

7. JUSTIFICACIÓN

La DM constituye la primera causa de muerte en nuestro país (Secretaría de Salud, 2006). Recientes investigaciones en el área básica y clínica han enfatizado la asociación entre DM e hipertensión, infarto al miocardio y derrame cerebral, las cuales tienen a la arterosclerosis como patología común (Fisman y Tenenbaum, 2008). Un gran número de evidencias confirman que existe una **disfunción de las células endoteliales** en las enfermedades antes mencionadas (Mangalmurti y Farkouh, 2004; Davignon y Ganz, 2004).

El término disfunción endotelial comprende una serie de anormalidades, la más extensamente estudiada ha sido la reducción en la biodisponibilidad de NO. El NO es una molécula liberada por muchas células, incluyendo el endotelio vascular, que tiene potentes efectos vasodilatadores (Creager y cols., 1990), anti-inflamatorios (Kataoka y cols., 2002), antiproliferativos (Tanner y cols., 2000), antioxidantes (Clapp y cols., 2004), antiplaquetarios y antiarteroscleróticos (Schäfer y cols., 2004). De acuerdo con esto, estudios longitudinales han demostrado que alteraciones en la vasodilatación dependiente de NO son un pronóstico de futuros eventos cardiacos (Schachinger y cols., 2000) y el desarrollo de arterosclerosis en arterias coronarias (Bugiardini y cols., 2004).

La disfunción endotelial ha sido también demostrada en diferentes modelos de animales obesos y con resistencia a la insulina. Se han demostrado alteraciones en el efecto vaso-relajante de la ACh en anillos aórticos de: ratón *ob/ob* deficiente de leptina (Winters y cols., 2000), rata Zucker (Walter y cols., 1999) y en un modelo de ratones que desarrollan obesidad al ser tratados con una dieta especial (Noronha y cols., 2005).

Como se ha mencionado, las funciones del endotelio, y entre ellas, la producción de NO, son reguladas por la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Sin embargo, no existen datos sobre la señal de Ca^{2+} en CEs de modelos animales con diabetes. A continuación se reporta el resultado de dos artículos, relacionados con nuestro proyecto, los cuales investigaron el efecto de altas concentraciones de glucosa sobre la señal de Ca^{2+} en CEs en cultivo aisladas de animales normales. Tang y cols., (2004), sugieren que la exposición crónica a altas concentraciones

de glucosa reduce el incremento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ evocada por el agonista bradiquinina debido a la reducción del número de receptores para esta sustancia, también reportan que hay una disminución en la liberación de NO en consecuencia de las alteraciones en la señal de Ca^{2+} . Tauber y cols., (2004) demostraron que la aplicación aguda de altas concentraciones de glucosa aumentan la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ debido a la relativa actividad del transportador Na^+ /glucosa y el transportador NCX y además reportan que ocurre un aumento en la liberación de NO. Estos resultados tienen la desventaja de que se realizaron en CEs sometidas únicamente a uno de los factores encontrados en la DM (concentración elevada de glucosa).

Por lo anterior, en el presente proyecto se propuso estudiar la señal de Ca^{2+} en CEs *in situ* en un modelo murino con DMII, que presenta varias de las características presentes en humanos diabéticos, favorecidos por nuestra capacidad de medir la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en CEs *in situ* de aorta de rata (Berra-Romani y cols., 2004 y Berra-Romani y cols., 2008). Lo anterior permite estudiar la señal de Ca^{2+} en un sistema similar al encontrado en una situación *in situ*, en comparación con células que estuvieron expuestas a tratamiento enzimático y condiciones de cultivo artificiales.

Existen varios modelos de animales que presentan diabetes. Cada uno de estos tiene sus ventajas y limitaciones. En vista de la prevalencia de enfermedades cardiovasculares en la población diabética, es muy importante identificar animales diabéticos que exhiban daño cardiovascular. Uno de los modelos de ratas que presentan diabetes espontánea es la rata JCR:LA-cp que desarrolla resistencia a la insulina en presencia de obesidad, presentando alteraciones vasculares tanto periféricas como a nivel de arterias coronarias (Russell y cols., 1998). La principal desventaja de las ratas JCR como modelo puro de diabetes es que son normoglicémicas en condiciones de ayuno. Las ratas GK (Gotto-Kakizaki) son otro modelo que presenta diabetes espontánea con características como hiperglicemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, pero no obesidad (Chen y Wang, 2005). Con el objetivo de tener un modelo que sea cercano a los desórdenes y características de la DMII en humanos, se decidió descartar este modelo debido a que la obesidad se encuentra en el 80% de los pacientes con DMII. Las ratas Zucker Diabetic Fatty (ZDF *fa/fa*) es otro modelo animal de diabetes espontánea que presenta resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, hipertensión

moderada, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, neuropatía y defectos en el proceso de curación de heridas, además de presentar obesidad. Se observa también hiperglicemia severa alrededor de las 7 semanas de edad cuando las ratas son alimentadas con Purina 5008 (una dieta rica en energía, rica en grasa de LabDiet, Richmond, USA) y son completamente diabéticas a las 12 semanas (Srinivasan y Ramarao, 2007). En este estudio, el modelo de rata ZDF fue seleccionado por mostrar un mayor número de características presentes en la DMII humana comparada con otros modelos animales.

Con la finalidad de estudiar con detalle las alteraciones causadas por la DMII sobre la homeostasis de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en CEs, se activaron, utilizando protocolos específicos, diferentes vías que conllevan a un aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en CEs *in situ*. Para lograr lo anterior, se evaluó la señal de Ca^{2+} evocada por:

- 1) ATP y ACh, agonistas que activan receptores acoplados a proteínas G.
- 2) Factores de crecimiento, los cuales activan receptores con actividad tirosincinasa.
- 3) Lesión endotelial en ratas diabéticas y ratas control, considerando el hecho de que la gran incidencia de arterosclerosis en la diabetes puede ser, al menos en parte, relacionada a una disfunción en los mecanismos relacionados con la reparación del daño endotelial.