

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**EFFECTO DE LA MEZCLA DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO,  
*cis*-9, *trans*-11 Y *trans*-10, *cis*-12, EN LA RESPUESTA  
A LA INSULINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL  
DIABETIZADO CON DIETA HIPERCALORICA**

**TESIS  
QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRIA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**PRESENTA  
SONIA LETICIA RAMÍREZ GARZA**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN**

**OCTUBRE, 2012**



**UANL**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN

**DR. ESTEBAN GILBERTO RAMOS PEÑA**  
**Subdirector de Investigación, Innovación y Posgrado**  
**Facultad de Salud Pública y Nutrición-UANL**  
Presente. –

Nos permitimos comunicar a usted que hemos concluido la Dirección y codirección de la tesis titulada: “EFECTODE LA MEZCLA DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO, CIS-9 TRANS-11 Y TRANS-10 CIS-12, EN LA RESPUESTA A LA INSULINA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DIABETIZADO CON DIETA HIPERCALORICA”, presentada por la Lic. Nut. Sonia Leticia Ramírez Garza, con la finalidad de obtener el grado de Maestro en Ciencias en Nutrición.

Sin otro asunto por el momento, estamos a sus órdenes.

Atentamente,  
"Alere Flammam Veritatis"  
Monterrey, Nuevo León, 3 de junio de 2012.

  
**Dra. en C. Blanca/Edeliá González Martínez**  
Directora de Tesis

  
**Dra. Adriana Sampayo Reyes**  
Co-Director de Tesis



Avenida Dr. Aguirre Pequeño y Yuriria  
Colonia Mitras centro, C.P. 64460  
Monterrey, Nuevo León; México  
Tel:(81) 13 40 48 90 y 83 48 60 80 (en fax)  
[www.faspyn.uanl.mx](http://www.faspyn.uanl.mx) ; [faspyn@uanl.mx](mailto:faspyn@uanl.mx)

“Educación de calidad, un compromiso social”

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Doctora Blanca Edelia González Martínez directora de este trabajo, por su asesoría, dirección y facilidades otorgadas para la elaboración de esta tesis.

A la Doctora Adriana Sampayo Reyes, codirectora del presente trabajo, por sus valiosas sugerencias e interés en la revisión de este proyecto, así como las facilidades otorgadas para la realización de la misma.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Salud Pública y Nutrición, así como al comité de la Maestría en Ciencias en Nutrición, por el empeño en llevar a cabo este programa académico y por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

Se agradece el apoyo al Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León, así mismo a la división de Farmacología y Toxicología, Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Instituto Mexicano del Seguro Social por permitir utilizar las instalaciones para la elaboración de esta tesis.

Extendemos nuestro agradecimiento al Laboratorio Abbott México y a Nutrition & Health / Cognis Mexicana por la donación en especie, para la elaboración de la presenta investigación.

Así mismo se agradece al PhD. Marco Vinicio y la Ing. Silvia Osorio por su asesoría en la parte estadística de este trabajo. A mis maestros, por compartirme sus conocimientos y exhortarme a ser un mejor profesionista día con día.

A mis compañeros de laboratorio, por pasar largas horas en él, haciendo más ameno el trabajo, brindándome su amistad, su ayuda y compartiéndome sus conocimientos.

A todas aquellas personas que de manera directa o indirecta me apoyaron para poder realizar este trabajo y así poder concluir esta meta.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	5
3. HIPÓTESIS.....	7
4. OBJETIVOS.....	8
4.1. Objetivo general.....	8
4.2. Objetivos específicos.....	8
5. ANTECEDENTES.....	10
5.1. Diabetes.....	11
5.2. Insulina .....	13
5.2.1. Receptor de insulina.....	13
5.2.2. Resistencia a la insulina.....	14
5.2.3. Homeostasis Model Assessment (HOMA) .....	16
5.3. Adipocinas .....	16
5.3.1. Factor de necrosis tumoral alpha .....	16
5.3.2. Interleucina 6.....	17
5.3.3. Leptina.....	17
5.4. Alimentos funcionales.....	18
5.4.1. Ácido Linoleico Conjugado .....	18
6. MÉTODOS.....	25
6.1. Análisis general .....	25
6.2. Diseño experimental .....	26
6.2.1. Unidades de observación .....	26

6.2.2. Grupos control.....	27
6.2.2.1 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación .....	27
6.2.3. Métodos, técnicas y procedimientos.....	28
6.2.3.1. Recepción, identificación y alojamiento de animales .....	28
6.2.3.2. Dieta hipercalórica .....	30
6.2.3.3. Dieta para tratamiento .....	31
6.2.3.4. Análisis bromatológico .....	32
6.2.3.4.1 Determinación de humedad .....	33
6.2.3.4.2 Determinación de ceniza .....	33
6.2.3.4.3 Determinación de grasa.....	33
6.2.3.4.4 Determinación de proteína.....	34
6.2.3.5. Análisis de CLA.....	34
6.2.3.6. Inducción de hiperglucemia .....	34
6.2.3.7. Peso corporal.....	35
6.2.3.8. Niveles de glucosa sérica .....	36
6.2.3.9. Cuantificación de alimento y agua .....	36
6.2.3.10. Administración de tratamiento.....	37
6.2.3.11. Curva de tolerancia a la glucosa.....	37
6.2.3.12. Recolección de muestra sanguínea.....	38
6.2.3.13. Sacrificio de los modelos experimentales .....	39
6.2.3.14. Análisis de citocinas y hormonas .....	39
6.2.3.15. Homeostasis Model Assessment.....	39
6.2.3.16. Análisis estadístico .....	40
7. RESULTADOS.....	41
7.1. Recepción de animales y adaptación .....	41

7.2. Dieta hipercalórica .....	41
7.3. Determinación de CLA.....	42
7.4. Obtención de modelo experimental con hiperglucemia .....	42
7.4.1. Niveles de glucemia en la fase I .....	42
7.4.2. Incremento de peso en la fase I .....	43
7.4.3. Consumo de alimento y agua de la fase I .....	44
7.5. Efecto del tratamiento .....	45
7.5.1. Distribución de los animales.....	46
7.5.2. Comportamiento de peso corporal durante la fase II.....	46
7.5.3. Niveles de glucemia durante la fase II.....	48
7.5.4. Consumo de alimento y agua durante la fase II .....	50
7.5.5. Curva de tolerancia a la glucosa .....	53
7.5.6. Niveles de insulina.....	54
7.5.7. Niveles de leptina .....	55
7.5.8. Niveles de interleucina 6 .....	57
7.5.9. Índice de Homeostasis Model Assessment .....	58
8. DISCUSIÓN .....	60
9. CONCLUSIONES .....	71
10. RECOMENDACIONES.....	73
11. LITERATURA CITADA .....	74
12. ANEXOS .....	84

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Significado de la identificación de animales experimentales . . . . .	29
2. Componentes de la dieta hipercalórica . . . . .	30
3. Componentes de la dieta para tratamiento . . . . .	32
4. Composición de macronutrientes y ceniza de la dieta hipercalórica . . . . .	41
5. Composición de ácidos grasos de CLA . . . . .	42
6. Efecto del tratamiento en el peso corporal de los animales . . . . .	47
7. Medias iniciales y finales del efecto del tratamiento en la glucemia en la fase II . . . . .	49
8. Efecto del tratamiento en el contenido de Leptina en la fase II . . . . .	56
9. Diferencias de medias iniciales y finales de la Interleucina 6 en la fase II . . . . .	57



## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Receptor de insulina . . . . .	14
2. Estructura química del ácido linoleico . . . . .	19
3. Principales rutas biosintéticas del ácido linoleico . . . . .	20
4. Procedimiento general de análisis. . . . .	26
5. Recepción y alojamiento . . . . .	28
6. Elaboración de dieta hipercalórica . . . . .	31
7. Inducción de diabetes (fase I) . . . . .	35
8. Medición de peso corporal . . . . .	35
9. Determinación de glucosa por punción en la cola . . . . .	36
10. Curva de tolerancia a la glucosa . . . . .	38
11. Medición de glucemia en fase I . . . . .	43
12. Peso corporal fase I . . . . .	44
13. Consumo de energía y agua durante la fase I . . . . .	45
14. Peso corporal de las 21 semanas . . . . .	48
15. Glucemia en los tratamientos (fase II) . . . . .	50
16. Ingesta de energía durante el tratamiento. . . . .	51
17. Ingesta de energía durante el bioensayo . . . . .	52
18. Consumo de agua durante la fase II . . . . .	52
19. Consumo promedio estimado de agua por día por animal . . . . .	53
20. Curva de tolerancia a la glucosa . . . . .	54
21. Niveles de insulina antes y después del tratamiento . . . . .	55
22. Niveles de leptina antes y después del tratamiento . . . . .	56
23. Niveles de IL-6 antes y después del tratamiento . . . . .	58
24. Índice de HOMA antes y después del tratamiento . . . . .	59

## LISTA DE SÍMBOLOS

AGL	Ácidos Grasos Libres
AR	Ácido ruménico
AV	Ácido vacénico
CLA	Ácido Linoleico Conjugado (Conjugated Linoleic Acid)
Da	Daltons
g	gramos
HOMA	Homeostasis Model Assessment
IL-6	Interleucina 6
IRS-1	Substrato Receptor de Insulina tipo 1
mg/dL	miligramos por decilitro
ml	mililitros
OMS	Organización Mundial de la Salud
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinasa
PPAR- $\gamma$	Receptor de proliferación de peroxisomas gamma
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alpha
TZD	Tiazolidinedionas

## 1. RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el mundo hay más de 346 millones de personas con diabetes (Organización Mundial de la Salud, 2011), por esta razón es importante buscar alternativas para disminuir y/o controlar esta patología y los problemas asociados a ella. Se ha observado que el consumo de ácido linoleico conjugado (CLA) compuesto principalmente por dos isómeros: *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, tienen un efecto benéfico en la diabetes mellitus.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto que ejerce la mezcla de ácido linoleico conjugado *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, en la respuesta a la insulina en un modelo experimental con hiperglucemia, por medio de un bioensayo el cual fue diseñado en dos fases, la primera consistió en la inducción de diabetes en ratones machos C57BL/6NHsd administrando una dieta hipercalórica, alta en grasa y carbohidratos simples. Esta fase concluyó cuando al menos 24 ratones presentaron una hiperglicemia >140 mg/dL (15 semanas).

En la segunda fase del bioensayo, los ratones con hiperglicemia se distribuyeron en 3 grupos (CLA, Aceite y TZD) los cuales fueron alimentados con dieta hipercalórica y su respectivo tratamiento, mientras que en los animales que presentaron glicemia <140mg/dL conformaron el grupo Isocalórico, al cual se le administró dieta comercial para roedores (isocalórica). En todos los animales se determinó el peso, la glucosa sérica, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa y se recolectó la sangre para posterior análisis de insulina, TNF- $\alpha$ , IL6 y leptina.

Se observó que administrar una dieta hipercalórica alta en grasas, indujo niveles de hiperglucemia y un exceso de peso en el modelo experimental. CLA no tuvo diferencia significativa en comparación con el grupo Aceite ( $p \geq 0.05$ ) en

los niveles de glucemia. En relación al peso, existió un aumento en los grupos: CLA (2.4%), Aceite (11.2%), TZD (5.0%) y una disminución en el grupo Isocalórico (14.6%). Por lo anterior, se determina que CLA administrado con una dieta hipercalórica alta en grasa no presenta un efecto positivamente significativo en los niveles de glucemia e insulina en los ratones previamente diabetizados. Dichos resultados pueden deberse a la alta cantidad de grasa presente en la dieta o a la falta de efecto de CLA administrado con mencionada dieta, en la respuesta a la insulina.

## ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) estimates that there are over 346 million people with diabetes worldwide (World Health Organization, 2011), therefore it is important to seek ways to reduce and/or control this disease and problems associated with it. It has been observed that the use of conjugated linoleic acid (CLA) composed mainly of two isomers: *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12, have a beneficial effect in diabetes mellitus.

The objective of this study was to determine the effect exerted by the mixture of conjugated linoleic acid *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, in response to insulin in an experimental model with hyperglycemia, through a bioassay that was designed in two phases, the first consisted in the induction of diabetes in male mice C57BL/6NHsd administering in a high calorie diet, high fat and simple carbohydrates. This phase ended when at least 24 mice showed hyperglycemia >140 mg/dL (15 weeks).

In the second phase of the bioassay, mice with hyperglycemia were divided into 3 groups (CLA, Aceite and TZD) which were fed high-calorie diet and their respective treatment, while the animals that showed blood glucose <140mg/dL composed the isocaloric group, which was given commercial rodent diet (isocaloric). In all animals there was a determination of weight, serum glucose, we performed a curve of glucose tolerance and the phase ended with the sacrifice of the animals. Blood was collected for subsequent analysis of insulin, TNF- $\alpha$ , IL-6 and leptin.

It was noted that given a high calorie diet high in fat, induced levels of hyperglycemia and excessive weight in the experimental model. CLA had no significant difference compared with the oil group ( $p \geq 0.05$ ) in blood glucose levels. In relation to weight, there was an increase in the groups: CLA (2.4%), Oil (11.2%), TZD (5.0%) and a decrease in the isocaloric group (14.6%). As a

conclusion it is determined that CLA administered with a high calorie diet high in fat does not have a significant positive effect on blood glucose and insulin levels in mice previously diabetes induced. These results may be due to the high amount of fat in the diet or lack of effect of CLA administered in the mentioned diet, as a response to insulin.

## 2. INTRODUCCIÓN

Un problema importante de salud en la población a nivel mundial son el exceso de grasa corporal (reflejada en un aumento de peso corporal) y la diabetes mellitus, específicamente la diabetes mellitus tipo 2, la cual tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina (Organización Mundial de la Salud, 2010)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el mundo hay más de 346 millones de personas con diabetes, se calcula que en el 2004 fallecieron por diabetes 3,4 millones de personas y que es probable que esta cifra se duplique entre el 2005 y el 2030 (Organización Mundial de la Salud, 2011). De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 la prevalencia de diabetes en adultos es de un 7% (Olaiz, *et al.*, 2006) mientras que en el Estado de Nuevo León en el mismo año fue de 6.4% de la población (Instituto Nacional de Salud Pública, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006).

Las complicaciones de la diabetes mellitus disminuyen la calidad de vida de la población, de la misma manera tienen una fuerte relación con problemas de exceso de peso, hipertensión y dislipidemias, aumentando así los casos de morbilidad y mortalidad (NOM-015-SSA2-1994; World Health Organization, 1999; World Health Organization & International Diabetes Federation, 2006). Esta situación tiene un alto impacto en el gasto total en salud en nuestro país (Morales, 2010; Arredondo, 2009). Por esta razón es importante buscar alternativas para disminuir esta patología.

Los efectos fisiológicos conocidos del ácido linoleico conjugado están producidos principalmente por dos isómeros: *cis*-9, *trans*-11 de CLA y *trans*-10, *cis*-12 de CLA. Existen evidencias que estos ácidos grasos tienen un efecto benéfico en la patología de la diabetes mellitus ya que mejora la sensibilidad a

la insulina, normaliza la tolerancia a la glucosa y disminuye los niveles circulantes de ácidos grasos libres (Houseknecht, *et al.*, 1998, Gómez A., 2009).

En esta investigación se trabajó con un modelo experimental murino el cual es sensible a la inducción de diabetes mellitus tipo 2 por medio de dieta hipercalórica, dicho modelo fue la cepa de ratón C57BL/6NHsd, el cual presentó niveles de hiperglucemia a las 15 semanas de administrar la dieta hipercalórica e hipergrasa. Posterior a esto se realizó el tratamiento en un periodo de 6 semanas de administración de Ácido Linoleico Conjugado (CLA) junto con la dieta teniendo como control positivo TZD, como control negativo aceite de girasol y otro grupo se le cambió la dieta de hipercalórica a dieta estándar (isocalórico). También se determinaron los niveles plasmáticos de glucosa, TNF- $\alpha$ , IL-6, leptina e insulina, para ver la respuesta del control glucémico en la administración de los diferentes isómeros de ácido linoleico conjugado.



### 3. HIPÓTESIS

El consumo de ácido linoleico conjugado como una mezcla de isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 ejercen un efecto benéfico en la respuesta a la insulina en un modelo experimental preclínico.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que ejerce la mezcla del isómero *cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12* de ácido linoleico conjugado en la respuesta a la insulina usando como modelo experimental la cepa de ratón C57BL/6NHsd.

### 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Inducir la hiperglucemia en los ratones en estudio por medio del consumo de una dieta alta en grasa y carbohidratos simples.

Determinar el efecto que tiene el ácido linoleico conjugado (CLA) en el peso corporal de un modelo experimental preclínico.

Analizar el efecto de CLA sobre los niveles de glucosa séricos en ayuno en el modelo antes mencionado.

Determinar el impacto de CLA en una prueba de tolerancia a la glucosa (en la semana 4 del tratamiento) en el mismo modelo.

Analizar el efecto ejercido por el ácido linoleico conjugado sobre los niveles de insulina séricos en ayuno en un modelo experimental preclínico.

Evaluar el efecto de CLA basado en el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment).

Determinar el impacto que ejerce CLA sobre los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$ , IL-6 y leptina.

Analizar el efecto del ácido linoleico conjugado *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 en comparación con un grupo control en base a los objetivos anteriores.

## 5. ANTECEDENTES

En años recientes ha existido un incremento de las enfermedades crónico degenerativas, siendo en muchos casos su origen el sobrepeso u obesidad. En México existen graves problemas de salud que son consecuencia de este estado, enfocándose más a patologías crónico degenerativas como lo es la diabetes mellitus que puede ir a la par con la presencia del síndrome metabólico.

En la actualidad, entre las pandemias presentes en la humanidad, se encuentra la diabetes mellitus, de acuerdo con importantes instituciones que rigen en el área de salud como la Organización Mundial de la Salud (OMS) a nivel mundial y el Instituto Nacional de Salud Pública y Secretaría de Salud a nivel nacional, han descrito la cantidad de población afectada por esta patología, la cual abarca porcentajes importantes que dan pie a un mayor estudio de ella.

A nivel mundial la OMS reporta más de 346 millones de personas con diabetes (Organización Mundial de la Salud, 2011), por su parte la Federación Internacional de Diabetes (IFD) en el 2006 dio a conocer que la prevalencia de esta patología fue alrededor del 6% (Diabetes Atlas, 2006); en el mismo año a nivel nacional la prevalencia de diabetes con diagnóstico médico en adultos abarcó un 7%, mientras que en personas de 50 a 59 años la proporción llegó a 13.5% y en el grupo de 60 a 69 años fue de 19.2%, siendo mayor en mujeres que en hombres (Olaiz, *et al.*, 2006); esta patología es la primera causa de mortalidad en nuestro país (NOM-015-SSA2-2010; Dirección General de Información en Salud, 2011) y de acuerdo a la IFD en el 2010 el 10.1% de la nación presentó diabetes mellitus (International Diabetes Federation, 2011), mientras que a nivel estatal en adultos mayores de 20 años fue de 6.4% y el grupo mayor de 60 años presentó un 16% (Instituto Nacional de Salud Pública, 2006).

## 5.1. DIABETES

La diabetes mellitus, describe un desorden metabólico, de causa desconocida, con grados variables de predisposición hereditaria y la participación de diversos factores ambientales, es caracterizado por una hiperglucemia crónica que afecta al metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, las cuales se asocian fisiopatológicamente con una deficiencia en la cantidad, cronología de secreción y/o en la acción de la insulina. (Mahan & Escott-Stump, 2002; NOM-015-SSA2-1994; World Health Organization 1999).

Esta patología trae como consecuencia el daño, disfunción de varios órganos o pérdida de extremidades, se acompañan en grado variable de complicaciones con compromiso microvascular que se manifiesta como retinopatía, nefropatía y neuropatía. Aunado a lo anterior, existe aceleramiento en el proceso de aterosclerosis (macroangiopatía), con mayor predisposición a infarto del miocardio, obstrucción de las arterias cerebrales y de los miembros inferiores. Son comunes las lesiones de la piel (dermopatía) y el cristalino (cataratas) (NOM-015-SSA2-1994; World Health Organization, 1999; World Health Organization & International Diabetes Federation, 2006).

La diabetes mellitus se clasifica de acuerdo a su origen, en tres grupos (NOM-015-SSA2-2010; Organización Mundial de la Salud, 2010):

La diabetes de tipo 1 (anteriormente denominada diabetes insulino dependiente o juvenil) se caracteriza por la destrucción de células beta del páncreas, generalmente con deficiencia absoluta de insulina. Los pacientes pueden ser de cualquier edad, casi siempre delgados y suelen presentar comienzo abrupto de signos y síntomas con insulinopenia antes de los 30 años de edad.

La diabetes de tipo 2 (llamada anteriormente diabetes no insulino dependiente o del adulto) tiene su origen en la incapacidad del

cuerpo para utilizar eficazmente la insulina (resistencia a la insulina) y en forma concomitante una deficiencia en su producción, puede ser absoluta o relativa. A menudo es consecuencia del exceso de peso o la inactividad física.

La diabetes gestacional corresponde a una hiperglicemia que se detecta por primera vez durante el embarazo, ésta traduce una insuficiente adaptación a la insulinoresistencia que se produce en la gestante.

En la diabetes mellitus el tejido muscular, adiposo y el hígado se vuelven menos sensibles a la respuesta a la insulina (resistentes a la insulina), dicho estado está relacionado con problemas de salud tales como: la obesidad, el síndrome de ovario poliquístico, síndrome metabólico y la hipertensión (Laclaustra, 2005). La respuesta a la insulina consiste en una compleja vía de señalización de diferentes moléculas encargadas de activar los receptores de insulina para que estos activen los transportadores de glucosa y así se permita el acceso intracelular a la glucosa (DeFronzo, 2010).

Dentro del tratamiento para la diabetes mellitus tipo 2 se utilizan diferentes fármacos para controlar los niveles de glucemia entre los cuales se encuentran: las sulfonilureas, biguanidas, insulinas o las combinaciones de estos medicamentos, inhibidores de la alfa glucosidasa, tiazolidinedionas, glinidas, incretinas e inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa (DPP-4) o gliptinas (NOM-015-SSA2-2010).

Las tiazolidinedionas (rosiglitazona y pioglitazona), disminuyen la concentración de triglicéridos, aumentan la concentración de HDL y disminuyen la de LDL mejoran la función endotelial, aumenta la actividad fibrinolítica, puede frenar la disminución de la función de las células  $\beta$  pancreáticas (Goldman & Ausiello, 2009), estimulan al receptor activado de proliferación de los peroxisomas gamma (PPAR $\gamma$ ), en consecuencia disminuyen la resistencia a la

insulina y decrecen la gluconeogénesis hepática (Zárate, Basurto, Saucedo, & Hernandez-Valencia, 2010).

## 5.2. INSULINA

La insulina es una hormona con un peso molecular de 5800 Da que es liberada por las células beta pancreáticas en respuesta a niveles elevados de nutrientes en sangre, controlando funciones energéticas críticas como el metabolismo de la glucosa y de lípidos (Olivares & Arellano, 2008).

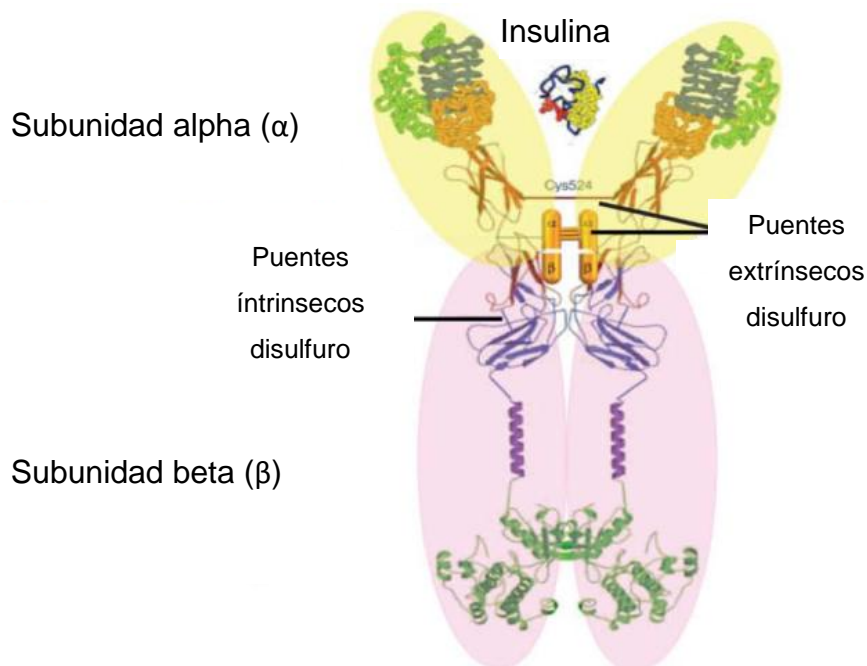
La hormona antes mencionada se descubrió en 1921 y es la principal para el almacenamiento de energía e interviene en la regulación en las células blanco. Este proceso se realiza por medio de transportadores transmembranales, la actividad de las enzimas intracelulares y la expresión de algunos genes que codifican enzimas y transportadores implicados en este metabolismo, todo esto da inicio cuando la insulina se une con su receptor (Avruch, 1998).

La insulina mejora la captación de glucosa en el tejido muscular y adiposo, al mismo tiempo que inhibe la producción de glucosa hepática, regulando de esta manera las concentraciones de glucosa en sangre. Dicha captación es debido a que estimula la translocación del transportador de glucosa GLUT4 de su sitio original intracelular a la membrana celular, manteniendo así la homeostasis de la glucosa (Dugani & Klip, 2005; Saltiel & Kahn, 2001).

### 5.2.1. RECEPTOR DE INSULINA

El receptor de insulina es una glucoproteína heterotetrámero que se compone de dos subunidades  $\alpha$  (alpha) con peso molecular de 135-kDa, éstas se encuentran en el espacio extracelular (en éstas ocurre la unión de la insulina) y dos subunidades  $\beta$  (beta) con peso molecular de 95-kDa que presentan una porción extracelular, una transmembranal y un dominio quinasa intracelular. Estas proteínas están presentes en la superficie de las células

diana. Cuando la insulina se une a la subunidad  $\alpha$ , esta conduce a la activación del dominio tirosina-quinasa, que se encuentra dentro de la porción intracelular de sus subunidades  $\beta$ , iniciando así una cascada de eventos de fosforilación que llevan a diferentes funciones biológicas. En esta fosforilación se activan las moléculas accesorias que pertenecen a la familia de Substratos Receptores de Insulina (Bryant, Govers, & James, 2002; Chiu & Cline, 2010; Saini, 2010).



**Figura 1.- Receptor de insulina.** Subunidades alfa y beta (tomado de Chiu & Cline, 2010).

### 5.2.2. RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina se refiere a un estado metabólico en el que existe una disminución de la efectividad de esta hormona, ya sea exógena o endógena, en los tejidos muscular, hepático y adiposo (NOM-015-SSA2-2010).

El tejido adiposo tiene un rol importante en la resistencia a la insulina. La circulación de ácidos grasos libres (AGL) derivados del adipocito son elevados en algunos estados de resistencia a la insulina y se ha sugerido que contribuyen a la resistencia a la insulina en la diabetes y obesidad. Los AGL



también son asociados con una reducción en la estimulación de insulina, fosforilación de substrato receptor de insulina tipo 1 (IRS-1) y la actividad de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) (Saltiel & Kahn, 2001).

La resistencia a la insulina se relaciona directamente con las enfermedades metabólicas asociadas con obesidad y diabetes mellitus tipo 2. Como consecuencia a este estado metabólico, existe una disminución de actuar ante la exposición de la insulina en las células blanco o los organismos completos (Shanik, *et al.*, 2008). El inicio de la resistencia a la insulina o la pérdida de actividad de la insulina es la expresión primaria de la diabetes tipo 2. Los ácidos grasos libres tienen un papel importante en la pérdida de sensibilidad a la insulina, causando resistencia a la misma. Se ha encontrado que el palmitato inhibe la expresión génica del receptor de insulina, por lo que se lleva a una reducción en las señales mediadas por la insulina (S. Bhattacharya, Dey, & Roy, 2007).

La obesidad está fuertemente asociada con el proceso inflamatorio el cual reduce la sensibilidad a la insulina, si este proceso es constantemente activado lleva a una resistencia a la insulina, la cual desarrolla diabetes tipo 2, por lo que esta patología es el resultado de una fase aguda en la cual los adipocitos liberan grandes cantidades de adipocinas (Sjoholm & Nystrom, 2006).

Las adipocinas juegan un papel muy importante en la sensibilidad a la insulina, marcando de esta manera un vínculo importante entre la obesidad y la insulino resistencia. Dentro de las más estudiadas se encuentran el Factor de Necrosis Tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ) y la Interleucina 6 (IL-6), ambas son 2 importantes citocinas fuertemente relacionadas con la insulino resistencia, también se encuentran la leptina, resistina y adiponectina (Kumar & O'Rahilly, 2005).

### 5.2.3. HOMEOSTASIS MODEL ASSESSMENT (HOMA)

En 1985 Matthews y col. desarrollaron un modelo matemático que predice las concentraciones homeostáticas de glicemia e insulina en ayunas, observándose así el grado de insulino resistencia y disfunción de las células beta pancreáticas a esta técnica le llamaron Homeostasis Model Assessment (HOMA).

Este modelo se utiliza frecuentemente debido a su bajo costo y simplicidad, observándose que este índice se eleva en los pacientes que tienen una disminución en la sensibilidad a la insulina, por lo cual es un instrumento que puede utilizarse para el diagnóstico de la insulino resistencia (Blümel, Flores, González & Arraztoa, 2005; Katsuki, *et al.*, 2001).

### 5.3. ADIPOCINAS

El tejido adiposo es un órgano endocrino que juega un papel especial en la homeostasis de la glucosa, debido a que libera ácidos grasos libres, factor de necrosis tumoral alpha, IL-6, leptina, además de resistina, adiponectina, angiotensinógeno, inhibidor del activador de plasminógeno, entre otras, llamadas adipocinas o adipocitocinas. Se han demostrado que estas sustancias interactúan en la acción de la insulina contribuyendo a la inflamación y la resistencia a la insulina que presenta el sujeto con obesidad (Kahn, Weir, King, Jacobson, Moses, & Smith, 2005).

#### 5.3.1. FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALPHA

El Factor de Necrosis Tumoral Alpha (TNF- $\alpha$ ) es una citocina proinflamatoria altamente expresada en el tejido adiposo y está relacionada directamente con la insulino resistencia en hígado, tejido adiposo y muscular debido a que induce la fosforilación de serina del substrato receptor de insulina y éste actúa como inhibidor del receptor de insulina, ya que éste debe de ser fosforilado con

tirosina. Por lo que una exposición crónica de TNF- $\alpha$  impide una correcta función de las cascadas de señalización para la translocación de GLUT4 a la membrana celular (Kralisch, Bluher, Paschke, Stumvoll, & Fasshauer, 2007; Lorenzo, et al., 2008 Olivares & Arellano, 2008).

### 5.3.2. INTERLEUCINA 6

Es una adipocina proinflamatoria, la cual esta correlacionada con el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 ya que en presencia de esta patología, y presencia de obesidad se encuentra elevada. La interleucina 6 (IL-6) afecta la señalización de la insulina, disminuyendo la activación del substrato receptor de insulina por medio de la vía PI3-K, la cual es uno de los mecanismos principales por el cual la insulina realiza sus funciones en el metabolismo de la glucosa y lípidos. Promueve la hiperglucemia por medio de la inducción de gluconeogénesis y lipólisis e inhibe la adipogénesis y glucogenogénesis (Andersen & Pedersen, 2008; Fasshauer & Paschke, 2003; Gnacinska, Malgorzewicz, Stojek, Lysiak-Szydłowska, & Sworzak, 2009; Kralisch, *et al.*, 2007).

### 5.3.3. LEPTINA

Por medio de un experimento de parabiosis en ratones *ob/ob* y *db/db* se sugirió que el producto del gen *ob* era responsable de la regulación del balance de energía, el cual no estaba presente en los ratones *ob*, posteriormente en 1994 se descubre la hormona responsable del proceso anterior, la cual fue llamada leptina de origen griego *leptos* que significa delgado. La leptina es una hormona compuesta de 167 aminoácidos y es producida en el tejido adiposo, se encarga de regular la ingesta de alimentos por medio de la disminución de apetito (Friedman & Halaas, 1998; Gnacinska, *et al.*, 2009).

La leptina mejora la sensibilidad de la insulina, debido a que reduce los niveles de lípidos y activa la vía AMPK, la cual regula la transcripción de genes

relacionados con las vías de acción de la insulina. Sin embargo, en presencia de obesidad existe una resistencia a la leptina por lo cual no puede hacer su función (Kumar & O’Rahilly, 2005; Tilg & Moschen, 2008).

#### 5.4. ALIMENTOS FUNCIONALES

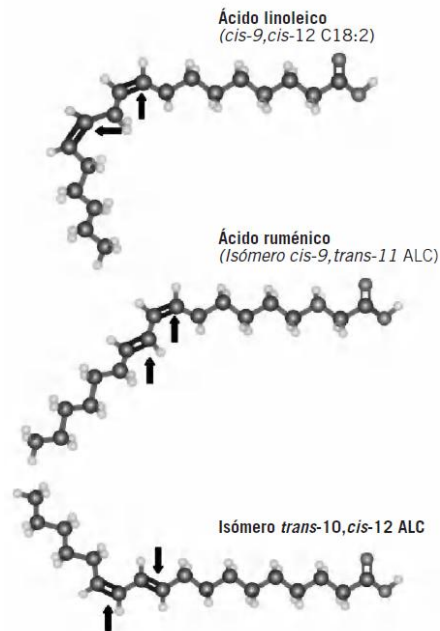
En los últimos años se ha incrementado el conocimiento de los alimentos funcionales y aunque aún no existe un concepto universal, se considera que son aquellos alimentos, que se consumen como parte de una dieta normal y contienen componentes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades. Entre los ejemplos de alimentos funcionales, destacan los que contienen determinados minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia, los alimentos a los que se han añadido sustancias biológicamente activas, como los fitoquímicos u otros antioxidantes, y los probióticos, que tienen cultivos vivos de microorganismos beneficiosos (European Food Information Council, 2006).

El Ácido Linoleico Conjugado (CLA), es un componente que puede tener el alimento, para ser denominado como funcional ya que a este se le atribuye la capacidad de disminución de la masa grasa y los niveles de glucemia en la diabetes mellitus tipo 2 (Benjamin & Spener, 2009). Dentro de los alimentos funcionales que presentan CLA se encuentran las mantequillas, quesos y leches (anexo 5).

##### 5.4.1. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO

Diversas investigaciones han descubierto que algunos isómeros del ácido linoleico, ejercen un efecto benéfico a la salud. El término de ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés) se utiliza para designar una serie de isómeros del ácido linoleico, caracterizado por tener los dobles enlaces en posición conjugada o contigua, en lugar de tenerlos separados por un grupo metileno, como ocurre en el ácido linoleico. Estos dobles enlaces pueden

presentarse en configuración *cis* o *trans* y suelen estar situados en las posiciones 8 y 10, 9 y 11, 10 y 12, 11 y 13. Siendo el más abundante el *cis*-9, *trans*-11, el cual representa hasta el 80% del total de CLA existente en los alimentos, en su estado natural. Otros isómeros presentes en menor cantidad son *trans*-10, *cis*-12; *trans*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *trans*-12 (Anadón *et al.*, 2006).



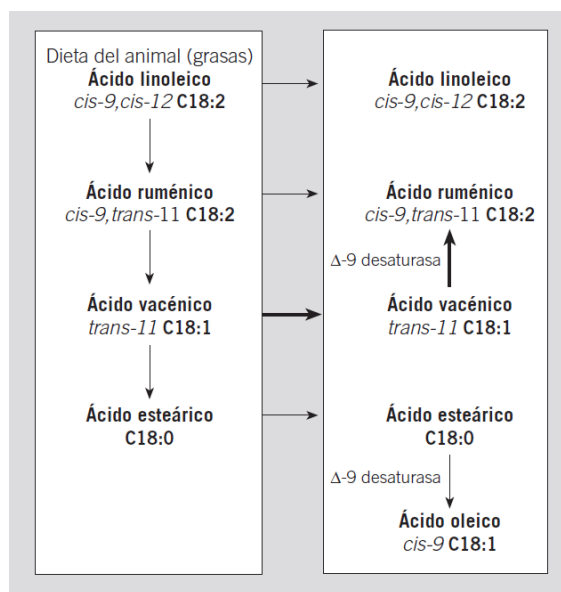
**Figura 2.- Estructura química del ácido linoleico.** Principales isómeros del ácido linoleico conjugado (Haro, Artacho, & Cabrera-Vique, 2006).

El CLA se conoce desde la década de los ochentas cuando un grupo de investigadores trabajaban con ciertos componentes carcinogénicos en carne de ternera y descubrieron que algunos ácidos grasos derivados del ácido linoleico presentaban propiedades anticancerígenas (Pariza, Park, & Cook, 2001).

Los isómeros de CLA aparecen en la fracción lipídica de la carne de bovino y ovino así como los lácteos procedentes de estos animales (Griinari, *et al.*, 2000). El origen del CLA es debido a la bacteria *Butyrivibrio fibrosolvens*, presente en el rumen de los animales, esta bacteria es capaz de hidrogenar los

ácidos grasos poliinsaturados. De esta forma, el ácido linoleico presente en los pastos naturales se transforma en el sistema digestivo del rumiante en CLA.

En el estómago el isómero *cis*-9, *trans*-11, denominado ácido ruménico (AR) se forma a partir del ácido linoleico, siendo el intermediario más importante. A partir del AR, el isómero *trans*-11 C18:1, denominado ácido vacénico (AV), se forma por hidrogenación, siendo el principal ácido graso monoinsaturado *trans* presente en grasa animal, carne, leche y derivados lácteos, este es el primer paso para la formación de ácidos grasos *trans*. Estudios recientes indican que, al igual que ocurre en los animales rumiantes, en el organismo humano (principalmente en la glándula mamaria) el AV puede convertirse en AR por acción de la enzima  $\Delta$ -9 desaturasa, presente en el intestino, glándula mamaria y tejido adiposo. Esta conversión contribuye a aumentar la cantidad de AR disponible en el organismo, por lo que la ingesta dietética de AV debe considerarse al predecir el contenido de AR (Turpeinen, *et al.*, 2002); Anadón *et al.*, 2006).



**Figura 3.- Principales rutas biosintéticas del ácido linoleico.** (Haro, *et al.*, 2006)

Entre las principales fuente de CLA en la dieta humana se encuentran la leche, el yogur, quesos, helados, mantequilla, salmón, yema de huevo, carne de res, cordero, pollo, cerdo y aceite de girasol (Haro, *et al.*, 2006). Se recomienda una ingesta diaria media del CLA de aproximadamente 150-200 mg (Jiang, Wolk, & Vessby, 1999); un consumo de una dieta rica en productos de origen animal altos en grasa puede incrementar la ingesta diaria en al menos 650 mg (Park, *et al.*, 1999).

Otros investigadores calculan una ingesta diaria de CLA total de 212 mg para hombres y 151 mg para mujeres, en el cual la ingesta del isómero *cis*-9, *trans*-11, es de 193 mg/día para hombre y 140 mg/día para la mujer, respectivamente (Ritzenthaler, *et al.*, 2001). En Alemania, la ingesta diaria estimada de CLA total se calcula en 430 mg para el hombre y 350 mg para la mujer (Fritsche & Steingart, 1988).

Por último, se ha encontrado una correlación significativa entre la proporción del isómero *cis*-9, *trans*-11 de CLA en tejido adiposo y la ingesta de grasa de la leche; dicho isómero puede encontrarse en un 0.5% del peso del total de ácidos grasos en el tejido adiposo humano (Jiang, *et al.*, 1999).

Los efectos en humanos por consumo de leche adicionada con CLA (usando una mezcla de los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, marca Tonalin, Naturlinea; Central Lechera Asturiana) muestran que la dieta con la complementación de este alimento tuvo un efecto positivo en la disminución de la masa grasa a nivel de tronco, sin embargo, no reflejó un efecto significativo en los parámetros del síndrome metabólico (Laso, *et al.*, 2007).

Sin duda alguna, un factor de suma importancia en la diabetes mellitus específicamente tipo 2, es el peso corporal (debido al exceso de tejido adiposo), se ha demostrado que al momento de administrar una dieta con adicionada con

CLA, existe un efecto positivo en la disminución de masa grasa (Whigham, Watras, & Schoeller, 2007).

En 1998 Houseknecht y col. descubrieron que CLA es capaz de disminuir la tolerancia a la glucosa y mejorar la hiperinsulinemia en la rata pre-diabética ZDF, concluyendo que los efectos de CLA en la tolerancia a la glucosa y homeostasis de la misma, pueden ser un tratamiento importante para la prevención y el tratamiento de la diabetes mellitus no insulino dependiente.

En el 2001 Hamura y col. reportaron que la administración de CLA en ratones machos C57BLKS-Lepr<sup>db</sup>/lepr<sup>db</sup> durante 23 semanas, disminuye el peso corporal y disminuyeron los niveles de glucosa e insulina plasmática aunque éstas no fueron significativas. En este trabajo CLA fue administrado en una dieta comercial con 1.2% de CLA (*cis, trans / trans, cis* -9,11 y *trans, cis* 10, 12).

Ryder y col. (2001) realizaron una comparación en ratas macho Zucker diabéticas, con diferentes isómeros, ellos evaluaron una mezcla con 1.5% de CLA *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 e isómeros puros, encontraron que la mezcla, produce una reducción adipositaria y mejora la tolerancia a la glucosa. Sin embargo, el *cis*-9, *trans*-11 no tuvo efecto en la tolerancia a la glucosa, comparada con el grupo control.

En controversia con la investigación anterior, Moloney y col. (2007) en un estudio realizado con ratones ob/ob C57BL-6 demostraron que la alimentación complementada con CLA *cis*-9, *trans*-11 reduce significativamente la glucosa, la insulina en la sangre e incrementa el GLUT 4 y el receptor de insulina en la membrana plasmática de las células del tejido adiposo, comparados con la alimentación suplementada de ácido linoleico.

Se ha demostrado una disminución en los niveles de insulina en suero y glucemia en los grupos suplementados con CLA (0.75%, 1.5% y 3% en peso)



administrado en una dieta alta en grasa en ratas macho Wistar, así mismo se pudo aumentar la expresión de la proteína GLUT4 en el músculo esquelético (Sun, Zhou, Wen, & Liu, 2007).

La suplementación con 1% de CLA (*cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12) disminuyó la resistencia a la insulina (determinada por el modelo HOMA) en ratas Sprague–Dawley alimentadas con dieta alta en grasa adicionada durante 8 semanas (Choi, Koh, Jung, & Song, 2007).

En ratones hembras C57BL/6J (7 semanas de edad), se ha demostrado que la suplementación con CLA (*cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12) contribuye a mantener el peso y los niveles de insulina plasmática adecuados a su edad (comparados con control positivo), en mencionada investigación se administró CLA en dieta alta en grasa, durante 5 meses (Tsuboyama-Kasaoka, Miyazaki, Kasaoka, & Ezaki, 2003).

Henriksen y col. (2003), encontró que la mezcla de los isómeros de CLA *cis*-9, *trans*-11 con *trans*-10, *cis*-12 (50:50), mejoró la tolerancia a la glucosa y la insulina en el musculo esquelético, administrando 1.5g de CLA / kg de peso corporal a ratas hembras Zucker obesas (Hsd/Ola:Zucker-fa) durante 21 días.

En el 2008, Zhou y col. demostraron que la suplementación con CLA reduce significativamente la ganancia de peso corporal y las concentraciones de glucosa, insulina y leptina en plasma comparados con el grupo alimentado con dieta alta en grasa y sin CLA en ratas macho Wistar, en las cuales administraron diferentes dosis de CLA por medio de dieta alta en grasas.

En controversia con las investigaciones anteriores, Clement y col. (2002), demostraron en hembras C57Bl/6J alimentadas con dieta adecuada, adicionada con CLA *trans*-10, *cis*-12 (0.4% en peso) durante 4 semanas, desarrollo hiperinsulinemia y presentó mayor nivel de glucemia.

Ohashi y col. (2004) encontraron que CLA disminuye el tejido adiposo blanco e incrementa la glucosa e insulina en sangre, asociada con la insulino resistencia. Mencionada investigación fue realizada en ratones C57BL, medianamente obeso/diabético KK y mórbidamente obeso/diabético KKAy, suplementando la dieta con 0.5% de CLA (30.5% *cis*-9, *trans*-11 y 28.9% *trans*-10, *cis*-12) por 4 semanas.

Poirier y col. (2006), demostraron que existe una reducción en el tejido adiposo blanco y los niveles de leptina, así mismo produjo una hiperinsulinemia pero no una hiperglucemia, esto en ratones hembras C57Bl/6J de 2.5 meses de edad, en las cuales administraban una carga via oral de 0.1 g de aceite de girasol ó 0.1 g de una mezcla con 0.08 g de aceite de girasol y 0.02 g de triglicéridos (90.4% isómeros de CLA [79% *trans*-10, *cis*-12; 7% *cis*-9, *trans*-11; y 3.1% *trans/trans*], 2.5% de ácido oleico, 0.2% de ácido linoleico, y 6.6% de ácidos grasos saturados) diariamente durante 7 días.

Por su parte Halade y col. (2010) demostraron que los isómero *trans*-10, *cis*-12 de CLA produjeron insulino resistencia, así mismo la mezcla de *cis*-9, *trans*-11 con *trans*-10, *cis*-12, sin embargo el grupo *cis*-9, *trans*-11 previno la insulino resistencia, todo esto en ratones hembras C57Bl/6J al administrar 0.5% de CLA, durante 6 meses de intervención dietética.

Riserus y col. (2002) realizaron un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con hombres que presentaban obesidad abdominal, los cuales se les brindó tratamiento durante 12 semanas administrando 3.4 g/día de CLA *trans*-10, *cis*-12, encontrando que existió un incremento en la glucemia y una insulino resistencia.

Con esta gran controversia del efecto que presenta los isómeros *cis*-9, *trans*-11 con *trans*-10, *cis*-12 de CLA, se plantea el presente estudio, para contribuir a una posible respuesta del comportamiento de CLA en esta enfermedad.

## 6. MÉTODOS

### 6.1. ANÁLISIS GENERAL

El presente trabajo consistió en un bioensayo diseñado en 2 fases:

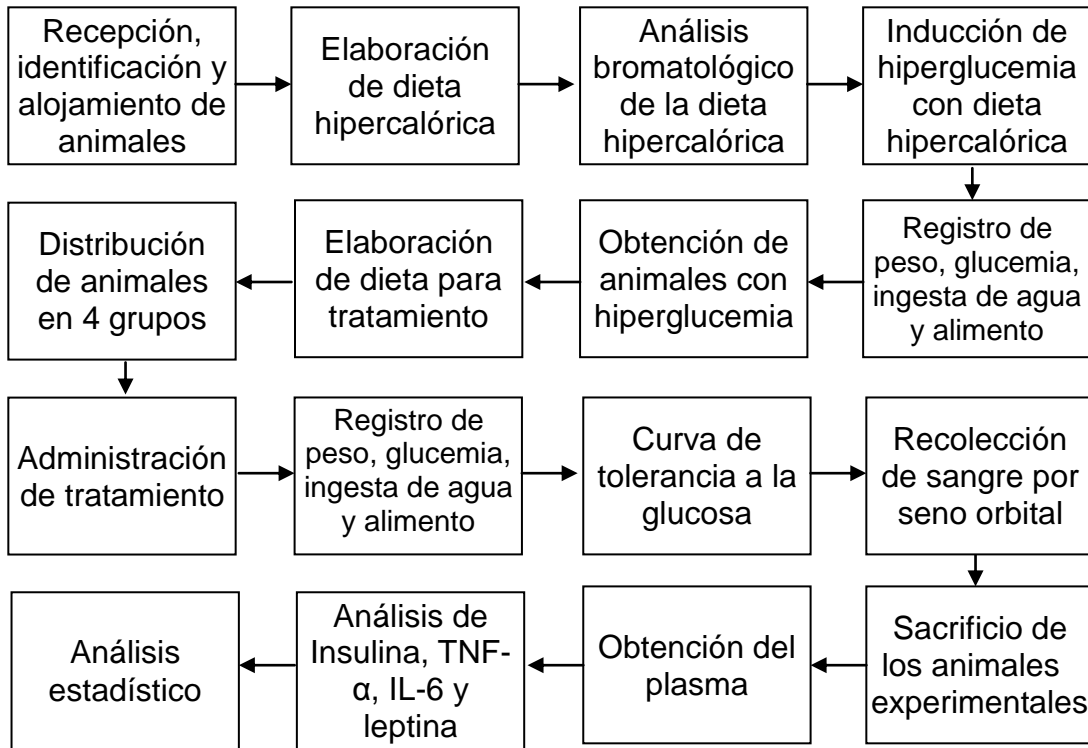
La primera se realizó con la finalidad de inducir hiperglicemia en ratones machos C57BL/6NHsd, esta fase inició con el consumo de dieta hipercalórica elaborada de manera artesanal, tomando como base las dietas comerciales de los laboratorio Labdiet, Harlan y Bio-Serv (ver anexo 1). Durante esta fase se registró el peso corporal, la glucemia, el consumo de agua y alimento. Esta fase concluyó cuando al menos 24 ratones presentaron una glucemia mínima de 140 mg/dL (15 semanas de tratamiento).

En la segunda fase del bioensayo, los ratones con hiperglucemia se distribuyeron en 3 grupos de 8 animales cada uno (grupo CLA, Aceite y TZD) y un grupo sin hiperglucemia de 5 animales (grupo Isocalórico).

A los primeros 3 grupos se les brindó el tratamiento por medio de dieta hipercalórica, en el grupo de CLA a la dieta se le adicionó 1.5% de CLA *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (50:50), para el grupo Aceite la dieta fue enriquecida con 1.5% de aceite de girasol (por su contenido de ácido linoleico muy similar a la dieta con CLA), a los animales del grupo TZD, se les administró la dieta hipercalórica rosiglitazona (0.14%), utilizando este fármaco como control negativo debido a que es un antidiabético oral que actúa disminuyendo la resistencia a la insulina en el tejido adiposo, músculo esquelético e hígado (Food and Drug Administration, 2007; Martínez, Ventura, & Núñez, 2002) y en el grupo Isocalórico (animales sin hiperglucemia) se le proporcionó dieta comercial para roedores (isocalórica).

Se registraron los parámetros de peso corporal, glucemia, consumo de agua y alimento durante la segunda fase y en la semana 4 se realizó una curva de

tolerancia a la glucosa. Esta fase concluyó en la semana 6 de tratamiento para los grupos CLA, Aceite y TZD y 5 semanas para el grupo Normal, se sacrificaron los animales y se recolectó la sangre para posterior análisis de insulina, leptina, TNF- $\alpha$  e IL6 (figura 4).



**Figura 4.- Procedimiento general de análisis.** Esquema que representa los pasos más relevantes realizados durante la investigación.

## 6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Es un estudio preclínico, experimental, comparativo, longitudinal, y prospectivo. Con una temporalidad de agosto 2010 a julio 2011.

### 6.2.1. UNIDADES DE OBSERVACIÓN

El bioensayo se realizó en ratones machos C57BL/6NHsd de 5 semanas de edad adquiridos en Laboratorio Harlan, México, a los cuales se les brindó una dieta hipercalórica para elevar el nivel glucémico. La distribución posterior a la

inducción de hiperglucemia se realizó de manera aleatoria basándose en los últimos análisis de glucemia:

- 8 ratones para grupo CLA (CLA)
- 8 ratones para grupo control negativo (Aceite)
- 8 ratones para grupo control positivo (TZD)
- 5 ratones para grupo Isocalórico

El tratamiento (fase II) se realizó durante un periodo de 5 a 6 semanas y posteriores a la inducción de hiperglucemia, se brindó el tratamiento en dieta hipercalórica ó dieta isocalórica. Al final del tratamiento, se realizó el sacrificio de los animales, de acuerdo a los lineamientos internacionales y se procedió a obtener muestras de sangre para posterior análisis.

#### 6.2.2. GRUPOS CONTROL

Los grupos Aceite y TZD fueron formados utilizando ratones machos C57BL/6NHsd de 20 semanas de edad con niveles de glucemia  $\geq 160$  mg/dL en ayuno de 12 horas, sin consumo de CLA y que no padezcan de alguna patología que altere los resultados, mientras que para el grupo Isocalórico debían presentar glucemia  $< 160$  mg/dL y las características antes mencionadas.

##### 6.2.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

El criterio de inclusión fue presentar de glucemia  $\geq 160$  mg/dL en ayuno de 12 horas. Mientras que los de exclusión fueron los que presentaron glucemia  $\leq 160$  mg/dL en ayuno de 12 horas, cuando se detectó una enfermedad que alterará los resultados o bien un comportamiento anormal del animal. Los animales que presentaron murieron en el transcurso del bioensayo, fueron eliminados (sus datos) por no haber concluido este.

### 6.2.3. MÉTODOS, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Para la elaboración de la investigación se siguieron los procedimientos que se describen a continuación, siguiendo los lineamientos de la institución donde se realizó el procedimiento.

#### 6.2.3.1. RECEPCIÓN, IDENTIFICACIÓN Y ALOJAMIENTO DE ANIMALES

Los animales fueron recibidos y mantenidos en el bioterio del Centro de Investigaciones Biomedicas del Noreste (CIBN) del Instituto Mexicano del Seguro Social, en un ambiente controlado con un ciclo de 12 horas de oscuridad / 12 horas de luz y a una temperatura de 20-24 °C cumpliendo con las normas nacionales e internacionales para el uso de animales experimentales y bajo la supervisión de personal especializado (figura 5).

Pasada una semana de adaptación, los animales fueron marcados por medio de perforaciones y/o muescas en una o ambas orejas, señalando a los animales del número 1 hasta el 32 (como se especifica en la tabla 1). Este procedimiento fue realizado después de anestesiar al animal con éter etílico (vía nasal).















**Figura 5.- Recepción y alojamiento.** Imágenes de la recepción (a) y el alojamiento (b) de los modelos experimentales.

La identificación de los animales se realizó por medio de marcado en la oreja, utilizando durante el bioensayo del marcado 1 al 32, en el cual del 1 al 10 se realiza la perforación en la oreja derecha (tabla 1), después del número 10

se coloca una perforación en la oreja izquierda para marcar 10 unidades y otra en la oreja derecha, la cual añade la unidad correspondiente, ejemplo: animal número 25, se marcó con una perforación completa en la oreja izquierda en la parte de arriba (indica 20 unidades) y en la oreja derecha con una muesca arriba (indica 5 unidades).

**Tabla 1**

Significado de la identificación de animales experimentales

PERFORACIÓN COMPLETA		PERFORACIÓN INCOMPLETA (MUESCA)	
Oreja izquierda	Oreja derecha	Oreja derecha	
			
10 = costado interno	1 = costado interno	4 = 1 en costado interno	7 = 2 en costado interno
			
20 = arriba	2 = arriba	5 = 1 arriba	8 = 2 arriba
			
30 = costado externo	3 = costado externo	6 = 1 en costado externo	9 = 2 en costado externo

Una vez marcados, para su fácil identificación, fueron mantenidos en 4 jaulas diferentes, durante la fase de inducción de diabetes:

Jaula 1: los animales del 1 al 9

Jaula 2: los animales del 10 al 19

Jaula 3: los animales del 20 al 29

Jaula 4: los animales del 30 y 32

Durante la fase de tratamiento, se distribuyeron en grupos homogéneos tomando como valor principal la glucemia. Se eligieron a los animales de acuerdo al nivel de glucemia, quedando en el siguiente acomodo: 3 jaulas con 7 animales cada una (grupos CLA, Aceite e Isocalórico) y una jaula con 5 animales para el grupo Isocalórico, al principio del ensayo se descartaron 3 animales por diferentes razones que perjudicaban al bioensayo.

### 6.2.3.2. DIETA HIPERCALÓRICA

El alimento proporcionado a los animales, fue elaborado de manera artesanal en el Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública (CINSP) de la Universidad Autónoma de Nuevo León, cuidando las recomendaciones de ingesta necesarias para los ratones (Reeves, Nielsen, & Fahey, 1993) se produjo de cada 7 a 10 días y se almacenó en refrigeración (figura 6) utilizando los ingredientes que se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2**  
Componentes de la dieta hipercalórica

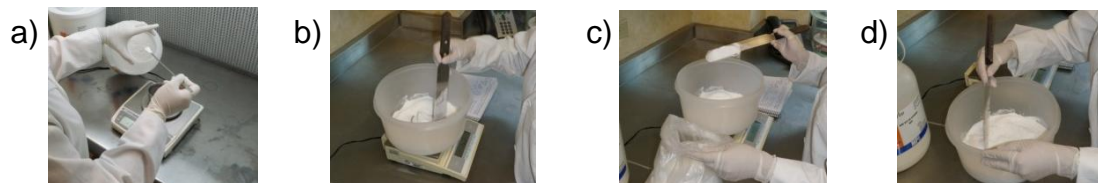
Componente	Marca	Gramos por kilogramos de dieta
DL-Metionina	MP Biomedical, LLC	3.5
Bitartrato de Colina	MP Biomedical, LLC	4.5
Mezcla de vitaminas (AIN-93-VX)	MP Biomedical, LLC	18.5*
Mezcla de minerales (AIN-93-G)	MP Biomedical, LLC	42.5*
Azúcar de mesa refinada	Soriana S.A. de C.V.	151.0
Maltodextrina	Industria de maíz (IMSA)	190.0
Caseinato de sodio	American Casein C.O.	230.0
<b>Total de pre-mezcla en polvo:</b>		<b>640.0</b>
Manteca de cerdo	Central de carnes S.A.	360.0
<b>Peso total de la dieta:</b>		<b>1000.0</b>

\* Corresponde a las necesidades de los animales experimentales (Reeves, *et al.*, 1993).



## Procedimiento para la elaboración de la dieta hipercalórica

1. En un crisol de aluminio se pesó la DL-Metionina utilizando báscula digital con capacidad de 600 gramos (precisión de 0.01 gramos), y se colocó en un recipiente de plástico con capacidad de 4 litros.
2. En el mismo crisol (vacío) se pesó el bitartrato de colina, se añadió al recipiente y se mezcló hasta homogenizar.
3. Se realizó el mismo procedimiento con la mezcla de vitaminas y minerales.
4. Una vez pesados y mezclados estos ingredientes se colocó el recipiente en la bascula y se taró (se utilizó báscula digital con capacidad de 1600 gramos y una precisión de 0.1 gramos).
5. Se agregó el azúcar y se mezcló hasta homogenizar; siguiendo este procedimiento se añadieron los demás componentes a excepción de la manteca, de esta manera se obtuvo la pre-mezcla en polvo.
6. Al final se agregó la manteca, la cual se mezcló primero con espátula y posteriormente se mezcló manualmente (cuidando la higiene) para obtener una masa de manera homogénea.



**Figura 6.- Elaboración de dieta hipercalórica.** Las imágenes muestran los pasos más relevantes, a) pesado de los ingredientes de menor volumen en báscula con capacidad de 600 gramos, b) mezclado de cada ingrediente antes de agregar el siguiente, c) pesado los ingredientes de mayor volumen en báscula con capacidad de 1600 gramos, d) mezclado de todos los ingredientes de manera homogénea.

### 6.2.3.3. DIETA PARA TRATAMIENTO

Para las dietas de la fase II (administración de tratamiento), se siguió el mismo procedimiento de la elaboración de la dieta hipercalórica hasta la pre-mezcla, posteriormente para la dieta Aceite ó CLA, se mezcló la manteca con el

aceite de girasol ó CLA y se agregó a la pre-mezcla en polvo para obtener una masa homogénea. En el caso de la dieta TZD, en un mortero se molieron las tabletas de rosiglitazona hasta obtener un polvo, el cual se mezcló perfectamente con la pre-mezcla en polvo y posteriormente se agregó la materia grasa.

Los elementos y las cantidades utilizadas para la elaboración de las dietas de tratamiento (fase II), son las señas en la tabla 3.

**Tabla 3**  
Componentes de la dieta para tratamiento

Componente (marca)	Dieta CLA al 1.5% (g/Kg de dieta)	Dieta Aceite al 1.5% (g/Kg de dieta)	Dieta TZD al 0.4% (g/Kg de dieta)
Pre-mezcla en polvo	640	640	640
Manteca de cerdo	340.8	340.8	340.8
Ácido Linoleico Conjugado (Tonalin TG 80) - 48.1% isómeros <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 - 48.1% isómeros <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 - 3.8% otros isómeros	19.2 (equivalente a 1.5 gramos de CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 y <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12)	0.0	0.0
Aceite de girasol Orgánico (Bija Organic Hydro-Therm Sunflower Oil)	0.0	19.2	19.2
Rosiglitazona tabletas de 8 mg (GlaxoSmithKline)	0.0	0.0	175 tabletas

#### 6.2.3.4. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Con la finalidad de obtener el valor nutritivo de la dieta hipercalórica elaborada de manera artesanal en el laboratorio de alimentos del CINSP, se realizó el análisis bromatológico por triplicado determinando los parámetros de humedad, ceniza, grasa y proteína.

#### 6.2.3.4.1 Determinación de humedad

Se llevó a peso constante un crisol de aluminio en la estufa a 102-103°C por toda la noche. Se sacó de la estufa y colocó en el desecador hasta alcanzar temperatura ambiente (aproximadamente 15 minutos). Una vez frío, se pesó en la báscula analítica, se agregó la muestra se pesó y se colocó en la estufa a 102-103°C y se dejó toda la noche. Al día siguiente se sacó el crisol de la estufa y se puso en el desecador por 15 minutos para después pesarlo y analizar los datos obtenidos (AOAC Official Method 934.01, 1934).

#### 6.2.3.4.2 Determinación de ceniza

Para determinar la cantidad de ceniza, se pesó y taró el crisol para agregar la muestra seca. Una vez que el crisol tuvo la muestra seca, se calentó hasta carbonización completa y se llevó el crisol a la mufla por 24 horas a 550°C.

Posteriormente se sacó el crisol para colocarlo en el desecador hasta alcanzar temperatura ambiente. Se pesó el crisol con las cenizas y se registraron los datos para su posterior análisis (AOAC Official Method 942.05, 1942).

#### 6.2.3.4.3 Determinación de grasa

Posterior a la eliminación de humedad en la muestra, se realizó la determinación de grasa, para lo cual se llevó a peso contante un vaso Goldfish. En un trozo pequeño de papel higiénico de peso conocido, se pesaron 3 gramos de muestra seca y molida (a temperatura ambiente), posteriormente se dobló el papel y se colocó en el dedal.

El dedal con la muestra se colocó en el aparato de Goldfish para reflujo constante por 4 horas. Transcurrido el tiempo se apagó el aparato y se quitó el vaso (sin tocarlo) se colocó en la estufa y dejó pasar 24 hrs. Posteriormente se

sacó, se enfrió en el desecador (aproximadamente 10 min) y se pesó para determinar la grasa por diferencia de peso (AOAC Official Method 920.39, 1920).

#### 6.2.3.4.4 Determinación de proteína.

Se empleó el equipo de combustión directa LECO el cual analiza la cantidad de proteína por el método de Dumas utilizando EDTA como estándar (USDA, 2001).

#### 6.2.3.5. ANÁLISIS DE CLA

Se determinó la cantidad de ácido linoleico conjugado en el aceite de CLA, por medio de cromatografía de gases utilizando el método AOAC 969.33, 1969.

#### 6.2.3.6. INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA

La fase de inducir hiperglucemia en los modelos experimentales, tuvo una duración de 15 semanas, al presentar al menos en 24 ratones una glucemia mayor a 140 mg/dL (valor considerado hiperglucémico de acuerdo a Flowers & Mickelson, 2010).

En esta etapa se administró a los animales experimentales una dieta hipercalórica alta en grasa y carbohidratos simples (35.5% grasas, 21.4% proteína y 37.0% carbohidratos) la cual ha sido reportada como eficiente para aumentar peso corporal (grasa) y glucemia en ratones c57bl6 (Mills, Kuhn, Feinglos, & Surwit, 1993; Rebuffe-Scrive, Surwit, Feinglos, Kuhn, & Rodin, 1993). Dicha alimentación se proporcionó durante todo el estudio en el cual la primera fase consistía en inducir hiperglicemia a los ratones y en la segunda fase fue utilizada en los tratamientos adicionando los ingredientes ya descritos.

La dieta y el agua fueron ofrecidas *ad libitum*, la dieta se cambió los días lunes, miércoles y viernes, para evitar oxidación de las grasas. Se colocaron

240 mililitros de agua los días lunes y viernes. Se tomaron los registros de peso y volumen cada vez que se realizaron los cambios de dieta y agua (figura 7), posteriormente se realizaron los cálculos de energía consumida (de acuerdo al tipo de dieta consumida).

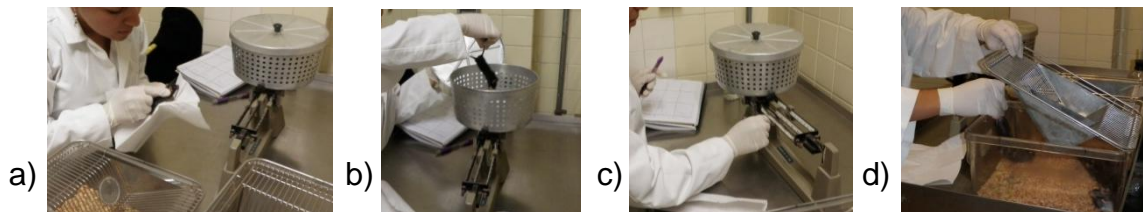


**Figura 7.- Inducción de hiperglicemia (fase I).** En la imagen se puede observar el alojamiento durante la fase I (izquierda) y la dieta brindada en este período (derecha).

#### 6.2.3.7. PESO CORPORAL

Se realizó la medición de peso corporal en una báscula granataria con sensibilidad de 0.1 gramos. Al momento del inicio del bioensayo y cada semana alrededor de las 10:00 h, elaborando un registro de la fecha y hora en el que se llevó a cabo esta técnica (figura 8).

Con el objetivo de evitar alteraciones en la medición del peso se limpió la canasta de la báscula y se taró antes de realizar la medición del peso. La técnica fue realizada por duplicado (debido al bajo margen de error de  $<0.1\%$ ) y se capturaron y almacenaron los datos para su posterior análisis.



**Figura 8.- Medición de peso corporal.** Procedimiento para la determinación del peso, a) identificación del animal, b) colocación en la canasta de la báscula granataria, c) medición del peso, d) colocación en la jaula correspondiente.

#### 6.2.3.8. NIVELES DE GLUCOSA SÉRICA

Se realizó la medición de la glucosa sérica con 12 horas de ayuno, por medio de punción en la vena de la cola sin anestesia, se utilizó una lanceta y tiras reactivas para análisis de glucosa en sangre para cada animal y la muestra se determinó con un glucómetro (Optium Xceed de Laboratorios Abbott, México) ver figura 9 (Andrikopoulos, Blair, Deluca, Fam, & Proietto, 2008; Barnea, Madar, & Froy, 2010).

La medición se realizó entre 8:30 y 10:30 horas, al inicio del bioensayo y cada 3 semanas subsecuentes en la fase de la inducción de diabetes y cada 2 semanas en la fase de tratamiento. Buscando siempre las mismas características en la gota de sangre extraída de la cola (cuidando no medir el liquido tisular o que éste se mezclara con la gota de sangre). Se tomó el registro de los resultados obtenidos identificando la muestra de cada animal, para su posterior análisis.



**Figura 9.- Determinación de glucosa por punción en la cola.** En la primera imagen se observa la punción con lanceta en la cola del ratón y la segunda imagen se presenta la medición de glucemia utilizando el glucómetro.

#### 6.2.3.9. CUANTIFICACIÓN DE ALIMENTO Y AGUA

El alimento se administró *ad libitum*, con las características anteriormente descritas. La dieta se pesó en una báscula granataria con sensibilidad de 0.1 gramos, se registró el peso del alimento colocado y retirado. La diferencia de estos se convirtió a calorías para determinar el consumo de energía. El volumen

del agua se midió antes y después de 3 días de ofrecerse a los animales. Ambos datos se registraron para su posterior análisis.

#### 6.2.3.10. ADMINISTRACIÓN DE TRATAMIENTO

Esta etapa inició posterior a la fase de inducción de hiperglucemia (20 semanas de edad). El tratamiento se incorporó a la dieta hipercalórica alta en grasa y carbohidratos simples (35.5% grasas, 20.0% proteína y 36.3% carbohidratos) para los grupos CLA, Aceite y TZD mientras que para el grupo Isocalórico se le administró la dieta estándar comercial Prolab RMH 2500 (4.5% grasas, 23.0% proteína y 36.3% carbohidratos, ver anexo 2).

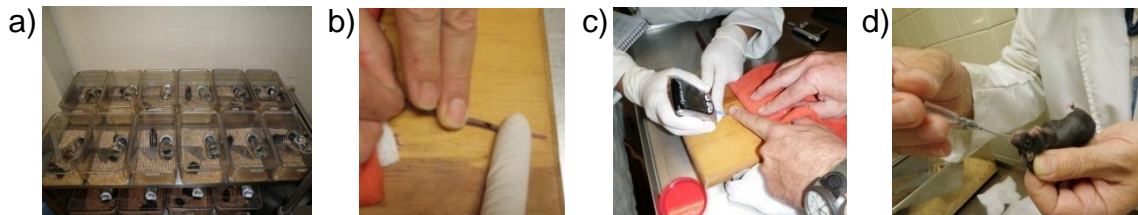
La dieta y el agua fueron ofrecidas *ad libitum*, la dieta se cambió los días; lunes, miércoles y viernes. Se tomaron los registros de peso y volumen cada vez que se realizaron los cambios de dieta y agua. El alimento proporcionado fue elaborado de manera artesanal en el Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con los lineamientos que fueron descritos previamente.

#### 6.2.3.11. CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA

La medición de la curva de tolerancia a la glucosa se realizó en la cuarta semana de tratamiento, para esta prueba los animales se dejaron en ayuno de 12 horas de manera individual suministrándole solamente agua (Wideman, Covey, Webb, Drucker, & Kieffer, 2007)

Para la carga de glucosa se pesaron 5 gramos de D-Glucosa y se aforaron a 20 ml de agua obteniendo un suero al 25% el cual se almacenó en refrigeración hasta su uso. Se realizó la medición de glucosa en el minuto 0, por punción en la vena de la cola sin anestesia, se utilizó una lanceta, tiras reactivas para análisis de glucosa en sangre para cada animal y la muestra se determinó con un glucómetro (Optium Xceed de Laboratorios Abbott, México).

La carga de glucosa se realizó posterior a la medición de la misma en el minuto 0, por administración vía oral utilizando cánula para ratón y jeringa de 1ml., se brindó una carga de 2 g/kg de peso corporal (figura 10). Se realizaron las mediciones de glucosa en el minuto 30, 60, 90 y 120 posterior a la carga, con la misma técnica y equipo anteriormente descritos. Se tomó el registro para su posterior análisis.



**Figura 10.- Curva de tolerancia a la glucosa.** a) alojamiento de los animales, b) obtención de gota de sangre, c) medición de glucemia utilizando glucómetro, d) administración de carga de glucosa por vía oral con ayuda de cánula.

#### 6.2.3.12. RECOLECCIÓN DE MUESTRA SANGUÍNEA

Al inicio y al final de la fase de tratamiento se obtuvo muestra de sangre en cada animal para posterior análisis de citocinas y hormonas en plasma. Para la recolección de sangre, los animales se dejaron en ayuno de 12 horas. Se inició la toma de sangre a las 9:00 horas capturando la muestra por punción en el seno orbital, con éter etílico como anestesia (vía nasal), utilizando tubos heparinizados (CORNING, Mexicana, S.A. de C.V.) y la sangre fue colocada en tubos previamente identificados con capacidad de 0.5 ml (Eppendorf).

La sangre fue centrifugada dentro de los primeros 30 minutos de haber sido obtenida a 1000 xg por 10 minutos a 25°C (3-16K, SIGMA Laborzentrifugen GmbH). Se recolectó el plasma, y se hicieron 2 alícuotas de 25 µl colocadas cada una en tubos de 0.2 ml (Eppendorf). Las muestras se mantuvieron a -20°C durante las primeras 4 horas en el CIBN, posteriormente fueron transportadas (en congelación) al CINSP para almacenarlas a -80°C.



### 6.2.3.13. SACRIFICIO DE LOS MODELOS EXPERIMENTALES

Los animales fueron sacrificados en la semana 6 del tratamiento a las 26 semanas de edad. Para ello, se dejaron en ayuno de 12 horas y anterior a la muerte se recolectó la sangre como se describe anteriormente.

### 6.2.3.14. ANÁLISIS DE CITOCINAS Y HORMONAS

Se determinaron los niveles plasmáticos de insulina, TNF- $\alpha$ , IL-6 y leptina en muestras de plasma (utilizando un capilar con heparina) obtenido al inicio y final del tratamiento de cada animal. Para el análisis de estas sustancias se utilizó el Mouse serum Adipokine kit MADPK-71K (Millipore, Corp. U.S.A.) el cual usa la fluorescencia como método de detección (equipo Luminex 100™ IS, 200™). El procedimiento se realizó de acuerdo a las instrucciones del proveedor (ver anexo 3).

### 6.2.3.15. HOMEOSTASIS MODEL ASSESSMENT

Una vez obtenidos los resultados de insulina plasmática y glucemia en ayunas al inicio y final del tratamiento de cada modelo experimental fueron utilizados para calcular la insulino resistencia por medio del homeostasis model assessment (HOMA) el cual se determinó de la siguiente manera (Matthews, et al., 1985).

$$\text{HOMA} = \frac{\text{glucosa en ayunas (mmol/L)} \times \text{insulina en ayunas (\mu\text{U/mL})}{22.5}$$

Cabe hacer mención que para desarrollar este modelo matemático, primero se convirtieron los valores de glucosa de mg/dL a mmol/L utilizando como factor 0.0555 (mmol/L = mg/dL x 0.0555), y para insulina, primero se convirtió de pg/mL a pmol/L utilizando como peso molecular 5808 Da, posteriormente para convertir de pmol/L a  $\mu\text{U/mL}$  se utilizó el factor 6.945 ( $\mu\text{U/mL} = \text{pmol/L} / 6.945$ ) (Society for Biomedical Diabetes Research, 2012).

#### 6.2.3.16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la glucosa sérica, peso corporal, hormonas, citocinas, consumo de alimento y agua se capturaron en el software Excel (Microsoft Office 2007.) y se realizó el análisis de ANOVA y prueba de Tukey, se revisó la normalidad con la prueba de Shapiro Wilk con el paquete SPSS Versión 15.0 (Copyright © SPSS Inc. 2006).

## 7. RESULTADOS

### 7.1. RECEPCIÓN DE ANIMALES Y ADAPTACIÓN

Se recibieron 32 ratones machos C57BL/6NHsd de 5 semanas de edad, los cuales pasaron un proceso de adaptación de 1 semana en el bioterio del CIBN en las condiciones anteriormente señaladas, posterior a la semana, se descartó un animal por indicaciones del veterinario (No. 31), otro de ellos se excluyó debido a que presentaba comportamiento agresivo y dañaba a los demás integrantes de la jaula (No. 6).

### 7.2. DIETA HIPERCALÓRICA

La dieta hipercalórica presentó un color crema y aroma característico a la manteca de cerdo, con textura suave, ligeramente arenosa, de consistencia firme a temperatura fría y blanda a temperatura ambiente.

El valor nutritivo se determinó por medio de un análisis bromatológico el cual se realizó por triplicado, obteniendo un producto de alta densidad calórica, elevado en grasas y carbohidratos simples (5.53 kcal/g, comparado con dieta estándar de 4.05 kcal/g). Los resultados se pueden apreciar en la tabla 4. La cantidad de micronutrientes se puede observar en el anexo 3.

**Tabla 4**  
Composición de macronutrientes y ceniza de la dieta hipercalórica

Cantidad por porción	100 gramos		
Contenido energético	553.3 Kcal		
Nutrimiento y/o componente	Energía (Kcal)	% en Kcal	% en peso
Proteína	85.8	15.50	21.44 ± 0.54
Carbohidratos	148.0	26.74	37.01 ± 1.00
Grasa	319.5	57.74	35.50 ± 0.66
Humedad	---	---	2.30 ± 0.06
Ceniza	---	---	3.75 ± 0.01

Fuente: Análisis bromatológico

### 7.3. DETERMINACIÓN DE CLA

Los resultados del análisis químico en el aceite de CLA se presentan en la tabla 5 y el cromatograma de los ácidos grasos en el anexo 6.

**Tabla 5**  
Composición de ácidos grasos de CLA

Determinación	Valor obtenido (%)
Ácido Palmítico	0.88
Ácido Esteárico	2.97
Ácido Oleico	15.68
Ácido Linoleico Conjugado	80.47

Fuente: Análisis por cromatografía de gases

### 7.4. OBTENCIÓN DE MODELO EXPERIMENTAL CON HIPERGLUCEMIA

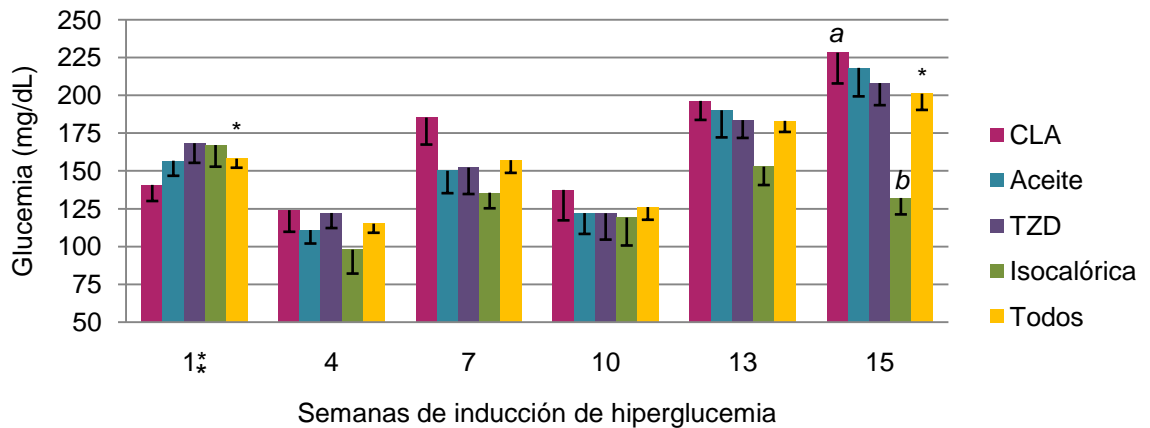
Durante la fase I se administró dieta hipercalórica *ad libitum*. Después de 15 semanas, se obtuvieron niveles de hiperglucemia. El 92.3% de los ratones C57BL6 presentaron niveles de glucemia  $\geq 140$  mg/dL.

#### 7.4.1. NIVELES DE GLUCEMIA EN LA FASE I

Por medio de la dieta hipercalórica suministrada a los 4 grupos, se logró aumentar los niveles de glicemia, los 24 ejemplares con mayor glucemia, conformaron los grupos CLA, Aceite y TZD. Los 5 ejemplares restantes, formaron parte del grupo Isocalórico. La figura 11 muestra los niveles de glucemia de la fase I, los valores iniciales fueron de  $158 \pm 30.6$  mg/dL mientras que al final de  $201 \pm 54.9$  mg/dL presentando un incremento del 27.2%.

Se observó una diferencia significativa entre los valores iniciales y finales en cada uno de los grupos CLA, Aceite y TZD ( $F=26.776$ ,  $p=0.000$ ). Mientras que el grupo Isocalórico presentó homogeneidad entre su valor inicial y final de la fase I ( $F=3.960$ ,  $p=0.082$ ). Es importante mencionar que al final de la fase I los grupos CLA, Aceite y TZD presentaron homogeneidad en los valores de glucemia ( $F=0.327$ ,  $p=0.725$ ).

En la fase I, los animales no estaban clasificados, por tal motivo en la figura 11 se puede observar 5 grupos, el grupo Todos, representa a los integrantes (26 animales) de los 4 tratamientos que se brindaron en la fase II (de esta manera se encontraban en la primera fase) y los otros grupos (CLA, Aceite, TZD y Isocalórico) se presentan en esta figura, para mostrar el comportamiento glucémico de los animales desde la primera etapa del bioensayo.



**Figura 11.- Niveles de glucemia en fase I.** Inducción de hiperglucemia por medio de dieta. Media de glucemia  $\pm$  error estándar, para el grupo CLA, Aceite y TZD  $n=7$ , mientras que en el grupo Isocalórico  $n=5$ . Todos refiere a los 4 grupos ( $n=26$ ). *a-b* son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). \* Son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). \*\*Sangre obtenida con sólo 4 horas de ayuno.

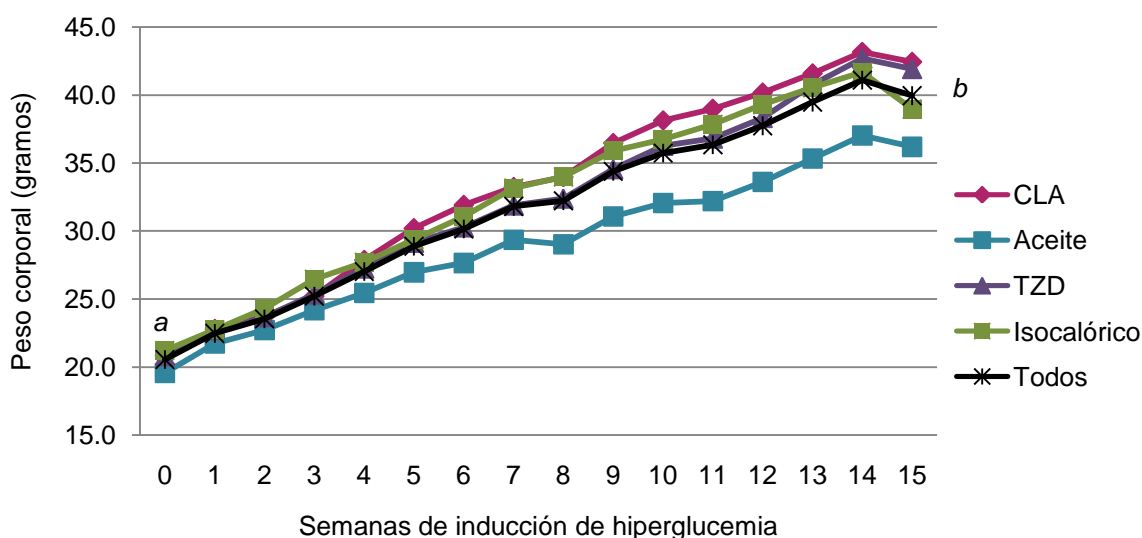
#### 7.4.2. INCREMENTO DE PESO EN LA FASE I

La fase I consistió en la inducción de hiperglicemia en los animales por medio de la dieta hipercalórica. En la figura 12 se puede observar que los animales incrementaron su peso, con diferencia significativa entre el peso inicial y final ( $F=391.04$ ,  $p=0.000$ ).

Durante la primera fase, los animales no estaban clasificados en grupos experimentales (debido a que el criterio consistía en la hiperglucemia), por tal motivo en la figura 12 se puede observar el incremento promedio de todos los animales (93.7%), de la misma manera se subdividen los diferentes grupos,

haciendo notar que el grupo Aceite al final de la fase I, presentó un peso corporal inferior a los demás grupos.

En relación al incremento de peso durante esta fase, se puede observar que el grupo que presentó un mayor porcentaje, fue el de CLA, debido a que aumentaron un 103.8%, seguido por el grupo TZD con un 101.4%, el grupo Aceite con un 84.7%, y el Isocalórico con un 84.0%, todos en relación al peso inicial (semana 0).



**Figura 12.- Incremento del peso corporal fase I.** Los valores presentados son la media del peso corporal. En el grupo CLA, Aceite y TZD la n=7 mientras que en el grupo Isocalórico n=5. El grupo todos, refiere a la suma de los 4 grupos (n=26).

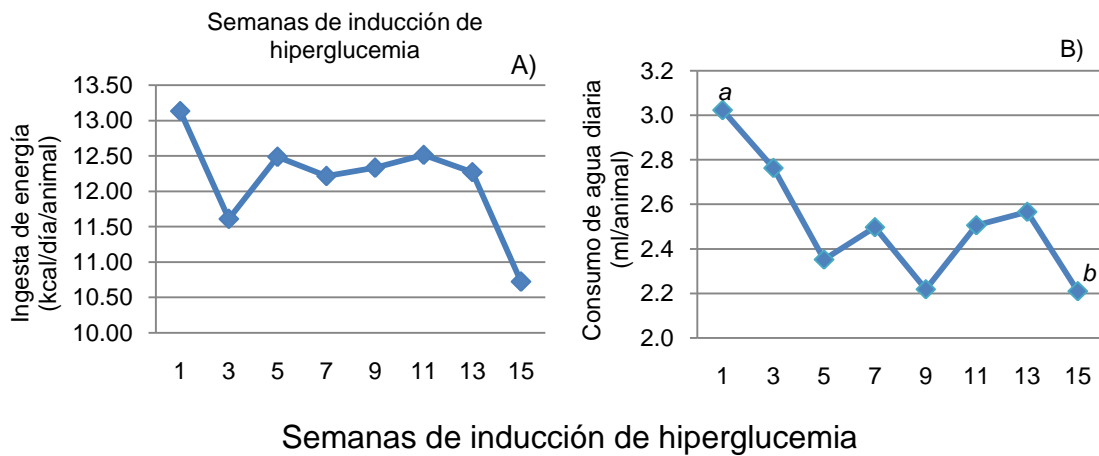
#### 7.4.3. CONSUMO DE ALIMENTO Y AGUA DE LA FASE I

Se realizó un registro del consumo de alimento y agua, estos parámetros se midieron semanalmente durante la fase I. Los resultados de este procedimiento se pueden observar en la figura 13 donde se reflejan solo los valores promedios del consumo de todos los animales esto debido a que no se habían distribuido los grupos en esta etapa.

Se observa que el consumo de alimento se mantuvo constante (figura 13) y la ingesta promedio de energía diaria por cada animal osciló entre los 13.1 al

inicio del período y 10.7 kcal al final de éste. No hay diferencia significativa entre el consumo de alimentos en la semana 1 y 15 ( $F=2.427$ ,  $p=0.170$ ).

En relación al consumo de agua, se observa (figura 13 inciso B) que al inicio de la fase I los animales consumieron en promedio 3.0 ml de agua, la ingesta fue disminuyendo gradualmente hasta la semana 5, para terminar esta fase con un consumo de 2.2 ml de agua (disminución del 26.6% de ingesta de agua). Con estos valores se determina que existe una diferencia significativa entre el consumo de agua al inicio (semana 1) y final (semana 15) de esta etapa ( $F=12.488$ ,  $p=0.012$ ).



**Figura 13.- Consumo de energía y agua durante la fase I.** Los valores observados son las medias de los valores de 26 animales. a) Representa la ingesta de energía consumida por medio de dieta hipercalórica b) Muestra el consumo de agua. a – b son estadísticamente diferentes ( $p\leq 0.05$ ).

## 7.5. EFECTO DEL TRATAMIENTO

Al finalizar la primera parte del bioensayo (fase I) se conformaron los 4 grupos diferentes, de acuerdo al diseño experimental y por lo tanto se realizaron cambios en la dieta de los animales, la dieta del primer grupo se enriqueció con CLA, la segunda con aceite de girasol, la tercera con rosiglitazona (TZD) y la cuarta (conformada con animales que al final de la fase I no presentaron hiperglucemia) se les cambió la dieta hipercalórica, por dieta comercial con 4.05

Kcal por gramo de alimento (Isocalórico). A los tres primeros grupos se les brindó el tratamiento durante 6 semanas, mientras que el último, sólo durante 5. Los distintos comportamientos de los 4 grupos se presentan a continuación.

Es importante señalar que al inicio de la segunda parte del bioensayo (fase II), diversas variables como el peso y los niveles plasmáticos de la interleucina 6, no presentaron homogeneidad entre los 4 grupos, esto debido a que el criterio de clasificación se basó en los niveles de glucemia. Por dicho motivo, las pruebas estadísticas se realizaron analizando las medias de las diferencias de los valores al inicio y final de la administración del tratamiento.

#### 7.5.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES

Al iniciar la segunda fase con 24 animales se formaron los grupos CLA, Aceite, TZD e Isocalórico, como anteriormente fue descrito. Al término dicha fase se descartaron 3 animales del estudio, uno de cada grupo por muerte (No. 5) o enfermedad que alteraba la investigación (No. 16 y 17). De esta manera se finalizó la fase con 21 ratones machos C57BL/6NHsd en los cuales se realizaron las determinaciones correspondientes.

#### 7.5.2. COMPORTAMIENTO DE PESO CORPORAL DURANTE LA FASE II

Con las modificaciones en la dieta, se pudo observar que el peso corporal presentó modificaciones en cada grupo, tomando como referencia el comportamiento de la fase I. En los animales del grupo CLA el peso corporal permaneció estable, al inicio la media se encontraba en  $42.4 \pm 2.1$  y al final fue de  $43.4 \pm 1.6$  gramos, el incremento de peso solo fue de un 2.4% siendo este grupo el que obtuvo el menor incremento de los animales que se les administró dieta hipercalórica.

En relación al grupo Aceite, el peso al inicio de la fase II fue de  $36.2 \pm 0.4$  mientras que al final fue de  $40.3 \pm 2.0$  gramos, con un incremento del 11.2%, en



la figura 14 se observa que este tratamiento mantuvo un aumento de peso constante durante las 4 primeras semanas de su administración, debido a que en la 5 semana presenta una disminución, sin embargo la media del peso se incrementa para el final de la fase II.

El grupo TZD inicia la fase II con un peso de  $41.9 \pm 1.9$  y finaliza con  $44.0 \pm 2.4$  gramos, por lo cual presenta un incremento del 5.0%, mientras que el grupo Isocalórico presentó una disminución del peso corporal el cual comenzó con  $38.9 \pm 1.8$  y termina con  $33.3 \pm 1.0$  gramos, con una disminución del 14.6%.

Al finalizar el bioensayo, la diferencia de las medias iniciales y finales de los grupos CLA, Aceite y TZD (tabla 6), no mostraron un diferencia significativa del peso entre ellos, sin embargo el grupo Isocalórico presento un diferencia significativa en comparación con los 3 grupos anteriores ( $F=8.763$ ,  $p=0.001$ ).

**Tabla 6**

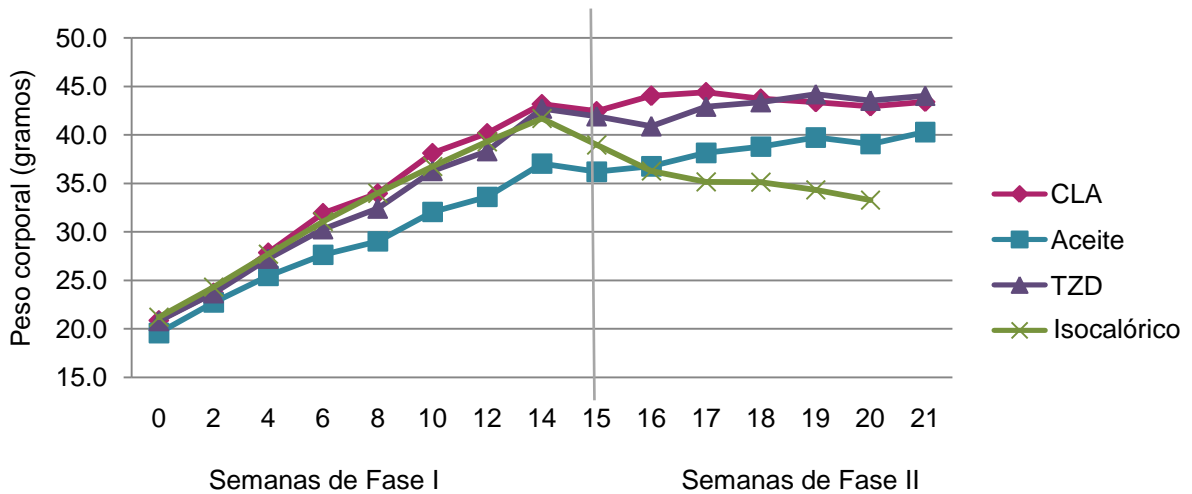
Efecto del tratamiento en el peso corporal de los animales

Grupo	Media del peso inicial (gramos)	Media del peso final (gramos)	Diferencias de medias (gramos)
CLA	$42.4 \pm 2.1$	$43.4 \pm 1.6$	$-1.0 \pm 0.8$ a
Aceite	$36.2 \pm 0.4$	$40.3 \pm 2.0$	$-4.1 \pm 1.9$ a
TZD	$41.9 \pm 1.9$	$44.0 \pm 2.4$	$-2.2 \pm 1.1$ a
Isocalórico	$38.9 \pm 1.8$	$33.3 \pm 1.0$	$5.7 \pm 1.1$ b

Los datos muestran la media  $\pm$  error estándar del peso de los distintos tratamientos. En el grupo CLA, Aceite y TZD la  $n=7$  mientras que en el grupo Isocalórico  $n=5$ . *a - b* son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

En la figura 14 se muestra el peso corporal de los animales, durante todo el bioensayo. Se puede observar un incremento constante durante la fase I, el cual es significativo en todos los grupos. Cabe mencionar que el peso corporal de la semana 15 se determinó al día posterior de la toma de sangre, esto debido a que este valor es el peso inicial de la fase II.

Tomando como referencia las variaciones de peso al inicio y final de cada fase, se observa en el grupo de CLA una diferencia significativa entre la semana 0 a la 15, sin embargo en la fase II el peso no presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). Comportamiento similar sucedió con los grupos Aceite y TZD, mientras que se observa claramente que el grupo Isocalórico bajó de peso durante la segunda parte del bioensayo.



**Figura 14.- Peso corporal de las 21 semanas.** Los valores mostrados representan la media de los pesos en los integrantes de los diferentes grupos durante el bioensayo. Para los grupos CLA, Aceite y TZD  $n=7$  para cada grupo y  $n=5$  para grupo Isocalórico.

### 7.5.3. NIVELES DE GLUCEMIA DURANTE LA FASE II

La fase II inició cuando los modelos experimentales presentaron hiperglucemia y se inició el tratamiento respectivo a cada uno de los grupos.

En la tabla 7 se observa la glucemia durante la fase II, el grupo CLA presentó una glucemia de  $228 \pm 20.3$  mg/dL, mientras que al final presentó  $112 \pm 13.3$  mg/dL, por lo cual existió una disminución de la glucemia de un 50.9%, situación similar sucedió con el grupo control negativo (Aceite), ya que éste inicio dicha etapa con una glucemia de  $218 \pm 18.9$  mg/dL y al final se encontró un valor de  $115 \pm 20.9$  mg/dL presentando un descenso del 47.7%.

Al final el tratamiento la media de CLA fue menor que el grupo de Aceite (3.2% menos) siendo que al inicio CLA presentaba niveles más altos que Aceite, sin embargo, esta diferencia no es significativa ( $p \geq 0.05$ ).

Por su parte en la misma tabla, se observa que el grupo TZD presentó una disminución de glucemia superior a los grupos CLA y Aceite, debido a que inició con una glucemia de  $208 \pm 14.6$  mg/dL y finalizó con  $82 \pm 14.7$  mg/dL, presentando de esta manera una disminución del 60.4%. Es importante hacer hincapié en la glucemia final, la cual fue inclusive menor que el grupo Isocalórico, el cual inició el tratamiento con  $132 \pm 10.9$  mg/dL y terminó con  $104 \pm 9.8$  mg/dL teniendo un porcentaje de disminución del 20.6%.

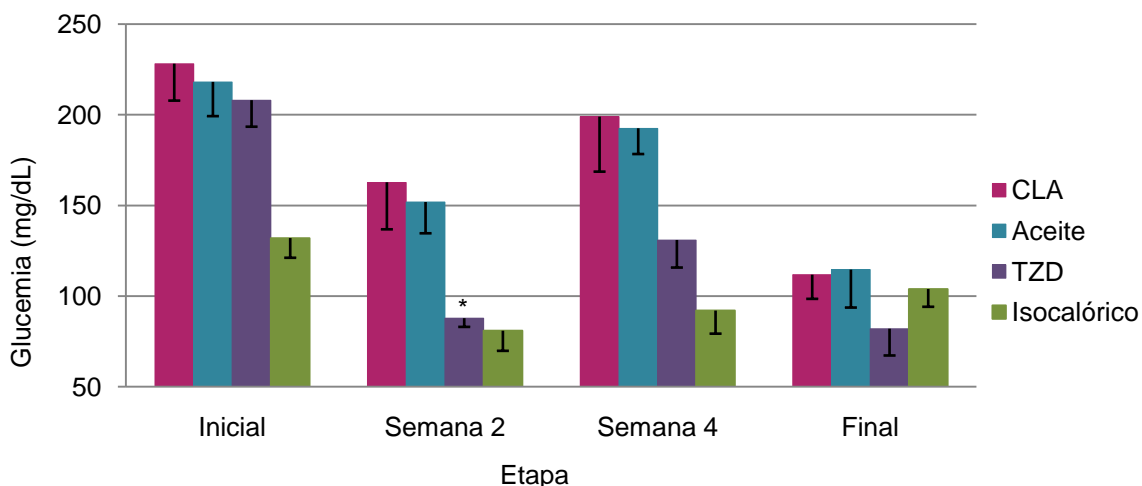
**Tabla 7.**

Medias iniciales y finales del efecto del tratamiento en la glucemia en la fase II

Grupo	Glucemia media inicial (mg/dL)	Glucemia media final (mg/dL)	Diferencias de medias (mg/dL)
CLA	$228 \pm 20.3$	$112 \pm 13.3$	$116 \pm 28.3^b$
Aceite	$218 \pm 18.9$	$115 \pm 20.9$	$104 \pm 17.5^{a,b}$
TZD	$208 \pm 14.6$	$82 \pm 14.7$	$125 \pm 21.4^b$
Isocalórico	$132 \pm 10.9$	$104 \pm 9.8$	$27 \pm 11.7^a$

Media  $\pm$  Error estándar. Para el grupo CLA, Aceite y TZD  $n=7$ , mientras que en el grupo Isocalórico  $n=5$ . <sup>a-b</sup> son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Por lo anterior se observa que el grupo Isocalórico fue el que presentó una menor disminución de la glucemia (comparando las diferencias de medias en cada grupo), en su contraparte el grupo TZD fue el que obtuvo la mayor disminución de este compuesto ( $F=3.502$ ,  $p=0.032$ ). En la figura 15 se puede observar el comportamiento de los niveles de glucemia durante el tratamiento.



**Figura 15.- Glucemia en los tratamientos (fase II).** Muestra la media  $\pm$  error estándar. Para el grupo CLA, Aceite y TZD  $n=7$ , mientras que en el grupo Isocalórico  $n=5$ . \* Se administró 0.15% de rosiglitazona.

#### 7.5.4. CONSUMO DE ALIMENTO Y AGUA DURANTE LA FASE II

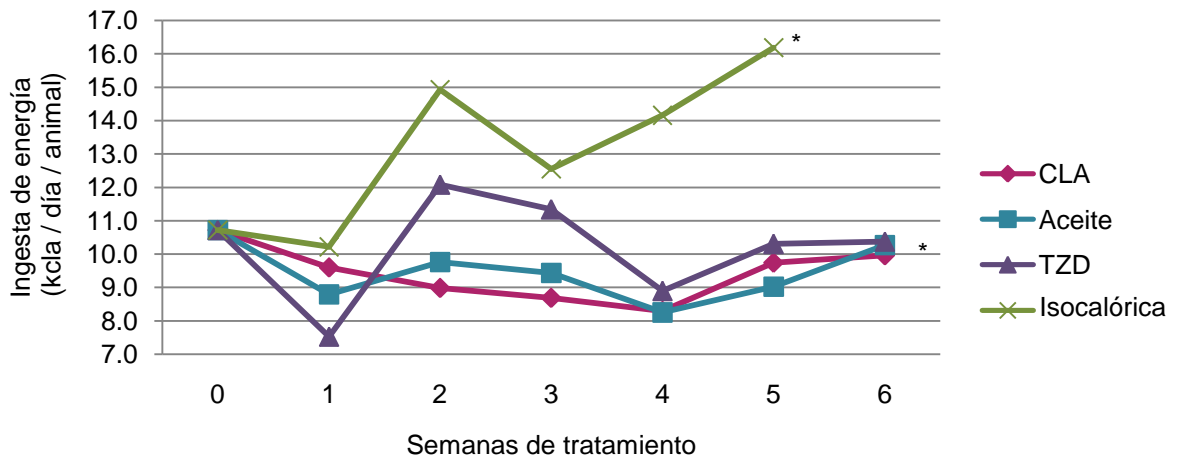
Se presenta el valor estimado de ingesta de energía de los diferentes tratamientos, basándose en los cambios de la composición química de la dieta de los diferentes grupos.

En la figura 16 se muestra el consumo de energía de los 4 grupos durante la fase II, observándose claramente que al final del tratamiento, presentan una diferencia significativa entre ellos ( $F=69.213$ ,  $p=0.000$ ). La semana 0 mostrada en la gráfica, es el valor promedio de energía consumida en la última semana de la fase I (10.7 Kcal / día / animal, valor para todos los grupos), cabe señalar que en ésta, los animales aun no se encontraban distribuidos por grupos, por dicha razón para esta variable se toman los valores de manera homogénea al inicio del tratamiento.

Al final del tratamiento el grupo Isocalórico presentó un mayor consumo de energía, con diferencia significativa en comparación con los demás ( $p \leq 0.05$ ). Tomando en cuenta para todos los grupos un consumo de energía inicial de 10.7 Kcal / día / animal, los cambios presentados al final del bioensayo fueron, para el grupo Isocalórico un consumo de energía final de 16.2 Kcal / día /

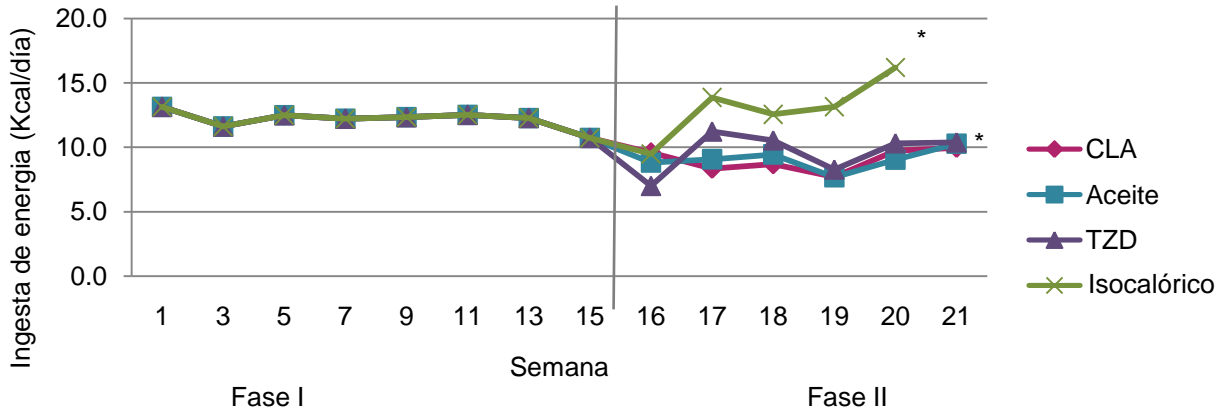
animal, observándose un incremento del 51.4%, mientras que el grupo CLA al final mostró un consumo de 10.0 Kcal / día / animal, en el cual existió una disminución del 6.5%, el grupo Aceite al final de 10.3 Kcal / día / animal, lo cual es un 3.7% de disminución y finalmente el TZD cuyo consumo final fue de 10.4 Kcal / día / animal, lo que lo convierte en un 2.8% de menor consumo al final del tratamiento.

De esta manera se demuestra que en el tratamiento administrado el grupo que presentó una disminución con mayor porcentaje, fue el grupo CLA, lo cual concuerda con el comportamiento del peso corporal en mencionada etapa del bioensayo, así mismo el grupo Isocalórico es el único que presenta un incremento del consumo de alimento.

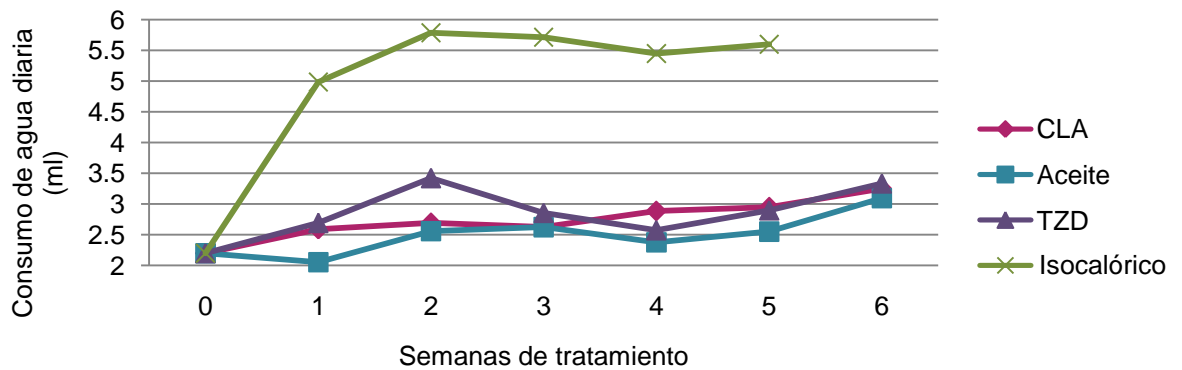


**Figura 16.- Ingesta de energía durante el tratamiento.** Para el grupo CLA, Aceite y TZD n=7, mientras que en el grupo Isocalórico n=5. \* Presenta una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

La figura 17, muestra el consumo de alimento durante todo el bioensayo (fase I y fase II), se observa que se mantiene constante durante la fase I y al cambiar la dieta (fase II) existe un comportamiento diferente en los grupos descritos previamente.



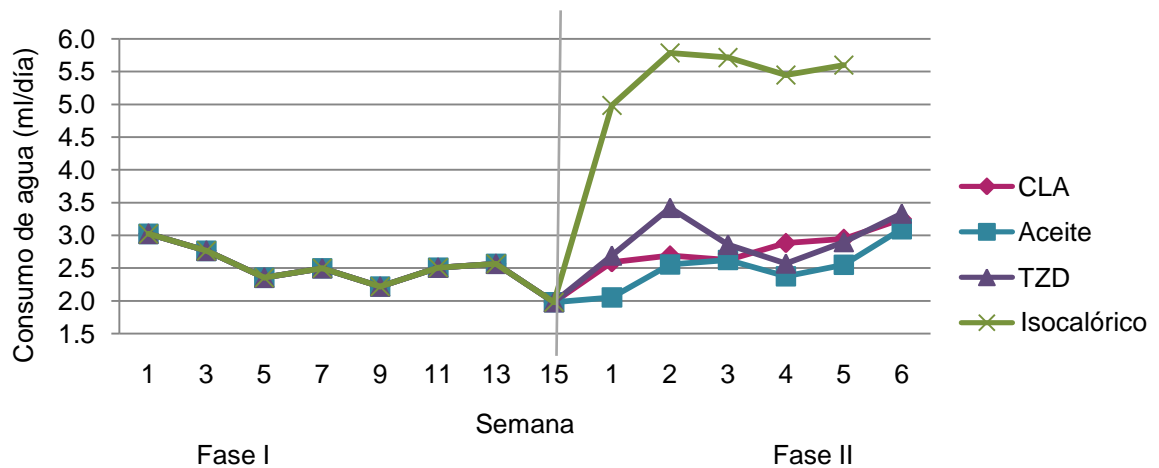
**Figura 17.- Ingesta de energía durante el bioensayo.** Se presenta la media del consumo promedio de energía por día por animal durante las 2 fases del bioensayo. \* Presenta una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 18.- Consumo de agua durante la fase II.** Los valores presentados son la media del consumo de agua por día por animal en las diferentes dietas ofrecidas. Para el grupo CLA, Aceite y TZD  $n=7$ , mientras que en el grupo Isocalórico  $n=5$ .

Durante la fase II se realizó la cuantificación del consumo de agua, estos valores se muestran en la figura 18, donde se observa que el grupo con dieta isocalórica presenta un consumo superior (5.0 a 5.6 ml) en comparación con los otros (entre 2.1 a 3.3 ml) prácticamente el doble que los demás grupos experimentales.

En relación con el consumo de agua, se puede observar que existe una diferencia significativa entre el grupo Isocalórico con los demás grupos ( $p \leq 0.05$ ), mientras que entre los grupos CLA, Aceite y TZD no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). En la figura 19 se observa el consumo de agua de los diferentes tratamientos durante las 2 fases del bioensayo.



**Figura 19.- Consumo promedio estimado de agua por día por animal.** Se muestra al grupo CLA, Aceite y TZD (dieta hipercalórica) y al grupo Isocalórico, (dieta estándar comercial).  $F=99.131$  y  $p=0.000$  para la segunda fase.

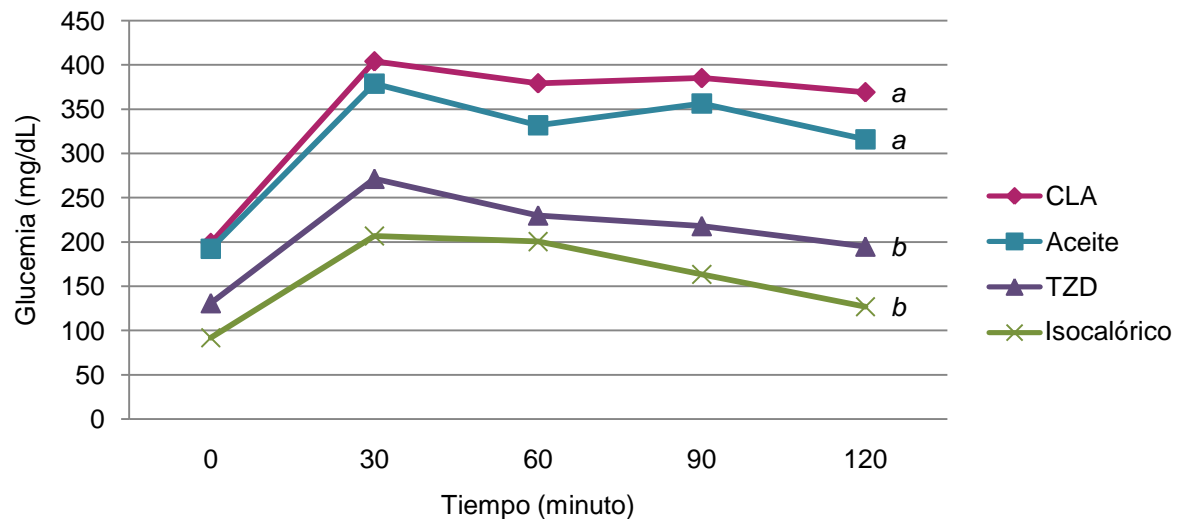
#### 7.5.5. CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA

Durante la fase II, en la cuarta semana de administrar los diferentes tratamientos se realizó una curva de tolerancia a la glucosa cuyos resultados se muestran en la figura 20. Se puede observar el comportamiento típico de esta prueba, con picos máximos a los 30 minutos que alcanzaron valores de  $404 \pm 81$  mg/dL y  $379 \pm 109$  mg/dL en los grupo CLA y Aceite respectivamente, en contraste con  $271 \pm 69$  mg/dL y  $207 \pm 24$  mg/dL en TZD e Isocalórico respectivamente, sin embargo, en este punto (30 min) no existe diferencia significativa ( $F=1.315$ ,  $p=0.295$ ).

En todos los casos la glucemia fue disminuyendo paulatinamente y a los 120 min de la carga, el grupo CLA mostró valores de  $369 \pm 70$  mg/dL y Aceite de

316 ± 38 mg/dL, mientras que los valores más bajos se presentaron en los grupos TZD e Isocalórico con una media de 195 ± 25 y 127 ± 8 mg/dL respectivamente.

Al realizar el análisis ANOVA de estos valores (120 min) se encuentra que existe una diferencia significativa del grupo CLA en comparación con el grupo TZD y Isocalórico ( $p \leq 0.05$ ) así mismo el grupo de Aceite en comparación con estos anteriores. Es importante señalar que no existe diferencia significativa entre el grupo CLA y Aceite ( $p \geq 0.05$ ). ( $F=17.079$ ,  $p=0.000$ )



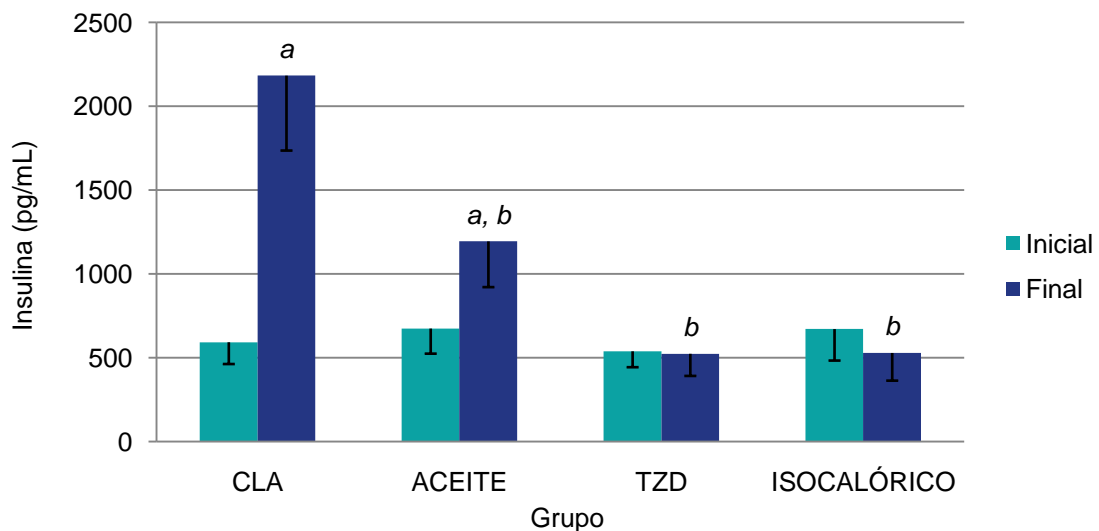
**Figura 20.- Curva de tolerancia a la glucosa.** Los datos muestran las medias de cada grupo (CLA, Aceite y TZD  $n=7$ , Isocalórico  $n=5$ ). Superíndices con letra diferente, indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre grupos.

#### 7.5.6. NIVELES DE INSULINA

Una de las hormonas implicadas en la patología de la diabetes mellitus tipo 2 es la insulina, la cual fue determinada en el presente estudio. Los valores presentados a continuación fueron analizados en muestras de plasma de ratón, en sangre obtenida por punción del seno orbital en ayuno de 12 horas, tomando muestra al inicio y final del tratamiento (fase II).



Al inicio de la fase II la insulina presentó homogeneidad entre los distintos grupos ( $F=0.229$ ,  $p=0.875$ ), mientras que los resultados de esta hormona son diferentes después de la administración de los tratamientos ( $F=6.547$ ,  $p=0.003$ ), donde se aprecia claramente un aumento en la insulina del grupo CLA en comparación con el grupo TZD e Isocalórico ( $p\leq 0.05$ ) sin embargo no existió una diferencia significativa con el grupo Aceite ( $p\geq 0.05$ ). Cabe hacer mención que el único grupo que presentó una notable disminución de insulina plasmática, fue el Isocalórico con un 30.7% menos.



**Figura 21.- Niveles de insulina antes y después del tratamiento.** Los datos presentados, muestran las medias  $\pm$  error estándar. En grupo CLA, Aceite, TZD ( $n=7$  por grupo) e Isocalórico ( $n=4$ ). Superíndices diferentes, indican diferencia significativa ( $p\leq 0.05$ ) entre grupos.

#### 7.5.7. NIVELES DE LEPTINA

En el inicio del tratamiento, la leptina presentó homogeneidad entre los distintos grupos ( $F=0.843$ ,  $p=0.486$ ), sin embargo, al analizar las diferencias de los valores iniciales y finales de los grupos de tratamiento, se encontró que el grupo Isocalórico (sin hiperglucemia y con dieta adecuada) fue el único que presentó valores significativamente inferiores ( $p\leq 0.05$ ), en comparación con el grupo CLA, Aceite y TZD ( $F=5.166$ ,  $p=0.008$ ). También se observa que no presentó diferencia significativa ( $p\geq 0.05$ ) entre los valores de leptina de estos

últimos 3 grupos. Los valores iniciales y finales de leptina en el tratamiento, se pueden observar en la tabla 8.

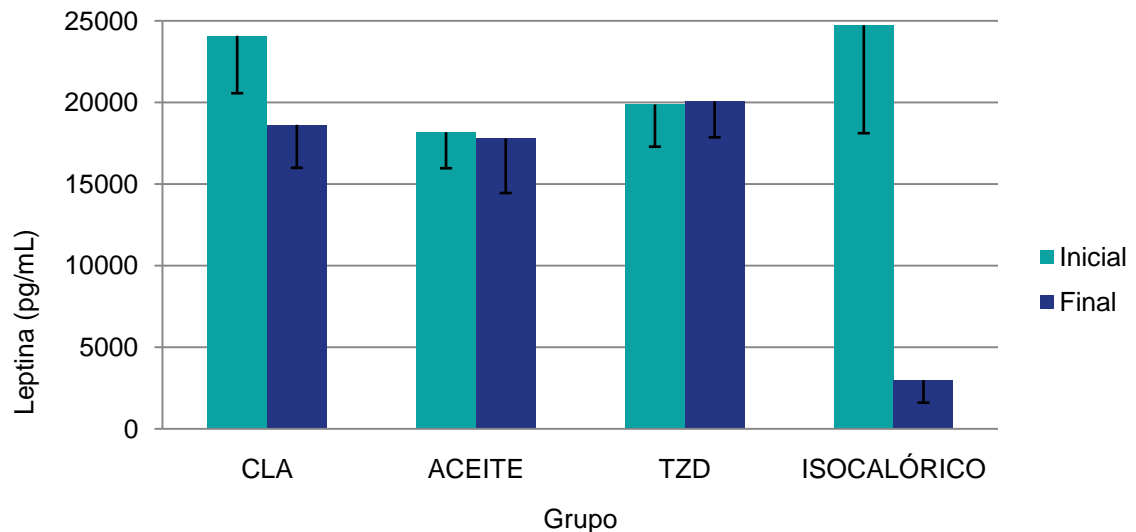
**Tabla 8**

Efecto del tratamiento en el contenido de Leptina en la fase II

Grupo	Leptina media inicial (pg/mL)	Leptina media final (pg/mL)	Diferencia de media (pg/mL)
CLA	24072 ± 3522	18615 ± 2635	5457 ± 3742 <sup>a</sup>
Aceite	18156 ± 2203	17773 ± 3340	382 ± 3809 <sup>a</sup>
TZD	19856 ± 2582	20048 ± 2202	-192 ± 2850 <sup>a</sup>
Isocalórico	24711 ± 6612	2966 ± 1383	21745 ± 5890 <sup>b</sup>

Se muestran las medias ± error estándar. Superíndices diferentes indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

En la figura 22 se grafica el comportamiento de los niveles de leptina, mostrando que el único tratamiento que incrementó los niveles de mencionada hormona fue el grupo TZD con un 1.0%, mientras que los demás tratamiento disminuyeron los niveles de esta sustancia, el grupo CLA con un 22.7%, Aceite con un 2.1% y el grupo Isocalórico con un 88.0%.



**Figura 22.- Niveles de leptina antes y después del tratamiento.** Los valores representados en la figura, refieren a la media ± error estándar. En grupo CLA, Aceite y TZD n=7 por grupo y en el Isocalórico n=4.

### 7.5.8. NIVELES DE INTERLEUCINA 6

La interleucina 6 (IL-6) presentó heterogeneidad en los diferentes grupos al iniciar la fase II ( $F=3.149$ ,  $p=0.073$ ). En la tabla 9 y la figura 23 se observa los cambios significativamente diferentes entre las distintas dietas administradas ( $F=3.676$ ,  $p=0.051$ ).

Es importante mencionar que los grupos CLA, Aceite y TZD presentaron un incremento en los niveles de IL-6, mientras que, el único tratamiento que disminuyó los niveles de IL-6 en plasma fue el grupo con dieta Isocalórico ( $p\leq 0.05$ ), en la tabla 9 se observa los valores iniciales y finales del tratamiento, tomando estos como referencia, se muestra que este grupo presenta una disminución del 74.1%.

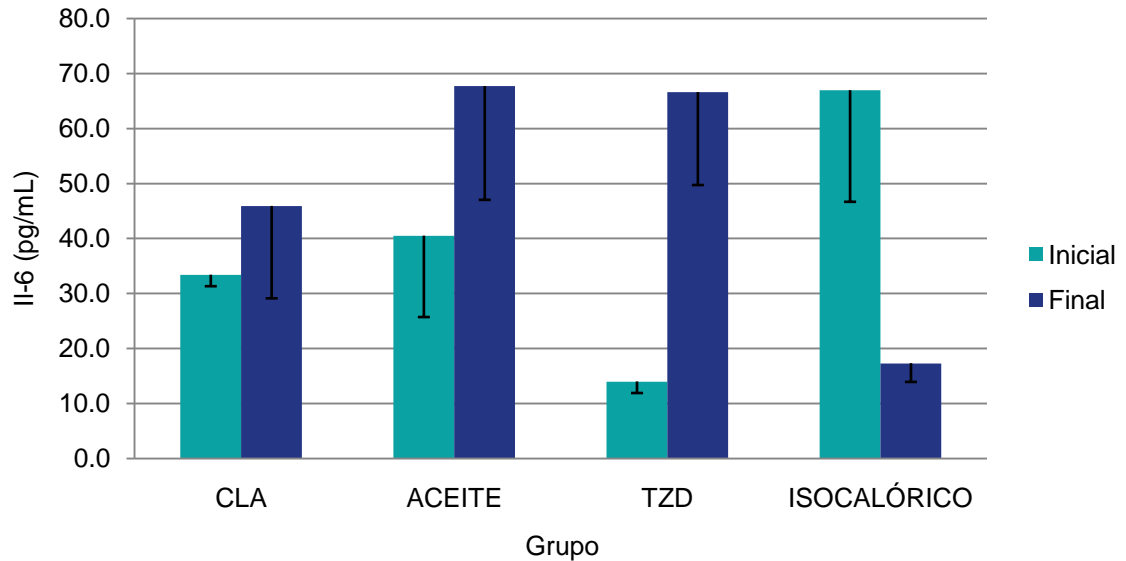
Por su parte el tratamiento con CLA presentó un incremento de IL-6 del 37.4%, el grupo Aceite un aumento del 67.2% y el TZD con un 375.7%, siendo este último el grupo que más elevó los niveles de IL-6. Por lo anterior, se reitera que el grupo que presentó un menor aumento de la IL-6 fue el grupo CLA, sin embargo, estos datos no son estadísticamente significativos.

**Tabla 9**

Diferencias de medias iniciales y finales de la Interleucina 6 en la fase II

Grupo	IL-6 media inicial (pg/mL)	IL-6 media final (pg/mL)	Diferencias de media (pg/mL)
CLA	$33.4 \pm 2.1$	$45.9 \pm 16.8$	$-12.5 \pm 18.5$ <sup>a,b</sup>
Aceite	$40.5 \pm 14.8$	$67.7 \pm 20.7$	$-27.2 \pm 27.7$ <sup>a,b</sup>
TZD	$14.0 \pm 2.1$	$66.6 \pm 16.9$	$-52.7 \pm 17.6$ <sup>a</sup>
Isocalórico	$66.9 \pm 20.3$	$17.3 \pm 3.4$	$49.7 \pm 18.8$ <sup>b</sup>

Se muestran las medias  $\pm$  error estándar. Superíndices diferentes, indican diferencia significativa ( $p\leq 0.05$ ) entre grupos.



**Figura 23.- Niveles de IL-6 antes y después del tratamiento.** Histograma representando las medias de los tratamientos  $\pm$  error estándar. Grupos Aceite y TZD n=4 por grupo, Isocalórico y CLA n=3 por grupo.

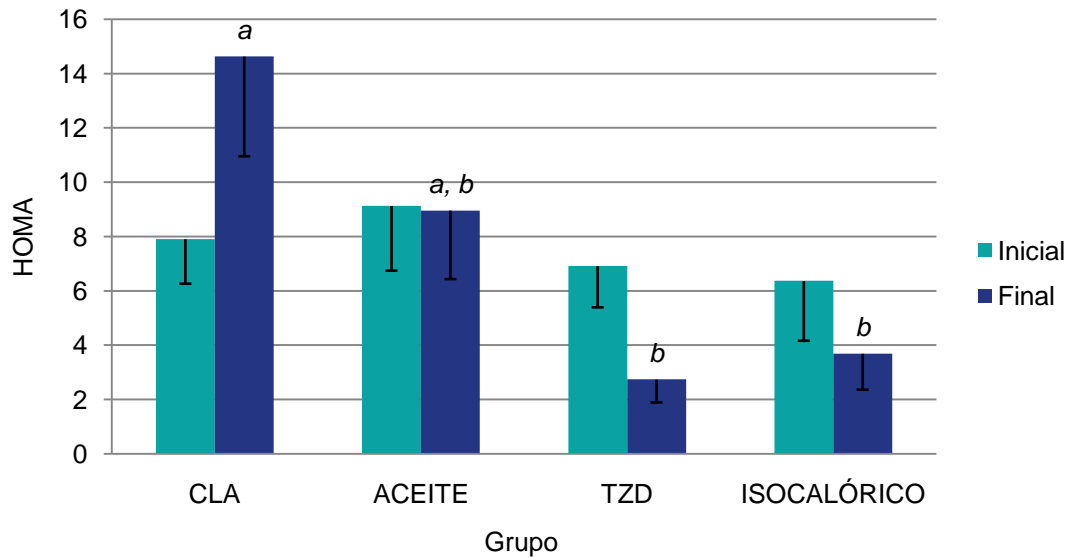
#### 7.5.9. ÍNDICE DE HOMEOSTASIS MODEL ASSESSMENT

El índice de HOMA fue determinado utilizando los valores de glucemia e insulina al inicio y final de la fase II. Al inicio de la fase II HOMA presentó homogeneidad entre los distintos grupos ( $F=0.359$ ,  $p=0.783$ ), mientras que al término del tratamiento existió una heterogeneidad entre los diferentes grupos ( $F=4.634$ ,  $p=0.012$ ).

Al analizar los valores finales, se observa que el grupo CLA presentó valores significativamente superiores ( $p \leq 0.05$ ), en comparación con el grupo TZD e Isocalórico y no presenta diferencia significativa con el tratamiento de Aceite y éste a su vez tampoco presenta diferencia significativa con el grupo TZD e Isocalórico. ( $p \geq 0.05$ ).

El único grupo que presentó un incremento de HOMA fue el tratado con CLA con un 85.0% más que el valor inicial, por su parte los grupos Aceite, TZD e Isocalórico, mostraron niveles más bajos al final del tratamiento en comparación

con el inicial, siendo éstos un 1.9%, 60.4% y 42.2%, respectivamente. El tratamiento de TZD fue el que presentó los niveles más bajos de HOMA en comparación con los otros tratamientos. En la figura 24 se observa la gráfica con el comportamiento inicial y final de HOMA en el tratamiento.



**Figura 24.- Índice de HOMA antes y después del tratamiento.** Representa las medias de los tratamientos  $\pm$  error estándar. Grupos CLA, Aceite y TZD n=7 por grupo, Isocalórico n=4 por grupo. Superíndices diferentes, indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre grupos.

## 8. DISCUSIÓN

La obesidad es el principal factor para inducir insulino resistencia, causando de esta manera la diabetes mellitus tipo 2. En el contexto de que el exceso de peso corporal causa un estado de estrés, el ser vivo como respuesta produce sustancias proinflamatorias que alteran el proceso metabólico de la glucosa, este puede verse afectado o mejorado por el consumo de ciertos compuestos. (OMS/FAO, 2003).

El presente estudio muestra un modelo experimental sensible a la inducción de diabetes mellitus tipo 2 (determinada por hiperglucemia), por medio de dieta hipercalórica alta en grasas y carbohidratos simples utilizando la cepa de ratón macho C57BL/6NHsd (Laboratorio Harlan, México).

La dieta hipercalórica y/o diabetogénica, elaborada de manera artesanal, presentó la misma composición nutricional, que la ofrecida por proveedores en dietas especializadas altas en grasa, como lo son los laboratorios Labdiet, Harlan y Bio-serve (anexo 1). Diversas dietas hipercalóricas han reportado efecto en la inducción de diabetes no insulino dependiente, siendo reportado un mejor resultado con una dieta de un 35% de grasa total (Schreyer, Wilson, & LeBoeuf, 1998; Surwit, Kuhn, Cochrane, McCubbin, & Feinglos, 1988).

En el presente estudio se observó que una dieta hipercalórica alta en grasa y en carbohidratos simples, incrementó el peso corporal en ratones machos C57BL/6NHsd, con resultados similares a otras investigaciones, con edad afines de los animales y tiempo de alimentación con la dieta hipercalórica por lo que se sugiere que esta cepa de ratones es un buen modelo para ganancia de peso corporal y la obtención de la hiperglucemia (Flowers, & Mickelson, 2010; Rebuffe-Scrive, *et al.*, 1993; Surwit, *et al.*, 1995; Surwit, Seldin, Kuhn, Cochrane, & Feinglos, 1991).

El modelo que se utilizó en la presente investigación (C57BL/6NHsd), desarrolló hiperglucemia en la semana 15 de alimentación con la dieta hipercalórica (fase I), mientras que en otras investigaciones la presentaban a las 12, 20, 24 ó 55 semanas de ser alimentados con este tipo de dieta (Flowers, & Mickelson, 2010; Gallou-Kabani, *et al.*, 2007; Mills, *et al.*, 1993; Sumiyoshi, Sakanaka, & Kimura, 2006).

Durante la primera parte del bioensayo (fase I), el consumo de agua y energía, presentó un comportamiento estable, situación que se modificó al iniciar el tratamiento (fase II), ya que como se observa en los resultados, el grupo Isocalórico presentó un consumo de energía mayor que el de los demás grupos, lo que difiere de otros trabajos similares con ratones C57BL/6J, donde se encontró que los grupos tratados con una dieta isocalórica (dieta equilibrada) tuvieron un consumo de energía menor que los alimentados con dieta hipercalórica (Surwit, *et al.*, 1995; Winzell & Ahren, 2004).

Por su parte, el grupo TZD y Aceite, presentaron un incremento en la ingesta de energía en la segunda semana para después disminuir (tercera y cuarta semana) y mantenerse constante, mientras que el tratamiento con CLA disminuyó su consumo (gradualmente hasta la cuarta semana) y permaneció constante durante la semana 5 y 6 a los valores iniciales de ingesta de energía (figura 16). Este comportamiento puede deberse a la adaptación del animal, con respecto a las características químicas y organolépticas de las dietas, situación similar sucedió en la investigación de Flowers y Mickelson (2010), otra posible causa pudiera ser el efecto de la modificación en los niveles de leptina por la ingesta de alimento.

En la segunda fase del bioensayo se observó un efecto en el peso corporal causado por el cambio de dietas (hipercalórica vs. isocalórica), a pesar de que los ratones alimentados con dieta isocalórica presentaron una mayor ingesta calórica, se observó en ellos una disminución de peso corporal, este efecto

puede ser debido a que la dieta equilibrada contiene menor cantidad de grasa, contiene fibra y mayor cantidad de carbohidratos complejos los cuales promueven una mejor digestión y aprovechamiento de los nutrientes, resultados similares se han reportado en otras investigaciones (Flowers, & Mickelson, 2010; Rebuffe-Scrive, *et al.*, 1993; Surwit, *et al.*, 1995; Surwit, *et al.*, 1991).

En la literatura ha sido descrita la relación entre el adecuado consumo de fibra alimentaria y la disminución del peso corporal, así como la mejoría de los niveles de glucemia, es posible que el consumo de fibra en la dieta del grupo Isocalórico contribuyera a la mejoría de estas dos variables durante el tratamiento (Chandalia, *et al.*, 2000; Howarth, Saltzman, & Roberts, 2001; Mann, 2001; Pereira & Ludwig, 2001; Slavin, 2005)

Se sugiere que los animales del grupo Isocalórico se adaptaron a consumir dieta alta en grasa (la cual produce mayor saciedad) y al momento de la adaptación al cambio de dieta isocalórica, los animales requieren mayor consumo de alimento para lograr la misma saciedad. Aunado a lo anterior se observó que posterior al cambio de dieta, los sujetos de estudio presentaron una disminución de peso corporal, a pesar de un consumo mayor de energía (kcal) que los demás grupos (figura 16).

Por lo que se propone que la dieta isocalórica contribuye a recuperar un peso adecuado en ratones con exceso de peso, con este fundamento, se observó que en ratones de la cepa C57BL/6NHsd se puede incrementar su peso corporal siempre y cuando se mantenga con dieta hipercalórica, alta en grasa y carbohidratos simples.

Comparado con el grupo Aceite, el de CLA tuvo un 8.5% menos de ganancia de peso, a pesar de que la diferencia no fue significativa, se observa una tendencia de este ácido graso para contribuir a un mantenimiento de peso corporal.



Es probable que la disminución de peso del grupo CLA no fuera significativa debido a que el tratamiento se administró con una dieta rica en grasa. En diferentes investigaciones, la adición de CLA en una dieta adecuada, produce un comportamiento adverso al presentado en esta investigación (DeLany, Blohm, Truett, Scimeca, & West, 1999; Tsuboyama-Kasaoka, *et al.*, 2003), este cambio se relaciona con el tipo de isómero y la dosis administrada (Wang & Jones, 2004).

Otra razón posible en el comportamiento del peso corporal es el tiempo de administración, situación que concuerda con el resultado de Parra y col. (2010), en el cual se observa que la administración de CLA presenta una diferencia de peso corporal en relación al tiempo de administración.

En relación a la glucemia, existe gran controversia si el CLA ejerce un efecto negativo o positivo en la respuesta a la insulina (Houseknecht, *et al.*, 1998; Moloney, Yeow, Mullen, Nolan, & Roche, 2004; Ohashi, Matsushita, Kimura, Miyashita, & Saito, 2004).

Los resultados presentados en este trabajo no evidenciaron un efecto benéfico, por lo cual se plantea que el efecto de CLA en la glucemia puede variar dependiendo del modelo experimental, el tiempo de la administración del tratamiento, el medio de administración de este ácido graso, el isómero administrado y la concentración de éste.

En el presente trabajo los niveles de glucemia no presentaron diferencia significativa en comparación con el grupo Aceite, lo que presenta similitud con lo descrito por Parra y col. en el 2010, quienes observaron que una dosis de 0.15 g y 0.5 g de CLA (50:50) por kg de peso corporal, administrado en dieta de 45% calorías de grasa no presentó diferencia significativa.

En la prueba de tolerancia a la glucosa, el grupo de CLA y Aceite no pudieron reducir los valores de glucemia (comparados con el grupo TZD e Isocalórico). Este comportamiento está ligado al nivel de insulina, por lo cual se puede observar que en los grupos que existe una hiperinsulinemia (CLA y Aceite) también existe una dificultad para regresar a los niveles basales de glucemia, esto sugiere que estos tratamientos contribuyen a un estado de insulino resistencia (Stumvoll, *et al.*, 2000).

Otras investigaciones muestran que CLA tiene un efecto significativamente benéfico en la curva de tolerancia a la glucosa (Henriksen, *et al.*, 2003; Houseknecht, *et al.*, 1998; Ryder, *et al.*, 2001). Es probable que la discrepancia en los resultados se deba al modelo experimental (animales genéticamente modificados) y/o al isómero ó cantidades de CLA.

Los animales tratados con CLA al final de la fase II presentaron niveles superiores de insulina plasmática, significativamente diferente en comparación con el grupo TZD e Isocalórico (controles negativos), estos resultados pueden ser causados por el proceso inflamatorio que se presenta en esta etapa, aunado a esto, los niveles de glucemia del tratamiento con CLA son similares a los demás grupos, lo cual indica que la insulina está realizando su función pero con un grado de resistencia.

En diversas investigaciones el CLA presenta la tendencia de incrementar de manera significativa los niveles de insulina (Clement, *et al.*, 2002; DeLany, *et al.*, 1999). Tsuboyama-Kasaoka y col. (2003) suministraron una dieta hipercalórica utilizando aceite de girasol (como fuente de grasa), junto con la fibra alimentaria propia de una dieta adecuada y 1% de CLA y observaron un incremento de los niveles de insulina (157%), en comparación con una dieta sin CLA, sin embargo ellos no demostraron un efecto significativo.

En controversia, otros trabajos han demostrado que la administración de CLA, proporciona una mejoría en los niveles de glucosa e insulina y en la respuesta a la insulina (Choi, *et al.*, 2007; Henriksen, *et al.*, 2003; Houseknecht, *et al.*, 1998; Moloney, *et al.*, 2007).

Se atribuye que el isómero *cis-9, trans-11* es mas eficiente en la prevención de la insulino resistencia (de Roos, *et al.*, 2005; Halade, Rahman, & Fernandes, 2010). En contraste con otras investigaciones en que señalan que la mezcla es la mejor alternativa para el control de dicha hormona (Houseknecht, *et al.*, 1998; Ryder, *et al.*, 2001).

En este trabajo, el incremento de insulina en el grupo de CLA fue de un 182% en comparación con el grupo Aceite, resultados diferentes fueron obtenidos por Tsuboyama-Kasaoka y col. (2000), lo cual puede ser debido a que ellos suplementaron con CLA desde el inicio (junto con la dieta) además de ser una dieta con menor contenido de grasa. Lo anterior contribuye a suponer de que la mezcla de ácido linoleico conjugado no presenta un efecto benéfico significativo cuando se administra con una dieta alta en grasa.

Utilizando el modelo de HOMA se observó que el grupo tratado con CLA, presentó un incremento significativo en los valores de dicha prueba, razón por la cual muestra un grado de insulino resistencia en comparación con los grupos TZD e Isocalórico.

Estos resultados difieren con los encontrados por Moloney y col. (2007) el cual demostró disminución significativa en los resultados de HOMA, glucemia e insulina, esto en ratones machos *ob/ob* con tratamiento *cis-9 trans-11* de CLA en dieta hipercalórica. Choi y col. (2007) demostraron que la administración de 1% de CLA (30:40 de *cis-9 trans-11* con *trans-10 cis-12*) disminuye significativamente los valores de HOMA, esto en ratas macho Sprague Dawley con dieta de 23% de grasa. Posiblemente los resultados aludidos se deban al

modelo experimental, el tiempo de administración y/o a la cantidad de isómeros de CLA, lo que puede referir a un efecto protector.

En controversia Halade y col. (2009) demostraron que la suplementación de 0.5% de CLA *cis-9 trans-11* con *trans-10 cis-12* administrado en ratón C57Bl/6J presentó insulina resistencia basándose en los resultados de HOMA y curva de tolerancia a la glucosa, sin embargo, si solo se administra CLA *cis-9 trans-11* se presenta sensibilidad a la insulina en el mismo modelo experimental.

Recientemente Parra y col. (2010) encontraron que cuando se administró CLA (50:50) los niveles de HOMA fueron significativamente superiores al control, esto en ratones machos C57BL/6J de 5 semanas de edad. En forma similar al presente estudio.

En estudios humanos, Moloney y col. (2004) realizaron una intervención brindando 3.0 g/día de CLA (50:50) por 8 semanas, demostrando que éste tiene efectos adversos en el metabolismo de la glucosa e insulina. En controversia un estudio realizado en humanos con 3.4 g/día de CLA (50:50) por 6 meses no presentó una diferencia significativa en HOMA (Syvertsen, *et al.*, 2007)

El grupo TZD presentó el nivel más bajo de HOMA (comparado con los 3 tratamientos restantes) debido a que las tiazolidindionas intervienen activando PPAR- $\gamma$ , el cual regula la transcripción de varios genes implicados en la respuesta a la insulina así mismo reduce la lipólisis, favoreciendo de esta manera la sensibilidad a la insulina y disminuyendo los niveles de insulina y glucemia (Goldman & Ausiello, 2009; Food and Drug Administration, 2007; Martínez, Ventura, & Núñez, 2002; Zárate, Basurto, Saucedo, & Hernández-Valencia, 2010).

Los resultados encontrados en el modelo de HOMA, indican que el tratamiento con dieta hipercalórica adicionada con CLA, produjeron una

elevación en la insulino resistencia, lo que es coherente a los niveles de glucemia, insulina y la curva de tolerancia a la glucosa, los cuales muestran resultados no favorables para el tratamiento de la diabetes mellitus.

Por otra parte, las adipocinas pueden ser un factor clave en la sensibilidad a la insulina ya que estas pueden inducir la resistencia a dicha hormona evitando la transducción de la señal producida por la insulina, inhibiendo de ese modo la transcripción y translocación de los receptores de glucosa (Sánchez, López, Pinzón, & Sepúlveda, 2010).

En esta investigación el grupo Isocalórico presentó una disminución significativa de los niveles de leptina en comparación con los demás grupos, mientras que CLA solo presentó una disminución de esta citocina aunque no fue significativa (figura 22).

Lo anterior concuerda con los resultados presentados por Tsuboyama-Kasaoka y col. (2003) quienes encontraron que CLA disminuye de manera significativa los niveles de leptina plasmática en dieta de 4% de grasa y al suplementarlo en dieta de 34% de grasa, no eran representativos. En ambos casos se presentó un aumento de insulina con el mismo comportamiento que el de la leptina en ratones hembras C57BL/6J. Purushotham y col. (2007) encontraron el mismo comportamiento al administrar la mezcla de isómeros de CLA.

Así mismo, en otra investigación realizada con la misma cepa y género, se demostró que la administración de una carga diaria de 0.02 g de CLA (79% de *trans*-10 *cis*-12) pudo disminuir significativamente los niveles de leptina después de 7 semanas, presentando un incremento significativo de insulina, glucosa y una disminución de peso corporal (Poirier, Shapiro, Kim, & Lazar, 2006).

En el 2010, Parra y col. trabajaron con ratones C57BL/6J, administrando 10 mg de CLA / animal en una dieta alta en grasa y obtuvieron como resultado que los niveles de leptina disminuyeron mientras que la insulina aumentó, ambos de manera significativa, además se presentó resistencia a la insulina y una disminución en el peso corporal.

Mientras que en una investigación realizada en hombres caucásicos con obesidad, se presentó un incremento de leptina sin presentar cambios en los niveles de insulina y glucosa, esto sin presentar diferencia significativa al administrar 3.4g / día de CLA (*cis-9 trans-11* con *trans-10 cis-12*) durante 12 semanas (Riserus, Arner, Brismar, & Vessby, 2002)

Por lo anterior, es posible que la hipoleptinemia pueda conducir a una insulino resistencia en un estado de obesidad, esto debido a que la leptina tiene un efecto de sensibilizar a la insulina al promover la beta oxidación de los ácidos, activando la vía de AMPK (Sanchez-Munoz, Garcia-Macedo, Alarcon-Aguilar, & Cruz, 2005; Tsuboyama-Kasaoka, et al., 2003).

En relación a la interleucina 6, el único grupo que disminuyó los niveles de esta citocina fue el grupo Isocalórico el cual presenta una diferencia significativa con los resultados del grupo TZD, esto posiblemente a que fue el grupo que tuvo la mayor cantidad de peso al final del tratamiento. Mientras que los demás tratamientos aumentaron esta citocina, por su parte el grupo CLA fue el que presentó el menor incremento de dicho componente (figura 23), posiblemente debido a que fue el tratamiento en incrementar en menor porcentaje el peso corporal. Este comportamiento puede deberse a que existía un estrés metabólico en los animales del grupo CLA, Aceite y TZD, debido al exceso de peso y la alteración presente en el metabolismo de la glucosa.

Previamente se ha encontrado que la administración de CLA (50:50) disminuye de manera significativa los niveles de Interleucina 6 en ratones de

cepas Balb/c y *B6.V-Lep ob/OlaHsd (ob/ob)*, administrando 0.4% y 1.5% de CLA durante 14 y 4 semanas, respectivamente (A. Bhattacharya, et al., 2005; Wendel, Purushotham, Liu, & Belury, 2008).

En base a los resultados encontrados se sugiere que el tratamiento de CLA administrado en la presente investigación, contribuye a una disminución en la respuesta a la insulina, esto posiblemente por el proceso inflamatorio causado por la obesidad presente en los animales y/o a que se observó que CLA favorece a que las adipocinas se encuentren en niveles inadecuados para su intervención con la respuesta a la insulina.

Por lo anterior, se determinó que el tratamiento de CLA administrado con dieta hipercalórica, no produce el efecto benéfico esperado en esta patología especialmente con respecto a los niveles de glucemia e insulina. Resultados controversiales con lo reportado en investigaciones previas, las cuales han trabajado con modelos experimentales genéticamente modificados, que son sensibles a desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (Henriksen, *et al.*, 2003; Houseknecht, *et al.*, 1998; Moloney, *et al.*, 2007).

En dichos trabajos se ha reportado que CLA tiene un efecto benéfico en la respuesta a la glucosa, cuando se administra este ácido graso con una dieta isocalórica, proporcionándolo en diferentes concentraciones e isómeros, siendo el *cis-9 trans-11* y la mezcla de *cis-9 trans-11* con *trans-10 cis-12* los que producen un efecto positivo. A pesar de que en el tratamiento del grupo CLA se administró la mezcla de los isómeros anteriormente señalados, éste no presentó efecto benéfico en el presente estudio.

Por lo tanto, se sugiere que las posibles causas por las cuales la mezcla del ácido linoleico conjugado *cis-9 trans-11* y *trans-10 cis-12* no tuvo un efecto benéfico en la patología de la diabetes mellitus, puede ser debido a que se administró con una dieta alta en grasa, la dosis y/o el tiempo que se

proporcionó el tratamiento o el modelo experimental utilizado no es el adecuado (Parra, Palou, & Serra, 2010; Tsuboyama-Kasaoka, et al., 2003).



## 9. CONCLUSIONES

Con una alimentación alta en grasa y carbohidratos simples, se obtuvo un balance de energía positivo, induciendo obesidad lo que conllevó la diabetes mellitus tipo 2 en ratones C57BL/6NHsd. Así mismo el administrar una dieta hipercalórica en el modelo experimental, produjo un exceso de peso corporal a lo largo del bioensayo, observando que el grupo CLA tuvo una menor tasa de crecimiento (peso corporal) no significativa durante la fase 2 y el grupo Isocalórico bajo de manera significativa el peso corporal.

La administración de 1.5% de CLA en la dieta alta en grasa no produjo un efecto significativamente benéfico en el peso corporal, la glucemia, prueba de tolerancia a la glucosa, insulina, leptina, IL-6 y HOMA al compararlo con el control.

De acuerdo a los resultados previos de diversas investigaciones aunados con los presentados en este trabajo, se sugiere que es posible que CLA no haya presentado un efecto benéfico en la respuesta a la insulina debido al modelo experimental, a la relación de los isómeros (50:50) o a que fue administrado con dieta hipercalórica.

Por último, se considera al modelo experimental C57BL/6NHsd, como un candidato para trabajar investigaciones relacionadas con la obesidad y diabetes mellitus tipo 2 por ser un modelo experimental accesible y al administrar una dieta hipercalórica como en humanos con malos hábitos de alimentación estos desarrollan hiperglucemia.

Como desventaja de este modelo se encuentran los costos de la dieta, la falta de disponibilidad en nuestro país así como el tiempo que tarda el modelo experimental en presentar estas complicaciones de salud. Así mismo, es

necesario que en todo momento se administre dieta hipercalórica, debido a que al cambiar a dieta equilibrada (isocalórica) el modelo experimental baja de peso.

## **10. RECOMENDACIONES**

Se sugiere para posteriores investigaciones, tener un grupo control sano con las mismas características fisiológicas y de alojamiento.

Brindar las mismas proporciones de CLA y los mismos isómeros en un grupo sano con dieta isocalórica, para ver los diferentes efectos de CLA con las distintas dietas.

Utilizar diferentes dosis y en proporciones distintas de los isómeros de CLA.

Evaluar el efecto de los isómeros de forma independiente.

Brindar CLA durante diferentes períodos de tratamiento, para proporcionar este ácido graso por más tiempo y ver si existe diferencia en el efecto.

## 11. LITERATURA CITADA

- Anadón A, *et al.* (2006). Naturlínea con Tonalín, libro blanco. Corporación *Alimentaria Peñasanta, S.A. Asturias*. Pagina 31
- Andersen, K., & Pedersen, B. K. (2008). The role of inflammation in vascular insulin resistance with focus on IL-6. *Horm Metab Res*, 40(9), 635-639.
- Andrikopoulos, S., Blair, A. R., Deluca, N., Fam, B. C., & Proietto, J. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295(6), E1323-1332.
- AOAC Official Method 920.39 (1920). Fat (crude) or ether extract in animal feed, 4.5.01.
- AOAC Official Method 934.01 (1934). Loss on drying (moisture) at 95-100°C for feeds, 4.1.03.
- AOAC Official Method 942.05 (1942). Ash of animal feed, 4.1.10.
- AOAC Official Method 969.33 (1969). Preparation of Methyl Esters Boron Trifluoride Method, 41.1.28.
- Arredondo A. (2009). Impacto económico de la diabetes en México: Implicaciones para el sistema de salud, los pacientes y la sociedad. Instituto Nacional de Salud Publica. Recuperado de [http://www.smsp.org.mx/documentos/Impacto%20economico\\_5Jun.pdf](http://www.smsp.org.mx/documentos/Impacto%20economico_5Jun.pdf)
- Avruch, J. (1998). Insulin signal transduction through protein kinase cascades. *Mol Cell Biochem*, 182(1-2), 31-48.
- Barnea, M., Madar, Z., & Froy, O. (2010). High-fat diet followed by fasting disrupts circadian expression of adiponectin signaling pathway in muscle and adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)*, 18(2), 230-238.
- Benjamin, S., & Spener, F. (2009). Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutr Metab (Lond)*, 6, 36.
- Bhattacharya, A., Rahman, M. M., Sun, D., Lawrence, R., Mejia, W., McCarter, R., *et al.* (2005). The combination of dietary conjugated linoleic acid and treadmill exercise lowers gain in body fat mass and enhances lean body mass in high fat-fed male Balb/C mice. *J Nutr*, 135(5), 1124-1130.
- Bhattacharya, S., Dey, D., & Roy, S. S. (2007). Molecular mechanism of insulin resistance. *J Biosci*, 32(2), 405-413.

- Blümel, B., Flores, M., González, J., & Arraztoa J. (2005). ¿Es el HOMA un instrumento adecuado para el diagnóstico de insulino resistencia en pacientes con síndrome de ovario poliquístico?. *Rev Chil Obstet Ginecol* 70(5), 346-351.
- Bryant, N. J., Govers, R., & James, D. E. (2002). Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3(4), 267-277.
- Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., von Bergmann, K., Grundy, S. M., & Brinkley, L. J. (2000). Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 342(19), 1392-1398.
- Chiu, S. L., & Cline, H. T. (2010). Insulin receptor signaling in the development of neuronal structure and function. *Neural Dev*, 5, 7.
- Choi, J. S., Koh, I. U., Jung, M. H., & Song, J. (2007). Effects of three different conjugated linoleic acid preparations on insulin signalling, fat oxidation and mitochondrial function in rats fed a high-fat diet. *Br J Nutr*, 98(2), 264-275.
- Clement, L., Poirier, H., Niot, I., Bocher, V., Guerre-Millo, M., Krief, S., *et al.* (2002). Dietary trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J Lipid Res*, 43(9), 1400-1409.
- DeFronzo, R. A. (2010). Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*, 53(7), 1270-1287.
- De Roos, B., Rucklidge, G., Reid, M., Ross, K., Duncan, G., Navarro, M. A., *et al.* (2005). Divergent mechanisms of cis9, trans11 and trans10, cis12conjugated linoleic acid affecting insulin resistance and inflammation in apolipoprotein E knockout mice: a proteomics approach. *FASEB J*, 19(12), 1746-1748.
- DeLany, J. P., Blohm, F., Truett, A. A., Scimeca, J. A., & West, D. B. (1999). Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol*, 276(4 Pt 2), R1172-1179.
- Diabetes Atlas (2006). Federación Internacional de Diabetes, 3ª edición. Recuperado de [http://diabetes.unsl.edu.ar/Archivo\\_Index/WDD\\_media\\_kit\\_0407\\_es.pdf](http://diabetes.unsl.edu.ar/Archivo_Index/WDD_media_kit_0407_es.pdf)
- Dirección General de Información en Salud (2011). Principales causas de mortalidad general, 2008. Secretaría de Salud/Dirección General de Información en Salud. Elaborado a partir de la base de datos de defunciones 1979-2008 INEGI/SS. Recuperado de <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/>

- Dugani, C. B., & Klip, A. (2005). Glucose transporter 4: cycling, compartments and controversies. *EMBO Rep*, 6(12), 1137-1142.
- European Food Information Council, (2006). Alimentos funcionales. The European Food Information Council. Recuperado de <http://www.eufic.org/article/es/nutricion/alimentos-funcionales/expid/basics-alimentos-funcionales/>
- Fasshauer, M., & Paschke, R. (2003). Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia*, 46(12), 1594-1603.
- Flowers, J., & Mickelson, B., (2010). C57BL/6NHsd male mice started on high-fat diets at three, six, or nine weeks of age attain similar obesity phenotypes. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. April 24 (Meeting Abstract Supplement), 554-556.
- Food and Drug Administration (2007). Prescribing information AVANDIA. Recuperado de [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/UCM143413.pdf?utm\\_source=fdaSearch&utm\\_medium=website&utm\\_term=avandia%20insulin%20resistance&utm\\_content=1](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/UCM143413.pdf?utm_source=fdaSearch&utm_medium=website&utm_term=avandia%20insulin%20resistance&utm_content=1)
- Friedman, J. M., & Halaas, J. L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395(6704), 763-770.
- Fritsche J. & Steingart H., (1988). Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluations of daily intake. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 206 (2), 77-82.
- Gallou-Kabani, C., Vige, A., Gross, M. S., Rabes, J. P., Boileau, C., Larue-Achagiotis, C., *et al.* (2007). C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)*, 15(8), 1996-2005.
- Goldman, L., & Ausiello, D. (2009). Cecil tratado de medicina interna. Ed. Elsevier, 23a ed. Spain.
- Gómez A., (2009). Ácido linoleico conjugado un nuevo ingrediente funcional. *Ámbito farmacéutico Nutrición*, 28 (2).
- Gnacinska, M., Malgorzewicz, S., Stojek, M., Lysiak-Szydłowska, W., & Sworczak, K. (2009). Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Adv Med Sci*, 54(2), 150-157.
- Griinari, J. M., Corl, B. A., Lacy, S. H., Chouinard, P. Y., Nurmela, K. V., & Bauman, D. E. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized

- endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. *J Nutr*, 130(9), 2285-2291.
- Halade, G. V., Rahman, M. M., & Fernandes, G. (2009). Effect of CLA isomers and their mixture on aging C57Bl/6J mice. *Eur J Nutr*, 48(7), 409-418.
- Halade, G. V., Rahman, M. M., & Fernandes, G. (2010). Differential effects of conjugated linoleic acid isomers in insulin-resistant female C57Bl/6J mice. *J Nutr Biochem*, 21(4), 332-337.
- Hamura, M., Yamatoya, H., & Kudo, S. (2001). Long-Term administration of glycerides rich in conjugated linoleic acid (CLA) to diabetic C57BLKS-Leprdb/leprdb Mice. *J Oleo Sci*, 11(50), 883-888.
- Haro, A. M., Artacho, R., & Cabrera-Vique, C. (2006). [Linoleic conjugated acid: current interest in human nutrition]. *Med Clin (Barc)*, 127(13), 508-515.
- Henriksen, E. J., Teachey, M. K., Taylor, Z. C., Jacob, S., Ptock, A., Kramer, K., et al. (2003). Isomer-specific actions of conjugated linoleic acid on muscle glucose transport in the obese Zucker rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285(1), E98-E105.
- Houseknecht, K. L., Vanden Heuvel, J. P., Moya-Camarena, S. Y., Portocarrero, C. P., Peck, L. W., Nickel, K. P., et al. (1998). Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Commun*, 244(3), 678-682.
- Howarth, N. C., Saltzman, E., & Roberts, S. B. (2001). Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev*, 59(5), 129-139.
- Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Resultados por entidad federativa, Nuevo León. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública Secretaría de Salud. Recuperado de <http://www.insp.mx/ensanut/norte/NuevoLeon.pdf>
- International Diabetes Federation (2011). Prevalence estimates of diabetes mellitus (DM), 2010 - North America and Caribbean Region (DM 2010\_7 regions). Recuperado de <http://www.idf.org/node/23640>
- Jiang, J., Wolk, A., & Vessby, B. (1999). Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *Am J Clin Nutr*, 70(1), 21-27.
- Katsuki, A., Sumida, Y., Gabazza, E. C., Murashima, S., Furuta, M., Araki-Sasaki, R., et al. (2001). Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 24(2), 362-365.

- Kralisch, S., Bluher, M., Paschke, R., Stumvoll, M., & Fasshauer, M. (2007). Adipokines and adipocyte targets in the future management of obesity and the metabolic syndrome. *Mini Rev Med Chem*, 7(1), 39-45.
- Kumar, S. & O'Rahilly, S. (2005). Insulin resistance insulin action and its disturbances in disease. Ed. John Wiley & Sons, Ltd. England. Páginas 269-280.
- Kahn, C., Weir, G., King, G., Jacobson, A., Moses, A., & Smith, R. (2005). Diabetes mellitus. Ed. Joslin Diabetes Center, 14th ed. USA. Page 146, 157-159, 207, 214-220.
- Laclaustra-Gimeno M., Bergua-Martínez C., Pascual-Calleja I. & Casasnovas-Lenguas J.A. (2005). Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología. *Revista Española de Cardiología Supl.*5:3D-10D
- Laso, N., Brugue, E., Vidal, J., Ros, E., Arnaiz, J. A., Carne, X., *et al.* (2007). Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12) on body composition and metabolic syndrome components. *Br J Nutr*, 98(4), 860-867.
- Lorenzo, M., Fernandez-Veledo, S., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L., De Alvaro, C., & Nieto-Vazquez, I. (2008). Insulin resistance induced by tumor necrosis factor-alpha in myocytes and brown adipocytes. *J Anim Sci*, 86(14 Suppl), E94-104.
- Mahan L.K. & Escott-Stump S., (2002). Nutrición y dietoterapia de Krause. Mc Graw Hill. Páginas 805- 806.
- Mann, J. (2001). Dietary fibre and diabetes revisited. *Eur J Clin Nutr*, 55(11), 919-921.
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412-419.
- Martínez, J. A., Ventura, P., & Núñez, C. (2002). Rosiglitazona. *Hoja de evaluación de medicamentos de Castilla de la Mancha*, 3(1). Recuperado de [http://sescam.jccm.es/web1/profesionales/farmacia/usoRacional/documentos/III\\_1\\_Rosiglitazona.pdf](http://sescam.jccm.es/web1/profesionales/farmacia/usoRacional/documentos/III_1_Rosiglitazona.pdf)
- Mills, E., Kuhn, C. M., Feinglos, M. N., & Surwit, R. (1993). Hypertension in CB57BL/6J mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Physiol*, 264(1 Pt 2), R73-78.



- Moloney, F., Toomey, S., Noone, E., Nugent, A., Allan, B., Loscher, C. E., *et al.* (2007). Antidiabetic effects of *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid may be mediated via anti-inflammatory effects in white adipose tissue. *Diabetes*, 56(3), 574-582.
- Moloney, F., Yeow, T. P., Mullen, A., Nolan, J. J., & Roche, H. M. (2004). Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 80(4), 887-895.
- Morales M. (2010). Resumen de seminarios, INSP, Marzo 2010. Recuperado de: <http://www.insp.mx/Portal/Centros/ciss/resumen.php>
- MP Biomedicals LLC. (2012). AIN-93 Purified Diets. Recuperado de [http://www.mpbio.com/product\\_info.php?open=products&cPath=1\\_16\\_130&selecttab=&family\\_key=02960400](http://www.mpbio.com/product_info.php?open=products&cPath=1_16_130&selecttab=&family_key=02960400)
- NOM-015-SSA2-1994, Norma Oficial Mexicana, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria. Recuperado de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/015ssa24.html>
- NOM-015-SSA2-2010, Norma Oficial Mexicana, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Recuperado de <http://www.salud.df.gob.mx/ssdf/dmdocuments/NOM%20015%20SSA2%2021010%20Diabetes%20Mellitus.pdf>
- Ohashi, A., Matsushita, Y., Kimura, K., Miyashita, K., & Saito, M. (2004). Conjugated linoleic acid deteriorates insulin resistance in obese/diabetic mice in association with decreased production of adiponectin and leptin. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 50(6), 416-421.
- Olaiz Fernández G, Rivera Dommarco J, Shamah Levy T, Rojas R, Villalpando Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda Amor J. (2006). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. Recuperado de <http://www.insp.mx/ensanut/ensanut2006.pdf>
- Olivares J. & Arellano A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9-18.
- OMS/FAO. 2003 *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas: informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO*. Obtenido de [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_916\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916_spa.pdf)
- Organización Mundial de la Salud (2010). Diabetes. Recuperado de [http://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/es/](http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/)

- Organización Mundial de la Salud (2011). Diabetes Nota descriptiva N°312. Septiembre de 2011. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
- Pariza, M. W., Park, Y., & Cook, M. E. (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res*, 40(4), 283-298.
- Park, Y., McGuire, M. K., Behr, R., McGuire, M. A., Evans, M. A., & Shultz, T. D. (1999). High-fat dairy product consumption increases delta 9c,11t-18:2 (rumenic acid) and total lipid concentrations of human milk. *Lipids*, 34(6), 543-549.
- Parra, P., Palou, A., & Serra, F. (2010). Moderate doses of conjugated linoleic acid reduce fat gain, maintain insulin sensitivity without impairing inflammatory adipose tissue status in mice fed a high-fat diet. *Nutr Metab (Lond)*, 7, 5.
- Pereira, M. A., & Ludwig, D. S. (2001). Dietary fiber and body-weight regulation. Observations and mechanisms. *Pediatr Clin North Am*, 48(4), 969-980.
- Poirier, H., Shapiro, J. S., Kim, R. J., & Lazar, M. A. (2006). Nutritional supplementation with *trans*-10, *cis*-12-conjugated linoleic acid induces inflammation of white adipose tissue. *Diabetes*, 55(6), 1634-1641.
- Purushotham, A., Wendel, A. A., Liu, L. F., & Belury, M. A. (2007). Maintenance of adiponectin attenuates insulin resistance induced by dietary conjugated linoleic acid in mice. *J Lipid Res*, 48(2), 444-452.
- Rebuffle-Scrive, M., Surwit, R., Feinglos, M., Kuhn, C., & Rodin, J. (1993). Regional fat distribution and metabolism in a new mouse model (C57BL/6J) of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 42(11), 1405-1409.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C., Jr. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123(11), 1939-1951.
- Riserus, U., Arner, P., Brismar, K., & Vessby, B. (2002). Treatment with dietary *trans*10*cis*12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 25(9), 1516-1521.
- Ritzenthaler, K. L., McGuire, M. K., Falen, R., Shultz, T. D., Dasgupta, N., & McGuire, M. A. (2001). Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J Nutr*, 131(5), 1548-1554.

- Ryder, J. W., Portocarrero, C. P., Song, X. M., Cui, L., Yu, M., Combatsiaris, T., *et al.* (2001). Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes*, 50(5), 1149-1157.
- Saini, V. (2010). Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*, 1(3), 68-75.
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806.
- Sánchez, J., López, D., Pinzón, O., & Sepúlveda, J. (2010). Adipokines and metabolic syndrome: multiple aspects of a complex pathophysiological process. *Rev Colomb Cardiol* 17(4), 167-176.
- Sanchez-Munoz, F., Garcia-Macedo, R., Alarcon-Aguilar, F., & Cruz, M. (2005). [Adipocitokines, adipose tissue and its relationship with immune system cells]. *Gac Med Mex*, 141(6), 505-512.
- Schreyer, S. A., Wilson, D. L., & LeBoeuf, R. C. (1998). C57BL/6 mice fed high fat diets as models for diabetes-accelerated atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 136(1), 17-24.
- Shanik, M. H., Xu, Y., Skrha, J., Dankner, R., Zick, Y., & Roth, J. (2008). Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care*, 31 Suppl 2, S262-268.
- Sjoholm, A., & Nystrom, T. (2006). Inflammation and the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 22(1), 4-10.
- Slavin, J. L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, 21(3), 411-418.
- Society for Biomedical Diabetes Research (2012). Si Unit Conversion Calculator Recuperado de [http://www.soc-bdr.org/content/rds/authors/unit\\_tables\\_conversions\\_and\\_genetic\\_dictionaries/conversion\\_in\\_si\\_units/index\\_en.html](http://www.soc-bdr.org/content/rds/authors/unit_tables_conversions_and_genetic_dictionaries/conversion_in_si_units/index_en.html)
- Stumvoll, M., Mitrakou, A., Pimenta, W., Jenssen, T., Yki-Jarvinen, H., Van Haefen, T., *et al.* (2000). Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care*, 23(3), 295-301.
- Sumiyoshi, M., Sakanaka, M., & Kimura, Y. (2006). Chronic intake of high-fat and high-sucrose diets differentially affects glucose intolerance in mice. *J Nutr*, 136(3), 582-587.
- Sun, C. H., Zhou, X. R., Wen, Y., & Liu, Y. M. (2007). Effects of conjugated linoleic acid on expression of GLUT4 protein in skeletal muscle of insulin resistant rat. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 41(1), 25-28.

- Surwit, R. S., Feinglos, M. N., Rodin, J., Sutherland, A., Petro, A. E., Opara, E. C., *et al.* (1995). Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism*, *44*(5), 645-651.
- Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A., & Feinglos, M. N. (1988). Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*, *37*(9), 1163-1167.
- Surwit, R. S., Seldin, M. F., Kuhn, C. M., Cochrane, C., & Feinglos, M. N. (1991). Control of expression of insulin resistance and hyperglycemia by different genetic factors in diabetic C57BL/6J mice. *Diabetes*, *40*(1), 82-87.
- Syvetsen, C., Halse, J., Hoivik, H. O., Gaullier, J. M., Nurminiemi, M., Kristiansen, K., *et al.* (2007). The effect of 6 months supplementation with conjugated linoleic acid on insulin resistance in overweight and obese. *Int J Obes (Lond)*, *31*(7), 1148-1154.
- Tilg, H., & Moschen, A. R. (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med*, *14*(3-4), 222-231.
- Tsuboyama-Kasaoka, N., Miyazaki, H., Kasaoka, S., & Ezaki, O. (2003). Increasing the amount of fat in a conjugated linoleic acid-supplemented diet reduces lipodystrophy in mice. *J Nutr*, *133*(6), 1793-1799.
- Tsuboyama-Kasaoka, N., Takahashi, M., Tanemura, K., Kim, H. J., Tange, T., Okuyama, H., *et al.* (2000). Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes*, *49*(9), 1534-1542.
- Turpeinen, A. M., Mutanen, M., Aro, A., Salminen, I., Basu, S., Palmquist, D. L., *et al.* (2002). Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr*, *76*(3), 504-510.
- USDA (2001). Protein Determination by Combustion CLG-PRO4.02. *United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science*. Recuperado de <http://www.inboxsa.com/bluishControl/inbox/userfiles/USDA%20Protein%20Determination%20by%20Combustion.pdf>
- Wang, Y. W., & Jones, P. J. (2004). Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obes Relat Metab Disord*, *28*(8), 941-955.
- Wendel, A. A., Purushotham, A., Liu, L. F., & Belury, M. A. (2008). Conjugated linoleic acid fails to worsen insulin resistance but induces hepatic steatosis in the presence of leptin in ob/ob mice. *J Lipid Res*, *49*(1), 98-106.

- Whigham, L. D., Watras, A. C., & Schoeller, D. A. (2007). Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *Am J Clin Nutr*, 85(5), 1203-1211.
- Wideman, R. D., Covey, S. D., Webb, G. C., Drucker, D. J., & Kieffer, T. J. (2007). A switch from prohormone convertase (PC)-2 to PC1/3 expression in transplanted alpha-cells is accompanied by differential processing of proglucagon and improved glucose homeostasis in mice. *Diabetes*, 56(11), 2744-2752.
- Winzell, M. S., & Ahren, B. (2004). The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*, 53 Suppl 3, S215-219.
- World Health Organization (1999). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, World Health Org., Recuperado de [http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who\\_ncd\\_ncs\\_99.2.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who_ncd_ncs_99.2.pdf)
- World Health Organization & International Diabetes Federation (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Recuperado de [http://www.idf.org/webdata/docs/WHO\\_IDF\\_definition\\_diagnosis\\_of\\_diabetes.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/WHO_IDF_definition_diagnosis_of_diabetes.pdf)
- Zárate, A., Basurto, L., Saucedo, R., & Hernandez-Valencia, M. (2010). Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 48 (3), 293-296
- Zhou, X. R., Sun, C. H., Liu, J. R., & Zhao, D. (2008). Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR gamma gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. *Growth Horm IGF Res*, 18(5), 361-368.

## 12. ANEXOS

### ANEXO 1

#### Ficha técnica de las propiedades nutritivas de la dieta hipercalórica (laboratorio Labdiet)

##### Surwit Diabet Rodent Purified Diet/60% kcal fat

5TPN

###### DESCRIPTION

Purified Rodent Diet with ≈60% of the energy from fat that may induce diabetes in rodents. Originally manufactured as "D12309." (Control diet is TestDiet 5TPP.)

Storage conditions are particularly critical to TestDiet® products, due to the absence of antioxidants or preservative agents. To provide maximum protection against possible changes during storage, store in a dry, cool location. Storage under refrigeration (2° C) is recommended. Maximum shelf life is six months. (If long term studies are involved, storing the diet at -20° C or colder may prolong shelf life.) Be certain to keep in air tight containers.

Product Forms Available*	Catalog #
1/2" Pellet	1811024
1/2" Pellet, Irradiated	1811026

\*Other Forms Available By Request

###### INGREDIENTS (%)

Lard	35.8500
Casein - Vitamin Free	22.8000
Sucrose	17.5000
Maltodextrin	17.0000
AIN-76 Mineral Mix	4.0000
Sodium Bicarbonate	1.0500
AIN-76A Vitamin Mix	1.0000
Potassium Citrate, Tribasic Monohydrate	0.4000
Choline Bitartrate	0.2000
DL-Methionine	0.2000

###### FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum. Plenty of fresh, clean water should be available at all times.

###### CAUTION:

Perishable, upon receipt store in a cool dry place, refrigeration recommended.

For laboratory animal experimental use only, NOT for human consumption.

10/19/2005

###### NUTRITIONAL PROFILE <sup>1</sup>

<b>Protein, %</b>	<b>20.7</b>	<b>Minerals</b>	
Arginine, %	0.80	Calcium, %	0.59
Histidine, %	0.59	Phosphorus, %	0.64
Isoleucine, %	1.09	Phosphorus (available), %	0.64
Leucine, %	1.97	Potassium, %	0.56
Lysine, %	1.66	Magnesium, %	0.06
Methionine, %	0.79	Sodium, %	0.40
Cystine, %	0.08	Chlorine, %	0.18
Phenylalanine, %	1.09	Fluorine, ppm	0.0
Tyrosine, %	1.15	Iron, ppm	40
Threonine, %	0.88	Zinc, ppm	41
Tryptophan, %	0.25	Manganese, ppm	67
Valine, %	1.30	Copper, ppm	6.9
Alanine, %	0.63	Cobalt, ppm	0.0
Aspartic Acid, %	1.47	Iodine, ppm	0.24
Glutamic Acid, %	4.66	Chromium, ppm	2.3
Glycine, %	0.44	Molybdenum, ppm	0.00
Proline, %	2.69	Selenium, ppm	0.12
Serine, %	1.26		
Taurine, %	0.00	<b>Vitamins</b>	
<b>Fat, %</b>	<b>35.9</b>	Vitamin A, IU/g	4.0
Cholesterol, ppm	341	Vitamin D-3 (added), IU/g	1.0
Linoleic Acid, %	3.45	Vitamin E, IU/kg	50.0
Linolenic Acid, %	0.15	Vitamin K (as menadione), ppm	0.50
Arachidonic Acid, %	0.07	Thiamin Hydrochloride, ppm	6.0
Omega-3 Fatty Acids, %	0.15	Riboflavin, ppm	6.0
Total Saturated Fatty Acids, %	14.95	Niacin, ppm	30
Total Monounsaturated Fatty Acids, %	15.09	Pantothenic Acid, ppm	15
<b>Fiber (max), %</b>	<b>0.0</b>	Folic Acid, ppm	2.0
<b>Carbohydrates, %</b>	<b>35.0</b>	Pyridoxine, ppm	5.8
<b>Energy (kcal/g) <sup>2</sup></b>	<b>5.49</b>	Biotin, ppm	0.2
<b>From:</b>	<b>kcal</b>	<b>%</b>	Vitamin B-12, mcg/kg
Protein	0.827	15.2	10
Fat (ether extract)	3.227	59.2	Choline Chloride, ppm
Carbohydrates	1.401	25.7	1,000
			Ascorbic Acid, ppm
			0.0

1. Based on the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies, analysis will differ accordingly. Nutrients expressed as percent of ration on an As Fed basis except where otherwise indicated.  
2. Energy (kcal/gm) - Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate x 4,9,4 kcal/gm respectively.



**TestDiet**  
www.testdiet.com

# Ficha técnica de las propiedades nutritivas de la dieta alta en grasa de los laboratorios Harlan

## Teklad Custom Research Diet Data Sheet

### TD.03584 35% Lard Diet (Adj., No C)

Formula	g/Kg
Casein	230.0
DL-Methionine	3.5
Sucrose	150.0
Maltodextrin	191.35
Lard	350.0
Mineral Mix, AIN-93G-MX (94046)	50.0
Calcium Phosphate, monobasic, monohydrate	2.5
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	18.4
Choline Bitartrate	4.25

#### Footnote

A diet used to induce obesity. A modification of TD.03307, using a vitamin mix without vitamin C. Approximate fatty acid profile (% total fat): 40% saturated, 50% monounsaturated, 10% polyunsaturated. Cited in Circ Res (2005) 96:1178-1184.

#### Selected Nutrient Information<sup>1</sup>

	% by weight	% kcal from
Protein	20.4	15.0
Carbohydrate	36.1	26.6
Fat	35.2	58.4

**Kcal/g 5.4**

<sup>1</sup>Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data

*Teklad Diets are designed & manufactured for research purposes only.*

#### Speak With A Nutritionist

- (800) 483-5523
- askanutritionist@harlan.com

Harlan Laboratories · PO Box 44220 · Madison, WI 53744-4220  
www.harlan.com



### Key Features

- Purified Diet
- Diet Induced Obesity
- Lard
- Dough Form or Pellets

### Key Planning Information

- Products are made fresh to order
- Store product at 4°C or lower
- Use within 6 months (applicable to most diets)
- Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number
- Replace diet at minimum once per week  
*More frequent replacement may be advised*
- Lead time:
  - 2 weeks non-irradiated
  - 4 weeks irradiated



### Product Specific Information

- 1/2" Pellet or Powder (crumbly)
- Minimum order 3 Kg
- Irradiation available upon request

### Options (Fees Will Apply)

- Rush order (pending availability)
- Irradiation (see Product Specific Information)
- Vacuum packaging (1 and 2 Kg)

### International Inquiry

- Outside U.S.A. or Canada ·
- askanutritionist@harlan.com

### Place Your Order<sup>1</sup> (U.S.A. & Canada)

- Place Order · Obtain Pricing ·
- Check Order Status ·

- (800) 483-5523
- (608) 277-2066 facsimile
- tekladinfo@harlan.com



*Helping you do research better*

Harlan, Harlan Laboratories, Helping you do research better, and the Harlan logo are trademarks and trade names of Harlan Laboratories, Inc. © 2008 Harlan Laboratories, Inc.

Ficha técnica de las propiedades nutritivas de la dieta alta en grasa de los laboratorios Bio-Serv.

**BIO-SERV**  
ISO 9001:2000 Certified

# Typical Analysis

Product# F1850  
Mouse Diet, High Fat  
Fat Calories (60%), Paste

PROXIMATE PROFILE (%)				CALORIC PROFILE (Kcal/gm)	
Protein	20.0	Carbohydrates	36.3	Protein	0.800
Fat	35.5	Fiber	0.0	Fat	3.195
Ash	3.2	Moisture	<5.0	Carbohydrate	<u>1.452</u>
				Total	5.447

AMINO ACID PROFILE (gm/kg)			
Alanine	5.22	Lysine	14.25
Arginine	7.22	Methionine	6.82
Aspartic Acid	12.44	Phenylalanine	8.82
Cystine	0.602	Proline	19.66
Glutamic Acid	39.13	Serine	11.03
Glycine	4.82	Threonine	8.62
Histidine	5.42	Tryptophan	3.00
Isoleucine	10.63	Tyrosine	11.03
Leucine	16.05	Valine	12.64

CARBOHYDRATE PROFILE (gm/kg)			
Monosaccharides	0.7	Trisaccharides	5.0
Disaccharides	243.4	Polysaccharides	113.6

FATTY ACID PROFILE (gm/kg)			
C10 Decanoic	0.36	C18 Stearic	44.10
C12 Lauric	0.36	C18:1 Oleic	161.68
C14 Myristic	5.38	C18:2 Linoleic	35.49
C15 Pentadecanoic	0.72	C18:3 Linolenic	0.36
C16 Palmitic	88.91	C20 Eicosanoic	0.72
C16:1 cis-9-Hexadecenoic	11.11	C20:1 cis-11-Eicosenoic	4.66
C17 Heptadecanoic	1.79	C20:4 Arachidonic	1.43
C17:1 Heptadecenoic	1.08	Cholesterol	0.90

Concentrations represent the amount of added minerals and vitamins

MINERAL PROFILE (gm/kg)			
Calcium	5.53	Manganese (mg/kg)	52.24
Chlorine	0.86	Phosphorus	3.46
Copper (mg/kg)	5.57	Potassium	8.72
Chromium (mg/kg)	0.49	Selenium (mg/kg)	0.17
Iodine (mg/kg)	0.30	Sodium	0.56
Iron (mg/kg)	39.44	Sulfur	0.67
Magnesium	0.49	Zinc (mg/kg)	12.51

VITAMIN PROFILE (mg/kg)			
Cal. Pantothenate	6.00	Pyridoxine	5.00
Choline Chloride	1300.00	Riboflavin	2.25
Folic Acid	0.75	Thiamine HCl	3.00
Menadione Sodium Bisulfate	0.63	Vitamin A (IU/kg)	3000.00
Niacin	15.00	Vitamin D <sub>2</sub> (IU/kg)	1000.00
Vitamin B <sub>12</sub>	0.04	Vitamin E (IU/kg)	22.50

**Ingredients:** Lard, Sucrose, Casein, Maltose Dextrin, Salt Mixture, Vitamin Mixture, DL-Methionine Choline Chloride.

These are typical amounts of nutrients calculated from available information. Actual assay results may vary.  
For more information contact [jlecker@bio-serv.com](mailto:jlecker@bio-serv.com). Revised Date: 7/09

*Custom Research Diets and Environmental Enrichment Products*

One 8th Street, Suite 1, Frenchtown, NJ 08825 • Toll-Free: 800-996-9908 (U.S. and Canada)  
Phone: 908-996-2155 • Fax: 908-996-4123 • Web: [www.bio-serv.com](http://www.bio-serv.com)



## ANEXO 2

### Ficha técnica de las propiedades nutritivas de la dieta isocalórica.

## Prolab® RMH 2500

## 5PI4\*

### DESCRIPTION

Prolab® RMH 2500 is an economical, complete and balanced diet manufactured under controlled formulation to assure Constant Nutrition®. This diet is formulated using the unique and innovative concept of Constant Nutrition®, paired with the selection of highest quality ingredients to assure minimal inherent biological variation in long-term studies. This diet is a versatile rodent diet designed for laboratory rats, mice and hamsters, in a wide range of applications, including research studies and non-intensive reproduction.

#### Features and Benefits

- Constant Nutrition® formula helps minimize nutritional variables
- High quality animal protein added to create a superior balance of amino acids for optimum performance
- Utilizes a wider range of energy sources to deliver nutrition at an economical cost

#### Product Forms Available

- Oval pellet, 10 mm x 16 mm x 25 mm length (3/8"x5/8"x1")
- Meal (ground pellets)

#### Other Versions Available

- 5R24 Prolab® RMH 2500, Autoclavable

### GUARANTEED ANALYSIS

Crude protein not less than	23.0%
Crude fat not less than	4.5%
Crude fiber not more than	6.0%
Ash not more than	8.0%
Added minerals not more than	2.5%

### INGREDIENTS

Dehulled soybean meal, ground corn, wheat middlings, ground oats, cane molasses, porcine animal fat preserved with BHA, fish meal, dehydrated alfalfa meal, dried beet pulp, wheat germ, salt, calcium carbonate, dried whey, porcine meat meal, ground wheat, ground soybean hulls, dicalcium phosphate, monocalcium phosphate, DL-methionine, corn gluten meal, menadione dimethylpyrimidinol bisulfite, choline chloride, soybean oil, cholecalciferol, brewers dried yeast, pyridoxine hydrochloride, folic acid, vitamin A acetate, thiamin mononitrate, biotin, dl-alpha tocopheryl acetate, nicotinic acid, calcium pantothenate, riboflavin, vitamin B<sub>12</sub> supplement, ferrous sulfate, manganous oxide, zinc oxide, ferrous carbonate, copper sulfate, zinc sulfate, calcium iodate, cobalt carbonate, sodium selenite.

### FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum to rodents. Plenty of fresh, clean water should be available to the animals at all times.

**Rats-** All rats will eat varying amounts of feed depending on their genetic origin. Larger strains will eat up to 30 grams per day. Smaller strains will eat up to 15 grams per day. Feeders in rat cages should be designed to hold two to three days supply of feed at one time.

**Mice-** Adult mice will eat up to 5 grams of pelleted ration daily. Some of the larger strains may eat as much as 8 grams per day per animal. Feed should be available on a free choice basis in wire feeders above the floor of the cage.

**Hamsters-** Adults will eat up to 14 grams per day.

### CHEMICAL COMPOSITION<sup>1</sup>

#### Nutrients<sup>2</sup>

<b>Protein</b> , %	<b>24.0</b>	Sulfur, %	.029
Arginine, %	1.55	Sodium, %	.040
Cystine, %	.034	Chlorine, %	.070
Glycine, %	.117	Fluorine, ppm	.12
Histidine, %	.059	Iron, ppm	.290
Isoleucine, %	.116	Zinc, ppm	.110
Leucine, %	.187	Manganese, ppm	.110
Lysine, %	.140	Copper, ppm	.17
Methionine, %	.043	Cobalt, ppm	.051
Phenylalanine, %	.111	Iodine, ppm	.14
Tyrosine, %	.073	Chromium, ppm	.12
Threonine, %	.092	Selenium, ppm	.048
Tryptophan, %	.031		

Valine, %	.125	<b>Vitamins</b>	
Serine, %	.127	Carotene, ppm	.20
Aspartic Acid, %	.261	Vitamin K (as menadione), ppm	.32
Glutamic Acid, %	.523	Thiamin Hydrochloride, ppm	.20
Alanine, %	.121	Riboflavin, ppm	.12
Proline, %	.170	Niacin, ppm	.130
Taurine, %	.0005	Pantothenic Acid, ppm	.24
<b>Fat (ether extract)</b> , %	<b>4.5</b>	Choline Chloride, ppm	.2300
<b>Fat (acid hydrolysis)</b> , %	<b>6.0</b>	Folic Acid, ppm	.79
Cholesterol, ppm	.101	Pyridoxine, ppm	.80
Linoleic Acid, %	.153	Biotin, ppm	.028
Linolenic Acid, %	.011	B <sub>12</sub> , mcg/kg	.49
Arachidonic Acid, %	.0004	Vitamin A, IU/gm	.22
Omega-3 Fatty Acids, %	.017	Vitamin D <sub>3</sub> (added), IU/gm	.50
Total Saturated Fatty Acids, %	.155	Vitamin E, IU/kg	.52
Total Monounsaturated		Ascorbic Acid, mg/gm	—
Fatty Acids, %	.124		
<b>Fiber (Crude)</b> , %	<b>5.3</b>		
Neutral Detergent Fiber <sup>3</sup> , %	.154		
Acid Detergent Fiber <sup>4</sup> , %	.63		

#### Nitrogen-Free Extract

<b>(by difference)</b> , %	<b>49.3</b>
Starch, %	.215
Glucose, %	.02
Fructose, %	.02
Sucrose, %	.34
Lactose, %	.06
<b>Total Digestible Nutrients</b> , %	<b>75.7</b>
<b>Gross Energy, kcal/gm</b>	<b>4.05</b>
<b>Physiological Fuel Value<sup>5</sup>, kcal/gm</b>	<b>3.34</b>
<b>Metabolizable Energy, kcal/gm</b>	<b>3.04</b>

#### Minerals

<b>Ash</b> , %	<b>6.9</b>
Calcium, %	.095
Phosphorus, %	.069
Phosphorus (non-phytate), %	.033
Potassium, %	.120
Magnesium, %	.025

#### Calories provided by:

Protein, %	.28.768
Fat (ether extract), %	.12.137
Carbohydrates, %	.59.095

#### \*Product Code

1. Formulation based on calculated values from the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies and some nutrient loss will occur due to manufacturing processes, analysis will differ accordingly.
2. Nutrients expressed as percent of ration except where otherwise indicated. Moisture content is assumed to be 10.0% for the purpose of calculations.
3. NDF = approximately cellulose, hemicellulose and lignin.
4. ADF = approximately cellulose and lignin.
5. Physiological Fuel Value (kcal/gm) = Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate (use Nitrogen Free Extract) x 4,9,4 kcal/gm respectively.

12/1409

### ANEXO 3

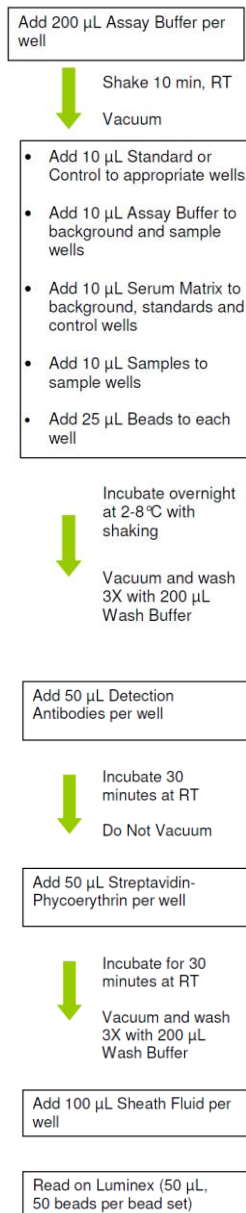
#### Composición de micronutrientes de la dieta hipercalórica\*

Micronutrientes	mg / Kg de dieta
Ácido nicotínico	55.50
Pantotenato cálcico	29.60
Piridoxina HCl	12.95
Tiamina HCl	11.10
Riboflavina	11.10
Ácido fólico	3.70
D-Biotina	0.37
Vitamina B12	46.25
$\alpha$ -Tocoferol	555.00
Vitamina A Palmitato	29.60
Vitamina D3	4.63
Vitamina K	1.39
Carbonato de Calcio	15172.50
Fosfato monopotásico	10625.00
Monohidrato de citrato de potasio	1190.00
Cloruro de sodio	3145.00
Sulfato de potasio	1980.50
Óxido de magnesio	1020.00
Citrato ferric	257.55
Carbonato de Zinc	70.13
Carbonato de Manganeso	26.78
Carbonato de cobre	12.75
Yoduro de potasio	0.43
Selenato de sodio anhídrido	0.44
Amonio Molibdato 4H <sub>2</sub> O	0.34
Metasilicato de sodio 9H <sub>2</sub> O	61.63
Sulfato de cromo potásico 12H <sub>2</sub> O	11.69
Cloruro de litio	0.74
Ácido bórico	3.46
Fluoruro de Sodio	2.70
Níquel carbonatado	1.35
Vanadato de amonio	0.28

\*Fuente: Valores reportados por el proveedor. (MP Biomedicals LLC, 2012).

## ANEXO 4

### Procedimiento para la determinación de hormonas y citocinas



## ANEXO 5

### ALIMENTOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA CON CLA

#### Mantequilla con CLA



Compañía: Organic Valley País: Estados Unidos  
(<http://www.organicvalley.coop/products/butter/pasture/>)

#### Leche con CLA



Compañía: Feiraco País: España  
(<http://www.feiraco.es/leche-feiraco-unicla.htm>)

#### Quesos con CLA

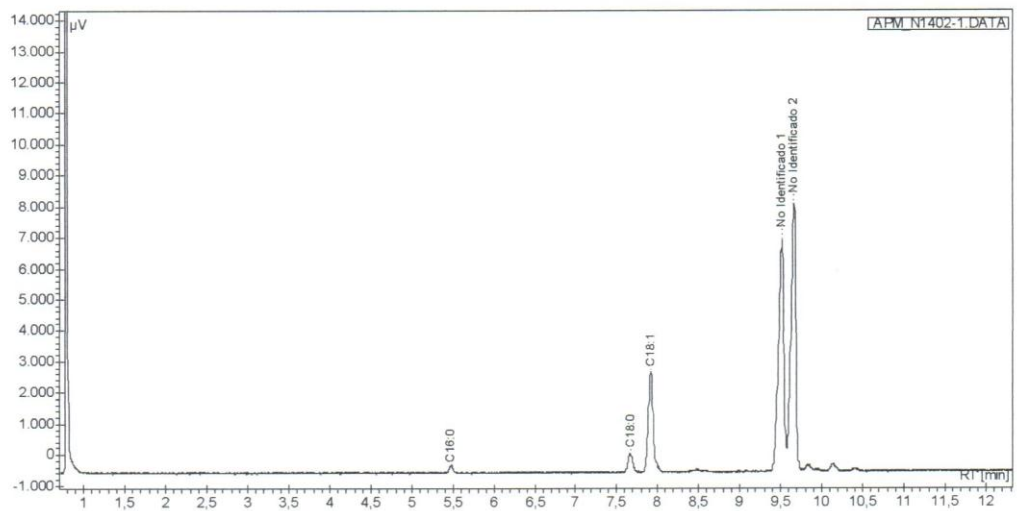


Compañía: Mamá Mecha País: Argentina  
<http://www.mamamecha.com/>

# ANEXO 6

## CROMATOGRAMA DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE TONALIN

N1402



## ANEXO 7

### Cuadros de salida del análisis de los resultados

#### Peso corporal inicial y final en la fase I

##### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Inicial	26	20.554	1.1734	0.2301	20.080	21.028	18.6	23.1
Semana 15	26	39.938	4.8587	0.9529	37.976	41.901	33.3	48.5
Total	52	30.246	10.3937	1.4414	27.353	33.140	18.6	48.5

##### Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
52.211	1	50	0.000

##### ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4884.923	1	4884.923	391.040	0.000
Intra-grupos	624.606	50	12.492		
Total	5509.529	51			

#### Glucemia durante la fase I

##### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Semana.1	CLA	7	140.857	28.204	10.660	114.773	166.942	109.0	189
	Aceite	7	156.857	26.410	9.982	132.432	181.282	130.0	207
	TZD	7	168.429	34.409	13.005	136.606	200.251	131.0	209
	Isocalórica	5	167.400	32.028	14.323	127.632	207.168	126.0	205
	Total	26	157.692	30.615	6.004	145.327	170.058	109.0	209
Semana.4	CLA	7	124.286	37.845	14.304	89.285	159.286	85.0	187
	Aceite	7	110.857	23.597	8.919	89.034	132.681	65.0	136

	TZD	7	122.286	26.405	9.980	97.865	146.707	97.0	166
	Isocalórica	5	98.000	35.362	15.815	54.092	141.908	66.0	157
	Total	26	115.077	30.764	6.033	102.651	127.503	65.0	187
Semana.7	CLA	7	185.286	47.222	17.848	141.613	228.959	120.0	252
	Aceite	7	149.571	39.255	14.837	113.267	185.876	100.0	203
	TZD	7	152.286	46.227	17.472	109.533	195.038	96.0	220
	Isocalórica	5	135.600	23.126	10.342	106.886	164.314	113.0	169
	Total	26	157.231	42.903	8.414	139.902	174.560	96.0	252
Semana 10	CLA	7	137.714	53.369	20.172	88.356	187.072	76.0	230
	Aceite	7	122.143	36.457	13.780	88.425	155.860	80.0	195
	TZD	7	122.000	46.047	17.404	79.414	164.586	78.0	216
	Isocalórica	5	118.600	41.247	18.446	67.385	169.815	65.0	170
	Total	26	125.615	42.913	8.416	108.282	142.948	65.0	230
Semana 13	CLA	7	196.429	33.311	12.590	165.621	227.236	143.0	246
	Aceite	7	189.714	47.465	17.940	145.817	233.612	122.0	273
	TZD	7	183.714	31.234	11.805	154.828	212.601	152.0	241
	Isocalórica	5	153.000	27.157	12.145	119.280	186.720	113.0	188
	Total	26	182.846	37.448	7.344	167.720	197.972	113.0	273
Semana 15	CLA	7	228.286	53.829	20.345	178.502	278.069	177.0	318
	Aceite	7	218.286	49.956	18.881	172.084	264.487	169.0	287
	TZD	7	207.571	38.716	14.633	171.765	243.378	170.0	264
	Isocalórica	5	131.600	24.337	10.884	101.381	161.819	104.0	151
	Total	26	201.423	54.920	10.771	179.241	223.606	104.0	318

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Semana.1	1	3	22	0.602
Semana.4	1	3	22	0.522
Semana.7	1	3	22	0.346
Semana.10	1	3	22	0.624
Semana.13	1	3	22	0.643
Semana.15	2	3	22	0.104

### ANOVA

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Semana.1	Inter-grupos	3267	3	1088.970	1.188	0.337
	Intra-grupos	20165	22	916.574		
	Total	23432	25			
Semana.4	Inter-grupos	2540	3	846.711	0.882	0.466
	Intra-grupos	21120	22	959.987		
	Total	23660	25			
Semana.7	Inter-grupos	8431	3	2810.281	1.645	0.208
	Intra-grupos	37586	22	1708.444		

	Total	46017	25			
Semana.10	Inter-grupos	1447	3	482.223	0.238	0.869
	Intra-grupos	44591	22	2026.886		
	Total	46038	25			
Semana.13	Inter-grupos	6081	3	2026.938	1.539	0.233
	Intra-grupos	28979	22	1317.208		
	Total	35059	25			
Semana.15	Inter-grupos	31683	3	10560.858	5.314	0.007
	Intra-grupos	43722	22	1987.353		
	Total	75404	25			

### Glucemia inicial y final en la fase I

Valores iniciales y finales en los grupos CLA, Aceite y TZD

#### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Semana 1	21	155.381	30.6145	6.6806	141.445	169.317	109.0	209.0
Semana 1 Tx	21	218.048	46.2898	10.1013	196.977	239.118	169.0	318.0
Total	42	186.714	50.0815	7.7277	171.108	202.321	109.0	318.0

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
7.674	1	40	0.008

#### ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	41234.667	1	41234.667	26.776	0.000
Intra-grupos	61599.905	40	1539.998		
Total	102834.571	41			



## Valores iniciales y finales en el grupo Normal

### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Semana 1	5	167.400	32.0281	14.3234	127.632	207.168	126.0	205.0
Semana 1 Tx	5	131.600	24.3372	10.8839	101.381	161.819	104.0	151.0
Total	10	149.500	32.7897	10.3690	126.044	172.956	104.0	205.0

### Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0.280	1	8	0.611

### ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3204.100	1	3204.100	3.960	0.082
Intra-grupos	6472.400	8	809.050		
Total	9676.500	9			

## Homogeneidad en los grupos CLA, Aceite y TZD

### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
CLA	7	228.286	53.8291	20.3455	178.502	278.069	177.0	318.0
Aceite	7	218.286	49.9557	18.8815	172.084	264.487	169.0	287.0
TZD	7	207.571	38.7163	14.6334	171.765	243.378	170.0	264.0
Total	21	218.048	46.2898	10.1013	196.977	239.118	169.0	318.0

### Prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0.636	2	18	0.541

## ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1502.381	2	751.190	0.327	0.725
Intra-grupos	41352.571	18	2297.365		
Total	42854.952	20			

## Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Glucosa

HSD de Tukey

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
CLA	Aceite	10.000	25.620	.920	-55.39	75.39
	TZD	20.714	25.620	.703	-44.67	86.10
Aceite	CLA	-10.000	25.620	.920	-75.39	55.39
	TZD	10.714	25.620	.909	-54.67	76.10
TZD	CLA	-20.714	25.620	.703	-86.10	44.67
	Aceite	-10.714	25.620	.909	-76.10	54.67

## Subconjuntos homogéneos

HSD de Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
TZD	7	207.57
Aceite	7	218.29
CLA	7	228.29
Sig.		.703

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

## Peso corporal durante la fase II

### Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Peso. inicial.Tx	CLA	7	42.414	5.6576	2.1384	37.182	47.647	33.8	48.5
	Aceite	7	36.200	1.0646	0.4024	35.215	37.185	34.9	38.3
	TZD	7	41.914	5.0621	1.9133	37.233	46.596	33.3	47.5
	Isocalórico	5	38.940	4.0166	1.7963	33.953	43.927	34.5	43.5
	Total	26	39.938	4.8587	0.9529	37.976	41.901	33.3	48.5
Peso. final.Tx	CLA	7	43.400	4.3539	1.6456	39.373	47.427	36.4	49.7
	Aceite	7	40.300	5.3188	2.0103	35.381	45.219	30.1	47.1
	TZD	7	44.071	6.2692	2.3695	38.273	49.869	36.4	51.8
	Isocalórico	5	33.280	2.2197	0.9927	30.524	36.036	30.0	35.7
	Total	26	40.800	6.1506	1.2062	38.316	43.284	30.0	51.8
Diferencia. peso. Inc. Fin. Tx	CLA	7	-0.986	2.0748	0.7842	-2.905	0.933	-2.9	2.8
	Aceite	7	-4.100	4.9420	1.8679	-8.671	0.471	-10.5	5.7
	TZD	7	-2.157	3.0060	1.1362	-4.937	0.623	-4.8	2.6
	Isocalórico	5	5.660	2.3839	1.0661	2.700	8.620	2.9	8.5
	Total	26	-0.862	4.6786	0.9176	-2.751	1.028	-10.5	8.5

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Peso.inicial.Tx	4	3	22	0.023
Peso.final.Tx	2	3	22	0.213
Diferencia.peso.Inc.Fin.Tx	1	3	22	0.600

### ANOVA

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Peso.inicial.Tx	Inter-grupos	173	3	57.684	3.042	0.050
	Intra-grupos	417	22	18.960		
	Total	590	25			
Peso.final.Tx	Inter-grupos	407	3	135.579	5.534	0.006
	Intra-grupos	539	22	24.500		
	Total	946	25			
Diferencia.peso.Inc.Fin.Tx	Inter-grupos	298	3	99.308	8.763	0.001
	Intra-	249	22	11.333		

	grupos				
	Total	547	25		

## Pruebas post hoc

### Comparaciones múltiples HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Peso.inicial.Tx	CLA	Aceite	6.2143	2.3275	.062	-.249	12.677
		TZD	.5000	2.3275	.996	-5.963	6.963
		Isocalórico	3.4743	2.5496	.535	-3.606	10.554
	Aceite	CLA	-6.2143	2.3275	.062	-12.677	.249
		TZD	-5.7143	2.3275	.096	-12.177	.749
		Isocalórico	-2.7400	2.5496	.708	-9.820	4.340
	TZD	CLA	-.5000	2.3275	.996	-6.963	5.963
		Aceite	5.7143	2.3275	.096	-.749	12.177
		Isocalórico	2.9743	2.5496	.653	-4.106	10.054
	Isocalórico	CLA	-3.4743	2.5496	.535	-10.554	3.606
		Aceite	2.7400	2.5496	.708	-4.340	9.820
		TZD	-2.9743	2.5496	.653	-10.054	4.106
Peso.final.Tx	CLA	Aceite	3.1000	2.6458	.650	-4.247	10.447
		TZD	-.6714	2.6458	.994	-8.018	6.675
		Isocalórico	10.1200(*)	2.8983	.010	2.072	18.168
	Aceite	CLA	-3.1000	2.6458	.650	-10.447	4.247
		TZD	-3.7714	2.6458	.498	-11.118	3.575
		Isocalórico	7.0200	2.8983	.102	-1.028	15.068
	TZD	CLA	.6714	2.6458	.994	-6.675	8.018
		Aceite	3.7714	2.6458	.498	-3.575	11.118
		Isocalórico	10.7914(*)	2.8983	.006	2.743	18.839
	Isocalórico	CLA	-	2.8983	.010	-18.168	-2.072
		Aceite	-7.0200	2.8983	.102	-15.068	1.028
		TZD	-	2.8983	.006	-18.839	-2.743
Diferencia.peso.Inc.Fin.Tx	CLA	Aceite	3.1143	1.7994	.332	-1.882	8.111
		TZD	1.1714	1.7994	.914	-3.825	6.168
		Isocalórico	-6.6457(*)	1.9712	.014	-12.119	-1.172
	Aceite	CLA	-3.1143	1.7994	.332	-8.111	1.882
		TZD	-1.9429	1.7994	.705	-6.940	3.054
		Isocalórico	-9.7600(*)	1.9712	.000	-15.234	-4.286
	TZD	CLA	-1.1714	1.7994	.914	-6.168	3.825
		Aceite	1.9429	1.7994	.705	-3.054	6.940
		Isocalórico	-7.8171(*)	1.9712	.003	-13.291	-2.344
	Isocalórico	CLA	6.6457(*)	1.9712	.014	1.172	12.119
		Aceite	9.7600(*)	1.9712	.000	4.286	15.234
		TZD	7.8171(*)	1.9712	.003	2.344	13.291

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

## Subconjuntos homogéneos

### Peso.inicial.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
Aceite	7	36.200
Isocalórico	5	38.940
TZD	7	41.914
CLA	7	42.414
Sig.		.080

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Peso.final.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
Isocalórico	5	33.280	
Aceite	7	40.300	40.300
CLA	7		43.400
TZD	7		44.071
Sig.		.083	.537

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Diferencia.peso.Inc.Fin.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
Aceite	7	-4.100	
TZD	7	-2.157	
CLA	7	-.986	
Isocalórico	5		5.660
Sig.		.373	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

## Glucemia durante la fase II

### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Glu.inc.Tx	CLA	7	228.29	53.829	20.345	178.50	278.07	177	318
	Aceite	7	218.29	49.956	18.881	172.08	264.49	169	287
	TZD	7	207.57	38.716	14.633	171.76	243.38	170	264
	Isocalórico	5	131.60	24.337	10.884	101.38	161.82	104	151
	Total	26	201.42	54.920	10.771	179.24	223.61	104	318
Glu.fin.Tx	CLA	7	112.00	35.261	13.327	79.39	144.61	71	162
	Aceite	7	114.57	55.293	20.899	63.43	165.71	62	232
	TZD	7	82.43	39.012	14.745	46.35	118.51	52	154
	Isocalórico	5	104.20	21.879	9.785	77.03	131.37	84	139
	Total	26	103.23	40.656	7.973	86.81	119.65	52	232
Diferencia .Glu.inc.fin.Tx	CLA	7	116.29	74.788	28.267	47.12	185.45	36	229
	Aceite	7	103.71	46.180	17.454	61.01	146.42	35	174
	TZD	7	125.14	56.629	21.404	72.77	177.52	16	187
	Isocalórico	5	27.40	26.264	11.746	-5.21	60.01	-3	62
	Total	26	98.19	63.562	12.465	72.52	123.87	-3	229

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Glu.inc.Tx	2	3	22	0.104
Glu.fin.Tx	1	3	22	0.646
Diferencia.Glu.inc.fin.Tx	2	3	22	0.236

### ANOVA

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Glu.inc.Tx	Inter-grupos	31683	3	10560.858	5.314	0.007
	Intra-grupos	43722	22	1987.353		
	Total	75404	25			
Glu.fin.Tx	Inter-grupos	4472	3	1490.796	0.890	0.462
	Intra-grupos	36850	22	1675.010		
	Total	41323	25			
Diferencia. Glu.inc.fin.Tx	Inter-grupos	32647	3	10882.375	3.502	0.032
	Intra-grupos	68355	22	3107.042		
	Total	101002	25			

## Pruebas post hoc

### Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Glu.inc.Tx	CLA	Aceite	10.000	23.829	.975	-56.17	76.17
		TZD	20.714	23.829	.820	-45.45	86.88
		Isocalórico	96.686(*)	26.103	.006	24.20	169.17
	Aceite	CLA	-10.000	23.829	.975	-76.17	56.17
		TZD	10.714	23.829	.969	-55.45	76.88
		Isocalórico	86.686(*)	26.103	.015	14.20	159.17
	TZD	CLA	-20.714	23.829	.820	-86.88	45.45
		Aceite	-10.714	23.829	.969	-76.88	55.45
		Isocalórico	75.971(*)	26.103	.038	3.49	148.46
	Isocalórico	CLA	-96.686(*)	26.103	.006	-169.17	-24.20
		Aceite	-86.686(*)	26.103	.015	-159.17	-14.20
		TZD	-75.971(*)	26.103	.038	-148.46	-3.49
Glu.fin.Tx	CLA	Aceite	-2.571	21.876	.999	-63.32	58.18
		TZD	29.571	21.876	.541	-31.18	90.32
		Isocalórico	7.800	23.964	.988	-58.75	74.35
	Aceite	CLA	2.571	21.876	.999	-58.18	63.32
		TZD	32.143	21.876	.472	-28.60	92.89
		Isocalórico	10.371	23.964	.972	-56.17	76.92
	TZD	CLA	-29.571	21.876	.541	-90.32	31.18
		Aceite	-32.143	21.876	.472	-92.89	28.60
		Isocalórico	-21.771	23.964	.801	-88.32	44.77
	Isocalórico	CLA	-7.800	23.964	.988	-74.35	58.75
		Aceite	-10.371	23.964	.972	-76.92	56.17
		TZD	21.771	23.964	.801	-44.77	88.32
Diferencia.Glu.inc.fin.Tx	CLA	Aceite	12.57143	29.79473	.974	-70.1637	95.3065
		TZD	-8.85714	29.79473	.991	-91.5922	73.8779
		Isocalórico	88.88571	32.63850	.056	-1.7460	179.5175
	Aceite	CLA	-12.57143	29.79473	.974	-95.3065	70.1637
		TZD	-21.42857	29.79473	.888	-104.1637	61.3065
		Isocalórico	76.31429	32.63850	.120	-14.3175	166.9460
	TZD	CLA	8.85714	29.79473	.991	-73.8779	91.5922
		Aceite	21.42857	29.79473	.888	-61.3065	104.1637
		Isocalórico	97.74286(*)	32.63850	.031	7.1111	188.3746
	Isocalórico	CLA	-88.88571	32.63850	.056	-179.5175	1.7460
		Aceite	-76.31429	32.63850	.120	-166.9460	14.3175
		TZD	97.74286(*)	32.63850	.031	-188.3746	-7.1111

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

## Subconjuntos homogéneos

### Glu.inc.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
Isocalórico	5	131.60	
TZD	7		207.57
Aceite	7		218.29
CLA	7		228.29
Sig.		1.000	.840

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Glu.fin.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
TZD	7	82.43
Isocalórico	5	104.20
CLA	7	112.00
Aceite	7	114.57
Sig.		.512

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Diferencia.Glu.inc.fin.Tx

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
Isocalórico	5	27.4000	
Aceite	7	103.7143	103.7143
CLA	7		116.2857
TZD	7		125.1429
Sig.		.098	.901

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.



## Insulina durante la fase II

### Descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Insulina. Inicial	CLA	7	592.29	343.928	129.993	274.21	910.37	241	1092
	Aceite	7	674.14	396.155	149.732	307.76	1040.52	267	1345
	TZD	7	538.43	250.763	94.780	306.51	770.35	204	915
	Isocalórico	5	671.40	417.581	186.748	152.90	1189.90	305	1234
	Total	26	615.04	335.332	65.764	479.60	750.48	204	1345
Insulina. Final	CLA	7	2183.00	1182.217	446.836	1089.63	3276.37	1201	4260
	Aceite	7	1194.43	721.342	272.642	527.30	1861.56	406	2573
	TZD	7	523.57	349.745	132.191	200.11	847.03	58	1059
	Isocalórico	4	528.75	330.724	165.362	2.49	1055.01	202	847
	Total	25	1176.88	1006.768	201.354	761.31	1592.45	58	4260

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Insulina.Inicial	1	3	22	0.308
Insulina.Final	5	3	21	0.007

### ANOVA

		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Peso.inicial.Tx	Inter-grupos	173	3	57.684	3.042	0.050
	Intra-grupos	417	22	18.960		
	Total	590	25			
Peso.final.Tx	Inter-grupos	407	3	135.579	5.534	0.006
	Intra-grupos	539	22	24.500		
	Total	946	25			

## Pruebas post hoc

### Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Insulina.Inicial	CLA	Aceite	-81.857	188.161	.972	-604.35	440.63
		TZD	53.857	188.161	.992	-468.63	576.35
		Isocalórico	-79.114	206.120	.980	-651.47	493.25
	Aceite	CLA	81.857	188.161	.972	-440.63	604.35
		TZD	135.714	188.161	.888	-386.78	658.21
		Isocalórico	2.743	206.120	1.000	-569.62	575.10
	TZD	CLA	-53.857	188.161	.992	-576.35	468.63
		Aceite	-135.714	188.161	.888	-658.21	386.78
		Isocalórico	-132.971	206.120	.916	-705.33	439.39
	Isocalórico	CLA	79.114	206.120	.980	-493.25	651.47
		Aceite	-2.743	206.120	1.000	-575.10	569.62
		TZD	132.971	206.120	.916	-439.39	705.33
Insulina.Final	CLA	Aceite	988.571	413.544	.110	-164.11	2141.26
		TZD	1659.429(*)	413.544	.003	506.74	2812.11
		Isocalórico	1654.250(*)	484.924	.013	302.61	3005.89
	Aceite	CLA	-988.571	413.544	.110	-2141.26	164.11
		TZD	670.857	413.544	.388	-481.83	1823.54
		Isocalórico	665.679	484.924	.529	-685.96	2017.32
	TZD	CLA	-	413.544	.003	-2812.11	-506.74
		Aceite	-670.857	413.544	.388	-1823.54	481.83
		Isocalórico	-5.179	484.924	1.000	-1356.82	1346.46
	Isocalórico	CLA	-	484.924	.013	-3005.89	-302.61
		Aceite	-665.679	484.924	.529	-2017.32	685.96
		TZD	5.179	484.924	1.000	-1346.46	1356.82

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

## Subconjuntos homogéneos

### Insulina.Inicial

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
TZD	7	538.43
CLA	7	592.29
Isocalórico	5	671.40

Aceite	7	674.14
Sig.		.901

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.364.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos.

Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Insulina.Final

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	1
TZD	7	523.57	
Isocalórico	4	528.75	
Aceite	7	1194.43	1194.43
CLA	7		2183.00
Sig.		.462	.158

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos.

Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

## Leptina durante la fase II

### Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Leptina. Inicial	CLA	7	24072.43	9319.770	3522.542	15453.08	32691.78	16947	43393
	Aceite	7	18155.71	5828.345	2202.907	12765.39	23546.03	12099	29527
	TZD	7	19855.57	6830.293	2581.608	13538.60	26172.54	8931	26719
	Isocalórico	4	24710.50	13223.490	6611.745	3668.98	45752.02	13542	42592
	Total	25	21337.12	8449.784	1689.957	17849.22	24825.02	8931	43393
Leptina. Final	CLA	7	18615.00	6972.382	2635.313	12166.62	25063.38	11261	32326
	Aceite	7	17773.14	8838.639	3340.692	9598.76	25947.52	7125	35141
	TZD	7	20047.71	5826.104	2202.060	14659.47	25435.96	11848	25514
	Isocalórico	4	2965.75	2766.308	1383.154	-1436.06	7367.56	429	6269
	Total	25	16276.56	8777.933	1755.587	12653.21	19899.91	429	35141
Diferencia. Leptina. ini.fin	CLA	7	5457.43	9900.792	3742.148	-3699.28	14614.13	-12275	21434
	Aceite	7	382.57	10077.991	3809.123	-8938.02	9703.16	-13753	14234
	TZD	7	-192.14	7805.054	2950.033	-7410.61	7026.33	-16583	8001
	Isocalórico	4	21744.75	11780.918	5890.459	2998.68	40490.82	11776	36323
	Total	25	5060.56	11972.721	2394.544	118.46	10002.66	-16583	36323

## Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Leptina.Inicial	1.270	3	21	.310
Leptina.Final	.701	3	21	.562
Diferencia.Leptina.ini.fin	.685	3	21	.571

## ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Leptina.Inicial	Inter-grupos	184106461	3	61368820	0.843	0.486
	Intra-grupos	1529465780	21	72831704		
	Total	1713572241	24			
Leptina.Final	Inter-grupos	862218317	3	287406106	6.115	0.004
	Intra-grupos	987032299	21	47001538		
	Total	1849250616	24			
Diferencia.Leptina.ini.fin	Inter-grupos	1460872567	3	486957522	5.166	0.008
	Intra-grupos	1979432845	21	94258707		
	Total	3440305412	24			

## Pruebas post hoc

### Comparaciones múltiples

#### HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Leptina.Inicial	CLA	Aceite	5916.714	4561.695	.575	-6798.23	18631.66
		TZD	4216.857	4561.695	.792	-8498.08	16931.80
		Isocalórico	-638.071	5349.061	.999	-15547.66	14271.52
	Aceite	CLA	-5916.714	4561.695	.575	-18631.66	6798.23
		TZD	-1699.857	4561.695	.982	-14414.80	11015.08
		Isocalórico	-6554.786	5349.061	.618	-21464.38	8354.81
	TZD	CLA	-4216.857	4561.695	.792	-16931.80	8498.08
		Aceite	1699.857	4561.695	.982	-11015.08	14414.80
		Isocalórico	-4854.929	5349.061	.801	-19764.52	10054.66
	Isocalórico	CLA	638.071	5349.061	.999	-14271.52	15547.66
		Aceite	6554.786	5349.061	.618	-8354.81	21464.38
		TZD	4854.929	5349.061	.801	-10054.66	19764.52
Leptina.Final	CLA	Aceite	841.857	3664.561	.996	-9372.48	11056.19
		TZD	-1432.714	3664.561	.979	-11647.05	8781.62
		Isocalórico	15649.250(*)	4297.079	.008	3671.88	27626.62

	Aceite	CLA	-841.857	3664.561	.996	-11056.19	9372.48	
		TZD	-2274.571	3664.561	.924	-12488.91	7939.77	
		Isocalórico	14807.393(*)	4297.079	.012	2830.02	26784.76	
	TZD	CLA	1432.714	3664.561	.979	-8781.62	11647.05	
		Aceite	2274.571	3664.561	.924	-7939.77	12488.91	
		Isocalórico	17081.964(*)	4297.079	.004	5104.59	29059.34	
	Isocalórico	CLA	-15649.250(*)	4297.079	.008	-27626.62	-3671.88	
		Aceite	-14807.393(*)	4297.079	.012	-26784.76	-2830.02	
		TZD	-17081.964(*)	4297.079	.004	-29059.34	-5104.59	
Diferencia Leptina .ini.fin	CLA	Aceite	5074.85714	5189.514	.763	-9390.02	19539.73	
		TZD	5649.57143	5189.514	.700	-8815.31	20114.45	
		Isocalórico	-16287.32143	6085.244	.063	-33248.89	674.2560	
	Aceite	CLA	-5074.85714	5189.514	.763	-19539.73	9390.02	
		TZD	574.71429	5189.514	.999	-13890.16	15039.59	
		Isocalórico	-					
	TZD	CLA	21362.17857(*)	6085.244	.010	-38323.75	-4400.60	
		Aceite	-5649.57143	5189.514	.700	-20114.45	8815.31	
		Isocalórico	-574.71429	5189.514	.999	-15039.59	13890.16	
	Isocalórico	CLA	21936.89286(*)	6085.244	.008	-38898.47	-4975.31	
		Aceite	-					
		TZD	16287.32143	6085.244	.063	-674.25	33248.89	
		CLA	Aceite	21362.17857(*)	6085.244	.010	4400.60	38323.75
			Isocalórico	-				
			TZD	21936.89286(*)	6085.244	.008	4975.31	38898.47

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

## Subconjuntos homogéneos

### Leptina.Inicial

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
Aceite	7	18155.71
TZD	7	19855.57
CLA	7	24072.43
Isocalórico	4	24710.50
Sig.		.562

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Leptina.Final

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
Isocalórico	4	2965.75	
Aceite	7		17773.14
CLA	7		18615.00
TZD	7		20047.71
Sig.		1.000	.940

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Diferencia.Leptina.ini.fin

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
TZD	7	-192.1429	
Aceite	7	382.5714	
CLA	7	5457.4286	
Isocalórico	4		21744.7500
Sig.		.752	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

## Interleucina 6 durante la fase II

### Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
IL6.Inicial	CLA	3	33.400	3.666	2.117	24.293	42.507	30.2	37.4
	Aceite	4	40.500	29.570	14.785	-6.552	87.552	12.1	73.8
	TZD	4	13.975	4.255	2.128	7.204	20.746	11.0	20.2
	Isocalórico	3	66.967	35.246	20.349	-20.588	154.522	28.7	98.1
	Total	14	37.071	27.861	7.446	20.985	53.158	11.0	98.1
IL6.Final	CLA	3	45.900	29.132	16.819	-26.468	118.268	27.7	79.5
	Aceite	4	67.725	41.401	20.701	1.847	133.603	18.4	119.4
	TZD	4	66.650	33.790	16.895	12.882	120.418	30.5	104.5
	Isocalórico	3	17.267	5.969	3.446	2.440	32.093	12.1	23.8
	Total	14	51.929	34.988	9.351	31.727	72.130	12.1	119.4
Diferenci	CLA	3	-12.500	32.095	18.530	-92.230	67.230	-49.3	9.7

a.IL6.ini.fin	Aceite	4	-27.225	55.370	27.685	-115.332	60.882	-62.7	55.4
	TZD	4	-52.675	35.215	17.607	-108.710	3.360	-93.0	-19.5
	Isocalórico	3	49.700	32.543	18.789	-31.141	130.541	12.8	74.3
	Total	14	-14.857	52.586	14.054	-45.219	15.505	-93.0	74.3

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
IL6.Inicial	7.893	3	10	.005
IL6.Final	1.457	3	10	.284
Diferencia.IL6.ini.fin	.712	3	10	.567

### ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
IL6.Inicial	Inter-grupos	4902.414	3	1634.138	3.149	.073
	Intra-grupos	5188.814	10	518.881		
	Total	10091.229	13			
IL6.Final	Inter-grupos	5578.364	3	1859.455	1.799	.211
	Intra-grupos	10336.144	10	1033.614		
	Total	15914.509	13			
Diferencia.IL6.ini.fin	Inter-grupos	18852.159	3	6284.053	3.676	.051
	Intra-grupos	17096.195	10	1709.620		
	Total	35948.354	13			

### Pruebas post hoc

#### Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
IL6.Inicial	CLA	Aceite	-7.1000	17.3977	.976	-60.326	46.126
		TZD	19.4250	17.3977	.688	-33.801	72.651
		Isocalórico	-33.5667	18.5990	.326	-90.467	23.334
	Aceite	CLA	7.1000	17.3977	.976	-46.126	60.326
		TZD	26.5250	16.1072	.398	-22.753	75.803
		Isocalórico	-26.4667	17.3977	.461	-79.692	26.759
	TZD	CLA	-19.4250	17.3977	.688	-72.651	33.801
		Aceite	-26.5250	16.1072	.398	-75.803	22.753
		Isocalórico	-52.9917	17.3977	.051	-106.217	.234
	Isocalórico	CLA	33.5667	18.5990	.326	-23.334	90.467
		Aceite	26.4667	17.3977	.461	-26.759	79.692

		TZD	52.9917	17.3977	.051	-.234	106.217
IL6.Final	CLA	Aceite	-21.8250	24.5549	.811	-96.947	53.297
		TZD	-20.7500	24.5549	.832	-95.872	54.372
		Isocalórico	28.6333	26.2503	.703	-51.676	108.942
	Aceite	CLA	21.8250	24.5549	.811	-53.297	96.947
		TZD	1.0750	22.7334	1.000	-68.475	70.625
		Isocalórico	50.4583	24.5549	.232	-24.664	125.580
	TZD	CLA	20.7500	24.5549	.832	-54.372	95.872
		Aceite	-1.0750	22.7334	1.000	-70.625	68.475
		Isocalórico	49.3833	24.5549	.247	-25.739	124.505
	Isocalórico	CLA	-28.6333	26.2503	.703	-108.942	51.676
		Aceite	-50.4583	24.5549	.232	-125.580	24.664
		TZD	-49.3833	24.5549	.247	-124.505	25.739
Diferencia. IL6.ini.fin	CLA	Aceite	14.72500	31.57971	.965	-81.8886	111.3386
		TZD	40.17500	31.57971	.599	-56.4386	136.7886
		Isocalórico	-62.20000	33.76013	.310	-165.4842	41.0842
	Aceite	CLA	-14.72500	31.57971	.965	-111.3386	81.8886
		TZD	25.45000	29.23713	.820	-63.9968	114.8968
		Isocalórico	-76.92500	31.57971	.133	-173.5386	19.6886
	TZD	CLA	-40.17500	31.57971	.599	-136.7886	56.4386
		Aceite	-25.45000	29.23713	.820	-114.8968	63.9968
		Isocalórico	-				
	Isocalórico	CLA	102.37500(*)	31.57971	.037	-198.9886	-5.7614
		Aceite	62.20000	33.76013	.310	-41.0842	165.4842
		TZD	76.92500	31.57971	.133	-19.6886	173.5386
		TZD	102.37500(*)	31.57971	.037	5.7614	198.9886

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

## Subconjuntos homogéneos

### IL6.Inicial

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
TZD	4	13.975
CLA	3	33.400
Aceite	4	40.500
Isocalórico	3	66.967
Sig.		.051

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.429.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.



### IL6.Final

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
Isocalórico	3	17.267
CLA	3	45.900
TZD	4	66.650
Aceite	4	67.725
Sig.		.232

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.429.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

### Diferencia.IL6.ini.fin

HSD de Tukey

Grupos	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
TZD	4	-52.6750	
Aceite	4	-27.2250	-27.2250
CLA	3	-12.5000	-12.5000
Isocalórico	3		49.7000
Sig.		.599	.133

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.429.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

## HOMA durante la fase II

### Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
HOMA.Inicial	CLA	7	7.906	4.337	1.639	3.895	11.917	2.9	15.48
	Aceite	7	9.134	6.294	2.379	3.314	14.955	2.8	21.92
	TZD	7	6.923	4.020	1.519	3.205	10.641	3.0	14.74
	Isocalórico	4	6.373	4.391	2.195	-0.614	13.359	2.1	11.07
	Total	25	7.729	4.705	0.941	5.787	9.671	2.1	21.92
HOMA.Final	CLA	7	14.636	9.699	3.666	5.666	23.606	6.4	35.43
	Aceite	7	8.957	6.659	2.517	2.798	15.116	1.5	17.7
	TZD	7	2.736	2.211	0.836	0.691	4.780	0.3	5.97
	Isocalórico	4	3.685	2.638	1.319	-0.513	7.883	1.0	6.59
	Total	25	7.962	7.810	1.562	4.738	11.185	0.3	35.43

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
HOMA.Inicial	0	3	21	0.862
HOMA.Final	2	3	21	0.111

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HOMA.Inicial	Inter-grupos	26	3	8.651	0.359	0.783
	Intra-grupos	505	21	24.063		
	Total	531	24			
HOMA.Final	Inter-grupos	583	3	194.357	4.634	0.012
	Intra-grupos	881	21	41.939		
	Total	1464	24			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
HOMA.Inicial	CLA	Aceite	-1.22857	2.62207	.965	-8.5371	6.0800
		TZD	.98286	2.62207	.982	-6.3257	8.2914
		Isocalórico	1.53321	3.07465	.958	-7.0369	10.1033
	Aceite	CLA	1.22857	2.62207	.965	-6.0800	8.5371
		TZD	2.21143	2.62207	.833	-5.0971	9.5200
		Isocalórico	2.76179	3.07465	.806	-5.8083	11.3319
	TZD	CLA	-.98286	2.62207	.982	-8.2914	6.3257
		Aceite	-2.21143	2.62207	.833	-9.5200	5.0971
		Isocalórico	.55036	3.07465	.998	-8.0197	9.1204
	Isocalórico	CLA	-1.53321	3.07465	.958	-10.1033	7.0369
		Aceite	-2.76179	3.07465	.806	-11.3319	5.8083
		TZD	-.55036	3.07465	.998	-9.1204	8.0197
HOMA.Final	CLA	Aceite	5.67857	3.46158	.379	-3.9700	15.3271
		TZD	11.90000 (*)	3.46158	.012	2.2515	21.5485
		Isocalórico	10.95071	4.05906	.060	-.3632	22.2646
	Aceite	CLA	-5.67857	3.46158	.379	-15.3271	3.9700
		TZD	6.22143	3.46158	.302	-3.4271	15.8700

	Isocalórico	5.27214	4.05906	.574	-6.0418	16.5861
TZD	CLA	-	3.46158	.012	-21.5485	-2.2515
	Aceite	-6.22143	3.46158	.302	-15.8700	3.4271
	Isocalórico	-.94929	4.05906	.995	-12.2632	10.3646
Isocalórico	CLA	-	4.05906	.060	-22.2646	.3632
	Aceite	-5.27214	4.05906	.574	-16.5861	6.0418
	TZD	.94929	4.05906	.995	-10.3646	12.2632

\* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

### Subconjuntos homogéneos

#### HOMA.Inicial

HSD de Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = .05
	1	1
Isocalórico	4	6.3725
TZD	7	6.9229
CLA	7	7.9057
Aceite	7	9.1343
Sig.		.770

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

#### HOMA.Final

HSD de Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = .05	
	1	2	1
TZD	7	2.7357	
Isocalórico	4	3.6850	
Aceite	7	8.9571	8.9571
CLA	7		14.6357
Sig.		.374	.452

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.895.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

## RESUMEN CURRICULAR

Sonia Leticia Ramírez Garza

Candidato para el Grado de  
Maestro en Ciencias en Nutrición

Tesis: EFECTO DE LA MEZCLA DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO, *CIS*-9  
*TRANS*-11 Y *TRANS*-10 *CIS*-12, EN LA RESPUESTA A LA INSULINA  
EN UN MODELO EXPERIMENTAL DIABETIZADO CON DIETA  
HIPERCALORICA

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, el 8 de Noviembre de  
1985, hija de Anselmo Ramírez Rodríguez y Hermelinda Garza Toscano.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado  
obtenido Licenciado en Nutrición.

Experiencia Profesional: Difusión y relaciones públicas en industria alimenticia  
del 2008 al 2009, asistente de investigación en el Centro de Investigación  
Biomédicas del Instituto Mexicano del Seguro Social del 2011 al 2012,  
docente en el TecMilenio a partir del 2012, docente en la Facultad de  
Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León a partir  
del 2012.