Balceda AG; Campana V, Pons P; Moya M. Mitochondrial morphofunctional alterations in smooth muscle

- cells of aorta in rats. *ISRN Cardiology*. Article ID 739526, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/739526>. 2014.
- 77-Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 18;47(8 Suppl):C7-12; 2006.
- 78-Bonomini F., Tengattini S., Fabiano A., Bianchi R., Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*. 23 (3): 381-90; 2008.
- 79-Zweier JL, Li H, Samouilov A, Liu X. Mechanisms of nitrite reduction to nitric oxide in the heart and vessel wall. *Nitric Oxide* 22(2):83-90; 2010.
- 80-Gleissner C.A., Leitinger N., Ley K. Effects of native and modified low-density lipoproteins on monocyte recruitment in atherosclerosis. *Hypertension*. 50 (2): 276-83; 2007.
- 81-Thomas S.R., Witting P.K. and Drummond G.R. Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*. 10(10): 1713-1766; 2008
- 82-Victor VM, Rocha M, Solá E, Bañuls C, Garcia-Malpartida K, Hernández-Mijares A. Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Curr Pharm Des* 15(26): 2988-3002; 2009.
- 83-Haddy N, Sass C, Maumus S, Marie B, Droesch S, Siest G, Lambert D, Visvikis S. Biological variations, genetic polymorphisms and familial resemblance of TNF-alpha and IL-6 concentrations: STANISLAS cohort. *Eur J Hum Genet*. 13(1):109-17; 2005.
- 84-Battes LC, Cheng JM, Oemrawsingh RM, Boersma E, Garcia-Garcia HM, de Boer SP et al. Circulating cytokines in relation to the extent and composition of coronary atherosclerosis: Results from the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis* 236(1): 18-24; 2014.
- 85-Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 33(7):829-37; 2012.
- 86-Rochette L, Lorin J, Zeller M, Guillard JC, Lorgis L, Cottin Y, Vergely C. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in

cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? *Pharmacol Ther* 140(3):239-57; 2013.

87-Liu VW, Huang PL. Cardiovascular roles of nitric oxide: A review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice. *Cardiovasc Res* 77(1):19-29; 2008.

88-Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab* 20(6):295-302; 2009.

89-Tsutsui M, Shimokawa H, Otsuji Y, Yanagihara N. Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: novel insight from mice lacking all NO synthases. *Pharmacol Ther* 128(3):499-508; 2010.

90-Shimokawa H, Tsutsui M. Nitric oxide synthases in the pathogenesis of cardiovascular disease: lessons from genetically modified mice. *Pflugers Arch* 459(6):959-67; 2010.

91-Hansel B, Giral P, Nobecourt E. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab* 89:4963-71; 2004.

92-Kressel G, Trunz B, Bub A, Hülsmann O, Wolters M, Lichtinghagen R, Stichtenoth DO, Hahn A. Systemic and vascular markers of inflammation in relation to metabolic syndrome and insulin resistance in adults with elevated atherosclerosis risk. *Atherosclerosis* 202(1):263-71; 2009.

93-Govindarajan G, Hayden Mr, Cooper SA. Metabolic disarrangements in the insulin resistant heart. *J Cardiometab Synd* 1(2):102-6; 2006.

94-Stein N, Osler E, Greenman Y. Hypoadiponectinemia as a marker of adipocyte dysfunction part II: The functional significance of low adiponectin secretion. *J Cardiomet Synd* 2(4):288-94; 2007.

95-Sarafidas PA, Grekasi DM. Insulin resistance and oxidant stress: An interrelation with deleterious renal consequences. *J Cardiometab Synd* 2(2):139-42; 2007.

96-Li LF, Li J. Link between oxidative stress and insulin resistance. *Clin Med Sci J* 22(4):254-9; 2007.

- 97-Ježek P, Dlasková A, Plecítá-Hlavatá L. Redox homeostasis in pancreatic β cells. *Oxid Med Cell Longev* 2012:932838. doi: 10.1155/2012/932838; 2012.
- 98-Wei Y, Chen K, Whaley-Connell AT, Stump CS, Ibdah JA, Sowers JR. Skeletal muscle insulin resistance: role of inflammatory cytokines and reactive oxygen species. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294(3): 673-80; 2008.
- 99-Cooper SA. Renin-angiotensin-aldosterone system and oxidative stress in cardiovascular insulin resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293(4):2009-23; 2007.
- 100-Pastori D, Carnevale R, Pignatelli P. Is there a clinical role for oxidative stress biomarkers in atherosclerotic diseases? *Intern Emerg Med* 9(2):123-31; 2014.
- 101-Puddu P., Puddu G., Cravero E., De Pascalis S. and Muscari A. The emerging role of cardiovascular risk factor-induced mitochondrial dysfunction in atherogenesis. *J Biomed Sci* 16:112. doi: 10.1186/1423-0127-16-112; 2009.
- 102-Jiménez-Rosales A., Domínguez García V, Amaya-Chávez A. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *Ciencia Ergo Sum* 17(3): 258-268; 2011.
- 103-Karbach S, Wenzel P, Waisman A, Münzel T, Daiber A. eNOS Uncoupling in Cardiovascular Diseases - the Role of Oxidative Stress and Inflammation. *Curr Pharm Des* 20(22):3579-94; 2014.
- 104-Jiménez-Rosales A, Amaya-Chávez A, Domínguez García MV, Camarillo-Romero E, Huitrón Bravo GG, Cruz AM. Association of inflammatory and oxidative stress biomarkers in subjects with cardiovascular risk. *Am J Ther* 20(4):422-31; 2013.
- 105-Martín-Ventura JL, Sánchez-Galána E, Ares-Carrasco S et al. Nuevos mediadores implicados en la génesis de la aterosclerosis. *Clin Invest Arterioscl.* 21(1):25-33; 2009.
- 106- Roos CJ, Quax PH, Jukema JW. Cardiovascular metabolic syndrome: mediators involved in the pathophysiology from obesity to coronary heart disease. *Biomark Med* 6(1): 35-52; 2012.

- 107-Miranda R., Castro P, Greig D et al. Superóxido dismutasa ligada al endotelio es un sensible marcador de estrés oxidativo y disfunción endotelial en la insuficiencia cardiaca. *Rev. Chil. Cardiol.* 25 (3): 267-273; 2006.
- 108- Sena CM, Pereira AM, Seíça R. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 1832(12): 2216-31; 2013.
- 109-Benitez Zequeira D.E. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Rev. Cub Invest Biomed* 25 (2): 1-7; 2006.
- 110-Yubero-Serrano EM, Delgado-Lista J, Peña-Orihuela P, Perez-Martinez P, Fuentes F, Marin C et al. Oxidative stress is associated with the number of components of metabolic syndrome: LIPGENE study. *Exp Mol Med.* 45: e28. doi: 10.1038/emm.2013.53; 2013.
- 111-Mangge Harald, Becker Kathrin, Fuchs Dietmar, Gostner Johanna M. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol* 6(6): 462-477; 2014.
- 112-Godinez-Rubi M, Rojas-Mayorquin AE, Ortuno-Sahagun D. Nitric oxide donors as neuroprotective agents after an ischemic stroke-related inflammatory reaction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2013:297357; 2013.
- 113-Di Lisa F, Kaluderic N, Carpi A., Menabo R., Giorgio M. Mitochondria and vascular pathology. *Pharmacological Repots.* 61: 123-130; 2009.
- 114-Victor V.M.(b), Apostolova N., Herance R., Hernandez-Mijares A., Rocha M. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in atherosclerosis mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy. *Curr. Med. Chem.* 16 (35): 4654-67; 2009.
- 115-Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiol Rev* 94(3): 909-950; 2014.
- 116-Kluge MA, Fetterman JL, Vita JA. Mitochondria and endothelial function. *Circulation Research* 112(8):1171-1188; 2013.

- 117-Chen YR, Chen CL, Yeh A, Liu X, Zweier JL. Direct and indirect roles of cytochrome b in the mediation of superoxide generation and NO catabolism by mitochondrial succinate-cytochrome c reductase. *J Biol Chem* 281(19):13159-68; 2006.
- 118-Ilkun O, Boudina S. Cardiac dysfunction and oxidative stress in the metabolic syndrome: an update on antioxidant therapies. *Curr Pharm Des* 19(27): 4806-17; 2013.
- 119-Chen YR, Zweier JL. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circ Res* 114(3): 524-37; 2014.
- 120-Mote J.D., Espinosa López R.F., Diaz Meza S., Sánchez Rojas G et al Óxido Nítrico: metabolismo e implicancias clínicas. *Med. Int. Mex.* 24 (6): 397- 406; 2008.
- 121-Giovanni B., Rodriguez R. Ultrastructure of the Mitochondrion and Its Bearing on Function and Bioenergetics. *Antioxidants & Redox Signaling.* 10 (8): 1313-1342; 2008.
- 122-Vichova T, Motovska Z. Oxidative stress: Predictive marker for coronary artery disease. *Exp Clin Cardiol* 18(2): e88-e91; 2013.
- 123-Surmeli NB, Litterman NK, Miller AF, Groves JT. Peroxynitrite mediates active site tyrosine nitration in manganese superoxide dismutase. Evidence of a role for the carbonate radical anion. *J Am Chem Soc* 132(48): 17174-85; 2010.
- 124-Hulsmans M, Van Dooren E, Holvoet P. Mitochondrial reactive oxygen species and risk of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 14(3): 264-276; 2012.
- 125-Chong SJ, Low IC, Pervaiz S. Mitochondrial ROS and involvement of Bcl-2 as a mitochondrial ROS regulator. *Mitochondrion* doi: 10.1016/j.mito.2014.06.002; 2014 [Epub ahead of print].
- 126-Takeuchi A, Kim B, Matsuoka S. The destiny of Ca²⁺ released by mitochondria. *J Physiol Sci.* 2014 [Epub ahead of print].
- 127-Radi R. Protein tyrosine nitration: biochemical mechanisms and structural basis of functional effects. *Acc Chem Res* 46(2): 550-559; 2013.

- 128-Peinado JR, Diaz-Ruiz A, Frühbeck G, Malagon MM. Mitochondria in metabolic disease: getting clues from proteomic studies. *Proteomics* 14(4-5):452-66; 2014.
- 129-Newton BW, Cologna SM, Moya C, Russell DH, Russell WK, Jayaraman A. Proteomic analysis of 3T3-L1 adipocyte mitochondria during differentiation and enlargement. *J Proteome Res* 10(10): 4692-702; 2011.
- 130-Shen GX. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 12(2): 106-12; 2012.
- 131-Schulz E, Wenzel P, Münzel T, Daiber A. Mitochondrial Redox Signaling: Interaction of Mitochondrial Reactive Oxygen Species with Other Sources of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal* 20(2): 308-24; 2014.
- 132-Luciardi H. Nuevas fronteras en la valoración del riesgo cardiometabólico. *Rev de la Federación Argentina de Cardiología* 36(2): 61-64; 2007.
- 133-Yayan J. Emerging families of biomarkers for coronary artery disease: inflammatory mediators. *Vasc Health Risk Manag.* 9: 435-56; 2013.
- 134-Renna N, Vázquez M, González S, Lama C, Cruzado M, Miatello R. Expresión vascular de factores de transcripción proinflamatorios en un modelo de Síndrome Metabólico *Rev. Arg. Cardiol* 75: 36-41; 2007.
- 135-Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliari L, Ceriello A, Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 106: 2067-2072; 2002.
- 136-Karnovsky M. J and Graham R. C. A Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity by MET. *Journal.Cell. of Biology* 27: 137-138; 1965.
- 137-Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteína-DNA binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254; 1976.

- 138-Vyatkina G., Vandana Jay B., Arpad G., Papaconstantinou J. Impaired mitochondrial respiratory chain and bioenergetics during chagasic cardiomyopathy development, *Biochim Biophys Acta* 1689: 162-173; 2004.
- 139-Trounce I.A., Kim YL, Jun AS, Wallace DC. Assessment of mitochondrial oxidative phosphorylation in patient muscle biopsies, lymphoblasts, and transmittochondrial cell lines. *Methods Enzymol.*264: 484-509; 1996.
- 140-Jarreta D., Orus J., Barrientos A., Miro O., Roig E., Heras M., Moraes C.T., Cardellach F., Casademont J. Mitochondrial function in heart muscle from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy, *Cardiovasc. Res.* 45: 860-865; 2000.
- 141-Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 289:2560-257; 2003.
- 142-Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 27:1487-1495; 2004.
- 143-Meigs JB, Mittleman M, Nathan D, Tofler GH, Singer DE, Murphy-Sheehy PM, Lipinska I, D'Agostino RB, Wilson PW. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: The Framingham Offspring Study. *JAMA* 283(2): 221-8; 2000.
- 144-National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 28: 1039-1057; 1979.
- 145-Executive summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): *J Am Med Acad* 285: 2486-2497; 2001.
- 146-Ratnoff OD, Menzie AC: A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma. *J. Lab. Clin. Med* 37: 316-320; 1957.

- 147-Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. The biological significance of nitric oxide formation from L-arginine. *Biochem Soc Trans* 17(4): 642-4; 1989.
- 148-Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci* 34: 253-6; 1983.
- 149-Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Phys Renal Phys* 290 (3): 625–631, 2006.
- 150-Stanhope KL. Role of fructose-containing sugars in the epidemics of obesity and metabolic syndrome. *Annu Rev Med* 63:329-343; 2012.
- 151-Bursać BN, Vasiljević AD, Nestorović NM, Veličković NA, Vojnović Milutinović DD, Matić GM, Djordjevic AD. High-fructose diet leads to visceral adiposity and hypothalamic leptin resistance in male rats--do glucocorticoids play a role?. *J Nutr Biochem* 25(4):446-55; 2014.
- 152-Qu HQ, Li Q, Rentfro AR, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One* 6(6):e21041; 2011.
- 153-Simmons RK, Alberti KG, Gale EA, Colagiuri S, Tuomilehto J, Qiao Q, Ramachandran A, Tajima N, Brajkovich MI, Ben Nakhi A, Reaven G, Hama SB, Mendis S, Roglic G: The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation. *Diabetologia* 53(4): 600-5; 2010.
- 154-Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology* 314(1): 1–16; 2010.
- 155-Thaler JP, Yi C-X, Schur EA, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *The Journal of Clinical Investigation* 122(1): 153–162; 2012.
- 156-Ozturk ZA, Kadayifci A. Insulin sensitizers for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol* 6(4):1 99-206; 2014.

- 157-Smith BW, Adams LA. Non-alcoholic fatty liver disease. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 48(3): 97–113; 2011.
- 158-Manco M. Metabolic syndrome in childhood from impaired carbohydrate metabolism to nonalcoholic fatty liver disease. *J Am Coll Nutr* 30(5): 295-303; 2011.
- 159-Van der Poorten D, Samer C.F., Ramezani-Moghadam M, Coulter S, Kacevska M, Schrijnders D, Wu L.E, McLeod D, Bugianesi E, Komuta M, et al. Hepatic fat loss in advanced nonalcoholic steatohepatitis: Are alterations in serum adiponectin the cause? *Hepatology (Baltim., Md.)* 57:2180–2188; 2013.
- 160-Krishnan B, Babu S, Walker J, Walker AB, and Pappachan JM. Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. *World J Diabetes* 4(3): 51–63; 2013.
- 161-Weiβ J, Rau M, Geier A. Non-alcoholic Fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 111(26): 447-52; 2014.
- 162-Nassir F, Ibdah JA. Role of Mitochondria in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci* 15(5): 8713–8742; 2014.
- 163-Wong R, Aijaz Ahmed A. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease: Disparate associations among Asian populations. *World J Hepatol* 6(5): 263–273; 2014.
- 164-Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 52(5):1836–1846; 2010.
- 165-Bellafante E, Murzilli S, Salvatore L, Latorre D, Villani G, Moschetta A. Hepatic-specific activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 β protects against steatohepatitis. *Hepatology* 57(4): 1343–1356; 2013.
- 166-Castro GS, Cardoso JF, Vannucchi H, Zucoloto S, Jordão AA. Fructose and NAFLD: metabolic implications and models of induction in rats. *Acta Cir Bras* 26(2):45-50; 2011.

- 167-Cao YX, Li LP. Relationship of non-alcoholic steatohepatitis with arterial endothelial function and atherosclerosis. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 22(3): 205-8; 2014.
- 168-Jamkhande PG, Chandak PG, Dhawale SC, Barde SR, Tidke PS, Sakhare RS. Therapeutic approaches to drug targets in atherosclerosis. *Saudi Pharm J* 22(3): 179-90; 2014.
- 169-Lu PP, Liu JT, Liu N, Guo F, Ji YY, Pang X. Pro-inflammatory effect of fibrinogen and FDP on vascular smooth muscle cells by IL-6, TNF- α and iNOS. *Life Sci.* 88 (19-20): 839-45; 2011.
- 170-Anderson SG, Hutchings DC, Heald AH, Anderson CD, Sanders TA, Cruickshank JK. Haemostatic factors, lipoproteins and long-term mortality in a multi-ethnic population of Gujarati, African-Caribbean and European origin. *Atherosclerosis* 236(1): 62-72;2014.
- 171-Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, Wood AM, White IR, Gao P et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med* 367(14): 1310-20; 2012.
- 172-Kobsar A, Simonis S, Klinker E, Koessler A, Kuhn S, Boeck M, Koessler J. Specific inhibitory effects of the NO donor MAHMA/NONOate on human platelets. *Eur J Pharmacol* 735: 169-76; 2014.
- 173-Pernow J, Jung C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc Res* 98(3):334-43; 2013.
- 174-Jabecka A Ast J, Bogdaski P, Drozdowski M, Pawlak-Lemaska K, Cielewicz AR, Pupek-Musialik D. Oral L-arginine supplementation in patients with mild arterial hypertension and its effect on plasma level of asymmetric dimethylarginine, L-citrulline, L-arginine and antioxidant status. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 16(12): 1665-74; 2012.
- 175-El Assar M, Ruiz de Adana JC, Angulo J, Pindado Martínez ML, Hernández MA, Rodríguez-Mañas L. Preserved endothelial function in human obesity in the absence of insulin resistance. *J Transl Med* 11: 263; doi: 10.1186/1479-5876-11-263; 2013.

- 176-Vanhoutte PM. Regeneration of the endothelium in vascular injury. *Cardiovasc Drugs Ther* 24(4): 299-303; 2010.
- 177-Hartman J , Frishman WH. Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug therapy. *Cardiol Rev* 22(3): 147-51; 2014.
- 178-Stumpf C, Fan Q, Hintermann C, Raaz D, Kurfürst I, Losert S, Pflederer W, Achenbach S, Daniel WG, Garlichs CD. Anti-inflammatory effects of danshen on human vascular endothelial cells in culture. *Am J Chin Med* 41(5): 1065-77; 2013.
- 179-Fuster V. Chronic multivessel disease: past, present and future. *Rev. Esp. Cardiol.* 61(2): 2-9; 2008.
- 180-Lord SL. Molecular Mechanisms Affecting Fibrin Structure and Stability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31(3): 494–499; 2011.
- 181-Laubertová L, Koňariková K, Gbelcová H, Duračková Z, Zitňanová I. Effect of walnut oil on hyperglycemia-induced oxidative stress and pro-inflammatory cytokines production. *Eur J Nutr.* 2014; [Epub ahead of print].
- 182-Reaven G. Insulin Resistance and Coronary Heart Disease in Nondiabetic Individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(8): 1754-1759; 2012.
- 183-Grima Serrano A, León Latre M, Ordóñez Rubio B. El síndrome metabólico como factor de riesgo cardiovascular *Rev Esp Cardiol* 5(D): 16-20; 2005.
- 184-Khera AV, Cuchel M, de la Leera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 364 (2): 127–135; 2011.
- 185-Rosenson RS, Brewer HB Jr, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, et al. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation* 125(15): 1905–1919; 2012.
- 186-Gomaraschi M, Ossoli A, Pozzi S, Nilsson P, Cefalù A, Averna M, Kuivenhoven J, Hovingh G, Veglia F, Franceschini G, Calabresi L.

eNOS Activation by HDL Is Impaired in Genetic CETP deficiency. *PLOS ONE* 9(5): e95925; 2014.

187-Besler C, Heinrich K, Rohrer L, Doerries C, Riwanto M, et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J Clin Invest* 121(7): 2693–2708; 2011.

188-Rodriguez AD. The fixed combination of pravastatin and fenofibrate: What can it provide? *Clin Investig Arterioscler* 26 (1) 12-6; 2014.

189-Rytka JM, Wueest S, Schoenle EJ, Konrad D. The portal theory supported by venous drainage-selective fat transplantation. *Diabetes* 60(1): 56-63; 2011.

190-Oh S, Tanaka K, Noh JW, So R, Tsujimoto T, Sasai H, Kim M, Shoda J. Abdominal obesity: causal factor or simply a symptom of obesity-related health risk. *Diabetes Metab Syndr Obes* 7: 289-96; 2014.

191-Wang Y, Xu A, Knight C, Xu LX, Cooper GJS. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. *J Biol Chem* 277(22): 19521-9; 2002.

192-Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: Not a passive bystander. *Autoimmun Rev* pii: S1568-9972(14)00141-4; 2014 [Epub ahead of print].

193-Insulin: initiation of pool of insulin-dependent cells, targeted transfer of triglycerides and increase of kinetic parameters of oxidation of fatty acids. *Klin Lab Diagn* (4):27-38; 2014.

194-Liu Y, Palanivel R, Rai E, Park M, Gabor TV, Scheid MP, Xu A, Sweeney G. Adiponectin stimulates autophagy and reduces oxidative stress to enhance insulin sensitivity during high fat diet feeding in mice. *Diabetes* pii: DB_140267; 2014 [Epub ahead of print].

195-Palavra F, Marado D, Mascarenhas-Melo F, Sereno J, Teixeira-Lemos E, Nunes CC, Gonçalves G, Teixeira F, Reis F. New markers of early cardiovascular risk in multiple sclerosis patients: oxidized-LDL correlates with clinical staging. *Dis Markers* 34 (5):341-8; 2013.

- 196-Ha AW, Jeong SY, Kang NE, Kim WK. Plasma adipocytokines and antioxidants-status in Korean overweight and obese females with dyslipidemia. *Nutr Res Pract* 8(4):417-24; 2014.
- 197-Mori T, Koyama Y, Maeda N, Nakamura Y, Fujishima Y, Matsuda K, Funahashi T, Shimada S, Shimomura I. Ultrastructural localization of adiponectin protein in vasculature of normal and atherosclerotic mice. *SciRep* 4: 4895; 2014.
- 198-Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Adiponectin as a routine clinical biomarker. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 28(1): 119–130; 2014.
- 199-Finelli C, Tarantino G. What is the role of adiponectin in obesity related nonalcoholic fatty liver disease? *World J Gastroenterol* 19(6): 802-12; 2013.
- 200-Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Molecular mechanisms of diabetes and atherosclerosis: role of adiponectin. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* 12(2): 118–31; 2012.
- 201-Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch* 459(6): 923-39; 2010.
- 202-Rojas E, Rodríguez-Molina D, Bolli P, Israili ZH, Faría J, Fidilio E, Bermúdez V, Velasco M. The role of adiponectin in endothelial dysfunction and hypertension *Curr Hypertens Rep* 16(8): 463; 2014.
- 203-Flam BR, Eichlerb DC, Solomonson LP. Endothelial nitric oxide production is tightly coupled to the citrulline-NO cycle. *Nitric Oxide* 17(3-4): 115-21; 2007.
- 204-Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, Bianco A, Daniele A. New Insight into Adiponectin Role in Obesity and Obesity-Related Diseases. *Biomed Res Int* 2014: 658913; 2014.
- 205-Tripolt NJ, Meinitzer A, Eder M, Wascher TC, Pieber TR, et al. Multifactorial risk factor intervention in patients with Type 2 diabetes improves arginine bioavailability ratios. *Diabet Med* 29(10): e365–368; 2012.

- 206-Sailer M, Dahlhoff C, Giesbertz P, Eidens MK, de Wit N, Rubio-Aliaga I, Boekschoten MV, Müller M, Daniel H. Increased Plasma Citrulline in Mice Marks Diet-Induced Obesity and May Predict the Development of the Metabolic Syndrome. *PLoS One* 8(5): e63950; 2013.
- 207-Münzel T, Gori T, Bruno RM, Taddei S. Is oxidative stress a therapeutic target in cardiovascular disease? *Eur Heart J* 31(22): 2741-8; 2010.
- 208-Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis. *Circ J.* 73 (4): 595-601; 2009.
- 209-Muller G, Morawietz H. Nitric Oxide, NAD(P)H Oxidase and Atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal.* 11 (7): 1711-31; 2009.
- 210-Fukushima M, Okamoto Y, Katsumata H, Ishikawa M, Ishii S, Okamoto M, Minami S. Growth Hormone Ameliorates Adipose Dysfunction During Oxidative Stress and Inflammation and Improves Glucose Tolerance in Obese Mice. *Horm Metab Res J* 2014 [Epub ahead of print].
- 211-Bernabé García J, Zafrilla Rentero P, Mulero Cánovas J, Gómez Jara P, Leal Hernández M, Abellán Alemán J. Biochemical and nutritional markers and antioxidant activity in metabolic syndrome. *Endocrinol Nutr* 61(6):302-8; 2014.
- 212-Neves KB, Lobato NS, Lopes RA, Filgueira FP, Zanutto CZ, Oliveira AM, Tostes RC. Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity. *Clin Sci* 127(2): 111-22; 2014.
- 213-Feoli AM, Macagnan FE, Piovesan CH, Bodanese LC, Siqueira IR. Xanthine oxidase activity is associated with risk factors for cardiovascular disease and inflammatory and oxidative status markers in metabolic syndrome: effects of a single exercise session. *Oxid Med Cell Longev* 587083, doi: 10.1155/2014/587083; 2014.
- 214-Novo S, Peritore A, Guarneri FP, Corrado E, Macaione F, Evola S, Novo G. Metabolic syndrome (MetS) predicts cardio and cerebrovascular events in a twenty years follow-up. A prospective study. *Atherosclerosis* 223(2): 468-472; 2012.

- 215-Novo S, Visconti CL, Amoroso GR, Corrado E, Fazio G, Muratori I, Tantillo R, Lunetta M, D'Angelo L, Novo G. Asymptomatic carotid lesions add to CV risk prediction. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 17(5): 514–518; 2010.
- 216-Shah PK. Screening asymptomatic subjects for subclinical atherosclerosis: can we, does it matter, and should we? *J Am Coll Cardiol* 56(2): 98–105; 2010.
- 217-Leite NC, Villela-Nogueira CA, Pannain VL, Bottino AC, Rezende GF, Cardoso CR, Salles GF. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors. *Liver Int* 31(5): 700-6; 2011.
- 218-Uslusoy HS, Nak SG, Gülten M. Noninvasive predictors for liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *World journal of hepatology* 3(8): 219-27; 2011.
- 219-Phielix E, Meex R, Moonen-Kornips E, Hesselink MK, Schrauwen P. Exercise training increases mitochondrial content and ex vivo mitochondrial function similarly in patients with type 2 diabetes and in control individuals. *Diabetologia* 53 (8): 1714–1721; 2010.
- 220-Chistiakov DA, Sobenin IA, Bobryshev YV, and Orekhov AN. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial DNA mutations in atherosclerotic complications in diabetes. *World J Cardiol* 4(5): 148–156; 2012.
- 221-Rocha M, Apostolova N, Herance JR, Rovira-Llopis S, Hernandez-Mijares A, Victor VM. Perspectives and potential applications of mitochondria-targeted antioxidants in cardiometabolic diseases and type 2 diabetes. *Med Res Rev* 34(1): 160-89; 2014.
- 222-Handy D, Loscalzo J. Redox Regulation of Mitochondrial Function. *Antioxid Redox Signal* 16(11): 1323–1367; 2012.
- 223-Lim S, Rashid MA, Jang M, Kim Y, Won H, Lee J, Woo JT, Kim YS, Murphy MP, Ali L, Ha J, Kim SS. Mitochondria-targeted antioxidants protect pancreatic β -cells against oxidative stress and improve insulin secretion in glucotoxicity and glucolipotoxicity. *Cell Physiol Biochem* 28(5): 873-86; 2011.

224-Ha EEJ, Frohman MA. Regulation of mitochondrial morphology by lipids. *Bio Factors*. DOI: 10.1002/biof.1169; 2014.

225-Westermann B. Merging mitochondria matters: cellular role and molecular machinery of mitochondrial fusion. *EMBO Rep* 3: 527-31; 2002.

226-Parra V, Verdejo H, del Campo A, Pennanen C, Kuzmicic J, Iglewski M, et al. The complex interplay between mitochondrial dynamics and cardiac metabolism. *J Bioenerg Biomembr* 43:47-51; 2011.

227-Hirokawa N, Takemura R. Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons. *Nat Rev Neurosci* 6: 201-14; 2005.

228-Hollenbeck PJ, Saxton WM. The axonal transport of mitochondria. *J Cell Sci.* 118(23): 5411-9; 2005.

229-Germain M, Mathai JP, McBride HM, Shore GC. Endoplasmic reticulum BIK initiates DRP1-regulated remodelling of mitochondrial cristae during apoptosis. *EMBO J.* 24(8): 1546-56; 2005.

230-Yu E, Calvert PA, Mercer JR, Baker L, Figg NL, Kumar S et al . Mitochondrial DNA Damage Can Promote Atherosclerosis Independently of Reactive Oxygen Species Through Effects on Smooth Muscle Cells and Monocytes and Correlates With Higher-Risk Plaques in Humans. *Circulation* 128: 702-712; 2013.

231-Cole N. B., Daniels M. P., Levine R. L., Kim G. Oxidative stress causes reversible changes in mitochondrial permeability and structure. *Exp Gerontol.* 45 (7-8): 596-602; 2010.

232-Lenaz G., Genova M. L. Structure and organization of mitochondrial respiratory complexes: a new understanding of an old subject. *Antioxid Redox Signal.* 12 (8): 961-1008; 2010.

233-Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Orr AL, Branda MD. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox Biol* 1(1): 304–312; 2013.

234-Stowe D. F, Camara A. K. Mitochondrial reactive oxygen species production in excitable cells: modulators of mitochondrial and cell function. *Antioxid Redox Signal.* 11(6): 1373-414; 2009.

- 235-Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova IV, Treberg JR, Ackrell BA, Brand MD. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. *J Biol Chem.* 287(32): 27255-64; 2012.
- 236-Han D, Canali R, Rettori D, Kaplowitz N. Effect of glutathione depletion on sites and topology of superoxide and hydrogen peroxide production in mitochondria. *Mol Pharmacol* 64(5):1136-44; 2003.
- 237-Fisher-Wellman KH, Neuffer PD. Linking mitochondrial bioenergetics to insulin resistance via redox biology. *Trends Endocrinol. Metab* 23 (3): 142–153; 2012.
- 238-Yan LJ. Pathogenesis of chronic hyperglycemia: from reductive stress to oxidative stress. *J Diabetes Res* 137919. doi: 10.1155/2014/137919; 2014.
- 239-Rector RS, Uptergrove GM, Borengasser SJ, Mikus CR, Morris EM, Naples SP, Laye MJ, Laughlin MH, Booth FW, Ibdah JA and Thyfault JP. Changes in skeletal muscle mitochondria in response to the development of type 2 diabetes or prevention by daily wheel running in hyperphagic OLETF rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298(6): 1179–1187; 2010.
- 240-Dezfulian C, Shiva S, Alekseyenko A, Pendyal A, Beiser DG, Munasinghe JP, Anderson SA et al. Nitrite therapy after cardiac arrest reduces reactive oxygen species generation, improves cardiac and neurological function, and enhances survival via reversible inhibition of mitochondrial complex I. *Circulation* 120 (10) :897–905; 2009.
- 241-Karakelides H, Irving BA, Short KR, O'Brien P, K. Sreekumaran Nair K. Age, obesity and sex effects on insulin sensitivity and skeletal muscle mitochondrial function. *Diabetes* 59(1): 89-97; 2010.
- 242-Miller MW, Knaub LA, Olivera-Fragoso LF, Keller AC, Balasubramaniam V, Watson PA, Reusch JE. Nitric oxide regulates vascular adaptive mitochondrial dynamics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 304(12):H1624-33; 2013.
- 243-Patti ME and Corvera S. The Role of Mitochondria in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Endocr Rev* 31(3): 364–395; 2010.

- 244-Samartsev VN, Rybakova SR, Dubinin MV. Interaction of free fatty acids with mitochondria during uncoupling of oxidative phosphorylation. *Biofizika*. 58(3): 481-7; 2013.
- 245-Muoio D, Neufer PD. Lipid-Induced Mitochondrial Stress and Insulin Action in Muscle. *Cell Metabolism* 15(5): 595–605; 2012.
- 246-Bagkos G, Koufopoulos K, Piperi C. A new model for mitochondrial membrane potential production and storage. *Med Hypotheses* 83(2): 175-81; 2014.
- 247-Dueñas Castell C.; Zapata Oquendo H. A.; De la Espriella R.; Ortiz Ruiz G. Mitochondria y disfunción mitocondrial en el paciente crítico. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*. 11 (1): 55-67; 2011.
- 248-Lenaz G. and Genova M. L. Structural and functional organization of the mitochondrial respiratory chain: a dynamic super-assembly. *Int J Biochem Cell Biol*. 41 (10): 1750-1772; 2009.
- 249-Seppet E., Gruno M., Peetsalu A., Gizatullina Z, Nguyen HP, Vielhaber S, Wussling MH et al. Mitochondria and energetic depression in cell pathophysiology. *Int. J. Mol. Sci*. 10 (5): 2252-303; 2009.
- 250-Yu EP, Bennett MR. Mitochondrial DNA damage and atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab*. pii: S1043-2760(14)00107-6. doi: 10.1016/j.tem.2014.06.008; 2014.
- 251-Fedacko J, Pella D, Jarcuska P, Siegfried L, Janicko M, Veselíny E, Sabol F et al. Clinical and biochemical determinants of metabolic syndrome among Roma and non-Roma subjects in the eastern part of Slovakia. *Cent Eur J Public Health* 22: S75-80; 2014.
- 252-Salas R, Bibiloni Mdel M, Ramos E, Villarreal JZ, Pons A, Tur JA, Sureda A. Metabolic Syndrome Prevalence among Northern Mexican Adult Population. *PLoS One* 9(8): doi: 10.1371/journal.pone.0105581; 2014.
- 253-Morales-Viveros M, Jardón-Reyes A. Factores de riesgo de síndrome metabólico en adolescentes de 12 a 16 años. *Med Int Méx* 30:152-158; 2014.
- 254-Ezzati M, Riboli E. Behavioral and dietary risk factors for noncommunicable diseases. *N Engl J Med* 369(10): 954-64; 2013.

- 255-Fedacko J, Pella D, Jarcuska P, Siegfried L, Janicko M, Veselíny E, Pella J, Sabol F et al. Prevalence of cardiovascular risk factors in relation to metabolic syndrome in the Roma population compared with the non-Roma population in the eastern part of Slovakia. *Cent Eur J Public Health* 22: S69-74; 2014.
- 256-Franco OH, Massaro JM, Civil J, Cobain MR, O'Malley B, D'Agostino RB. Trajectories of entering the metabolic syndrome: The Framingham heart study. *Circulation* 120(20): 1943-50; 2009.
- 257-Abraham TM, Massaro JM, Hoffmann U, Yanovski JA, Fox CS. Metabolic characterization of adults with binge eating in the general population: The Framingham heart study. *Obesity (Silver Spring)*. doi: 10.1002/oby.20867; 2014 [Epub ahead of print].
- 258-Zimlichman R. Treatment of hypertension and metabolic syndrome: lowering blood pressure is not enough for organ protection, new approach-arterial destiffening. *Curr Hypertens Rep.* 16(10): 479. doi: 10.1007/s11906-014-0479-z; 2014.
- 259-Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 334(6): 374-81; 1996.
- 260-Cruz del Castillo AH, Córdova Fernández JA, Ramos Lagunes I, Camara J, Ortiz Solana XE, Vigil Pérez CA, García Ramos G. Comparison of glycemic control in diabetic patients with and without metabolic síndrome. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Córdoba.* 70(4):193-200; 2013.
- 261-Pei F, Sun J. New Insight into Improvement of Cardiovascular Outcomes with Intensive Glycemic Control in Patients with Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus Included. *Cell Biochem Biophys*; 2014 [Epub ahead of print].
- 262-Richardson JR, Pipkin JA, O'Dell LE, Nazarian A .Insulin resistant rats display enhanced rewarding effects of nicotine. *Drug Alcohol Depend* 140:205-7; 2014.

- 263-Cena H, Tesone A, Niniano R, Cerveri I, Roggi C, Turconi G. Prevalence rate of Metabolic Syndrome in a group of light and heavy smokers. *Diabetol Metab Syndr.* 5(1): 28; 2013.
- 264-Gaillard T, Schuster D, Osei K. Differential impact of serum glucose, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol on cardiovascular risk factor burden in nondiabetic, obese African American women: implications for the prevalence of metabolic syndrome. *Metabolism: clinical and experimental* 59(8): 1115-23; 2010.
- 265-Gallagher E , LeRoith D, and Karnieli E. The Metabolic Syndrome—from Insulin Resistance to Obesity and Diabetes. *Medical Clinics of North America* 95(5): 855-873; 2011.
- 266-Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res.* 36(3): 232-40; 2005.
- 267-Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014: 943162; 2014.
- 267-Wannamethee SG, Lowe GD, Shaper AG, Rumley A, Lennon L, Whincup PH. Associations between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 26(17): 1765-73; 2005.
- 268-Nakandakare ER, Charf AM, Santos FC, Nunes VS, Ortega K, Lottenberg AM, et al. Dietary salt restriction increases plasma lipoprotein and inflammatory marker concentrations in hypertensive patients. *Atherosclerosis* 200: 410-416; 2008.
- 269-Pasca A., Pereiro G, Spairani S et al. Miocardiopatías y Obesidad. *Rev Fed Arg Cardiol* 31: 39–45; 2002.
- 270-Murphy N, MacIntyre K, Stewart S. et al. Long-term cardiovascular consequences of obesity: 20 year follow-up of more than 15.000 middle-aged men and women (The Renfrew-Paisley Study). *Eur Heart J* 27: 96-106; 2006.
- 271-Mather KJ, Steinberg HO and Baron AD.. Insulin resistance in the vasculature. *J Clin Invest* 123(3): 1003–1004; 2013.

272-Gupta S1, Garg GR, Bharal N, Mediratta PK, Banerjee BD, Sharma KK. Reversal of propoxur-induced impairment of step-down passive avoidance, transfer latency and oxidative stress by piracetam and ascorbic acid in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 28(3): 403-8; 2009.

273-Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, Merzouk SA, Berrouiguet AY, Tessier C, Narce M. Effects of the association of aging and obesity on lipids, lipoproteins and oxidative stress biomarkers: a comparison of older with young men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 21(10): 792-9; 2011.

274-Vávrová L, Kodydková J, Zeman M, Dušejovská M, Macášek J, Staňková B, Tvrzická E, Zák A. Altered activities of antioxidant enzymes in patients with metabolic syndrome. *Obes Facts* 6(1): 39-47; 2013.

Premios y distinciones

- Beca de la Fundación Florencio Fiorini para el proyecto “Comportamiento de Biomarcadores inflamatorios relacionados con estrés oxidativo en modelo experimental aterogénico. 2008-2009.
- Beca SECYT para Doctorado, UNC, para el proyecto Importancia de Biomarcadores Inflamatorios en la Aterosclerosis Subclínica asociada a Síndrome Metabólico: modelo experimental y clínico. 2008-2013.
- Segundo Premio de Investigación de Patología Experimental por el trabajo: “Modificaciones histopatológicas en ratas con aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia”. XXXVIII Jornadas Científicas y Culturales de Patólogos y Citopatólogos de la Provincia de Córdoba. Córdoba. 2008.
- Primer Premio de Grado por el Trabajo: “Actividad antioxidante de la vitamina E en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia”. Novenas Jornadas de Investigación Científicas de la FCM. UNC. 2008.
- Primera Mención al trabajo presentado en poster “Estrés oxidativo como expresión fisiopatogénica del síndrome metabólico”. Tarán M., Baez M., Llorens de los Ríos M, Binci M., Campana V., Moya M. 10ª Jor de Invest Cient FCM. UNC. 2009
- Primer Premio en el área de investigación básica de la Federación Argentina de Cardiología por el trabajo: “Implementación de Vitaminas E y C combinadas como estrategia antioxidante en un modelo experimental de aterosclerosis subclínica” María Baez, Mariana Tarán, Maria Llorens, Ariel Balceda, Vilma Campana, José Palma, Mónica Moya. IICSHUM. Cátedra de Física Biomédica. UNC- UNLAR. Mayo 2010.

- Premio MANUEL ANTONIO GONZÁLEZ en mérito al trabajo: “Modelo Experimental Para Biomarcadores de Aterogénesis”. Otorgado por concurso al mejor trabajo sobre un tema vinculado al sistema cardiovascular por la ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA. 30 de Noviembre de 2010.

- Premio al mejor trabajo en ciencias básicas: Participación de la inflamación y el estrés oxidativo en las alteraciones vasculares asociadas al síndrome metabólico en un modelo experimental. Otorgado por la Sociedad Argentina de Medicina en el Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna 2011.

- Premio al mejor trabajo neurológico del interior: Estimulación trigeminal y extravasación proteica en duramadre de ratas mediante inyección de capsaicina en la región temporomandibular. Otorgado en el XLVIII Congreso Argentino de Neurología 2011

- Premio al mejor trabajo publicado en ciencias básicas en la Revista de la Federación Argentina de cardiología 2012: Implementation of Vitamin E and C as Antioxidants in Experimental Model of Atherogenesis. María Baez, Mariana Tarán, María C. Llorens, Ariel Balceda, Vilma Campana, José Palma, Mónica Moya, otorgado en el marco del congreso nacional de cardiología organizado por FAC, Salta 2012.

- Mención especial al trabajo: Nuevo rol para una vieja proteína: fibrinógeno. Baez MC, Tarán M, Culasso JM, Balceda A, Scribano MP, Moya M. X Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis. 24-27 Octubre 2012, Bs As

Publicaciones derivadas de la Tesis

- “Evaluación de la hiperfibrinogenemia y del perfil lipídico en ratas con estrés crónico experimental” Baez M, Tarán M, Llorens C, Balceda A, Campana V, Moya M. UNLaR Ciencia I: 12-16; 2009.
- Marcadores de estrés oxidativo en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Maria C Baez, Mariana D TÁran, Vilma Campana, Juan C Simes, Pons P, Palma JA, Mónica Moya. Arch. Cardiol. Méx. 79(2): 85-90; 2009.
- “Rol Antioxidante de la vitamina E en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia” .Llorens Candelaria, Baez Maria del Carmen, Tarán Mariana, Campana Vilma, Fonseca Ismael, Oyola Elsa, Palma José, Moya Mónica. Rev Argent Cardiol 78(5): 405-410; 2010.
- Implementación de Vitaminas E y C como Antioxidantes en Modelo Experimental de Aterogénesis. María d C Baez, Mariana Tarán, María C. Llorens, Ariel Balceda, Vilma Campana, José Palma, Mónica Moya. Rev Fed Arg Cardiol 2011; 40 (3). www.fac.org.ar
- Administración de Antioxidante Exógeno como complemento de la Actividad Enzimática de Superóxido dismutasa en Estrés Oxidativo. Baez, MDC; Tarán, M; Llorens, C; Scribano, M; Balceda, A; Campana, V; Moya, M. Revista Virtual de la Federación Argentina de Cardiología, 2011 www.fac.org.ar.
- Nuevo rol para una vieja proteína: fibrinógeno. Baez MC, Tarán M, Culasso JM, Balceda A, Scribano MP, Moya M. Revista Argentina de HEMATOLOGIA 17(1): 21-25; 2013
- Rol protagónico de nuevos biomarcadores asociados al riesgo cardiovascular. Feryala Cecilia, Tarán Mariana, Baez María del Carmen, Scribano María de La Paz, Balceda Ariel, Moya Mónica. Rev. Arg. de Cardiol. 42(4): 1-10; 2013.
- Mitochondrial morphofunctional alterations in smooth muscle cells of aorta in rats. María C. Baez; Candelaria Llorens; Mariana D. Tarán; Ariel G. Balceda; Scribano MP, Patricia Pons; Mónica Moya. ISRN Cardiology. 2014, Article ID 739526, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/739526>.

- Effects of atorvastatin on oxidative stress biomarkers and mitochondrial morphofunctionality in hyperfibrinogenemia-induced atherogenesis. María de la Paz Scribano, María del Carmen Baez, Becerra Florencia, Mariana Denise Tarán, Ariel G. Balceda, Sigmorini Franco, and Mónica Moya. Article 947258, <http://www.hindawi.com/journals/amed/raa/947258>.

Trabajos enviados a publicar

- Inflammatory biomarker and oxidative stress in an experimental model of metabolic syndrome. Tarán MD, Baez MC, Scribano Parada MP, Campana V, Binci M, Fonseca I, Moya M. Enviado a Free Radical Biology and Medicine.

- Adiponectin behaviour in metabolic syndrome associated with atherogenic model. Tarán M. Baez MC, Becerra F, Scribano MP, Binci M, Balceda A, Moya M. Enviado a ActaPhysiol.

- Mitochondrial respiratory chain complexes are altered in a rodent model of metabolic syndrome with and without by hyperfibrinogenemia. M Tarán, AF Becerra, MC Baez, A Balceda, M Scribano, F Signorini, M Moya. Enviado a Am J Med Sci

- Hystopathological changes in liver and aorta in experimental metabolic syndrome model. Tarán M, Baez Mc, Llorens C, Balceda A, Fonseca I, Moya M. Enviado a Histopathology

Publicaciones en forma de resúmenes

- Relationship between inflammatory biomarkers, oxidative stress and morpho-functional mitochondrial changes in experimental atherogenic model. Baez M, Tarán M, Campana V, Pons P, Simes J, Comay D, Palma J, Moya M. Circulation 117: 90; 2008.

- Evaluación del efecto antioxidante de la vitamina E en Aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Baez M.d C, Llorens C., Tarán M., Campana V., Palma JA, Pons P., Moya M. Medicina. 68(supl. II): 53-218; 2008.

- Alteraciones morfológicas mitocondriales de células musculares lisas de aorta en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Baez MC, Serveto N, Tarán M, Campana V, Pons P, Moya M. Int. J. Morphol. [online]. vol. 26, no. 3, pp. 720-721,. ISSN 0717-9502; 2008.

- Suplementación con vitaminas antioxidantes en un modelo experimental de aterosclerosis subclínica. Baez MC, Llorens C, Tarán M, Campana V, Pons P, Palma J, Moya M. Revista Argentina de Cardiología. 77 (1): 46, 2009.
- Rol antioxidante de la vitamina E en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Llorens C, Baez MC, Tarán M, Campana V, Fonseca I, Oyola E, Palma J, Moya M. Revista Argentina de Cardiología. 77 (2): 118, 2009.
- Valoración antioxidante de la vitamina E y SOD en Aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Llorens C, Baez MC, Tarán M, Campana V; Moya M. Revista Virtual de la Federación Argentina de Cardiología (www.fac.org.ar), 6th Virtual Congress of Cardiology, November , 2009
- Relationship between inflammatory biomarkers, oxidative stress and morpho-functional mitochondrial changes in experimental atherogenic model. Baez MC, Tarán M, Campana V, Pons P, Simes JC, Comay DF, Palma JA, Moya M. Revista Virtual de la Federación Argentina de Cardiología (www.fac.org.ar), 6th Virtual Congress of Cardiology, November 30th, 2009.
- Valoración de actividad de superóxido dismutasa y cambios morfofuncionales mitocondriales en ratas con aterogénesis subclínica tratadas con vitamina E y C asociadas. Llorens C; Baez M; Tarán M; Campana V; Pons P; Palma J; Moya M. MEDICINA. 69 (Supl. I): 149-150; 2009.
- Intervención de la hiperfibrinogenemia en la génesis de aterosclerosis. Llorens de los Ríos M, Baez M., Tarán M, Balceda A, Campana V., Fonseca I, Pons P, Moya M. 10ª Jor de Invest Cient FCM. UNC. Pag. 83, 2009.
- “Efecto de los antioxidantes sobre la funcionalidad de la cadena respiratoria mitocondrial en aterogénesis” Llorens C, Baez M, Tarán, Scribano P, Campana V, Moya M. XXI Jornadas Nacionales de los Distritos Regionales. Tucumán, 22 y 23 de Abril de 2010. Resumen Publicado en: Revista Argentina de Cardiología 78 (1): 33, 2010.

- “Implicancias del Uso de la Vitamina E sobre la Morfofuncionalidad Mitocondrial” Llorens C, Baez MC, Tarán M, Balceda A, Campana V, Palma J, Moya M. XXVIII Congreso Nacional de Cardiología. Rosario, 22-24 de mayo de 2010. Resumen Publicado en: Revista de la Federación Argentina de Cardiología 39 (1): 38, 2010.
- “Valoración antioxidante de la vitamina C sobre la morfología y función mitocondrial en aterogénesis”. Llorens M, Balceda A, Baez M, Tarán M, Scribano M, Campana V, Moya M. Mar del Plata 17 al 20 de noviembre. Resumen publicado en: Medicina 70 (II): 254,2010.
- Administración de antioxidante exógeno como complemento de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa en estrés oxidativo. Baez, MDC; Tarán, M; Llorens, C; Scribano, M; Balceda, A; Campana, V; Moya, M. Resumen publicado en: Revista de la Federación Argentina de Cardiología 40(1): 40; 2011.
- Implicancias del uso de la vitamina E sobre la morfofuncionalidad mitocondrial. C Llorens; MC Baez; M Tarán; A Balceda; V Campana; J Palma; M Moya. Revista Virtual de la Federación Argentina de Cardiología (www.fac.org.ar), 7th Virtual Congress of Cardiology, November 2011.
- Participacion de la inflamacion y del estres oxidativo en las alteraciones vasculares asociadas al sindrome metabolico en un modelo experimental. Becerra, A.; Tarán, M.; Baez, M.; Signorini, F.; Balceda, A.; Binci, M.; Moya, M. Libro de Resúmenes de la SAM, (II): 85; 2011.
- Expresión de adiponectina en un modelo experimental de síndrome metabólico. Scribano Parada M, Baez M, Becerra F, Binci M, Balceda A, Moya M, Tarán M. Resumen publicado en: Medicina 71(III): 131; 2011
- Modificaciones en la cadena respiratoria mitocondrial en un modelo experimental de síndrome metabólico. Becerra F, Baez M, Balceda A, Scribano Parada M, Signorini F, Bilbao J, Moya M, Tarán M. Resumen publicado en: Medicina 71(III): 132; 2011
- Papel antioxidante del alfatocoferol en un modelo experimental de migraña crónica. Signorini F, Bilbao J, Baez M, Tarán M, Becerra F,

Buonanotte F, Blencio S, Moya M, Balceda A. Resumen publicado en: Medicina 71(III): 199; 2011.

- Biomarcadores de estrés oxidativo: su importancia en el síndrome metabólico. Tarán Mariana; Baez María del Carmen; Scribano María de la Paz; Becerra Florencia; Signorini Franco; Bilbao Juan; Balceda Ariel; Binci Miriam; Moya Mónica. Resumen publicado en: Revista de la Federación Argentina de Cardiología 41(1): 15, 2012.

- Evaluación de parámetros bioquímicos y anatomopatológicos en aterogénesis inducida tratada con atorvastatina. María de la Paz, Scribano; María del Carmen, Baez; Florencia, Becerra; Mariana, Tarán; Franco, Signorini; Ariel, Balceda; Ismael, Fonseca; Mónica, Moya. Resumen publicado en: Revista de la Federación Argentina de Cardiología 41(1): 15, 2012.

- Mitochondrial respiratory chain complexes are altered in a rodent model of metabolic syndrome with or without hyperfibrinogenemia. A.F. Becerra, M. Baez, A. Balceda, M. Scribano Parada, F. Signorini, M. Moya, M. Tarán. Official Journal of the International Chair on Cardiometabolic Risk. 5(1): 103, 2012.

- Nuevo rol para una vieja proteína: fibrinógeno. Baez MC, Tarán M, Culasso JM, Balceda A, Scribano MP, Moya M. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana (ABCL), 2: 72, 2012.

- Estrés oxidativo y alteraciones mitocondriales en un modelo experimental de síndrome metabólico. Mariana Tarán, María d C Baez, Ana Becerra, Ariel Balceda, Scribano Parada María, Miriam Binci, Mónica Moya. Resumen publicado en: Revista de la Federación Argentina de Cardiología 42(1): 58, 2013.

- Evaluación en el Síndrome Metabólico del estrés oxidativo y alteraciones mitocondriales. Tarán M, Baez MC, Scribano Parada MP, Balceda A, Becerra F, Moya M. Resumen publicado en Revista de la FCM. 70(1): 34, 2013.

- Rol protagónico de nuevos biomarcadores asociados al riesgo cardiovascular. Tarán M, Feryala C, Baez MC, Scribano Parada MP,

Balceda A, Moya M. Resumen publicado en. Revista de la FCM. 70(1): 61, 2013.

- Efecto de la capsaicina sobre los niveles de fibrinógeno plasmáticos en migraña experimental. Saadi Nabil, Baez María, Blencio Sergio, Buonanotte Federico, Buonanotte Carla, Scribano-Parada María, Tarán Mariana, Corrales Henry, Moya Mónica y Balceda Ariel. Resumen publicado en. Revista de la FCM. 70(1): 68, 2013

- Efectos de la vitamina E sobre los niveles de superóxido dismutasa en migraña experimental. Balceda Ariel, Baez María, Blencio Sergio, Buonanotte Federico, Buonanotte Carla, Scribano-Parada María, Tarán Mariana, Saadi Nabil, Corrales Henry y Moya Mónica. Resumen publicado en Revista de la FCM 70(1): 29, 2013.

- Efectos farmacológicos de vitamina E en migraña experimental con capsaicina. Balceda A; Baez M; Buonanotte F; Buonanotte C; Taran M; Scribano-Parada M; Blencio S; Saadi N; Moya M. Resumen publicado en: Medicina 73(3): 144; 2013.

- Biomarcadores inflamatorios en pacientes con síndrome metabólico. Tarán M; Báez M; Scribano M; Balceda A; Binci M; Moya M. Resumen publicado en: Medicina 73(3): 203; 2013.

- Efectos de la vitamina E sobre los niveles de óxido nítrico en migraña experimental Balceda Ariel, Baez María, Blencio Sergio, Buonanotte Federico, Buonanotte Carla, Scribano-Parada María, Tarán Mariana, Saadi Nabil, Corrales Henry y Moya Mónica. Resumen publicado en: Neurología Argentina, suplemento 2013.

Trabajos Científicos presentados en Congresos, Jornadas u otros eventos científicos

-Actividad antioxidante de la vitamina E en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Llorens Candelaria, Baez María del Carmen, Taran Mariana, Campana Vilma, Palma José A, Pons Patricia, Moya Mónica. 9ª Jor de Invest Cient FCM. UNC. Dic. 2008

- Análisis de lesiones vasculares aterogénicas inducidas por hiperfibrinogenemia. Baez M de C, Tarán M, Llorens C, Balceda A, Campana V, Fonseca I, Pons P, Moya M. XXIX Jornadas Cientificas y

Culturales de Patólogos y Citopatólogos de la Provincia de Córdoba. 17 al 18 Agosto 2009

- Evaluación del efecto antioxidante de la vitamina e en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia M D C Baez, C Llorens, M Tàran, V Campana, J A Palma, P Pons, M Moya. Jornadas Científicas UNLaR 2009- La Rioja 10 al 11 Septiembre 2009

- Modelo experimental de Síndrome Metabólico y estrés oxidativo. M Taran, M d C Baez, M C Llorens, M Binci, V Campana, M Moya. Jornadas Científicas UNLaR 2009- La Rioja 10 al 11 Septiembre 2009

- Importancia de marcadores inflamatorios: modelo experimental. Feryala C, Baez MC, Tarán M, Campana V, Sosa R, Gallerano R, Moya M. Jornadas Científicas UNLaR 2009- La Rioja 10 al 11 Septiembre 2009

- Valoración antioxidante de la vitamina E y SOD en Aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Llorens C, Baez MC, Tarán M, Campana V; Moya M. 6th Virtual Congress of Cardiology, September 1st to November 30th, 2009

- Función antioxidante sobre la actividad mitocondrial en ratas con aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Llorens C1, Baez MC1-2, Tarán M1-3, Scribano P1, Campana V1-4, Moya M. XI Jornadas de Investigación Científica, Facultad de Ciencias Médicas (FCM), Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECyT), Universidad Nacional de Córdoba (UNC), año 2010.

- Modificación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa en el estrés oxidativo vascular tratado con vitamina E. Tarán M., Scribano M., Balceda A., Becerra F., Signorini F., Bilbao J., Baez M., asesor: Dra Moya Mónica. XII Jornadas de Investigación Científica. 23 de Septiembre 2011. Córdoba- Argentina.

- Actividad enzimática de la superóxido dismutasa en aterogénesis inducida por hiperfibrinogenemia. Baez MC, Becerra F, Tarán M, Scribano M, Signorini F, Bilbao JC, Balceda A, Moya M. Jornadas UNLaR 2011. 23 Octubre. La Rioja. Argentina.

- Estimulación trigeminal y extravasación proteica en duramadre de ratas mediante inyección de capsaicina en la región temporomandibular. Balceda A., Baez M., Becerra F., Bilbao J., Blencio S., Buonanotte M., Scribano P., Signorini F., Tarán M., Moya M. XLVIII Congreso Argentino de Neurología. 2-4 de Noviembre; 2011. Córdoba. Argentina.
- Alteraciones histopatológicas de hígado y aorta en un modelo experimental de síndrome metabólico. M Tarán; MC Baez; C Llorens; A Balceda; V Campana; M Moya. 7th Virtual Congress of Cardiology, November, 2011.
- Administración de Antioxidante Exógeno como complemento de la Actividad Enzimática de Superóxido dismutasa en Estrés Oxidativo. Baez, MDC; Tarán, M; Llorens, C; Scribano, M; Balceda, A; Campana, V; Moya, M. 7th Virtual Congress of Cardiology, November, 2011.
- Lesiones histopatológicas y protección antioxidante en un modelo aterogénico. Baez María del C. Tarán Mariana D. Fonseca Ismael, Balceda Ariel, Moya Mónica. XXXII Jornadas Científicas y Culturales de Patólogos y Citopatólogos de la Provincia de Córdoba. 13-14 Septiembre, Sheraton Hotel, Córdoba, 2012.
- Cambios anatomopatológicos de hígado y aorta en un modelo experimental de síndrome metabólico. Tarán Mariana D., Baez María del C., Fonseca Ismael, Scribano María de la P, Moya Mónica. XXXII Jornadas Científicas y Culturales de Patólogos y Citopatólogos de la Provincia de Córdoba. 13-14 Septiembre, Sheraton Hotel, Córdoba, 2012.
- Restitución de la morfofuncionalidad mitocondrial post tratamiento con vitamina E. Baez MC, Tarán M, Balceda A, Scribano M, Moya M. XIII Jornadas de Investigación Científica. FCM en el marco del 4to CENTENARIO UNC. 26 de Septiembre 2012. Córdoba- Argentina.
- Modelo experimental de activación trigeminovascular con capsaicina. Balceda A, Blencio S, Baez MC, Tarán M, Scribano M, Buonanotte F, Moya M. XIII Jornadas de Investigación Científica. FCM en el marco del 4to CENTENARIO UNC 26 de Septiembre 2012. Córdoba- Argentina.

- Cambios Oxidativos e Inflamatorios en Migraña Inducida con Capsaicina en Ratas. Balceda A, Blencio S, Buonanotte C, Baez M, Tarán M, Scribano Parada M, Fonseca I y Moya M. XLIX Congreso Argentino de Neurología. Mar del Plata, Nov. 2012.
- Restitución de la morfofuncionalidad mitocondrial post tratamiento con vitamina E. María del C. Baez, Mariana D. Tarán, Ariel Balceda, María Scribano, Mónica Moya. Jornadas Científicas UNLaR. Nov. 2012, La Rioja.
- Modelo experimental de activación trigeminovascular con capsaicina. Ariel Balceda, Sergio Blencio, María del C. Baez, Rosa Aguirre, Mariana D. Tarán, María Scribano, Carla Buonanotte, Mónica Moya. Jornadas Científicas UNLaR. Nov. 2012, La Rioja.
- Propiedades pleiotrópicas de atorvastatina en un modelo aterogénico. María Scribano, María del C. Baez, Mariana D. Tarán, Ismael Fonseca, Ariel Balceda, Mónica Moya. Jornadas Científicas UNLaR. Nov. 2012, La Rioja.
- Cuantificación de adiponectina en el síndrome metabólico asociado a aterogénesis. Mariana D. Tarán, María del C. Baez, Florencia Becerra, Cecilia Feryala, María Scribano, Mirian Binci, Ismael Fonseca, Ariel Balceda, Mónica Moya. Jornadas Científicas UNLaR. Nov. 2012, La Rioja
- Afección hepática y aórtica en un modelo experimental de síndrome metabólico. Tarán Mariana D., Baez María del C., Fonseca Ismael, Balceda Ariel, Scribano María de la P., Binci Mirian, Moya Mónica. "I Jornada Virtual Nacional e Internacional de Educación e Investigación en Ciencias Morfológicas", On-Line: 10 al 30 de Noviembre de 2012. Sitio web: www.histologiavirtual.com.ar
- Rol protagónico de nuevos biomarcadores asociados al riesgo cardiovascular. Taran M, Feryala C, Baez M, Scribano M, Balceda A, Moya M. XIV Jornadas de Investigación Científica. FCM, UNC, 24 Octubre, Cba, 2013.

- Enfermedades prevalentes en el Servicio de Clínica Médica del Hospital Córdoba. Kulinski M, Cian M, Tarán M, Bergallo C. XIV Jornadas de Investigación Científica de la FCM, Córdoba, Octubre 2013.
- Prevalencia de Síndrome Cardiorrenal en pacientes hospitalizados por Insuficiencia cardíaca descompensada. Otaduy, C.; Bosio, L.; De La Vega, M.; Bustos, A.; Taran, M.; Gigena, E. II Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna, 5 al 8 de nov. 2013
- Manifestaciones infrecuentes de cuadros endocrinológicos asociados. Gigena E.; Espejo, E.; Rodríguez, B.; Taran, M.; Ramallo, L. II Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna, 5 al 8 de noviembre de 2013
- Afectación multiorganica por amiloidosis primaria. Ledesma Falco, A.; Cian, M.; Bruno, V.; Kulinsky, M.; Taran, M.; Campos, M. II Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna, 5 al 8 de noviembre de 2013
- Hipereosinofilia como debut de Linfoma no Hodgkin en paciente joven. Bosio, L.; Alegre, M.; Tarán Mariana. II Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna, 5 al 8 de noviembre de 2013
- Infección urinaria y cirrosis biliar primaria. Una asociación para tener en cuenta. Erkiletlian, N.; Gigena, E.; Tarán, M.; Pedano, V.; Cirbulenas, V. II Congreso Internacional de Clínica Médica y Medicina Interna, 5 al 8 de noviembre de 2013