



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN Y TIPO DE PROTEÍNA  
DIETARIA EN UN MODELO ANIMAL CON OBESIDAD  
GENÉTICA E HIPERINSULINEMIA SOBRE LA  
LIPOGÉNESIS RENAL**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**MARÍA GABRIELA BÁRCENAS OCHOA**



**MÉXICO, D.F. a**

**DE 2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: Profesor: LUCÍA CORNEJO BARRERA**

**VOCAL: Profesor: MARÍA DE LOURDES OSNAYA SUÁREZ**

**SECRETARIO: Profesor: CLAUDIA TERESA TOVAR PALACIO**

**1er. SUPLENTE: Profesor: LILIANA ROCÍO GONZÁLEZ OSNAYA**

**2° SUPLENTE: Profesor: MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ**

**SITIO DONDE SE REALIZÓ EL TEMA:**

**DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA Y METABOLISMO MINERAL, Y  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA DE LA NUTRICIÓN DEL  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR  
ZUBIRÁN.  
FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

DRA. CLAUDIA TERESA TOVAR PALACIO

---

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

DRA-ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

---

**SUSTENTANTE:**

MARÍA GABRIELA BÁRCENAS OCHOA

---

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química y a la UNAM, en donde pude encontrar las herramientas necesarias para el desenvolvimiento de mi persona, y en donde tuve experiencias satisfactorias que llevaré siempre conmigo.

Al INCMNSZ, lugar en donde la investigación y enseñanza, junto con el trabajo en equipo nos llevan hacia el camino del conocimiento.

A los Doctores Armando Tovar y Nimbe Torres, por haberme abierto las puertas y permitir que este gran proyecto pudiera llevarse a cabo.

Al todos los compañeros del INCMNSZ quienes me brindaron su amistad y apoyo en todo momento.

A la Dra. Claudia Tovar, a quien le tengo una profunda admiración y quien me ha enseñado que sí se puede llegar a la meta. Te agradezco Claudia por todas tus enseñanzas y apoyo que a cada momento me brindaste. Por las correcciones y paciencia para lograr este proyecto. Te agradezco también tu amistad y por el gran ser humano que eres.

A la Dra. Carmen Durán, de quien he aprendido que los objetivos y metas se alcanzan a base de trabajo, esfuerzo y dedicación. Le agradezco su tiempo y paciencia conmigo para poder desarrollar este trabajo. También le agradezco los regaños, de los cuales me llevo también una gran enseñanza.

A Dios, por la gran oportunidad de dejarme disfrutar la vida, y de compartirla con todas las personas que quiero.

## DEDICATORIAS

A mi mamá, a quien le debo lo que soy. Gracias por brindarme tu apoyo incondicional en cada momento de mi vida. Gracias por ser mi mamá, **TE AMO** mamita.

A mi papá, por enseñarme que nunca es tarde... Gracias papá por todas tus enseñanzas y apoyo que me has brindado, por comprenderme y por hacerme ver que no hay nada más importante en la vida, que ser FELIZ. Muchas gracias por ser mi amigo.

A mi abuelita Emma <sup>+</sup> y a mi abuelito Fernando, a quienes amo infinitamente y quienes me han apoyado durante toda mi vida. Muchas gracias!!!

A mis hermanos Manuel y Évelyn quienes siempre serán parte de mi vida.

A todos mis amigos: Ursula, Vero, Leslie, Ivonne, Bere, Frida, Lulú, Martha, Ruth, Lalo y Magic, Gracias por dejarme ser parte de ustedes.

A mis primos Lore y Bebo. Gracias por estar conmigo, los quiero muchísimo.

A mi primo Rafa por dejarme conocer la excelente persona que es, y por brindarme su amistad.

A Camila, por haberme dejado disfrutar 13 maravillosos años a su lado.

A toda mi familia, porque a cada uno de ellos les debo un "GRACIAS".

## ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	11
CAPÍTULO 1	12
INTRODUCCIÓN	12
1.1 OBJETIVOS	13
1.1.1 Objetivo general del proyecto	13
1.1.2 Objetivos generales de esta investigación	13
1.2 HIPÓTESIS	14
CAPÍTULO 2	15
MARCO TEÓRICO	15
2.1 OBESIDAD	15
2.1.1 Definición de obesidad	15
2.1.2 Epidemiología de la obesidad	15
2.1.3 Papel de la obesidad en la progresión del daño renal	15
2.2 SÍNDROME METABÓLICO	16
2.2.1 Síndrome de resistencia a la insulina	17
2.3 PROTEÍNA DIETARIA	18
2.3.1 Caseína	18
2.3.2 Soya	20
2.3.2.1 Composición de la soya	20
2.3.2.2 El impacto de la soya en la salud	22
2.3.2.3 El papel de la soya en las enfermedades renales	23
2.4 INSULINA	24
2.4.1 Receptor de la insulina y mecanismos celulares resultantes	25
2.4.2 Efecto de la insulina en el metabolismo de los hidratos de carbono	26
2.4.3 Función de la insulina en el intercambio del metabolismo entre hidratos de carbono y lípidos	27
2.5 DIABETES MELLITUS	27
2.5.1 Definición	27
2.5.2 Clasificación	28
2.5.3 Epidemiología de la diabetes en México	28
2.5.4 Diabetes mellitus Tipo 1	29
2.5.5 Diabetes mellitus Tipo 2	29
2.5.6 Acción deficiente del receptor de insulina	30

2.6 RIÑÓN	30
2.6.1 Estructura del riñón	30
2.6.1.1 Anatomía macroscópica	30
2.6.1.2 Anatomía microscópica del riñón	31
2.6.2 Función renal	35
2.6.3 Insuficiencia renal	36
2.6.4 Nefropatía diabética	36
2.7 MODELO ANIMAL (RATA ZUCKER <sup>fa/fa</sup> )	40
2.8 LA LEPTINA Y SU RECEPTOR	42
2.8.1 Receptor de leptina	43
2.9 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	43
2.9.1 Colesterol	43
2.9.2 Triglicéridos	44
2.9.3 Creatinina	45
2.9.4 Nitrógeno ureico en sangre ( <i>BUN, blood ureic nitrogen</i> )	45
CAPÍTULO 3	46
DISEÑO EXPERIMENTAL	46
3.1 DIAGRAMA DE FLUJO	47
3.2 MODELO ANIMAL Y TRATAMIENTOS DIETARIOS	48
3.3 ALIMENTACIÓN	48
3.4 MÉTODOS	50
3.4.1 Medición de “peso” e ingestión de alimento	50
3.4.2 Recolección de orina	51
3.4.3 Obtención de muestras y tejidos	51
3.4.4 Determinación de parámetros bioquímicos	52
3.4.5 Determinación de colesterol y triglicéridos en tejido	52
3.4.6 Determinación de parámetros hormonales	52
3.4.7 Análisis de la función renal	53
3.5 FUNDAMENTOS DE LAS PRUEBAS	53
3.5.1 Glucosa	53
3.5.2 Colesterol	53
3.5.3 Triglicéridos	55
3.5.4 Extracción de lípidos en riñón	57
3.5.5 Insulina	58
3.5.6 Creatinina	59
3.5.7 Nitrógeno ureico en sangre	61
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	63

CAPÍTULO 4	64
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
4.1 ANÁLISIS PREVIO DE LA FUNCIÓN RENAL	64
4.2 CONSUMO DE ALIMENTO	64
4.3 INCREMENTO DE “PESO”	65
4.4 DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS EN SUERO Y EN EL TEJIDO RENAL	68
4.4.1 Determinación de colesterol en suero	68
4.4.2 Determinación de triglicéridos en suero	68
4.4.3 Determinación de colesterol en riñón	71
4.4.4 Determinación de triglicéridos en el riñón	71
4.5 DETERMINACIÓN DE GLUCOSA E INSULINA	74
4.5.1 Determinación de glucosa	74
4.5.2 Insulina en suero sanguíneo	74
4.6 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO Y ORINA PARA EVALUAR LA FUNCIÓN RENAL	76
4.6.1 Creatinina en suero	76
4.6.2 Creatinina en orina	78
4.6.3 Nitrógeno ureico en sangre	78
4.7 DISCUSIÓN FINAL DE RESULTADOS	81
CAPÍTULO 5	85
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	85
5.1 CONCLUSIONES	85
5.2 RECOMENDACIONES Y ESTUDIOS A FUTURO	86
APÉNDICE	87
A.1 Diferencia entre “peso” y masa	87
A.2 Datos experimentales	87
A.3 Análisis estadístico	93
GLOSARIO	113
ABREVIATURAS	118
BIBLIOGRAFÍA	121

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1 Contenido proteínico y caseínico de la leche de algunas especies animales <sup>28</sup>	19
Tabla 2.2 Composición de la proteína de soya en 100g de base seca <sup>44</sup>	21
Tabla 3.1 Dietas administradas a las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup>	48
Tabla 3.2 Mezcla de nutrimentos inorgánicos de marca Harlan Teklad (g/kg)	49
Tabla 3.3 Mezcla de vitaminas de marca Harlan Teklad (g/kg)	49
Tabla 3.4 Formulación de dietas	51
Tabla 4.1 Creatinina basal en mg/dL en orina de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup>	64
Tabla A.2.1 Creatinina basal en mg/dL en orina de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup>	87
Tabla A.2.2 Consumo de alimento promedio (g/día) de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante la experimentación	88
Tabla A.2.3 Incremento de peso promedio (g/día) de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante la experimentación	89
Tabla A.2.4.1 Concentraciones de colesterol promedio en suero	90
Tabla A.2.4.2 Concentraciones de triglicéridos promedio en suero	90
Tabla A.2.4.3 Concentraciones de colesterol promedio en riñón	90
Tabla A.2.4.4 Concentraciones de triglicéridos promedio en riñón	91
Tabla A.2.5.1 Concentraciones de glucosa promedio en suero de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup>	91
Tabla A.2.5.2 Concentraciones de insulina promedio en suero de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup>	91
Tabla A.2.6.1. Concentraciones de creatinina promedio en suero	92
Tabla A.2.6.2. Concentraciones de creatinina promedio en orina	92
Tabla A.2.6.3 Concentraciones de nitrógeno ureico en sangre promedio ( <i>BUN</i> )	92

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1 Mecanismos relacionados con el desencadenamiento de la enfermedad renal <sup>19</sup>	16
Figura 2.2 La molécula de insulina humana <sup>22</sup>	25
Figura 2.3 Esquema de la transducción de señal en la acción de la insulina <sup>86</sup>	26
Figura 2.4 Sección de un riñón humano <sup>98</sup>	31
Figura 2.5 Nefrona y partes que la componen <sup>98</sup>	32
Figura 2.6 Diferencias entre una nefrona cortical y una yuxtamedular <sup>107</sup>	32
Figura 2.7 Anatomía del glomérulo <sup>98</sup>	34
Figura 2.8 Modelo de obesidad genético: Rata Zucker <sup>fa/fa</sup> <sup>121</sup>	41
Figura 2.9 Balance energético. Papel de la leptina como señal aferente <sup>9</sup>	42

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 4.1 Consumo de Alimento de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> por día	66
Gráfica 4.2 Incremento de “peso” de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante los 55 días de estudio	67
Gráfica 4.3 Concentraciones de colesterol en el suero sanguíneo de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	69
Gráfica 4.4 Concentraciones de triglicéridos en el suero sanguíneo de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	70
Gráfica 4.5 Niveles de colesterol en el tejido renal de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	72
Gráfica 4.6 Niveles de triglicéridos en el tejido renal de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	73
Gráfica 4.7 Valores de glucosa en el suero sanguíneo de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	75
Gráfica 4.8 Concentraciones de Insulina en el suero sanguíneo de las ratas	76

	Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	
Gráfica 4.9	Concentraciones de creatinina en el suero sanguíneo de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	77
Gráfica 4.10	Concentraciones de creatinina en orina de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	79
Gráfica 4.11	Niveles de Nitrógeno ureico en suero sanguíneo de las ratas Zucker <sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio	80

## RESUMEN

La obesidad es calificada por la Organización Mundial de la Salud como la epidemia del siglo XXI. En la obesidad se producen principalmente alteraciones en el metabolismo de lípidos y ésta se encuentra asociada con patologías como hipertensión arterial, dislipidemia, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 y daño renal. Las dietas altas en proteína han sido una importante opción para lograr la pérdida de “peso”<sup>\*</sup> del paciente obeso, ya que el suprimir el consumo de hidratos de carbono y lípidos disminuye la generación de depósitos de grasa en el organismo, los cuales contribuyen al incremento de “peso” y desórdenes metabólicos tales como la hiperinsulinemia que resulta ser un factor precedente de la resistencia a la insulina, lo cual complica el proceso de obesidad. Al mismo tiempo que una dieta alta en proteína puede ayudar a la pérdida de “peso” en los pacientes obesos, se cree que también puede llegar a ser perjudicial para el funcionamiento renal y más aún en las personas diabéticas. Por otro lado, existe evidencia de que la proteína de origen vegetal retarda el desarrollo y la progresión del daño renal en estudios conducidos en humanos, así como en modelos animales. Por lo anteriormente descrito el objetivo de esta propuesta es estudiar el impacto a nivel renal que tienen algunos nutrimentos como la proteína dietaria (tipo y concentración) en un modelo animal de obesidad genética conocido como rata Zucker<sup>fa/fa</sup> que presenta una modificación genética en el receptor de la leptina e hiperinsulinemia. Teniendo 6 grupos de 8 ratas, a cada uno se le suministró una dieta en donde se varió la concentración (20,30,45%) y tipo de proteína dietaria (caseína y soya). Se alimentaron por un periodo de 55 días en el cual se registraron la ganancia de “peso” y el consumo de alimento. Al término de los 55 días se procedió al sacrificio de los especímenes mediante decapitación para recolectar la sangre y el tejido renal, y posteriormente se llevó a cabo el análisis de los parámetros bioquímicos (colesterol y triglicéridos en suero y en el tejido renal) con “kits” de diagnóstico. Se determinó la concentración de glucosa e insulina en el suero sanguíneo y para el análisis de la función renal, se determinó la concentración de creatinina y nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, por sus siglas en inglés). Los resultados obtenidos reflejaron que la proteína de soya no ayudó a disminuir las concentraciones de glucosa en sangre con respecto a la caseína. La hiperinsulinemia característica de este modelo animal de obesidad mostró una tendencia a disminuir con concentraciones más altas de proteína de soya (30 y 45%). El consumo de proteína de soya también ayudó a disminuir la concentración de colesterol en el organismo, pero no a disminuir los niveles de triglicéridos. En general, la proteína de soya en concentraciones del 30% parece disminuir la progresión hacia el daño renal con respecto a la proteína de origen animal.

Palabras clave: Concentración y tipo de proteína dietaria, modelo animal con obesidad genética, hiperinsulinemia, lipogénesis renal

\*El **peso**, en **física**, es la medida de la **fuerza** que ejerce la **gravedad** sobre la **masa** de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la **intensidad del campo gravitatorio**, de la **posición** relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de **materia**, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo **erróneamente** como sinónimo de masa. La unidad de masa del **SI** es el **kilogramo**, kg

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la obesidad representa una pandemia que afecta a más de 300 millones de personas en el mundo y la tendencia actual va en constante aumento. Entre las enfermedades asociadas a la obesidad se encuentran la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, dislipidemia y daño renal.

Dentro de las alteraciones fisiológicas más importantes de la obesidad se encuentra la alteración en el metabolismo de los lípidos y está asociada con patologías diversas, incluyendo el daño renal.<sup>1</sup>

La acumulación de lípidos parece tener un papel significativo en la génesis de algunas enfermedades renales. Inicialmente se propuso que la formación de depósitos de lípidos a nivel renal obedecía exclusivamente a niveles elevados de éstos en suero.

Recientemente se ha encontrado que la síntesis endógena de lípidos juega un papel fundamental en el desarrollo de estos depósitos en el riñón.<sup>2</sup>

Algunas de las metodologías que se han empleado para combatir los grados extremos de obesidad y tratar de evitar las enfermedades asociadas a ella, son las dietas altas en proteína, ya que una persona obesa al restringir el consumo de hidratos de carbono y grasas en la dieta, disminuye la formación de depósitos de lípidos en el organismo ayudándolo a perder “peso”. Es por ello que las dietas con mayor contenido de proteína están asociadas a menor riesgo de muchos problemas de salud, tales como, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y renales.

Se conoce como síndrome metabólico a la conjunción de varias enfermedades en un mismo individuo, que aumentan el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus, o enfermedad renal.<sup>3,4</sup>

Es importante señalar que la resistencia a la insulina es una anormalidad fisiológica que está estrechamente relacionada con el síndrome metabólico y se les ha asociado con el riesgo de la aparición de enfermedad renal crónica.<sup>5</sup>

Por otro lado existe evidencia de que la proteína de origen vegetal retarda el desarrollo y la progresión del daño renal en estudios conducidos en humanos, así como en varios modelos animales.<sup>6</sup>

Por lo anteriormente descrito, este proyecto está dirigido a estudiar el impacto a nivel renal que tienen las proteínas de origen animal (caseína) y vegetal (soya) en diferentes concentraciones (20, 30 y 45%), en un modelo animal (rata Zucker<sup>fa/fa</sup>) que presenta hiperinsulinemia y una modificación genética en el receptor de la leptina (a nivel del sistema nervioso central), razón por la cual, dicho receptor no tiene un funcionamiento adecuado y no transmite la señal al cerebro para cumplir con su función. Con ello, se favorece a la obesidad y se tiene una estimulación constante del apetito, característica común de estos animales que no logran tener saciedad y consumen alimento de manera muy prolongada, alcanzando grados de obesidad extremos. En una investigación simultánea a ésta, en el marco del mismo proyecto, se determinaron: El consumo calórico de las ratas con cada uno de los tratamientos dietarios en donde se varió la concentración y el tipo de proteína y los parámetros bioquímicos del perfil de lípidos (colesterol y triglicéridos en suero). Por ello, esta investigación se abocó a determinar lo siguiente.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo general del proyecto**

Evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria sobre el metabolismo intrarrenal y sistémico de lípidos en un modelo animal de obesidad genética.

### **1.1.2 Objetivos generales de esta investigación**

- Determinar el efecto lipogénico de tratamientos dietarios, variando la concentración (20, 30 y 45%) y tipo de proteína (caseína y soya), en un modelo animal de obesidad genética con hiperinsulinemia (rata Zucker<sup>fa/fa</sup>), mediante el seguimiento de la masa corporal y el consumo de alimento.
- Determinar la concentración de glucosa en el suero sanguíneo de las ratas sometidas a los diferentes tratamientos dietarios en donde se varía la concentración y el tipo de proteína.
- Determinar la concentración de insulina en el suero sanguíneo.

- Analizar los parámetros bioquímicos del perfil de lípidos (colesterol y triglicéridos en suero) en las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> sometidas a los diferentes tratamientos dietarios.
- Determinar el efecto de los tratamientos dietarios sobre la acumulación de colesterol y triglicéridos en el tejido renal.
- Determinar la función renal mediante el análisis de parámetros bioquímicos como creatinina y nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, por sus siglas en inglés, *blood ureic nitrogen*)

## 1.2 HIPÓTESIS

Si se administra una dieta con niveles moderadamente altos de proteína de origen vegetal, entonces deberá disminuir la glicemia, la concentración de insulina en suero sanguíneo y la lipogénesis renal y sistémica.

## **CAPÍTULO 2**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 OBESIDAD**

##### **2.1.1 Definición de obesidad**

La palabra obesidad proviene del latín, *obesitas*, que significa excesiva corpulencia<sup>7,8</sup> y es el aumento de la grasa corporal. Hoy se define como “enfermedad causada por exceso de grasa corporal” y es una enfermedad crónica que puede causar graves complicaciones médicas, alteración en la calidad de la vida y mortalidad prematura. La obesidad se clasifica en grados según el índice de masa corporal IMC, que es el “peso” (kg) dividido por la talla al cuadrado ( $m^2$ ). El IMC es una determinación subjetiva, ya que puede variar de una persona a otra por su raza, sexo, musculatura, edad, estructura ósea, proporciones de tejido muscular y adiposo<sup>7</sup>.

##### **2.1.2 Epidemiología de la obesidad**

En los países desarrollados y aún en las economías emergentes, el “sobrepeso” y la obesidad están adquiriendo dimensiones epidémicas y constituyen en la actualidad uno de los principales problemas de salud, principalmente en la población adulta. Se trata de un problema a menudo subestimado pero que tiene una repercusión potencial sobre la salud.

Este problema se ha detectado en personas de cualquier edad y sexo, aunque en mayor proporción en el género femenino. Algunas de las causas que han dado lugar a este incremento son, el aumento de la densidad energética de la dieta y un menor nivel de actividad física.

La obesidad representa un riesgo para enfermedades coronarias, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, daño renal y otras alteraciones importantes.<sup>9-12</sup>

##### **2.1.3 Papel de la obesidad en la progresión del daño renal**

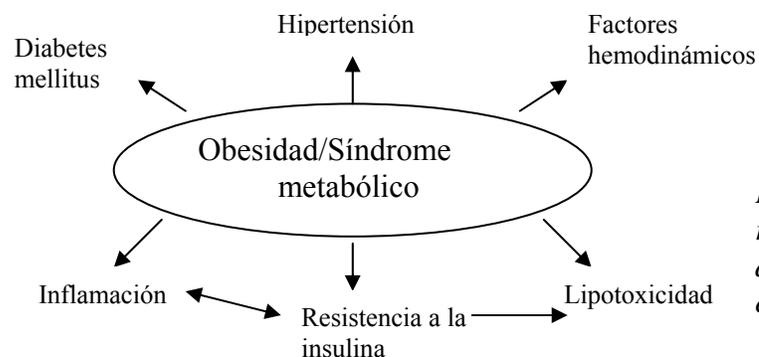
Estudios fisiológicos en modelos experimentales de obesidad y también en sujetos obesos sin diabetes, han demostrado que la obesidad se asocia constantemente con una hiperfiltración glomerular, es decir con un aumento del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal notable a los observados en los modelos clásicos experimentales. Por otro lado, la pérdida de “peso” lleva a los parámetros de funcionalismo renal hacia la normalidad.<sup>13</sup>

La aparición de proteinuria en la insuficiencia renal en sujetos con reducción de masa renal, se relaciona estrechamente con la presencia de obesidad o “sobrepeso”.

La obesidad puede jugar un papel patogénico en la evolución de diversas patologías renales proteinúricas, particularmente en la nefropatía de la diabetes tipo 2.<sup>14</sup>

## 2.2 SÍNDROME METABÓLICO

Se le distingue al síndrome metabólico con la asociación de intolerancia a los hidratos de carbono, resistencia a la insulina, dislipidemia, hiperlipidemias, hiperuricemia y obesidad. La resistencia a la insulina parece ser el común denominador de alteraciones metabólicas que lo caracterizan. Dada la importancia de la relación entre resistencia a la insulina y el síndrome metabólico es necesario dilucidar los mecanismos fisiopatológicos involucrados. La teoría metabólica sostiene que la hiperinsulinemia compensatoria resultante de la resistencia a insulina es el factor responsable de la hipertensión arterial, diabetes tipo 2, dislipidemia, obesidad, disfunción endotelial y aterosclerosis. La resistencia a la insulina depende de alteraciones de su receptor y defectos intracelulares.<sup>15</sup> La resistencia a la insulina se define como una inadecuada respuesta de la insulina exógena o endógena. Esta inadecuada respuesta no está estrictamente ligada a la relación entre insulina y glucosa, sino que se extiende a otras acciones biológicas de la hormona, incluso sus efectos sobre el metabolismo lipídico y proteínico.<sup>7,16-18</sup> Por otro lado, en estudios recientes<sup>19</sup> se ha relacionado, tanto al síndrome metabólico como a la obesidad, como posibles causantes de la enfermedad renal crónica. De igual manera, la resistencia a la insulina e hiperinsulinemia aún en ausencia de diabetes ha sido estrechamente relacionada con la enfermedad renal.<sup>5</sup> Los mecanismos por los cuales la obesidad y el síndrome metabólico pueden llegar a desencadenar la enfermedad renal se observan en la Figura 2.1.



*Fig. 2.1 Mecanismos relacionados con el desencadenamiento de la enfermedad renal<sup>19</sup>*

### **2.2.1 Síndrome de resistencia a la insulina**

La resistencia a la insulina se define como una disminución en la respuesta biológica a una concentración dada de la hormona; en otras palabras, es la disminución de la sensibilidad de las células a la acción de la insulina.

La mayoría de los casos de resistencia a la insulina se asocia a una alteración del metabolismo que se denomina síndrome metabólico, en el que se encuentran incluidas la intolerancia a la glucosa, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad y la dislipidemia.

La resistencia a la insulina se puede medir de diversas maneras, pero la más confiable se relaciona con las llamadas técnicas de “clamp”. Estas técnicas consisten en cuantificar la capacidad de la insulina endógena para estimular la utilización de glucosa en condiciones estables.

En los pacientes con diabetes tipo 2, la sensibilidad a la insulina disminuye de manera franca en el momento del diagnóstico, más allá del grado de hiperglucemia. En las etapas clínicas que preceden a la diabetes, la sensibilidad a la insulina disminuye en forma progresiva y la resistencia a la insulina no se manifiesta como hiperglucemia ni como intolerancia a la glucosa mientras las células mantengan la capacidad de compensarla.

La insulina ejerce su efecto sobre el transporte de glucosa al interior de la célula a través del receptor de insulina. Este receptor está compuesto por una subunidad alfa, que se localiza en el exterior de la membrana y que se une por puentes disulfuro a la subunidad beta, que es una proteína transmembrana. La insulina se une a la subunidad alfa y esto propicia de inmediato una autofosforilación de la subunidad beta, que tiene lugar en residuos de tirosina y serina, de modo que se considera que la subunidad beta tiene una función de tirosinasa. La autofosforilación de la tirosina parece estar en estrecha relación con el transporte de glucosa hacia las células.<sup>20</sup>

Otro mecanismo celular de la resistencia a la insulina en la diabetes tipo 2 se relaciona con las proteínas transportadoras de glucosa. La exposición de las células a la insulina da como resultado una translocación de las proteínas transportadoras de glucosa a partir de un depósito intracelular en los microsomas de baja densidad hacia la membrana celular. Las células de pacientes con diabetes tipo 2 tienen una disminución marcada de las proteínas transportadoras de glucosa, tanto en los microsomas de baja densidad como en la membrana celular. Los obesos no diabéticos tienen un número normal de proteínas transportadoras en la membrana celular, y un número reducido en los microsomas de baja densidad; además, el efecto de translocación disminuye en

ellos. Estas proteínas transportadoras se designan como GLUT y de ellas la GLUT-4 se expresa en los dos tipos de tejidos en donde la acción de la insulina es predominante: el tejido adiposo y el músculo esquelético.<sup>20</sup>

Este transportador, en presencia de la insulina, se inserta en la membrana plasmática y se encarga de transportar glucosa al interior de la célula para ser utilizada como fuente de energía o almacenada como glucógeno.

Cuando los niveles de insulina disminuyen, la GLUT-4 vuelve al estado inicial y el transporte de glucosa se detiene. Por esta razón, la GLUT-4 es una pieza clave en la regulación de los niveles de glucosa en la sangre.<sup>21</sup>

## **2.3 PROTEÍNA DIETARIA**

En el humano diariamente se degradan 20 a 30 g de proteínas corporales que se emplean para producir otros productos químicos del cuerpo.

Por lo tanto, todas las células deben seguir formando nuevas proteínas para reemplazar las que se están destruyendo, y con este fin se requiere cierta cantidad de estas sustancias en la dieta. Sin embargo algunas proteínas tienen cantidades insuficientes de ciertos aminoácidos esenciales, y por ello no se pueden emplear para elaborar proteínas corporales.

En general, las proteínas derivadas de fuentes animales son mucho más completas (contienen todos los aminoácidos esenciales para los humanos o animales, en los niveles apropiados para el organismo) que las derivadas de vegetales y granos. Por otro lado, cuando la dieta contiene abundancia de hidratos de carbono y grasas casi toda la energía corporal se deriva de ambos y muy poca de las proteínas.<sup>22-27</sup>

### **2.3.1 Caseína**

La caseína es una fosfoproteína de origen animal presente en la leche y en algunos de sus derivados. En la leche se encuentra en la fase soluble asociada al calcio en un complejo que se denomina caseinógeno (Tabla 2.1).<sup>28</sup>

Tabla 2.1 Contenido proteínico y caseínico de la leche de algunas especies animales<sup>28</sup>

Componente	Especie			
	humana	bovina	ovina	caprina
Proteínas (% del total lácteo)	1.3-1.5	3.2-3.5	5.4-6.0	3.1-4.0
Caseínas (% del total proteico)	44.9	82.5	84.8	81.3

La leche de la especie humana no sólo contiene menor proporción de proteínas, sino que además, contiene menos cantidad de caseínas que las otras especies.<sup>28-31</sup>

Las caseínas son un conjunto heterogéneo de proteínas por lo que es difícil fijar una definición. Sin embargo, todas las proteínas englobadas en lo que se denomina caseína tienen una característica común: precipitan cuando se acidifica la leche a pH 4.6. Por ello, a la caseína también se le suele denominar proteína insoluble de la leche. Por otra parte y aunque las proteínas que se denominan caseínas son específicas de cada especie, se clasifican en los siguientes grandes grupos de acuerdo con su movilidad electroforética:  $\alpha_{s1}$ -caseína,  $\alpha_{s2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína.<sup>32,33</sup>

La caseína  $\alpha_{s1}$  es la mayoritaria en la leche de vaca. La variante más común tiene 199 aminoácidos en su secuencia, con 8 ó 9 grupos fosfato. Desde el punto de vista estructural, está formada por tres regiones hidrofóbicas, con dos de ellas situadas en los extremos y una zona muy polar.

La caseína  $\alpha_{s2}$  está formada, en la vaca, por 207 aminoácidos. Esta caseína tiene un puente disulfuro entre las cisteínas que ocupan las posiciones 36 y 40 de la secuencia y es más hidrofílica que la caseína  $\alpha_{s1}$ , con tres regiones de carga neta negativa, una de ellas en el extremo N-terminal. En la zona del extremo C-terminal se sitúan aminoácidos hidrofóbicos y con carga neta positiva.<sup>34,35,36</sup>

La caseína  $\beta$  es la caseína más hidrofóbica, y presenta además estructura particular, con una clara división en dos zonas. La que corresponde al extremo C-terminal es particularmente hidrofóbica, mientras que los aminoácidos más hidrofílicos y todos los grupos fosfato unidos a serinas, se concentran en el extremo N-terminal. La variante genética más común en la vaca está formada por 209 aminoácidos, con cinco grupos fosfato.

La caseína  $\kappa$  tiene una estructura claramente distinta de la de las otras caseínas. Es algo más pequeña; está formada, en la vaca, por 169 aminoácidos. Además, está muy poco fosforilada, teniendo solamente un grupo de fosfato. Esto hace que interaccione con el ión calcio mucho

menos que las otras caseínas. Sin embargo, comparte con la caseína  $\beta$  la propiedad de tener zonas predominantemente hidrofílicas e hidrofóbicas bien marcadas y separadas.<sup>37,38</sup>

### **2.3.2 Soya**

El frijol de soya (*Glycine max*) es una leguminosa cultivada originalmente en China donde por más de 4000 años constituyó un alimento fundamental de la dieta. El frijol de soya representa una fuente inagotable de proteína vegetal, la cual ha sido ampliamente usada como un sustituto adecuado de proteína animal.

Se le considera una fuente alimenticia única gracias a su alto contenido de nutrimentos, de entre los que se encuentran hidratos de carbono, proteína vegetal, fibra dietética, oligosacáridos, ácidos grasos esenciales, fitoquímicos, vitaminas y algunos minerales, además de que debido a su origen vegetal no contiene colesterol.

La proteína de soya puede prevenir la aparición de enfermedades crónico-degenerativas como hipertensión y diabetes, así como también el riesgo de daño cardiovascular, ya que disminuye las concentraciones de colesterol total, el colesterol LDL, los triglicéridos y mantiene o incrementa el colesterol HDL.

Estudios en animales y humanos también han demostrado que la proteína de soya disminuye el riesgo o controla el daño renal. Es por ello que se sugiere el consumo de la misma en pacientes diabéticos con problemas renales.<sup>39</sup>

Entre los posibles mecanismos benéficos de la soya se encuentran sus niveles altos en arginina, que es un vasodilatador. Por eso, cuando se consume, se cree que puede haber un mayor flujo renal y mejor filtración en los riñones.<sup>40</sup>

#### **2.3.2.1 Composición de la soya**

La proteína de soya contiene casi todos los aminoácidos necesarios para el organismo así como un bajo porcentaje de grasas saturadas y ácidos grasos omega 3.<sup>41</sup> A pesar de que en la proteína de soya el contenido de metionina es bajo<sup>42</sup>, se le ha considerado un alimento de alto valor nutritivo, ya que la OMS a través de la FDA<sup>43</sup> evaluó que su índice de aminoácidos corregido por la digestibilidad de la proteína es de 1, convirtiéndola en consecuencia en una proteína similar en calidad a la albúmina de huevo o la caseína y, según esto, se le podría considerar como adecuada para el consumo humano.<sup>44</sup> La Tabla 2.2 presenta esta información.

Tabla 2.2 Composición de la proteína de soya en 100g de base seca<sup>44</sup>

Principales componentes de la proteína de soya en 100g de base seca.	
Nutrimento	Contenido/100g base seca
Hidratos de carbono simples (g)	21
Hidratos de carbono complejos (g)	9
Estaquiosa (mg)	3300
Rafinosa (mg)	1600
Proteína (g)	36
Ácidos grasos totales (g)	19
Grasa saturada (g)	2.8
Grasa monoinsaturada (g)	4.4
Grasa poliinsaturada (g)	11.2
Relación ácidos $\alpha$ -linolénico/linoleico	1.3:9.9
Fibra insoluble (g)	10
Fibra soluble (g)	7
Calcio (mg)	276
Magnesio (g)	280
Potasio (mg)	1797
Hierro (mg)	16
Zinc (mg)	4.8
Isoflavonas (mg)	530

Recientes investigaciones han centrado su interés en los componentes no nutricionales característicos de la proteína de soya como lo son los fitoestrógenos e isoflavonas (genisteína, diadzeína y gliciteína), donde se ha visto que tienen una acción única y específica a través de efectos que mejoran algunos estados patológicos.<sup>45</sup> Estos compuestos biológicamente activos, pueden tener un efecto ligeramente proestrogénico (agonista) o antiestrogénico (antagonista), con lo que se piensa podrían relacionarse con el tratamiento de enfermedades hormonal-dependientes, además de tener otras implicaciones biológicas como la inhibición del receptor 17- $\beta$ -estradiol, ampliamente involucrado en la regulación de la proliferación celular.<sup>46,47</sup>

Otra característica particular de la soya es su relación arginina:lisina, generalmente mayor que en cualquier otra proteína y a la que se ha pensado se debe el efecto protector observado en

enfermedades cardiovasculares, ya que induce disminuciones importantes de los lípidos.<sup>48-50</sup>

### **2.3.2.2- El impacto de la soya en la salud**

En las últimas tres décadas, se ha despertado el interés de varios investigadores por el estudio de los mecanismos de las cualidades benéficas de la soya en algunas patologías crónico degenerativas, principalmente en enfermedades coronarias y en la prevención y tratamiento contra el cáncer.<sup>41,51</sup>

Algunos científicos han reportado su influencia positiva en otros campos clínicos, por ejemplo, en terapias de reemplazo hormonal<sup>52</sup>, en el manejo de la menopausia, osteoporosis y varias dislipidemias.

La soya puede ayudar en la preservación de homeostasis del hueso ya que puede disminuir considerablemente la pérdida de calcio por la orina, así como potencialmente inhibir la resorción del calcio óseo previniendo el desarrollo de osteoporosis.<sup>53,54</sup>

Se ha visto que por la composición de sus hidratos de carbono complejos y el alto contenido de fibra que aportan a la dieta, puede contribuir a disminuir los índices de glicemia, acción útil en el tratamiento de pacientes diabéticos.<sup>41</sup>

De los efectos observados con relación al alto contenido de isoflavonas y su acción con el mejoramiento del curso de enfermedades coronarias, quizá una de las características más importantes de la proteína de soya es su aparente efecto hipolipemiante. Se ha demostrado que disminuye el colesterol total y los triglicéridos séricos en diferentes estudios con modelos experimentales y en investigaciones de tipo clínico en pacientes con dislipidemias de origen diverso.<sup>55,56</sup>

Estudios en la década de los 80 parecen demostrar el efecto hipocolesterolémico de la proteína de soya así como también su capacidad antioxidante en distintos estudios “*in vivo*” e “*in vitro*”; sin embargo, los mecanismos de acción hipolipemiante comenzaron a estudiarse a partir de la década de los años 90.

Sobre su capacidad para prevenir la peroxidación lipídica, en estudios “*in vitro*”, se ha demostrado que los isoflavonoides de la soya, así como sus derivados metabólicos inhiben la peroxidación de lipoproteínas<sup>57,58</sup>; no obstante, es necesario seguir estudiando si se tiene la misma acción “*in vivo*”, ya que la oxidación de las *LDL* juega un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis. La ingestión de soya puede tener efectos preventivos en la

aterogénesis del humano.<sup>59</sup>

Tikkaenen y cols.<sup>60</sup> mencionan que los antioxidantes de la soya aportan protección contra la modificación de la oxidación de lipoproteínas, particularmente las *LDL*, confiriendo resistencia a la oxidación progresiva y también una disminución del riesgo a desarrollar enfermedades coronarias y cáncer.<sup>61</sup> En la última década, distintos grupos han propuesto algunos de los mecanismos enzimáticos involucrados en la síntesis lipídica, en los que potencialmente intervienen y modifican rutas de algunos de los componentes de la soya.<sup>62</sup>

En años recientes se ha documentado la existencia de distintos efectos benéficos debido a la ingestión de la proteína de soya sobre el desarrollo de distintas enfermedades crónico degenerativas. La búsqueda de los mecanismos involucrados en estos procesos, así como de otros efectos que ésta proteína tiene en la salud, ha conducido a distintos grupos de investigación a explorar en distintas áreas clínicas y de experimentación básica.

Hasta el momento los resultados de esas investigaciones han indicado que la ingestión de proteína de soya, aún en la fase inicial de la enfermedad crónica, tiende a mejorar la alteración de algunos marcadores característicos de la enfermedad durante su evolución a cronicidad.<sup>43,45,51</sup>

### **2.3.2.3 El papel de la soya en las enfermedades renales**

Recientemente se ha incrementado la evidencia de que los fitoestrógenos de la soya podrían tener un papel benéfico sobre ciertas enfermedades renales crónicas. Algunos estudios diseñados tanto en animales como en humanos indican que el consumo de soya retrasa el desarrollo y progresión de algunos casos de enfermedad renal.<sup>63,64</sup>

En distintos modelos experimentales de nefropatía, se ha demostrado que puede reducir la proteinuria y las lesiones patológicas asociadas a la insuficiencia renal progresiva.<sup>65-67</sup>

En humanos se ha demostrado que puede disminuir el grado de proteinuria y preservar la función renal por más tiempo; sin embargo, muchos de estos estudios clínicos se han llevado a cabo en periodos muy cortos de tiempo e involucran pocos pacientes, por lo que aún se discute si los efectos benéficos observados se deben al contenido de isoflavonas o a algún otro compuesto presente en la proteína.

En modelos animales con modificaciones genéticas para el desarrollo de enfermedad poliquística del riñón, varios estudios han demostrado una remisión en el tamaño de los quistes, disminución del contenido de agua, y espacio que ocupan en el riñón, así como las lesiones patológicas

asociadas, lo que ayuda a preservar la función renal.<sup>66,67</sup>

Recientemente se ha propuesto que la ingestión de soya previene el deterioro renal en modelos experimentales de nefropatía diabética.<sup>68</sup>

En ratas Wistar se encontró que la soya disminuyó la acumulación de ésteres grasos de dolicol (a través de la regulación de la enzima involucrada en la glicosilación de proteínas y lípidos), y de colesterol en el hígado.<sup>69</sup> La disminución de triglicéridos, colesterol, insulina circulante y el aumento en la actividad de la 7- $\alpha$ hidroxilasa en el hígado, es otro efecto a favor de la dieta con soya en ratas normales.<sup>70</sup>

En un estudio de longevidad en ratas macho Fischer F344 (un modelo de nefropatía espontánea relacionado a la edad), Iwasaki y col.<sup>71</sup> demostraron que al reemplazar la dieta de caseína por la de soya, se retrasó marcadamente la progresión de las lesiones renales patológicas y aumentó la sobrevida.<sup>71</sup>

Williams, Baker y Walls<sup>72</sup> encontraron que las ratas hembra con el modelo de ablación renal alimentadas con proteína de soya, presentaban menor proteinuria; menor hipertrofia del riñón remanente, y menos glomeruloesclerosis y atrofia tubular, así como menor mortalidad que aquellas alimentadas con una dieta de caseína. Posteriormente, probaron distintas concentraciones de proteína de soya en la dieta; encontraron que en aquellas alimentadas con un contenido proteínico hasta del 24% mostraron una menor proteinuria y mejor sobrevida, indicando que la proteína de soya tiene una mayor capacidad que la caseína en reducir el daño renal en este modelo y que puede mostrar efectos protectores a distintos niveles de concentración.<sup>64,72</sup>

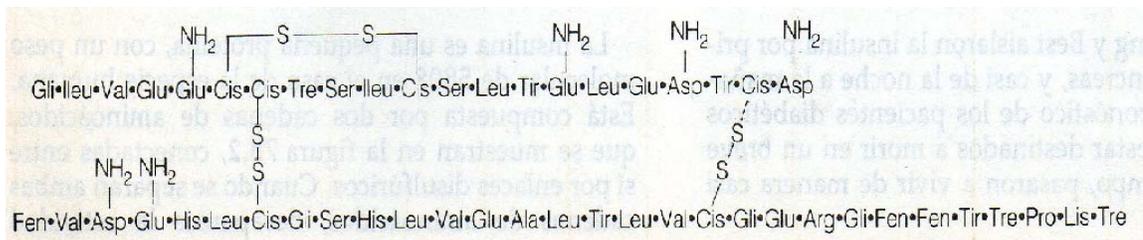
## **2.4 INSULINA**

La insulina es una pequeña proteína, compuesta por dos cadenas de aminoácidos (Fig 2.2), conectadas entre sí por enlaces disulfuros. Cuando se separan ambas cadenas de aminoácidos, desaparece la actividad funcional de la molécula de insulina.<sup>22</sup>

La insulina es secretada por las células beta pancreáticas, por el mecanismo celular ordinario de síntesis proteínica, que se inicia con la traducción del Ácido ribonucleico (ARN) de insulina por los ribosomas fijos en el retículo endoplásmico, para formar una prehormona insulínica.

Esta prehormona inicial tiene una masa molecular de 11500 kDa pero, a continuación, se segmenta en el retículo endoplásmico para formar una proinsulina cuya masa molecular es de 9000 kDa aproximadamente. La mayor parte se segmenta más aún en el aparato de Golgi para formar insulina antes de ser almacenada en gránulos secretores. Sin embargo, cerca de la sexta parte del producto final secretado se encuentra aún en forma de proinsulina que, por desgracia, no tiene actividad biológica.<sup>22</sup>

Cuando se secreta esta hormona hacia la sangre, circula casi por completo en forma libre; tiene una semidesintegración plasmática media del orden de seis minutos, de modo que desaparece de la circulación en un plazo de 10 a 15 minutos, salvo la parte que se une a receptores en células diana, el resto se degrada por la enzima insulinasa, sobre todo en el hígado y, en menor grado, en el riñón. Esta rápida eliminación del plasma es importante porque es fundamental poder activar e inactivar rápidamente el sistema regulador constituido por esta hormona.<sup>22,73 - 81</sup>



*Fig 2.2 La molécula de insulina humana<sup>22</sup>*

#### **2.4.1 Receptor de la insulina y mecanismos celulares resultantes**

La insulina, para realizar sus efectos, se une con un receptor de membrana (Fig 2.3). Es el receptor activado, y no la insulina, el responsable de los efectos de esta hormona.<sup>2,82</sup>

El receptor de la insulina está formado por cuatro subunidades separadas, unidas por puentes disulfuro. Hay dos subunidades alfa, de localización extracelular, y dos subunidades beta, que se sitúan en el interior de la membrana. La insulina se une a las subunidades alfa externas, pero a causa de las uniones con las subunidades beta, éstas se autofosforilan. Se convierten entonces en una enzima activada, una proteínkinasa local, que fosforila a su vez determinadas enzimas citosólicas. Su efecto final es la activación de ciertas enzimas con inactivación de otras. De esta forma la insulina controla el metabolismo intracelular para producir los efectos deseados:

a) En un intervalo de segundos tras la unión de la hormona con su receptor, las membranas de las células musculares, de los adipocitos y de otros tipos celulares, prácticamente el 80% de todas las células del organismo, se hacen muy permeables a la glucosa. Ello permite a este metabolito entrar rápidamente en las células. En su interior, la glucosa es fosforilada, convirtiéndose en un sustrato adecuado para integrarse en el metabolismo global de los hidratos de carbono.

b) Además de aumentar la permeabilidad de la membrana para la glucosa, la membrana celular también se hace permeable para muchos aminoácidos, para los iones potasio, magnesio y fosfato.<sup>83-</sup>

86

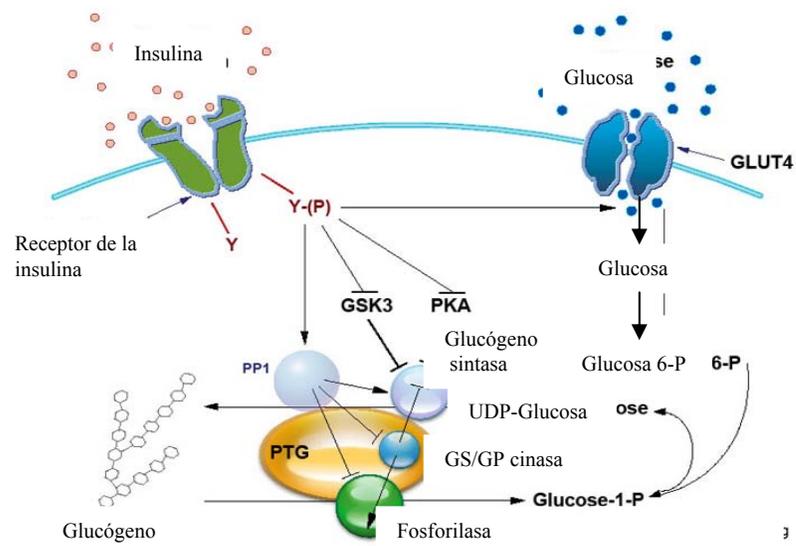


Fig. 2.3 Esquema de la transducción de señal en la acción de la insulina<sup>86</sup>

#### 2.4.2 Efecto de la insulina en el metabolismo de los hidratos de carbono

Inmediatamente después de una comida rica en hidratos de carbono, la glucosa que pasa a la sangre causa secreción rápida de insulina que, a su vez, determina la captación inmediata, el almacenamiento y el uso de la glucosa por casi todos los tejidos del organismo, en especial por el hígado, músculos y tejido adiposo.<sup>87</sup>

### **2.4.3 Función de la insulina en el intercambio del metabolismo entre hidratos de carbono y lípidos**

La insulina fomenta la utilización de hidratos de carbono para obtener energía, a la vez que suprime la utilización de grasas. A la inversa, la falta de insulina hace que se utilicen sobre todo grasas con exclusión de la glucosa, salvo en el tejido cerebral.

Más aún, la principal señal que regula este mecanismo de intercambio es la concentración sanguínea de glucosa.<sup>22,88,89</sup>

Cuando esta concentración es baja, se suprime la secreción de insulina y se emplean grasas casi exclusivamente para obtener energía en todos los órganos, salvo el encéfalo; cuando se eleva la concentración de glucosa, se estimula la secreción de insulina y se utilizan hidratos de carbono en vez de grasas hasta que el exceso de glucosa en sangre se almacena en forma de glucógeno hepático o muscular.

Por tanto, una de las funciones importantes de la insulina en el cuerpo consiste en regular cuál de estos dos principios se emplea en un momento u otro para obtener energía.<sup>22,90,91</sup>

## **2.5 DIABETES MELLITUS**

### **2.5.1 Definición**

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica del metabolismo en la que el sujeto que la padece tiene alteraciones del metabolismo de hidratos de carbono, grasas y proteínas, junto con una relativa o absoluta deficiencia en la secreción de insulina y con grados variables de resistencia a ésta.<sup>20</sup>

Las manifestaciones clínicas clásicas de la diabetes mellitus, la poliuria, la polidipsia y la polifagia, son consecuencia de la hiperglucemia, mientras que las manifestaciones crónicas que afectan a la mayor parte de los pacientes son el resultado del metabolismo anormal tanto de la glucosa como de los lípidos y proteínas.<sup>92,93</sup>

### **2.5.2 Clasificación**

La diabetes mellitus se subdivide en cuatro grupos diferentes. La tipo 1 y la tipo 2 son las formas clínicas más frecuentes en el mundo occidental, mientras la relacionada con desnutrición (tercer grupo) es la forma clínica predominante en parte de Asia, África y el Caribe. El cuarto grupo comprende otras entidades que, en contraste con la diabetes primaria o esencial, son secundarias o asociadas a ciertos síndromes genéticos raros.<sup>20,92,94</sup>

### **2.5.3 Epidemiología de la diabetes en México**

En las últimas cinco décadas se ha observado en México un aumento progresivo en la prevalencia de la diabetes tipo 2 y en la tasa de mortalidad atribuible a esta enfermedad.<sup>20</sup>

Las complicaciones crónicas de la diabetes también ocupan un lugar importante y creciente entre las causas de atención médica. En México, la diabetes es la causa más frecuente de ceguera en adultos, de amputaciones no debidas a traumatismo y de insuficiencia renal crónica terminal. Es cada vez más evidente que en México está ocurriendo un fenómeno de transición epidemiológica, que consiste en el aumento en la prevalencia y, por tanto, en las tasas de morbilidad y mortalidad de las enfermedades crónicas y/o degenerativas a expensas de una reducción en la frecuencia de las enfermedades infecciosas.<sup>20,92</sup>

La causa principal de este fenómeno es el cambio en el estilo de vida de la población, especialmente en los grupos que emigran de las áreas rurales a las urbanas.<sup>20,92</sup>

Estos individuos cambian su alimentación tradicional, apenas suficiente para cubrir sus necesidades energéticas diarias, por una alimentación de tal composición y contenido calórico que favorece tanto el desarrollo de obesidad, como el de resistencia a la insulina y dislipidemia.<sup>20,92</sup>

En un individuo, la resistencia a la insulina puede ser heredada y tiene, en este caso, una causa completamente genética, o puede ser adquirida durante la vida, o bien, como una tercera situación y probablemente la más frecuente, puede tener un componente heredado y otro adquirido.<sup>20</sup>

La resistencia a la insulina puede adquirirse como consecuencia de la obesidad, especialmente de la obesidad central abdominal o visceral, o directamente de cambios dietéticos específicos, como son el aumento en el consumo de ácidos grasos saturados y de hidratos de carbono refinados.<sup>20</sup>

La disminución en el trabajo muscular por menor actividad física también afecta en forma significativa la sensibilidad a la insulina. La resistencia a la insulina que tiene por consecuencia,

una demanda excesiva de trabajo a las células beta del páncreas y, por lo tanto, hiperinsulinemia, suele preceder por años el desarrollo de la diabetes. En algunos individuos el páncreas, por alguna deficiencia genética, es incapaz de mantener una respuesta adecuada a la demanda aumentada de trabajo impuesta por la resistencia a la insulina, y cuando ésto ocurre aparece primero la intolerancia a la glucosa y luego la diabetes. Es de esta forma como los cambios en la alimentación y actividad física de manera directa e indirectamente a través de cambios en la composición corporal, favorecen la aparición de diabetes en sujetos genéticamente susceptibles.

La prevalencia y mortalidad por diabetes son altas y han ido aumentando en las últimas décadas, la mayoría de los individuos afectados están actualmente en la edad más productiva de su vida. La frecuencia de diabetes en personas jóvenes es relativamente alta y se puede esperar un largo tiempo de exposición a factores de riesgo para desarrollar complicaciones crónicas. Puesto que la pirámide de la población en México tiene una base muy amplia y esta población envejece gradualmente, se puede esperar que la cantidad de personas con diabetes aumente en el futuro aún cuando se mantengan constantes las tasas de prevalencia por grupo de edad.<sup>92</sup>

#### **2.5.4 Diabetes Mellitus Tipo 1**

La Diabetes tipo 1 se caracteriza por destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas, que se traduce en un déficit absoluto de insulina y dependencia vital a la insulina exógena. Se presenta a cualquier edad, pero su mayor incidencia se observa en menores de 15 años, con mayor frecuencia en edad preescolar y especialmente prepuberal.<sup>20</sup>

#### **2.5.5 Diabetes Mellitus Tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 representa a casi 90% de todos los diabéticos del mundo occidental. También tiene bases genéticas que se expresan por una mayor ocurrencia familiar. Los factores ambientales y el estilo de vida influyen con fuerza en el desencadenamiento y evolución de la enfermedad. Los pacientes con este padecimiento y “sobrepeso” se subclasifican como obesos. La obesidad puede cursar además con resistencia a la insulina, factor importante en la patogenia de la mayoría de pacientes con este tipo de diabetes. La hiperglucemia en ayunas y la curva de tolerancia a la glucosa suelen mejorar al corregir el “peso”. En la mayoría de pacientes el diagnóstico se efectúa en la edad media de la vida.<sup>20</sup>

### **2.5.6 Acción deficiente del receptor de insulina**

La diabetes mellitus tipo 2 muestra tanto un defecto en la secreción de insulina como una deficiente acción de la insulina a nivel tisular (en su receptor). En la patogenia de la diabetes tipo 2 también parecen intervenir la producción de glucosa por el hígado, el metabolismo intermedio de las grasas y la secreción de las hormonas contrareguladoras, como el glucagón. Aunque los niveles basales de insulina en los pacientes con diabetes tipo 2 pueden parecer normales o altos cuando se les compara con los de individuos sanos, la función de su receptor muestra una respuesta insuficiente ante niveles específicos de glucosa, tanto en la secreción basal como en la secreción estimada, lo cual refleja una reducción de la capacidad secretora de las células beta.<sup>22,95,96</sup>

## **2.6 RIÑÓN**

### **2.6.1 Estructura del riñón**

#### **2.6.1.1 Anatomía macroscópica**

Los riñones en el humano son órganos pares, ubicados fuera de la cavidad peritoneal, en la pared abdominal posterior, uno a cada lado de la columna vertebral. El borde interno del riñón tiene una profunda escotadura (llamada hilio) a través del cual pasan los vasos y nervios renales y en la cual está situada la continuación del extremo superior del uréter y la pelvis renal.<sup>22,97,98</sup>

El borde externo de la pelvis renal es convexo y se divide para formar los cálices mayores, cada uno de los cuales se divide a su vez en varios cálices menores. Cada uno de éstos, está dispuesto en forma de taza alrededor del ápice saliente de una masa de tejido en forma de cono a la que se llama pirámide renal.<sup>22,97,98</sup>

Cuando se corta el riñón de arriba a abajo, se le ve dividido en dos regiones principales: Una médula renal, interna y una corteza renal, externa. La médula se compone de un cierto número de pirámides renales, los ápices, los cuales salen de las cálices menores. Cada pirámide de la médula forma un único lóbulo (Fig. 2.4).

Se pueden distinguir características adicionales: 1) La corteza tiene una apariencia granular que falta en la médula; 2) Cada pirámide medular está dividida en una zona externa (adyacente a la corteza) y en una interna, que incluye el extremo apical, llamada papila.

### 2.6.1.2 Anatomía microscópica del riñón

#### Nefrona

En el humano, cada riñón está formado por aproximadamente un millón de diminutas unidades, llamadas nefronas (Fig. 2.5).

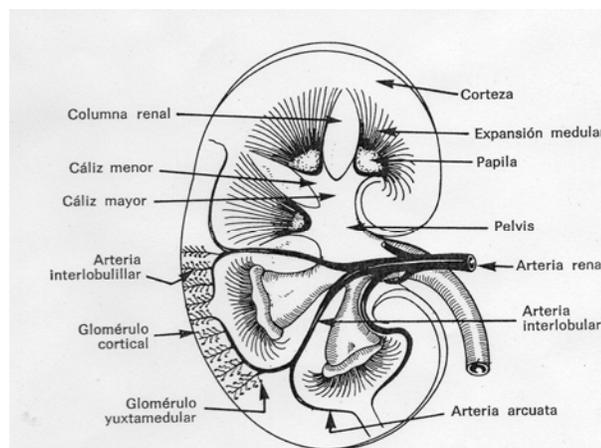


Fig. 2.4 Sección de un riñón humano <sup>98</sup>

La función básica de la nefrona es limpiar el plasma sanguíneo de sustancias de desecho a medida que pasa por los riñones. Dentro de esas sustancias que deben ser eliminadas se encuentran productos terminales del metabolismo, como urea, creatinina, ácido úrico y uratos. Además otras sustancias como los iones sodio, potasio, cloruro e hidrógeno, los cuales tienden a acumularse.<sup>22,99-</sup>

103

Cada una de las nefronas consta de un “componente de filtración” llamado *glomérulo* y un *túbulo* que se extiende a partir del glomérulo.

## Tipos de nefronas

Las nefronas se clasifican de acuerdo con la localización del glomérulo en la corteza, en dos poblaciones generales: corticales y yuxtamedulares (Fig. 2.6). El 85% corresponde a las corticales y el 15%, a las medulares. La diferencia anatómica principal entre los grupos de nefronas, es la longitud del asa de Henle, lo que a su vez determina diferencias funcionales.

### *Nefronas corticales*

Los glomérulos de las nefronas corticales están ubicados en la parte más externa de la corteza. Son más pequeños y se han formado más tardíamente. La longitud de las asas de Henle es corta penetrando solamente hasta la porción más externa de la medula renal. Las asas de algunas nefronas corticales pueden carecer de segmentos delgados; el resto tiene segmentos delgados cortos.

### *Nefronas yuxtamedulares*

Los glomérulos de las nefronas yuxtamedulares están ubicados en la región más profunda de la corteza. Las asas de Henle de estas nefronas son muy largas a expensas de los segmentos delgados ascendentes y descendentes. Se extienden hacia la región medular interna y algunas llegan hasta los extremos de las papilas. Son del 10 al 15 % .<sup>104,105</sup>

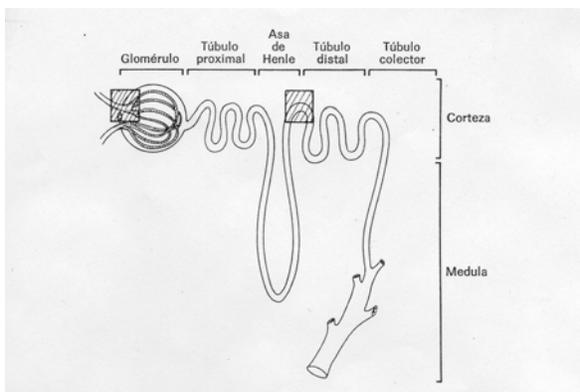


Fig. 2.5 Nefrona y partes que la componen<sup>98</sup>

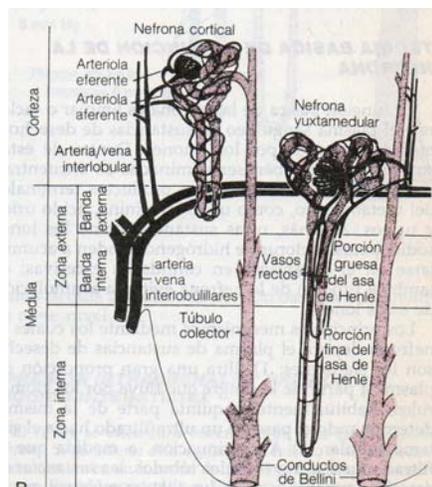


Fig. 2.6 Diferencias entre una nefrona cortical y una yuxtamedular<sup>106</sup>

## **El glomérulo**

Consiste en un complejo manojito de asas capilares interconectadas (los capilares glomerulares), y una cápsula hueca, aproximadamente esférica (la cápsula de Bowman), dentro de la cual sobresale el manojito capilar (Fig. 2.7). La parte de la cápsula de Bowman en contacto con los capilares glomerulares es empujada hacia adentro, pero no hace contacto con el lado opuesto de la misma; en consecuencia existe un espacio (el espacio de Bowman) entre ambas caras de la cápsula, y, hacia el interior de este espacio filtra el líquido desde los capilares glomerulares, a través de las membranas superpuestas del propio capilar y de la cápsula de Bowman.

Esta barrera para la filtración está formada por tres capas: 1) El endotelio capilar, 2) la membrana basal y 3) la capa única de células del epitelio capsular (Fig. 2.7). La primera capa, la de células endoteliales de los capilares, está ampliamente fenestrada por poros. La membrana basal es una malla sin células, relativamente homogénea, formada por glucoproteínas y mucopolisacáridos. Las células epiteliales en esta región del glomérulo son bastante diferentes de las relativamente sencillas, células aplanadas del resto de la cápsula y se llaman podocitos; tienen una estructura poco común, ya que presentan un gran número de extensiones o pies, que están clavados en la membrana basal, y tienen un alto grado de interdigitación entre los pies de podocitos adyacentes.

Existen hendiduras o resquicios entre los pies adyacentes, que constituyen los caminos a través de los cuales el filtrado pasa al interior del espacio de Bowman. No obstante, por dos razones, estas hendiduras no ofrecen vías de pasaje completamente abiertas: 1) Los procesos en forma de pie están cubiertos por una espesa capa de sustancias extracelulares (glucosialoproteínas), que cierran parcialmente las hendiduras. 2) Hay diafragmas extremadamente delgados que forman puentes entre las hendiduras en la superficie de la membrana basal. La importancia funcional de esta disposición anatómica es la siguiente: La sangre está separada del espacio de Bowman sólo por un finísimo conjunto de membranas, que permiten la filtración del líquido desde los capilares hasta dicho espacio. La cápsula de Bowman se conecta al lado opuesto del manojito de capilares glomerulares con la primera posición del túbulo, hacia el cual fluye el líquido filtrado. Existe un tercer tipo celular, las células del mesangio, que se encuentran en la parte central del ovillo glomerular, entre las asas capilares y junto a ellas. Algunas de las células del mesangio glomerular actúan como fagocitos, mientras que otras contienen un gran número de miofilamentos y son capaces de contraerse en respuesta a diversos estímulos.

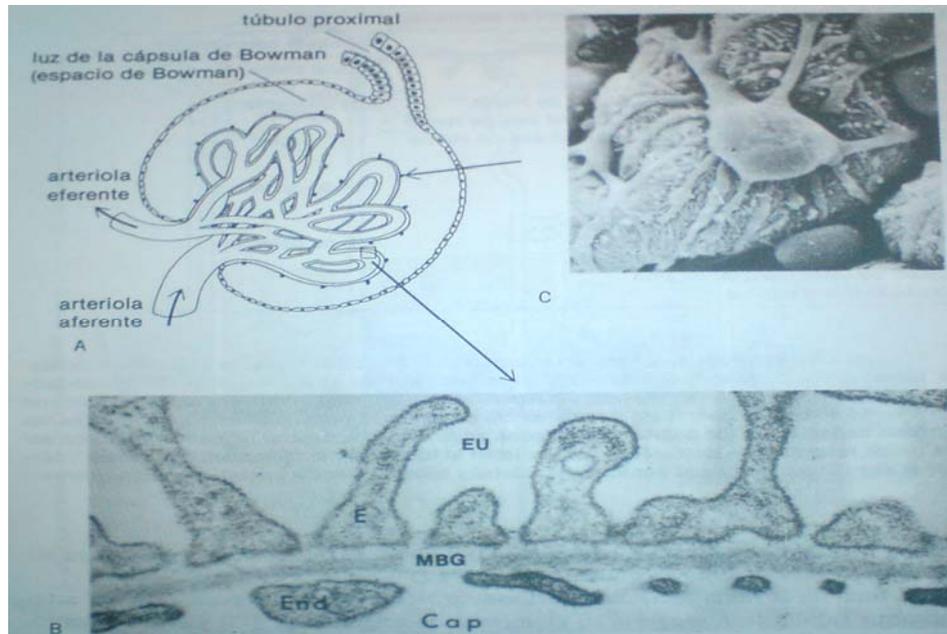


Fig. 2.7 Anatomía del glomérulo <sup>98</sup>

A. Anatomía del glomérulo. B. Corte transversal de las membranas glomerulares: EU=Espacio “urinario”(de Bowman), E=procesos en forma de pie del epitelio, MBG= membranas basales glomerulares, END =endotelio capilar, Cap = luz de los capilares. C. Microfotografía electrónica de barrido de los podocitos que cubren las asas capilares glomerulares, vista desde el interior del espacio de Bowman

## Túbulo

A lo largo de todo su trayecto, el túbulo se compone de una sola capa de células epiteliales que descansan sobre una membrana basal. La estructura de estas células epiteliales varía considerablemente de segmento en segmento, pero tiene una característica en común: La presencia de uniones muy apretadas entre células adyacentes.

## Túbulo proximal

Es el segmento del túbulo que drena la cápsula de Bowman. Tiene una parte contorneada, seguido de una parte relativamente recta que desciende hasta la médula (Fig. 2.5).

## **Asa de Henle**

Es un tubo con forma de horquilla (similar a la letra "U") ubicado en las nefronas. Es la porción de la nefrona que conduce desde el túbulo contorneado proximal hasta el túbulo contorneado distal (Fig. 2.5).

## **Túbulo contorneado distal**

Es una zona de transición entre la rama ascendente gruesa del asa de Henle y el sistema colector. Su primera porción es el túbulo contorneado distal enrollado sobre sí mismo, seguido por el segmento conector (o túbulo conector) y después por la porción inicial del túbulo colector (Fig. 2.5).

Desde el glomérulo hasta el final del túbulo colector inicial, cada uno del millón de túbulos está completamente separado de los otros. Múltiples túbulos colectores iniciales procedentes de nefronas separadas se juntan para formar túbulos colectores corticales, los que entonces tuercen hacia abajo para entrar a la médula. En este trayecto se les llama tubos colectores medulares y finalmente se vacían en uno de los cálices de la pelvis renal.<sup>98,107-111</sup>

### **2.6.2 Función renal**

Las funciones del riñón son la secreción de hormonas y homeostasis extracelular, encaminadas a la formación de la orina y eliminación contenida en ella de los productos de desecho del metabolismo como la urea nitrógeno, cloruros, fósforo, amonio, creatinina y ácido úrico. A su vez, los propósitos generales que involucra la función renal se describe en:

- Control de los líquidos corporales para la eliminación o absorción de agua de la sangre, y así regular la presión arterial.
- Regulación del pH sanguíneo y corporal.
- Regulación de la presión osmótica sanguínea, controlando la eliminación de sales minerales contenida en ella y así regular también la presión arterial.

Los riñones reciben una gran cantidad de sangre que, a diferencia de otros órganos, entra y sale del corpúsculo glomerular por arteriolas (arterias muy pequeñas) en lugar de entrar por arteriolas y salir por vénulas, pasa a los capilares que están alrededor de los túbulos y regresa por venas.

En el riñón se consideran tres procesos: filtración, resorción y excreción. Cuando la sangre entra al glomérulo se filtra; los elementos figurados y las proteínas no pueden, por su tamaño, atravesar el “filtro capilar” del glomérulo; después los túbulos reabsorben en forma selectiva agua, glucosa, aminoácidos,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , y  $\text{HCO}_3^-$  regresándolos posteriormente a la sangre.

A través de la nefrona se excretan sustancias como el  $\text{K}^+$ , ion hidrógeno, amoníaco, creatinina, entre otras, básicamente para controlar la hidratación y el pH de la sangre.

La cantidad y la calidad de orina son variables, normalmente se elimina entre un litro y litro medio en 24 horas.

La orina es normalmente de aspecto claro, de color amarillo y de olor característico, su pH oscila entre 5 y 7.8. La orina está formada por agua, sustancias orgánicas como la urea, el ácido úrico, el ácido hipúrico, creatinina, las purinas y el amoníaco y sustancias inorgánicas como los cloruros, sulfatos y fosfatos de sodio, potasio, magnesio y calcio.

En condiciones anormales puede contener albúmina, glucosa, hemoglobina, pigmentos biliares, pus, cilindros, cálculos, o microorganismos.<sup>112</sup>

### **2.6.3 Insuficiencia renal**

La insuficiencia renal (o fallo renal) es la condición que se produce por el daño permanente e irreversible de la función de los riñones. Clínicamente, ésto se manifiesta en una creatinina del suero elevada. La diabetes es la causa más frecuente de insuficiencia renal, y constituye más del 40% de los casos nuevos. Incluso cuando los medicamentos y la dieta pueden controlar la diabetes, la enfermedad puede conducir a nefropatía e insuficiencia renal.<sup>113</sup>

### **2.6.4 Nefropatía diabética**

La nefropatía diabética es una complicación vascular crónica, específica de la diabetes, en la que se afecta la microcirculación renal y se originan una serie de alteraciones funcionales y estructurales a nivel glomerular, aunque también pueden afectarse los túbulos renales. El

síndrome clínico se caracteriza por proteinuria persistente, Hipertensión arterial y deterioro progresivo de las funciones renales.<sup>113</sup>

Clasificación:

Se divide clásicamente en cinco estadios que son:

- 1) Hiperfiltración y renomegalia, 2) lesiones tempranas, 3) diabetes incipiente con nefropatía: estado de microalbuminuria, 4) nefropatía clínica: proteinuria y disminución del filtrado glomerular y 5) enfermedad renal terminal.

También puede dividirse en fase preclínica y fase clínica.

#### **a) Fase preclínica**

La nefropatía diabética es una enfermedad que, en sus primeras etapas, se desarrolla en forma silenciosa y por ello se denomina fase preclínica.

#### **Filtración glomerular**

A pesar de que en fases tempranas de la enfermedad se puede encontrar un aumento en la filtración glomerular, no se relaciona con manifestaciones clínicas. El aumento de la filtración glomerular es condicionado por alteraciones en la hemodinámica renal y, en comparación con sujetos normales, es de entre el 20 al 50 % y generalmente relacionada con el descontrol metabólico. Existe también aumento en el tamaño renal.<sup>113</sup>

#### **Microalbuminuria**

Se acepta que la detección de proteinuria marca el inicio de la nefropatía diabética, aunque se requiere la realización de estudios más tempranos para determinar la afección renal y establecer el pronóstico. Así, en los estadios tempranos de la nefropatía diabética, se utiliza la determinación de microalbuminuria como predictor de daño renal.

## **Alteraciones de la función tubular**

Las alteraciones en la función tubular pueden aumentar la reabsorción de glucosa y sodio y disminuir la absorción de fósforo.

### **b) Fase clínica**

Se inicia prácticamente con la presencia de proteínas en orina. La disminución de la filtración glomerular está condicionada por cambios hemodinámicos, en parte por disminución del flujo plasmático, sin cambios en la presión oncótica sistémica. Además existen cambios en el coeficiente de filtración por disminución en áreas de superficie de filtración como consecuencia de la expansión del mesangio. Está presente también un aumento del gradiente de presión hidráulica transcápilar que incrementa la presión glomerular y obliga a la adaptación de la nefrona. Todo esto ocurre cuando predomina el mal control metabólico.

### **Proteinuria**

Inicialmente la proteinuria es inconstante, aunque después se hace más evidente y puede alcanzar niveles o rangos nefróticos. Existen varios factores que explican la presencia de proteinuria.

- 1) Existe un defecto en la selectividad del tamaño y alteraciones de la permeabilidad del glomérulo. El primero es dado por una población de poros grandes, con poca selectividad, que determina el aumento de la fracción de filtración para moléculas mayores de 46 Angstroms; esto permite el paso de proteínas plasmáticas grandes a la orina. El trastorno es secundario también al desprendimiento de células epiteliales y los defectos consecuentes de la membrana basal.
- 2) La permeabilidad y selectividad se modifican por una disminución de las cargas negativas de la pared capilar glomerular y una reducción del ácido siálico y del sulfato de heparán, que son dos de los principales componentes de la barrera. También influye en esas alteraciones de gradiente de presión hidrostática transcápilar la glucosilación de las proteínas circulantes.

## **Hipertensión arterial**

La hipertensión forma parte del cuadro clínico de la nefropatía diabética y aunque puede ser de leve a moderada en fases iniciales, su comportamiento se altera a largo plazo por la presencia de la proteinuria. Los antecedentes de hipertensión arterial esencial en familiares de pacientes diabéticos son un factor de riesgo para desarrollar hipertensión arterial en forma temprana. Un factor coadyuvante es el mal manejo del sodio que condiciona expansión del volumen extracelular o aumento del volumen plasmático, lo que se puede explicar por dos factores.

- 1) El aumento de glucosa intersticial ejerce una fuerza osmótica que atrae líquido intracelular hacia el espacio extracelular, aumentando con ello el volumen plasmático y condicionando aumento del gasto cardiaco.
- 2) El aumento de volumen del líquido extracelular es secundario al aumento en la absorción de sodio en el riñón debido al mayor transporte de glucosa y a los niveles elevados de insulina que pueden serlo, más aún si existe resistencia a la insulina.<sup>20</sup>

## **Síndrome nefrótico**

Este síndrome se puede presentar en 5 a 10% de los pacientes y consiste en hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, proteinuria de 3.5g/24h, edema e hipertensión arterial.

## **Hematuria**

La hematuria microscópica con o sin cilindros eritrocitarios, es parte del diagnóstico de la nefropatía diabética. Su frecuencia varía entre el 12 y el 30%. Puede existir una enfermedad agregada que provoque hematuria, por lo que su presencia requiere valoración cuidadosa.

## **Disminución de la función renal**

Los pacientes con diagnóstico de nefropatía diabética pueden llegar al estadio renal terminal rápidamente, aunque esto difiere en cada paciente, y así el promedio de disminución de la filtración glomerular en pacientes sin tratamiento puede ser de 1mL/min/mes o de 10 a 15 mL/min/año.<sup>113</sup>

## 2.7 MODELO ANIMAL (RATA ZUCKER)

La rata Zucker es uno de los modelos de obesidad heredable, con carácter autosómico recesivo y ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental de obesidad por la modificación genética que presenta. Fue descrito en 1961 por Zucker y Zucker<sup>114</sup> que lo obtuvieron por el cruce de ratas Sherman con Merck Stock M. La obesidad se manifiesta únicamente en los animales homocigotos (fa/fa) mientras que los heterocigotos (Fa/fa) tienen fenotipo normal. En las cuatro o cinco primeras semanas de vida las ratas homocigotas y heterocigotas son fenotípicamente indistinguibles, pero a partir de ese momento se instaura la obesidad en las homocigotas. Después y a lo largo de toda la vida, la ganancia de “peso” será siempre mayor en las ratas homocigotas, y el incremento de “peso” regular y mantenido. La acumulación de grasa es tanto intra-abdominal como subcutánea, llegando a alcanzar grados de obesidad extremos. Este modelo de obesidad se manifiesta con hiperfagia, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia-hipercolesterolemia, con hepatomegalia, aumento de la actividad de la enzima lipoproteína-lipasa (*LPL*) y de los niveles circulantes de ácidos grasos libres y apariencia láctica del suero.<sup>115</sup>

En este modelo animal, el defecto genético radica en el gen que codifica para el receptor de la leptina, hormona adipocitaria que controla el “peso” corporal y se interrelaciona estrechamente con la secreción y la acción de la insulina periférica. Por otro lado, la variante *Leprdb* (*Leptin Receptor*), se caracteriza por una resistencia a la acción de la leptina (Fig. 2.8).

Las características más destacables de este modelo de obesidad son el aumento de la eficacia metabólica en la utilización de sustratos, con disminución en la termogénesis postprandial a expensas de la grasa (dependiente del tono simpático, que está disminuido y de la secreción de insulina); la resistencia a la insulina en el músculo esquelético, pero no en el tejido graso e hígado, lo que causa hiperinsulinismo con aumento de la lipogénesis y de la actividad de la lipoproteína lipasa tisular, la hiperfagia, que probablemente es secundaria al hiperinsulinismo, y la falta de sensibilidad a las señales de saciedad postprandial, en la que probablemente intervienen varios neuropéptidos hipotalámicos, y que se presenta como la posibilidad más probable de explicar la alteración primaria heredable causante de la obesidad.<sup>116-118</sup>

Por otro lado, se ha detectado una disminución importante a la colecistocinina (CCK) que es producida en duodeno y yeyuno en respuesta a la presencia de ácidos grasos libres en la luz intestinal y que no sólo induce la secreción biliar para emulsionar y digerir la grasa, sino que además interviene de forma importante a nivel hipotalámico sobre el centro de la saciedad y

disminuye la ingestión de alimentos.<sup>116</sup> El neuropéptido Y (NPY, 36 aa) parece estar muy relacionado con la conducta alimentaria. Los niveles de NPY hipotalámicos en ratas Zucker obesas son anormalmente altos, simulando un estado de ayuno permanente.

La expresión del NPY es dependiente de insulina y glucocorticoides. Esto hace improbable que el defecto genético primario que produce la obesidad en la rata Zucker se localice en el gen del NPY.<sup>119</sup>



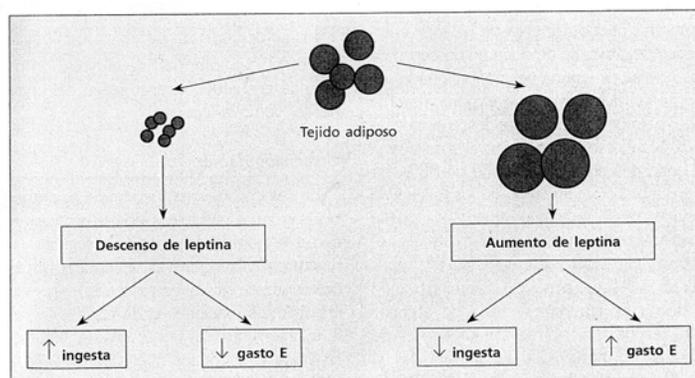
*Fig. 2.8 Modelo de obesidad genético: Rata Zucker<sup>120</sup>*

## 2.8 LA LEPTINA Y SU RECEPTOR

La leptina es un polipéptido de 167 aminoácidos sintetizado principalmente en los adipocitos, y actúa en la red neural hipotalámica, donde regula el apetito y el balance energético.

Una vez que se procesa proteolíticamente y es eliminado el péptido señal, la leptina es secretada a la sangre donde circula en forma libre o unida a proteínas transportadoras. La secreción de leptina por el tejido adiposo es proporcional al tamaño y el número de adipocitos. Esta hormona participa en la regulación de la masa corporal suprimiendo el apetito y estimulando el gasto energético, tanto en humanos como en roedores. Los efectos de la leptina son mediados por receptores de membrana específicos localizados en diversos tejidos. En concreto, el hipotálamo constituye el principal lugar de acción de la leptina.

Su descripción aportó un importante avance en el conocimiento de los mecanismos que regulan el balance energético. La disminución de los depósitos adiposos origina un descenso del gasto energético. El aumento del tejido graso tendría un efecto contrario (Fig. 2.9).



*Fig. 2.9 Balance energético. Papel de la leptina como señal aferente<sup>9</sup>*

La grasa corporal explica aproximadamente el 50-60% de la variabilidad de los niveles de leptina. También se regula por otros factores, como la edad, el sexo (superiores en mujeres) y el estatus hormonal (fundamentalmente en relación con la insulina) y de citocinas.

Estudios en animales y en humanos observaron cómo la deficiencia de leptina, o bien de su receptor, originaban hiperfagia y obesidad. El tratamiento con leptina en sujetos deficientes es capaz de disminuir la ingestión y el “peso” corporal y de normalizar las alteraciones hormonales e inmunológicas.<sup>9</sup>

El papel de la leptina en la patogénesis de la obesidad puede estar relacionado con los niveles de hormona circulante. El aumento observado de la concentración plasmática de leptina en pacientes obesos sugiere que la obesidad humana es un fenómeno de resistencia a la acción de la leptina y no de deficiencia de leptina. En general los animales obesos poseen niveles mucho más altos de leptina que los animales normales (a excepción de los ratones con genotipo *ob/ob*). Este dato indica que estas formas de obesidad están asociadas con resistencia a la leptina.<sup>7</sup>

El fenómeno de resistencia a la leptina ha sido observado también en ratones en los cuales la obesidad ha sido inducida por variaciones del régimen alimentario, sugiriendo de tal manera que los factores ambientales pueden modular la sensibilidad a la leptina.

### **2.8.1 Receptor de leptina**

Este receptor, compuesto por un único dominio transmembrana, pertenece a la familia de los receptores de citocinas. El modelo animal empleado inicialmente para su estudio es el ratón *db/db*, cuya mutación se transmite siguiendo un patrón autosómico recesivo y genera ratones obesos, con desarrollo precoz de diabetes *mellitus* y concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol, triglicéridos y leptina. Hasta el momento solamente se conocen en humanos casos, en que presentan un receptor truncado, con ausencia de porciones transmembrana e intracelular que tenía como resultado la presencia de hiperfagia, obesidad e hipogonadismo. También se han comunicado diversos polimorfismos en este receptor, aunque con escasa prevalencia en pacientes obesos.<sup>9</sup>

## **2.9 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS**

La determinación de los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, así como en el tejido renal, pueden indicar importantes alteraciones en el metabolismo de los lípidos

### **2.9.1 Colesterol**

El colesterol es un esteroide (lípidos) que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo. Es imprescindible para la vida humana por sus numerosas funciones; entre las cuales se pueden encontrar; la función estructural, precursor de la vitamina D, precursor de las

hormonas sexuales, precursor de las hormonas corticoesteroidales, precursor de las sales biliares. El colesterol es transportado en el plasma por vía de las lipoproteínas, los llamados complejos entre los lípidos y las apolipoproteínas. Existen cuatro clases de lipoproteínas: Lipoproteínas de alta densidad (*HDL*), lipoproteínas de baja densidad (*LDL*), lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDL*) y quilomicrones. Mientras el *LDL* está involucrado en el transporte del colesterol a las células periféricas, el *HDL* es el responsable de la captación del colesterol desde las células.<sup>121</sup>

Actualmente se ha determinado que el colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (*LDL*) está relacionado con la patogenia de la aterosclerosis. Niveles elevados de colesterol *LDL* incrementan el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares. Por lo anterior, es importante llevar a cabo la determinación de este parámetro.

### **2.9.2 Triglicéridos**

Otro tipo de lípidos importantes son los triglicéridos, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificados en la posición de sus tres grupos hidroxilo, tres ácidos grasos que pueden ser saturados o insaturados.

La síntesis de triglicéridos tiene lugar en el retículo endoplásmico de casi todas las células del organismo, pero es en el hígado, en particular en sus células parenquimatosas, los hepatocitos y en el tejido adiposo (adipocitos) donde este proceso es más activo y de mayor relevancia metabólica.

Más del 90% de los triglicéridos provienen de la dieta y constituyen cerca del 95% de la grasa almacenada en los tejidos. Debido a que son insolubles en agua, constituyen el principal éster de glicerol plasmático. Normalmente se almacenan en el tejido adiposo en forma de glicerol, ácidos grasos y monoglicéridos, y en el hígado se vuelven a convertir en triglicéridos.

Los niveles elevados de triglicéridos se podrían deber a una condición médica como la diabetes, el hipotiroidismo, una enfermedad renal o una enfermedad hepática. Las causas de niveles elevados de triglicéridos relacionadas con la dieta podrían incluir la obesidad y el consumo elevado de grasas.

La determinación de este parámetro es importante debido a que el aumento de triglicéridos en la sangre conocido como hipertrigliceridemia, es un factor de riesgo cardiovascular.<sup>121</sup>

El metabolismo renal de lípidos en forma muy reciente se ha relacionado con el daño renal en diabetes mellitus en modelos animales. Esto puede ocasionar resistencia a la insulina, y por lo

tanto, un incremento de los niveles de insulina y glucosa en sangre.<sup>121</sup> Para determinar alteraciones de la función renal se lleva a cabo la evaluación de parámetros bioquímicos en suero y orina, tales como, creatinina y nitrógeno ureico en sangre (*BUN*).

### **2.9.3 Creatinina**

La creatinina es una molécula de desecho que se genera a partir del metabolismo muscular. Proviene de la creatina que se sintetiza sobre todo en el hígado a partir de arginina, lisina y metionina. Luego es transportada a otro tejido, como el músculo, donde se convierte en fosfocreatina, que sirve como una fuente alta de energía. El fosfato de creatina pierde ácido fosfórico y la creatina pierde agua para formar creatinina, que pasa hacia el plasma, la creatinina se libera hacia la circulación a una tasa relativamente constante, siempre y cuando la masa muscular permanezca igual; el contenido proteínico de la dieta afecta la concentración plasmática. Cualquier alteración en la función renal reduce la excreción de creatinina, con lo que se eleva en la sangre, por ésto la creatinina puede ser indicativa de una posible disfunción o insuficiencia renal.<sup>122</sup>

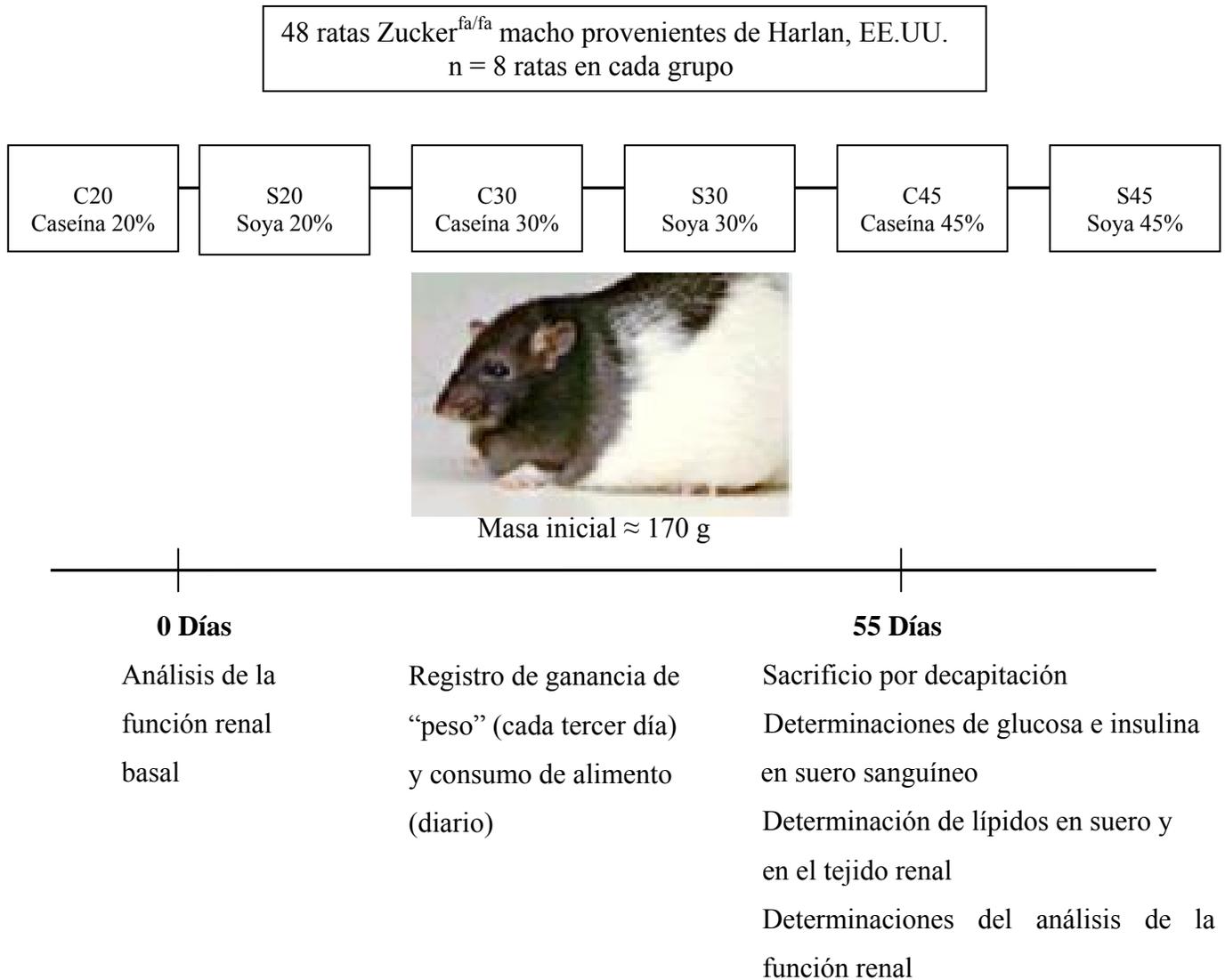
### **2.9.4 Nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, por sus siglas en inglés, *blood ureic nitrogen*)**

El examen de nitrógeno ureico en la sangre (*BUN*) es una prueba que se utiliza primordialmente para evaluar el funcionamiento renal. La urea se forma en el hígado como producto final del metabolismo (o degradación) de las proteínas. Durante la digestión, la proteína se descompone en aminoácidos, los cuales contienen nitrógeno y al ser metabolizados se separa el  $\text{NH}_4^+$  (ión amonio) del resto de la molécula que se utiliza para producir energía u otras sustancias que necesite la célula. El amoniaco se combina con otras moléculas pequeñas para producir urea, la que luego se secreta en la sangre y se excreta en la orina por medio de los riñones. La mayoría de las enfermedades renales afectan la excreción de urea y creatinina; de tal manera que los niveles de *BUN* en la sangre aumentan.<sup>122</sup>

## CAPÍTULO 3

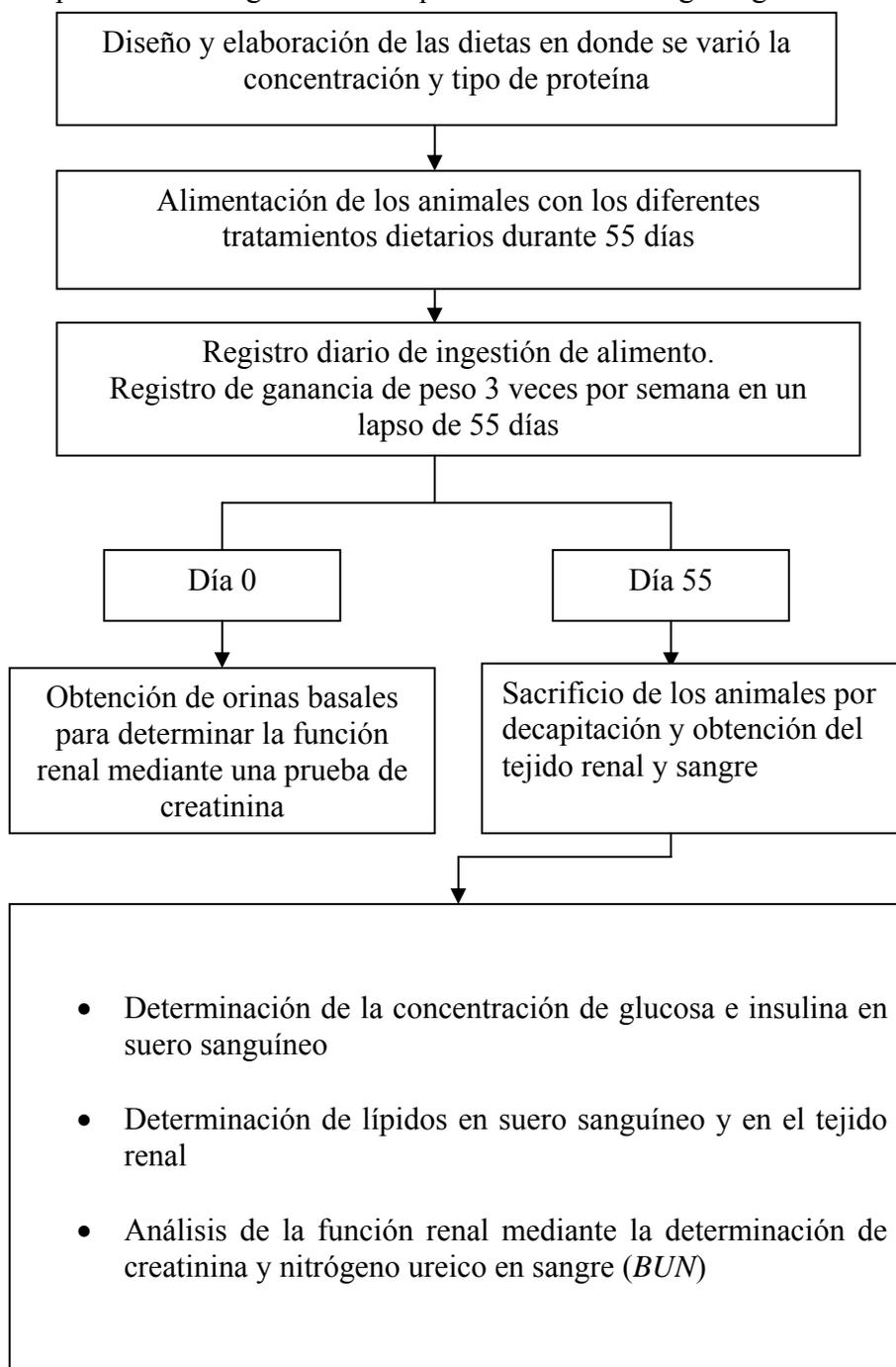
### DISEÑO EXPERIMENTAL

Para esta investigación se trabajó en forma coordinada con otro grupo de investigación empleando los mismos animales modelo de acuerdo con el diseño experimental mostrado a continuación.<sup>123</sup>



### 3.1 Diagrama de flujo

A continuación se presenta un diagrama de bloques con la metodología seguida:



### 3.2 Modelo animal y tratamientos dietarios

Se utilizaron 48 ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> (cepa origen) macho de 4 a 5 semanas de edad provenientes de Harlan, EEUU y se mantuvieron en el bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Los animales estuvieron en jaulas individuales con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con libre acceso a la dieta y al agua. Las ratas se dividieron en 6 grupos de 8 ratas cada uno, como se muestra a continuación:

Tabla 3.1 Dietas administradas a las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>

GRUPO	DIETA
1	20 % de proteína de caseína (C20)
2	20 % de proteína de soya (S20)
3	30% de proteína de caseína (C30)
4	30 % de proteína de soya (S30)
5	45 % de proteína de caseína (C45)
6	45 % de proteína de soya (S45)

### 3.3 Alimentación

Las dietas balanceadas estaban basadas en las recomendaciones reportadas por el Instituto Americano de Nutrición<sup>124</sup> (American Institute of Nutrition, 1993) sobre los requerimientos nutricionales de las ratas de laboratorio, incluyendo vitaminas y nutrimentos inorgánicos (Tablas 3.2 y 3.3). Las dietas se administraron de manera oral, empleando comederos individuales de acero inoxidable con tapadera con una capacidad de 200 g. Con estas dietas se cubrieron los requerimientos de proteínas de las ratas en base a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999<sup>125</sup> (Tabla 3.4). Los animales durante toda la experimentación tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

**Tabla 3.2 Mezcla de nutrientes inorgánicos (g/kg) de marca Harlan Teklad (Madison, Wisconsin EEUU).**

Calcio	5.914
Fósforo	3.943
Potasio	4.929
Sodio	4.929
Cloro	7.607
Azufre	0.676
Magnesio	0.492
Yodo	0.0002
Hierro	0.052
Cobre	0.0311
Molibdeno	0.0197
Zinc	0.0006
Flúor	-----

**Tabla 3.3 Mezcla de vitaminas (g/kg) de marca Harlan Teklad (Madison, Wisconsin, EEUU)**

Ácido nicotínico	3
Pantotenato de calcio	1.6
Piridoxina	0.7
Tiamina	0.6
Riboflavina	0.6
Ácido fólico	0.2
Biotina	0.02
Cianocobalamina	2.5
Acetato de DL a tocoferol	15
Palmitato de vitamina A	0.8
Colecalciferol	0.2
Filoquinona (vitamina k)	0.075

Características de los tratamientos dietarios (soya y caseína):

- Libre de aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes.
- Dentro del periodo de caducidad.
- Almacenado en un lugar seco y ventilado en un contenedor especial.

AGUA: Se utilizó agua potable ligeramente acidificada, para prevenir el crecimiento de hongos. Se colocó en bebederos individuales de vidrio con capacidad de 500 mL para administrarse las 24 horas. La cantidad mantenida en cada bebedero fue de 250 mL diariamente.

MANIOBRAS CONDUCTUALES: Los animales se habituaron al manejo, ya que cada tercer día se determinaba su peso. Se mantuvieron en jaulas individuales.

DURACIÓN DEL ESTUDIO: El estudio tuvo una duración de 55 días, en el cual se registró cada tercer día la ganancia de “peso”, y diariamente el consumo de alimento.

MEDICIONES FISIOLÓGICAS: Se determinó la ganancia de “peso” y el consumo de alimento en los 6 grupos de estudio durante 55 días experimentales. Los datos obtenidos se registraron en un libro de bitácora (coloquialmente conocido como bitácora).

### **3.4 Métodos**

#### **3.4.1 Medición de “peso” e ingestión de alimento**

Se determinó la ganancia de “peso” y el consumo de alimento en los animales sujetos a diferentes tratamientos dietarios, en un lapso de 55 días. El incremento de “peso” se evaluó cada tercer día, mientras que el consumo de alimento y las calorías ingeridas se determinaron diariamente.

Se registraron los datos de pesos y el consumo de alimento en bitácoras de laboratorio.

**Tabla 3.4 Formulación de dietas**

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta 1 20% Caseína</b>	<b>Dieta 2 20% Soya</b>	<b>Dieta 3 30% Caseína</b>	<b>Dieta 4 30% Soya</b>	<b>Dieta 5 45% Caseína</b>	<b>Dieta 6 45% Soya</b>
	<b>g / kg dieta</b>					
Proteína	220.7	232.5	331	348.8	496.6	523.2
Maltodextrina	132	132	132	132	132	132
Sacarosa	100	100	100	100	100	100
Celulosa	50	50	50	50	50	50
Almidón	385.6	373.8	275.3	257.5	109.7	83.1
Aceite de soya	50	50	50	50	50	50
Minerales	50	50	50	50	50	50
Vitaminas	10	10	10	10	10	10
Citrato de colina	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Las calorías proporcionadas por cada uno de los tratamientos dietarios fue de 3.8 kcal/g de dieta, por lo que las dietas son consideradas entre ellas como isocalóricas.

### **3.4.2 Recolección de orina**

Al inicio y término del tratamiento experimental los animales fueron colocados en cajas metabólicas con la finalidad de recolectar orina de 12 horas. Se realizó la determinación de creatinina.

### **3.4.3 Obtención de muestras y tejidos**

Al término de los 55 días experimentales, los animales se sacrificaron por decapitación, previa inhalación e inmovilización con CO<sub>2</sub>. Se recolectó la sangre en tubos con gel separador y activador de la coagulación para la determinación de parámetros bioquímicos (triglicéridos y

colesterol). Se extrajeron los dos riñones de cada animal y se registró el “peso”. Todos los tejidos se mantuvieron en congelación a -80°C.

#### **3.4.4 Determinación de parámetros bioquímicos**

La medición de la concentración de triglicéridos y colesterol en suero se llevó a cabo con la finalidad de conocer el nivel de lípidos en los animales. Se determinó mediante un “kit” Diagnostics Systems International (Holzheim, Alemania) en el que se llevan a cabo reacciones enzimático-colorimétricas, cuyo producto se leyó en el espectrofotómetro para determinar la concentración de estos parámetros.

#### **3.4.5 Determinación de colesterol y triglicéridos en tejido**

Se llevó a cabo una extracción de lípidos totales en riñón por el método de Bligh y Blyer.<sup>126</sup> Este método se basa en la separación de la fracción lipídica de un tejido al ser homogeneizado en una solución solvente. Al añadir agua y centrifugar se forman dos fases. En la superior se encuentran los compuestos hidrosolubles y en la inferior los hidrofóbicos en la solución solvente, la cual al evaporarse concentra el contenido total de lípidos en el fondo del tubo.

La porción lipídica se resuspende en isopropanol/tritón al 10% y finalmente se determina la concentración de colesterol y triglicéridos en el extracto mediante un kit de diagnóstico para colesterol y triglicéridos “Diagnostic Systems International” proveniente de Holzheim Alemania.

#### **3.4.6 Determinación de parámetros hormonales**

La insulina se determinó por medio de un radioinmunoensayo “Linco Diagnostics” (proveniente de Missouri EEUU) en el cual existe un antígeno marcado radiactivamente. Los complejos inmunes se cuentan en un contador de gamas en un equipo especializado de marca *Cobra II*, *Packard Instruments*.

### 3.4.7 Análisis de la función renal

La función renal se evaluó mediante la determinación de creatinina y nitrógeno ureico en sangre (*BUN*) con estuches de reactivos de diagnóstico *in vitro* con un “kit” “Pointe Scientific, Inc” proveniente de EEUU, que consiste en reacciones enzimático-calorimétricas cuyo producto se mide espectrofotométricamente.

## 3.5 FUNDAMENTOS DE LAS PRUEBAS

### 3.5.1 Glucosa

La determinación de glucosa se llevó a cabo mediante la utilización de un analizador bioquímico marca YSI 2700 SELECT (EEUU).

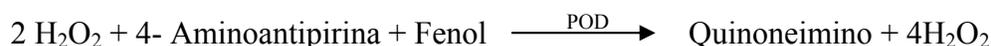
### 3.5.2 Colesterol<sup>127</sup>

#### Uso

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de colesterol en suero o plasma en sistemas fotométricos.

#### Principio

Determinación del colesterol después de la hidrólisis enzimática y la oxidación. El indicador colorimétrico es el quinona-imino que se genera de 4-aminoantipirina y fenol por el peróxido de hidrógeno bajo la acción catalítica de la peroxidasa (Reacción de Trinder).



## Reactivos

Solución amortiguadora	pH 6.7	50 mmol/L
Fenol		5 mmol/L
4- Aminoantipirina		0.3 mmol/L
Colesterol esterasa	(CHE)	$\geq 200$ U/L
Colesterol oxidasa	(CHO)	$\geq 50$ U/L
Peroxidasa	(POD)	$\geq 3$ kU/L
Estándar		200 mg/dL (5.2 mmol/L)

## Procedimiento del ensayo

Longitud de onda	500 nm, Hg 546 nm
Paso óptico	1cm
Temperatura	20 – 25°C / 37°C
Medición	Respecto al blanco de reactivo

Mezclar, incubar durante 20 minutos a 20 – 25°C o durante 10 minutos a 37°C. Leer la absorbancia dentro de 60 minutos contra el blanco de reactivo.

## Valores de referencia

Deseable	$\leq 200$ mg /dL (5.2 mmol/L)
Límite de alto riesgo	200 – 240 mg /dL (5.2 – 6.2 mmol/L)
Alto riesgo	> 240 mg/dL (>6.2 mmol/L)

### 3.5.3 Triglicéridos <sup>127</sup>

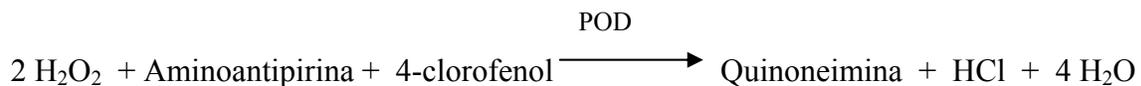
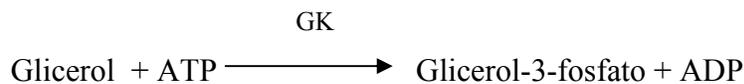
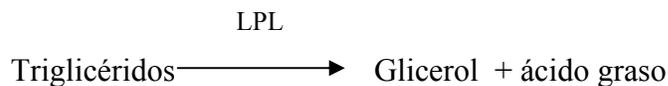
#### Uso

La medición de los triglicéridos se usa en el control del estado de los lípidos para detectar riesgos de aterosclerosis y en la vigilancia de la reducción de los niveles.

#### Significado clínico

Concentraciones elevadas de triglicéridos combinadas con concentraciones elevadas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituyen esencialmente un alto riesgo para enfermedad cardíaca coronaria (CHD).

#### Principio



El fundamento de la determinación de los triglicéridos se basa en la división enzimática con lipoproteína-lipasa. El indicador es la quinoneimina la cual se genera a partir de 4 -aminoantipirina y el 4-clorofenol por el peróxido de hidrógeno bajo la acción catalítica de la peroxidasa.

## Reactivos

Componentes y concentraciones en el ensayo

Reactivo:

Amortiguador de "Good"	pH 7.2	50 mmol/L
4-Clorofenol		4 mmol/L
ATP		2 mmol/L
Mg <sup>2+</sup>		15 mmol/L
Glicerolcínasa	(GK)	≥0.4 kU/L
Peroxidasa	(POD)	≥ 2 kU/L
Lipoproteínlipasa		≥ 2 kU/L
4-Aminoantipirina		0.5 mmol/L
Glicerol-3-fosfato-oxidasa		≥ 0.5 kU/L

Estándar: 200 mg/ dl (2.3 mmol/L)

## Material

Reactivo de triglicéridos

Pipetas automatizadas

Cronómetro

Tubos de ensayo

Espectrofotómetro con capacidad de leer a 520nm

Bloque térmico

Estándar o calibrador de triglicéridos

Sueros control de ácido úrico normal y anormal con concentración conocida

## Procedimiento

1. Identificar los tubos blanco, estándar, control, muestra, etc.
2. Colocar 1 mL de reactivo de trabajo en cada tubo

3. Pre-calentar por lo menos 5 minutos a 37°C
4. Agregar 25 µL de suero a los tubos respectivos y mezclar
5. Incubar todos los tubos a 37°C por 10min.
6. Ajustar el espectrofotómetro a 0 con blanco de reactivo a 520nm. Leer absorbancias.

### **Valores esperados en humanos**

Rango recomendado:

Deseable triglicéridos: <200mg/dL (en ayuno) (2.3 mmol/L)

Límite superior triglicéridos: 200 – 400 mg/dL (4.5 mmol/L)

Elevado triglicéridos: >400mg/dL (4.5 mmol/L)

### **3.5.4 Extracción de lípidos en riñón (Técnica de Bligh EG, Dyer)<sup>126</sup>**

#### **Uso**

Para la extracción y cuantificación de lípidos totales en tejidos.

#### **Procedimiento**

- 1.- Tomar 100 mg de tejido agregar 900 µL de NaCl 1M.
- 2.- Con pistilo homogeneizar en 1.5 mL de CHCl<sub>3</sub> / MetOH (1:2).
- 3.-Vaciar a un tubo de vidrio en hielo.
- 4.- Agitar con vórtex.
- 5.- Tomar 500 µL de CHCl<sub>3</sub>.
- 6.- Agitar con vórtex.
- 7.- Centrifugar a 4000 rpm a 4°C por 10 minutos.
- 8.- Eliminar la parte superior con pipeta pasteur.
- 9.- Humedecer la punta de la pipeta con CHCl<sub>3</sub> y extraer 700 µL de la fase inferior.
- 10.- Pasar la fase inferior en un tubo con rosca.
- 11.- Secar en N<sub>2</sub> y almacenar a 4 °C.

12.- Resuspender en 50 a 100 $\mu$ L de isopropanol/tritón (SDS) al 10 %.

13.- Colocar en refrigeración.

### **3.5.5 Insulina (Radioinmunoensayo RIA específico para rata)<sup>128</sup>**

#### **Uso**

Esta técnica fue desarrollada para determinar la concentración de insulina en el plasma sanguíneo. Es por tanto una técnica muy sensible y muy específica. Utilizando anticuerpos de gran afinidad se pueden detectar hasta picogramos de antígeno.

Material requerido para la determinación:

- *Kit* para insulina de rata
- Tubos de 12 x 75mm *Corning Pyrex borosilicate glass*
- Gradilla de plástico
- Palillos
- Papel absorbente y papel aluminio
- Pipeta de 100mL
- Puntas de 100 mL
- Pipeta repetidora de 2 > 5mL
- Hielo
- Vórtex

#### **Procedimiento**

- Se mezcla una cantidad constante de antígeno marcado radioactivamente y una cantidad constante de un anticuerpo para ese antígeno
- Se produce la reacción entre antígeno (Ag) y anticuerpo (Ac)
- Se separa la fracción de antígeno que se ha unido de la que permanece libre, se determina la radioactividad

- Si la muestra contiene además antígeno frío (no marcado radiactivamente), éste competirá con el marcado para unirse al anticuerpo, y se observará un descenso en la medida de la radioactividad
- Este descenso es proporcional a la concentración de antígeno frío en la muestra.
- Se construye una curva de calibración que relacione la medida de radioactividad con la concentración de antígeno frío en la muestra.
- Si se realiza el ensayo con una muestra que contiene una cantidad desconocida del antígeno no marcado y se mide la radioactividad asociada a los anticuerpos, por interpolación sobre la curva de calibrado se puede estimar la concentración del antígeno frío en la muestra.

### 3.5.6 Creatinina<sup>127</sup>

#### Uso

Para la determinación cuantitativa de creatinina en suero.

#### Significado clínico

La determinación de creatinina se realiza para evaluar la función renal.

#### Principio



La creatinina reacciona con ácido pícrico en condiciones alcalinas para formar un complejo amarillo-naranja (reacción de Jaffé) que absorbe a 510 nm. La relación de formación del color es proporcional a la creatinina en la muestra.<sup>127</sup>

## **Materiales necesarios**

1. Dispositivos precisos de pipeteado
2. Tubos / Gradilla (*rack*)
3. Espectrofotómetro con una cubeta de temperatura controlada
4. Termo-bloque (37°C).

## **Parámetros para el espectrofotómetro**

Longitud de onda: 510nm

Relación Muestra / Reactivo: 1:20

Temperatura: 37°C

Tiempo de inicio (*lag time*): 60 segundos

Tiempo de vaciado (*leer time*): 60 segundos

## **Procedimiento (Manual)**

1. Preparación de reactivos de trabajo.
2. Ajustar el espectrofotómetro de cubetas de temperatura a 37°C.
3. Colocar 1.0 mL de reactivo de trabajo en cada tubo.
4. Espectrofotómetro a cero con el reactivo blanco a 510 nm.
5. Añadir .05 mL (50µL) de la muestra a reactivo, mezclar.
6. Después de exactamente sesenta segundos leer y anotar la absorbancia (A1)
7. En exactamente sesenta segundos después de la lectura A1, una vez más leer y anotar el absorbancia (A2), es decir, el tiempo transcurrido entre A1 y A2 es sesenta segundos.
8. Calcular el cambio de absorbancia (D Abs / min) restando (A2-A1).

## **Valores esperados en humanos**

0.40 – 1.40 mg / dL.

### 3.5.7 Nitrógeno ureico en sangre (BUN)<sup>127</sup>

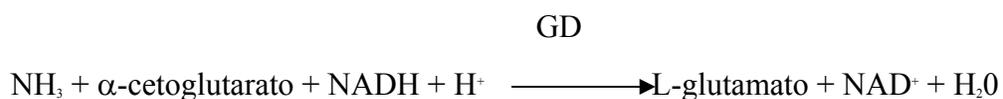
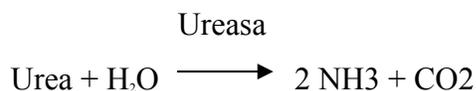
#### Uso

Para la determinación cuantitativa del nitrógeno ureico en el suero.

#### Significado clínico

Determinación del nitrógeno ureico en el suero, se utiliza ampliamente como una prueba de evaluación de la función renal.

#### Principio



La urea es hidrolizada por la ureasa para producir amonio y bióxido de carbono. El amonio liberado reacciona con alfa-cetoglutarato en la presencia de NADH para producir glutamato. Una cantidad equimolar de NADH sufre oxidación durante la reacción resultando en una disminución de la absorbancia que es directamente proporcional a la concentración de nitrógeno en la muestra.

#### Materiales necesarios

1. Pipetas (10 $\mu$ L y 1.0mL)
2. Cronómetro (Intervalos de 30 y 60 segundos)
3. Tubos / rack
4. Espectrofotómetro con una temperatura controlada cubeta a 340nm

## **Parámetros para el espectrofotómetro**

Longitud de onda: 340 nm

Relación Muestra / Reactivo: 1:101

Temperatura: 37°C

Tiempo de inicio (*lag time*): 30 segundos

Tiempo de vaciado (*leer time*): 60 segundos

## **Procedimiento**

1. Preparación de reactivos de trabajo.
2. Calibrar el espectrofotómetro con agua a 340 nm.
3. Colocar 1.0mL de reactivo en tubos de ensayo, incubar hasta llegar a 37°C.
4. Añadir 0.01mL (10µL) de calibrador, el control o la muestra.
5. Después de treinta segundos leer y anotar la absorbancia (A1).
6. Sesenta segundos después de la primera lectura tomar otra lectura (A2).
7. Determinar la absorbancia cambio entre las dos lecturas (A1-A2).
8. Repetir el proceso para cada muestra.

## **Valores esperados**

7-18 mg/dL

### 3.6 Análisis estadístico

Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$  SEM (error estándar promedio, en inglés) ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza, ANDEVA (ANOVA, según terminología inglesa) de una vía. Las diferencias estadísticas fueron analizadas utilizando la prueba de *Student's t* que se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones con distribución normal. También proporciona resultados aproximados para los contrastes de medias en muestras suficientemente grandes cuando estas poblaciones no se distribuyen normalmente. El nivel de significancia empleado fue  $P < 0.05$ , y la realización del método fue con el programa MAC "JMP" (EEUU).

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Análisis previo de la función renal

Después de la aclimatación de los animales en el bioterio del INCMN,SZ, se llevó a cabo la evaluación de la función renal basal de las ratas mediante la determinación de creatinina en orina, parámetro que indica el funcionamiento renal, ya que la creatinina es una molécula de desecho que se genera a partir del metabolismo muscular y se desecha por la orina gracias a la acción de los riñones. Se utilizaron animales en forma aleatoria para la determinación, debido a que hasta ese momento de la experimentación ningún animal había sido sometido todavía a un tratamiento dietario de caseína o soya. Los resultados obtenidos se encontraron dentro del rango considerado normal, reflejando que el funcionamiento del riñón de los animales era adecuado. Se obtuvo un valor promedio de creatinina en orina de 17.29mg/dL (Tabla 4.1) y los valores normales para una rata sana son de 30 mg/dL  $\pm$  1.39.

Tabla 4.1 Creatinina basal en mg/dL en orina de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>.

Grupo	mg/dL
Control	22.65
Control	15.52
Control	12.40
Control	18.58
SEM	17.29 $\pm$ 2.18
Desv.	4.37

Valores normales: 30 mg/dL  $\pm$  1.39

#### 4.2 Consumo de alimento

Durante el desarrollo del experimento, se llevó a cabo la alimentación de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>, las cuales fueron divididas aleatoriamente en 6 grupos (cada grupo estaba conformado por 8 ratas) con diferentes tratamientos dietarios en donde se varió la concentración y el tipo de proteína. Estos animales, al tener libre acceso a la dieta y al tener su sistema de saciedad alterado,

manifestaron su característica de hiperfagia, consumiendo alimento de forma constante durante todo el tiempo del tratamiento experimental.

De acuerdo con el análisis estadístico, la mayoría de los grupos (S20, C30, S30, C45 y S45) consumieron la misma cantidad de alimento, con excepción del grupo C20, que fue el que presentó un menor consumo, teniendo una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a S20, C30 y S30.

En todas las gráficas que se muestran a continuación, los resultados se presentan como el promedio  $\pm$  SEM ( $n = 8$ ). La diferencia estadística se estudió mediante un ANOVA, y aquellas diferencias encontradas posteriormente se analizaron con la prueba de *Student's "t"* ( $p < 0.05$ ).

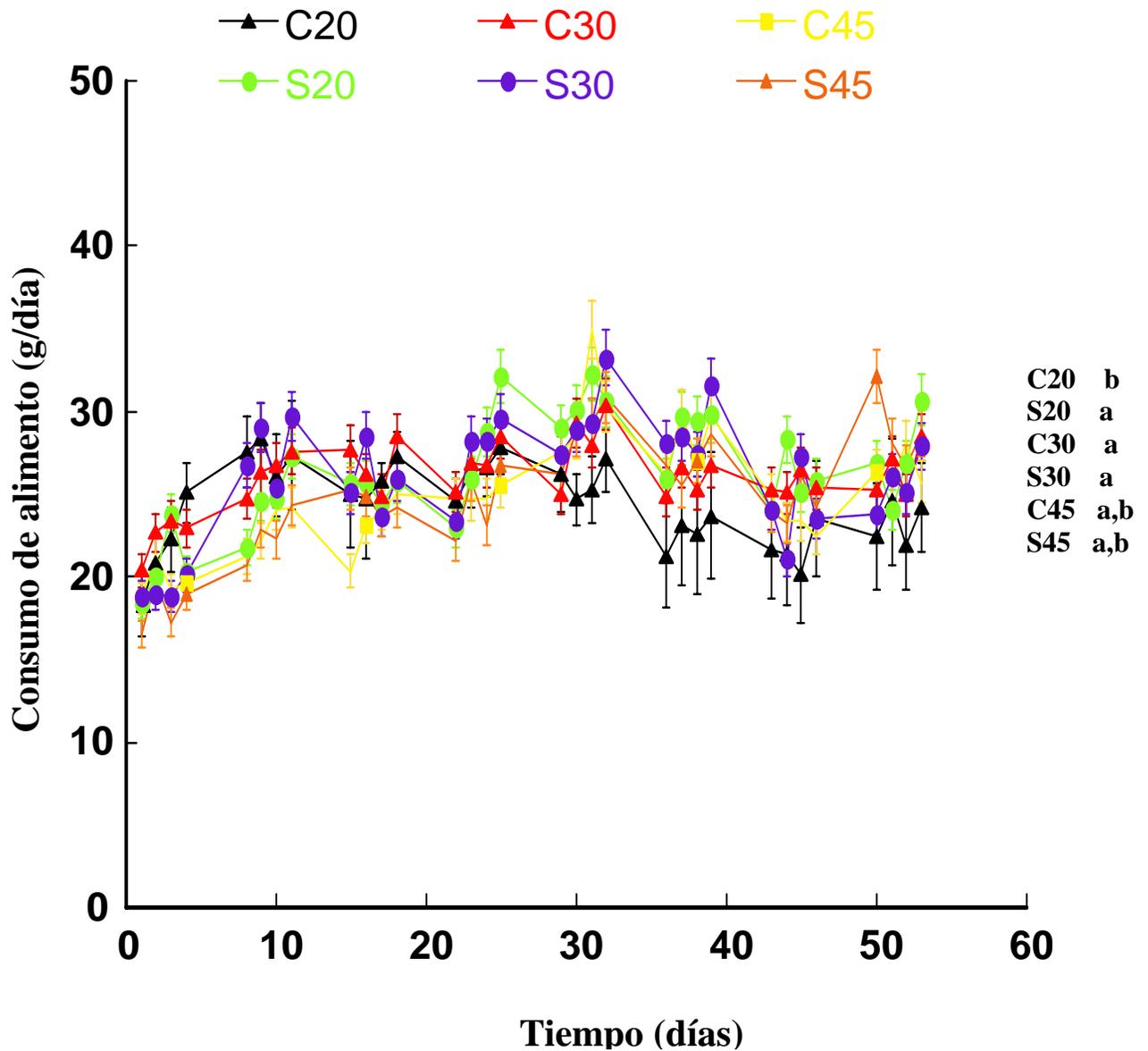
En la Gráfica 4.1 se observa el consumo de alimento de cada uno de los grupos en los 55 días de tratamiento.

### **4.3 Incremento de “peso”**

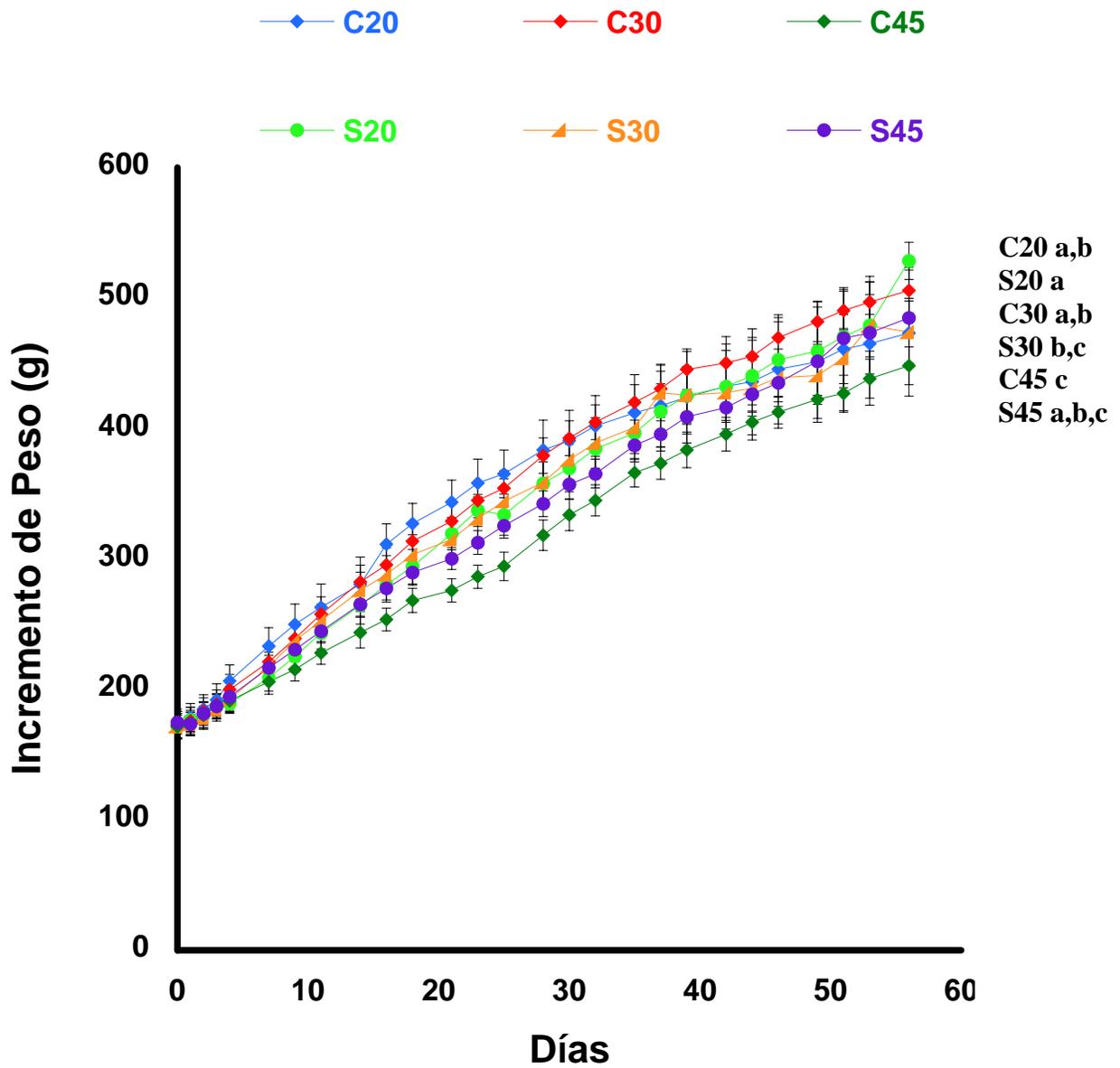
Al comparar los diferentes grupos de acuerdo a la concentración de proteína (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a su ganancia de “peso”. Sin embargo, con respecto al tipo de proteína, se observa que cuando se administra caseína como proteína dietaria se encuentra una tendencia hacia la disminución en el incremento de “peso” en los grupos alimentados con dicha proteína conforme aumenta su concentración, alcanzando la significancia estadística el grupo C45 (que fue el grupo con menor “peso”) con respecto a C20 y C30.

En los grupos alimentados con proteína de soya, de igual manera se observa una disminución en el incremento de “peso” conforme aumenta la concentración de proteína, alcanzando también diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos S20 y S30.

La tendencia indica que a mayor concentración de proteína, independientemente de su origen, la ganancia de “peso” es menor (Gráfica 4.2).



**Gráfica 4.1 Consumo de Alimento de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> por día durante los 55 días de estudio.**  
 Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$



Gráfica 4.2 Incremento de “peso” de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante los 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student’s “t” con un nivel de significancia de  $p < 0.05$

## **4.4 Determinación de lípidos en suero y en el tejido renal**

### **4.4.1 Determinación de colesterol en suero**

Se observa que los grupos que fueron alimentados con caseína presentaron niveles más elevados de colesterol que los grupos alimentados con proteína de soya, en donde se nota claramente que existe una tendencia hacia una disminución, confirmando el efecto benéfico que esta proteína logra, al disminuir el colesterol en el organismo.<sup>55</sup>

Los niveles de colesterol de todos los grupos de animales alimentados con caseína se encontraron por arriba de los valores normales, indicando que las ratas presentaban hipercolesterolemia, y los grupos alimentados con soya se encontraron dentro del nivel considerado adecuado.

Comparando a la proteína de caseína y a la proteína de soya entre sí, a las mismas concentraciones (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) se observa que existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en los niveles de colesterol en suero de todos los grupos.

Al comparar los grupos alimentados con caseína como proteína dietaria, se encontró que existe un incremento estadísticamente significativo entre los animales alimentados con C30 con respecto a los animales alimentados con C45, mientras que para los grupos alimentados con soya no existió diferencia estadísticamente significativa (Gráfica 4.3).

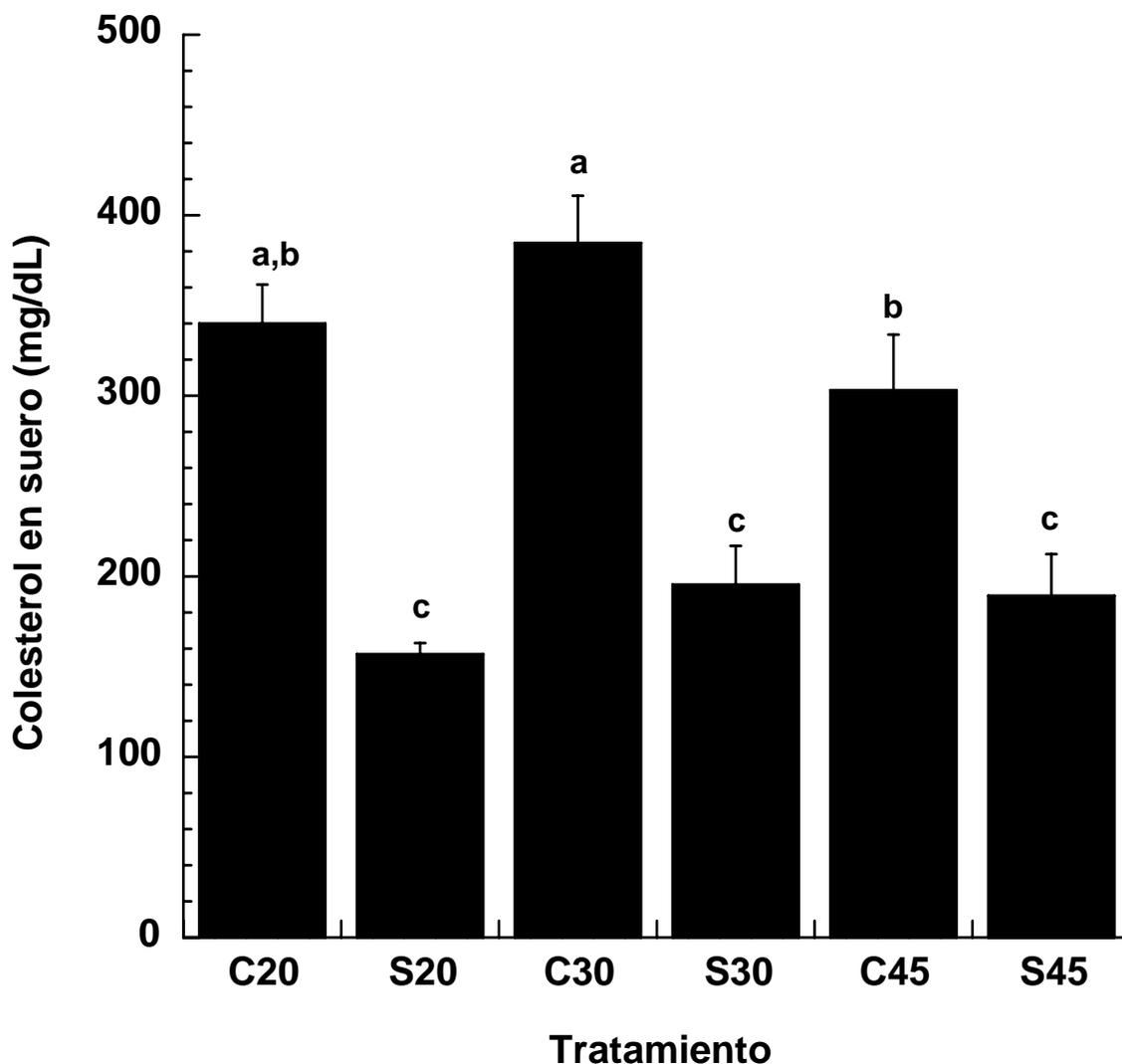
### **4.4.2 Determinación de triglicéridos en suero**

La concentración de triglicéridos en los grupos alimentados con soya fue más elevada (por arriba de los niveles considerados normales) que en los grupos alimentados con caseína.

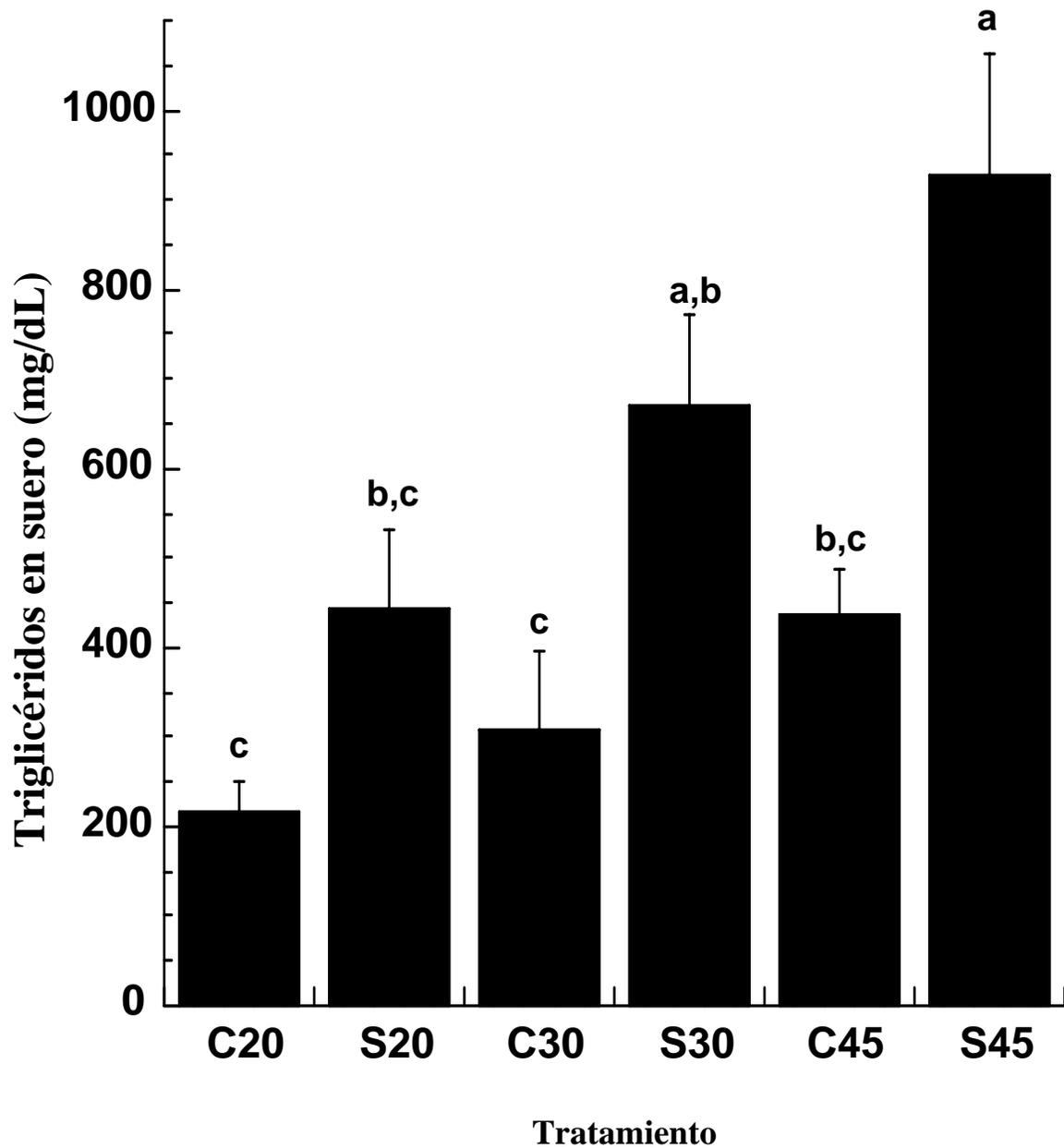
Las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> presentaron hipertrigliceridemia (característica común en este modelo animal) y la tendencia de la concentración de triglicéridos va en aumento conforme se incrementa la concentración de proteína (tanto de soya como de caseína).

Se observa, que al comparar los grupos de acuerdo a la concentración de proteína (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) existe diferencia estadística significativa en los niveles de triglicéridos en suero, entre los grupos C30 y S30 y C45 y S45.

De acuerdo con el tipo de proteína, los grupos alimentados con caseína a diferentes concentraciones no presentaron diferencia estadística en los niveles de triglicéridos. Sin embargo, para los grupos que consumieron proteína de soya, sí se alcanzó una diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) en el grupo S45, que fue el que tuvo una mayor concentración de triglicéridos (Gráfica 4.4).



*Gráfica 4.3 Colesterol en el suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontrada se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*



*Gráfica 4.4 Triglicéridos en el suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*

#### **4.4.3 Determinación de colesterol en riñón**

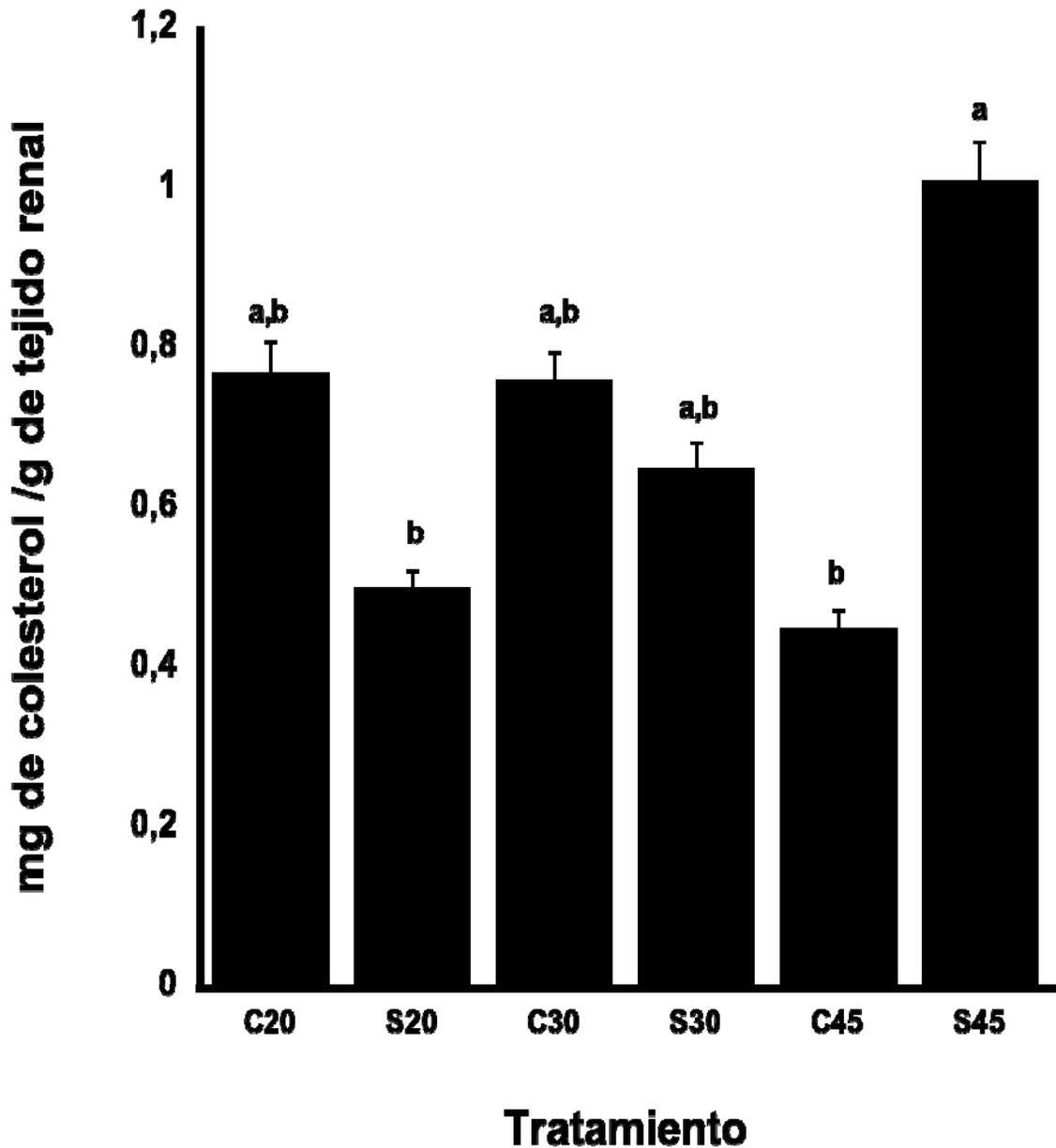
Para esta determinación, al comparar los diferentes grupos de acuerdo a la concentración de proteína (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos C45 y S45, en donde S45 fue el grupo que alcanzó el nivel más alto de colesterol en el tejido renal. Comparando el tipo de proteína a diferentes concentraciones, se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol en los grupos alimentados con caseína. Sin embargo para los grupos alimentados con soya, S45 fue el que alcanzó la significancia estadística. La tendencia que se observa, es que la proteína de soya ayuda a disminuir la concentración de colesterol en el tejido renal, pero ésta va aumentando conforme también aumenta la concentración de proteína de soya.

En la Gráfica 4.5 se observa como la mayoría de los grupos alimentados con proteína de origen animal presentan una mayor concentración de colesterol en el tejido renal, con excepción del grupo S45.

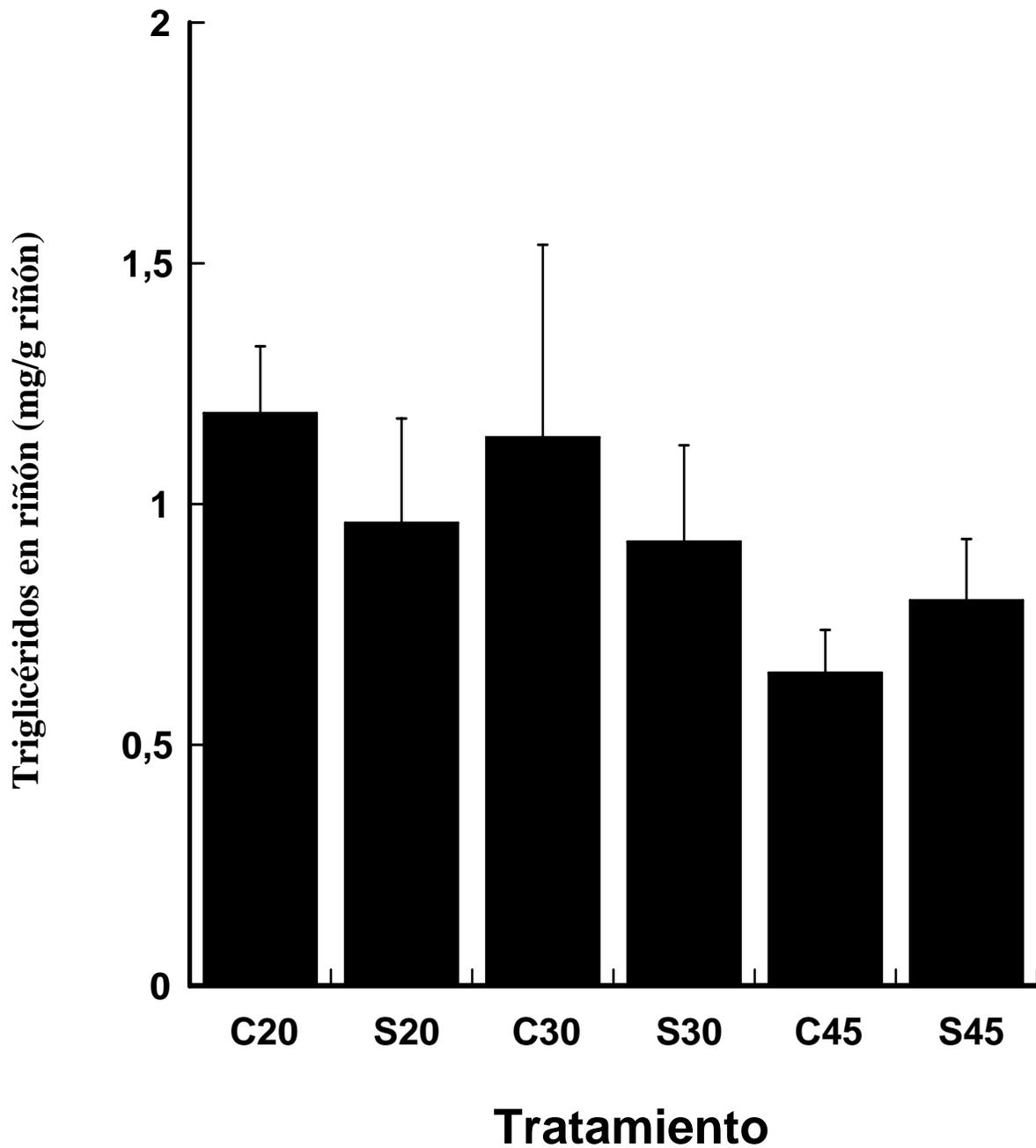
#### **4.4.4 Determinación de triglicéridos en el riñón**

La concentración de triglicéridos en el tejido renal fue más elevada en los grupos alimentados con caseína (20 y 30%) que en los grupos alimentados con soya, con excepción del grupo C45. Sin embargo, estadísticamente no existe diferencia significativa en las concentraciones de triglicéridos en el tejido renal en los 6 grupos de estudio.

En la gráfica (gráfica 4.6) se observa una tendencia hacia la disminución de la concentración de triglicéridos cuando se consume proteína de soya (con excepción del grupo S45) aunque no es estadísticamente significativo en ninguno de los casos.



*Gráfica 4.5 Colesterol en el tejido renal de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*



*Gráfica 4.6 Triglicéridos en el tejido renal de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*

## **4.5 Determinación de glucosa e insulina**

### **4.5.1 Determinación de glucosa**

La determinación de los niveles de glucosa en sangre, reflejó que se tienen en todos los grupos de ratas, valores por arriba de los considerados normales (70 – 105mg/dL). Esto significa que se encontraban en una etapa de hiperglicemia.

Al comparar los diferentes grupos de acuerdo a la concentración de proteína (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) existió diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en los niveles de glucosa de los grupos C30 y S30, y C45 y S45, observándose, para todas las concentraciones de proteína, que con la soya los niveles de glucosa en el suero sanguíneo se incrementan más que con caseína.

En cuanto al tipo de proteína, los grupos alimentados con caseína no presentaron diferencia estadísticamente significativa en los niveles de glucosa.

En los grupos alimentados con soya se observa una tendencia a incrementarse los niveles de glucosa en el suero sanguíneo conforme aumenta la concentración de proteína, aunque no es estadísticamente significativo (Gráfica 4.7).

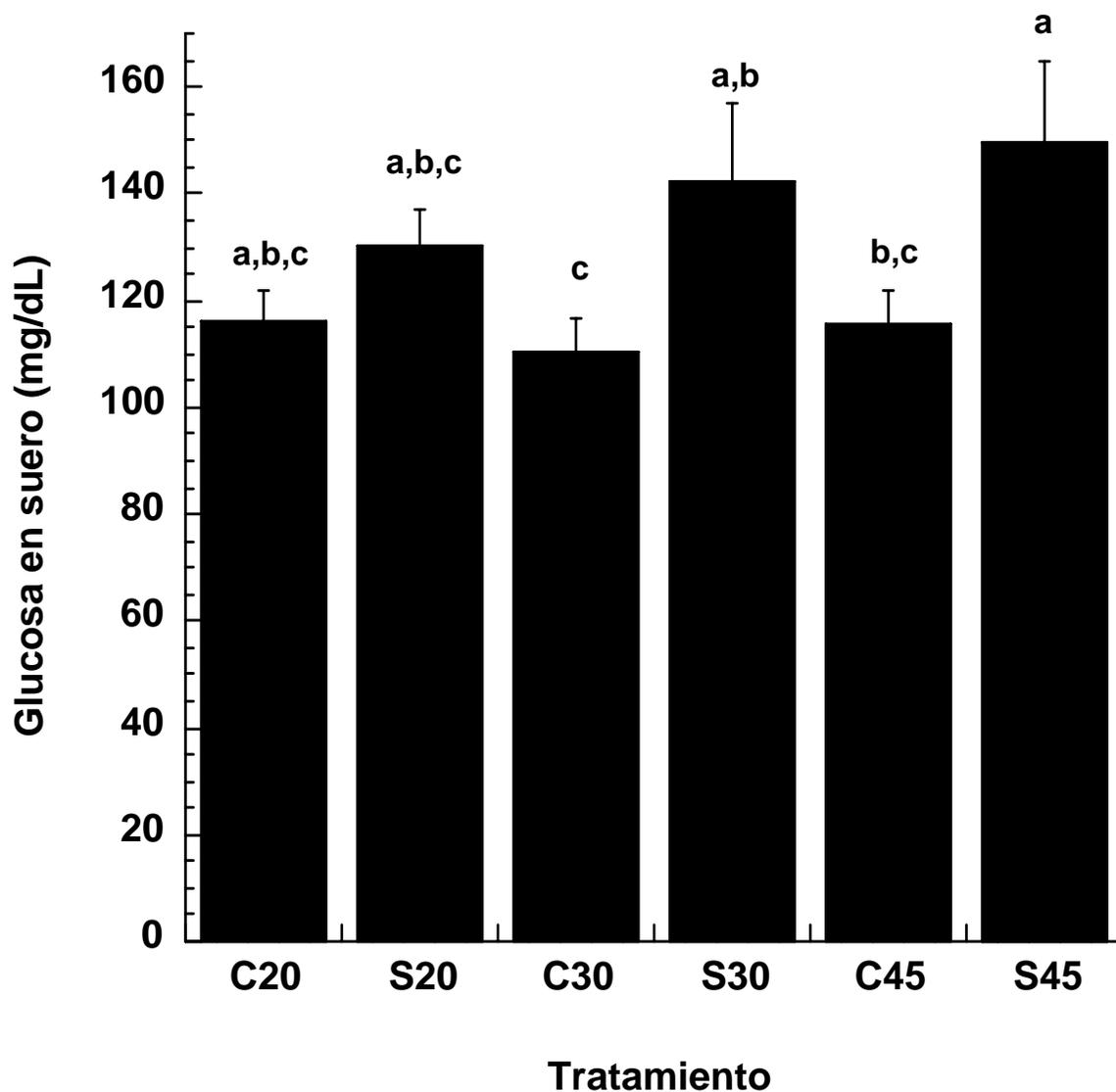
### **4.5.2- Insulina en suero sanguíneo**

Para la determinación de parámetros hormonales se llevó a cabo la medición de la concentración de insulina en suero sanguíneo. Con ello se pudo observar que en los 6 grupos de estudio, se tuvieron niveles muy por arriba de los considerados normales (0.5 - 2ng/mL), indicando que las ratas se encontraban con hiperinsulinemia severa, que es una de las características de este modelo de obesidad experimental.

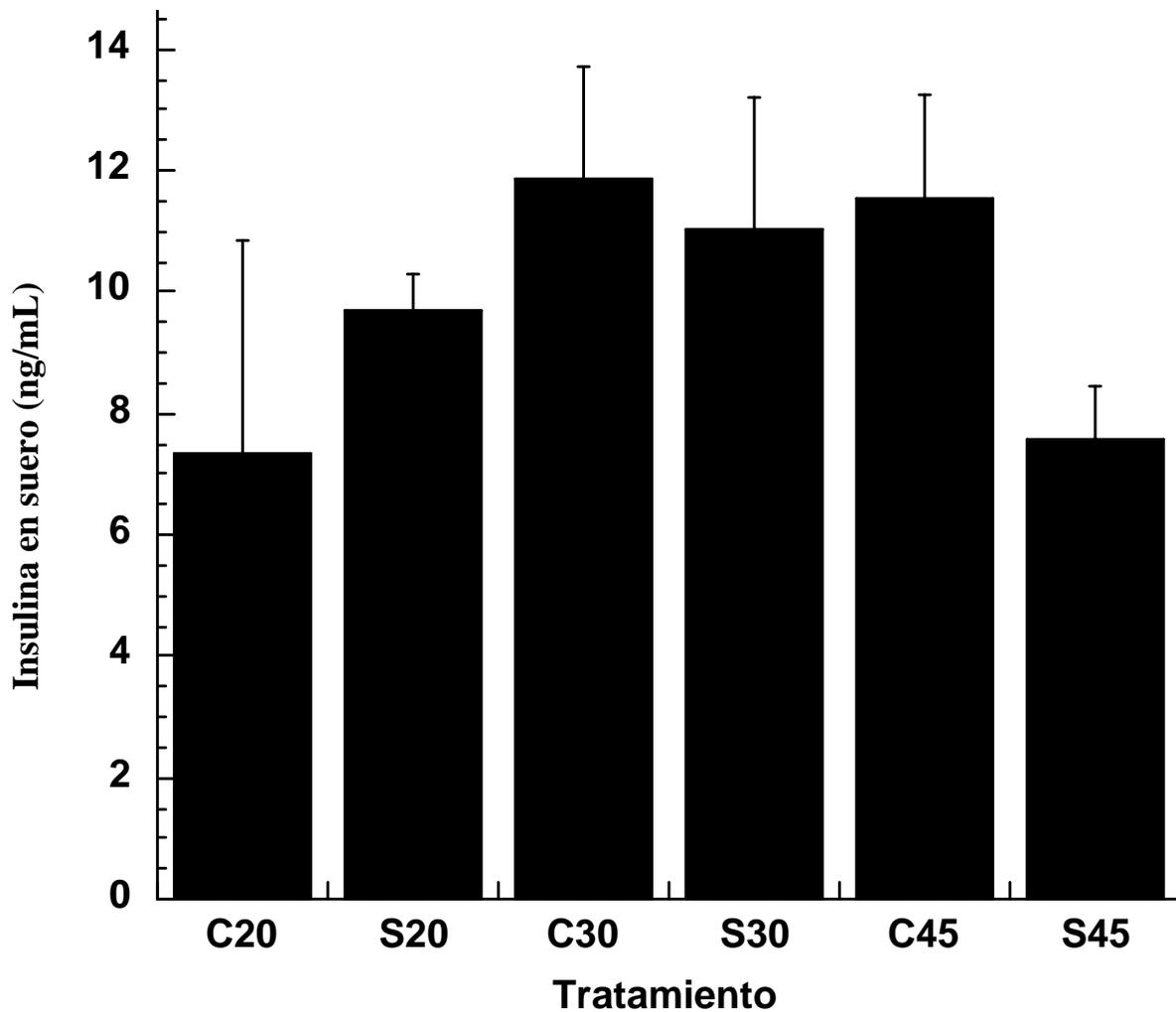
Estadísticamente no existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la concentración de insulina en los 6 grupos de estudio.

En la gráfica (Gráfica 4.8) se observa que en los grupos que fueron alimentados con caseína, la concentración de insulina fue mayor que en aquellos que fueron alimentados con soya, (con excepción del grupo C20) aunque en todos los grupos la concentración fue muy elevada.

Este resultado indica que el consumo de proteína de soya presenta una tendencia a disminuir la hiperinsulinemia, que más adelante llega a convertirse en un proceso de resistencia a la insulina, aunque no fue estadísticamente significativo.



*Gráfica 4.7 Glucosa en el suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*



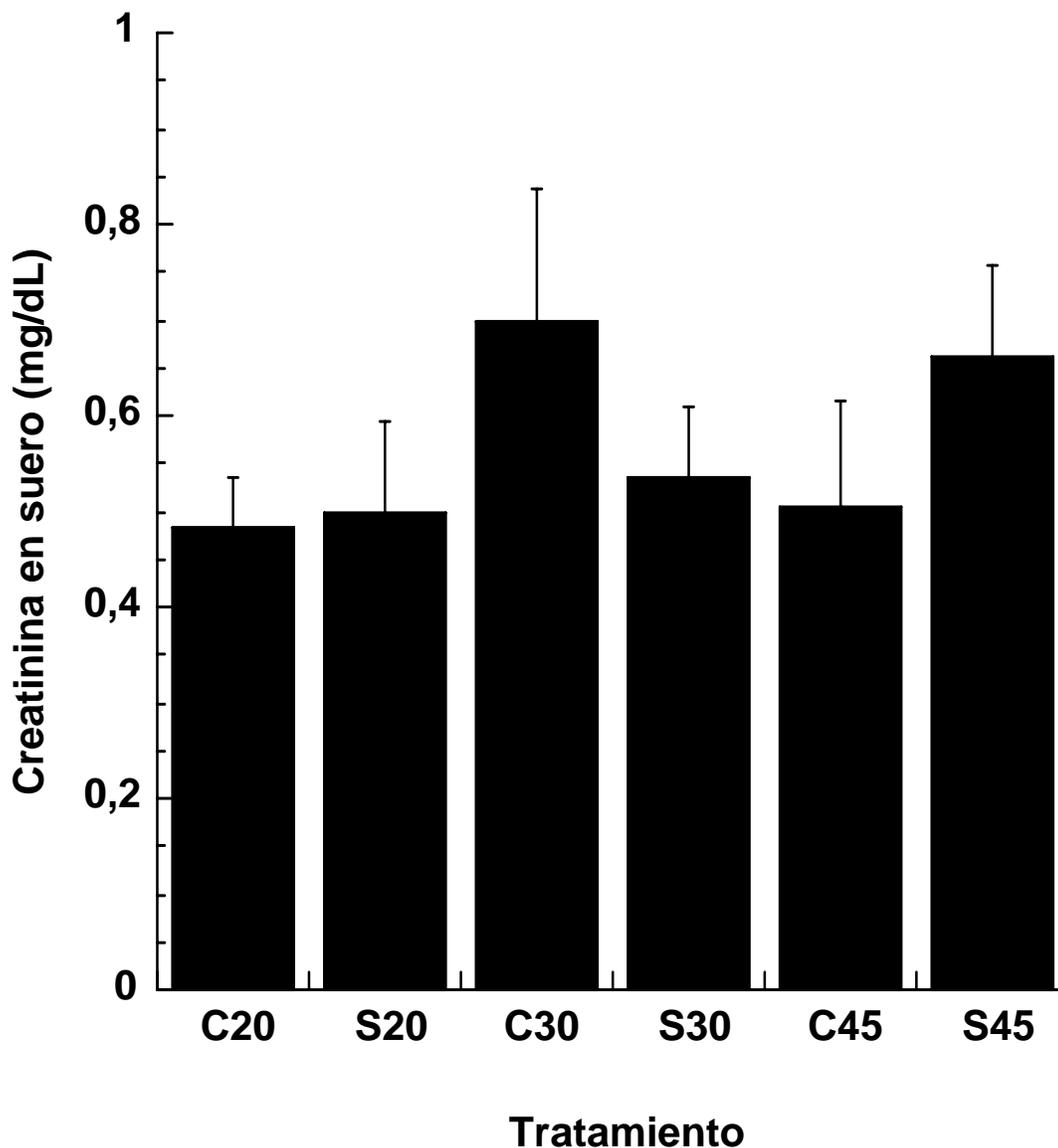
*Gráfica 4.8. Insulina en el suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$*

#### **4.6. Determinación de parámetros bioquímicos en suero y orina para evaluar la función renal**

##### **4.6.1. Creatinina en suero**

En la determinación de creatinina en suero, se encontró que la concentración de ésta en los 6 grupos de estudio, estuvo dentro de los niveles considerados normales (0.40 – 1.40 mg/dL), por

lo que no se puede hablar de un problema funcional hasta este momento del experimento. Con la proteína de soya se observa una ligera tendencia a aumentarse los niveles de creatinina conforme aumenta la concentración de proteína. Para los grupos alimentados con caseína se alcanza a observar esa misma tendencia con excepción del grupo C45. Estadísticamente se observa que no existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la concentración de creatinina en los 6 grupos de estudio.



**Gráfica 4.9** Creatinina en el suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$

#### **4.6.2. Creatinina en orina**

Los grupos que se encuentran en el rango de creatinina en orina considerado normal son C45 y S45. En los demás grupos se observa que la concentración de creatinina es mayor, lo que podría provocar que más adelante se pudieran presentar complicaciones renales.

De acuerdo con el tipo de proteína a la misma concentración, estadísticamente existe diferencia significativa en la concentración de creatinina en los grupos C20 y S20.

Los grupos alimentados con caseína muestran una tendencia a disminuir la concentración de creatinina conforme aumenta la concentración de proteína, mostrando una diferencia estadística significativa. Con soya también se muestra esta tendencia hacia una disminución de los niveles de creatinina en orina, teniendo una significancia estadística, el grupo S45.

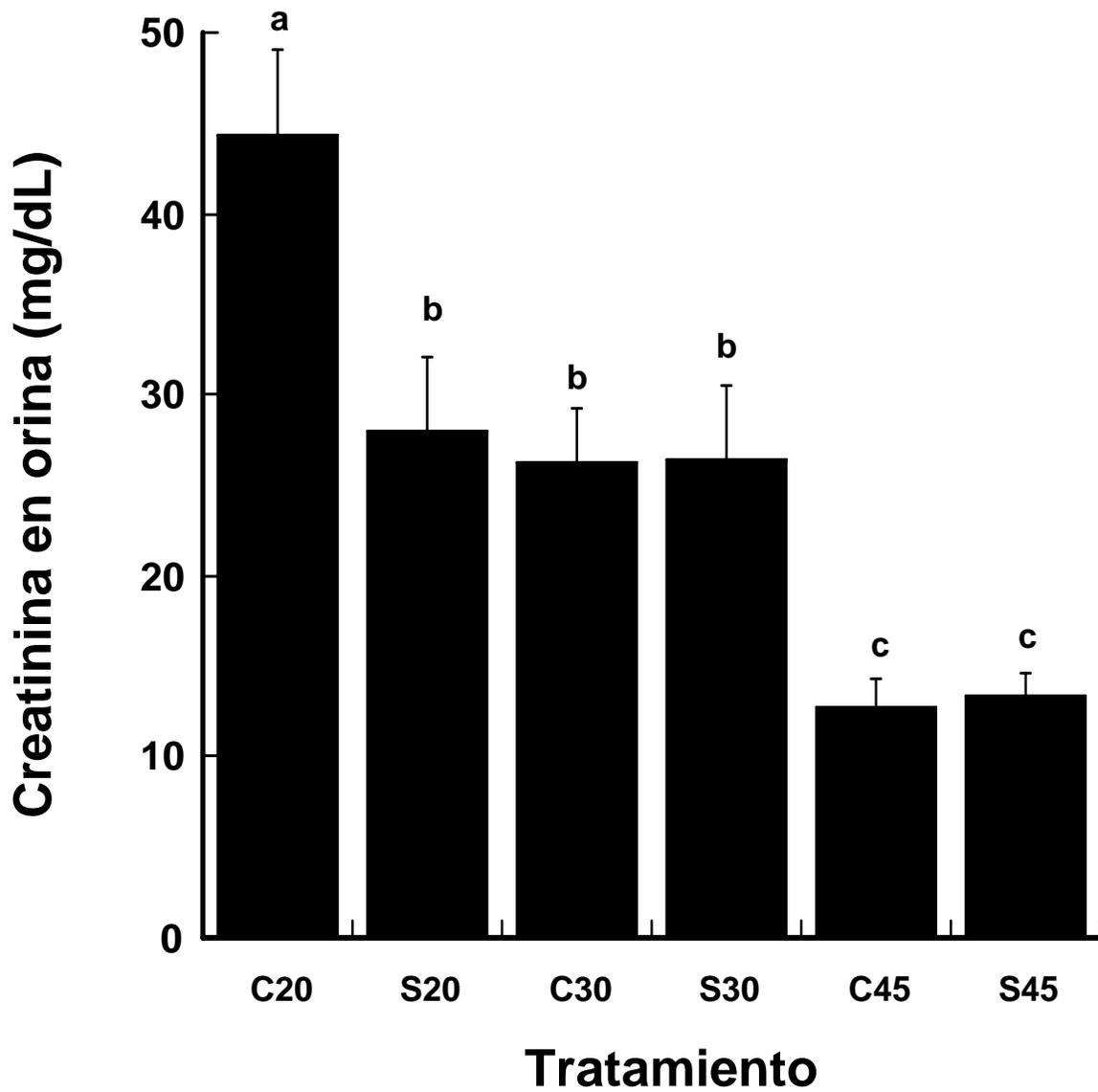
En la Gráfica 4.10 se observa, que en la mayoría de los grupos, las concentraciones de creatinina están por arriba del rango considerado normal.

#### **4.6.3 Nitrógeno ureico en sangre (*BUN*)**

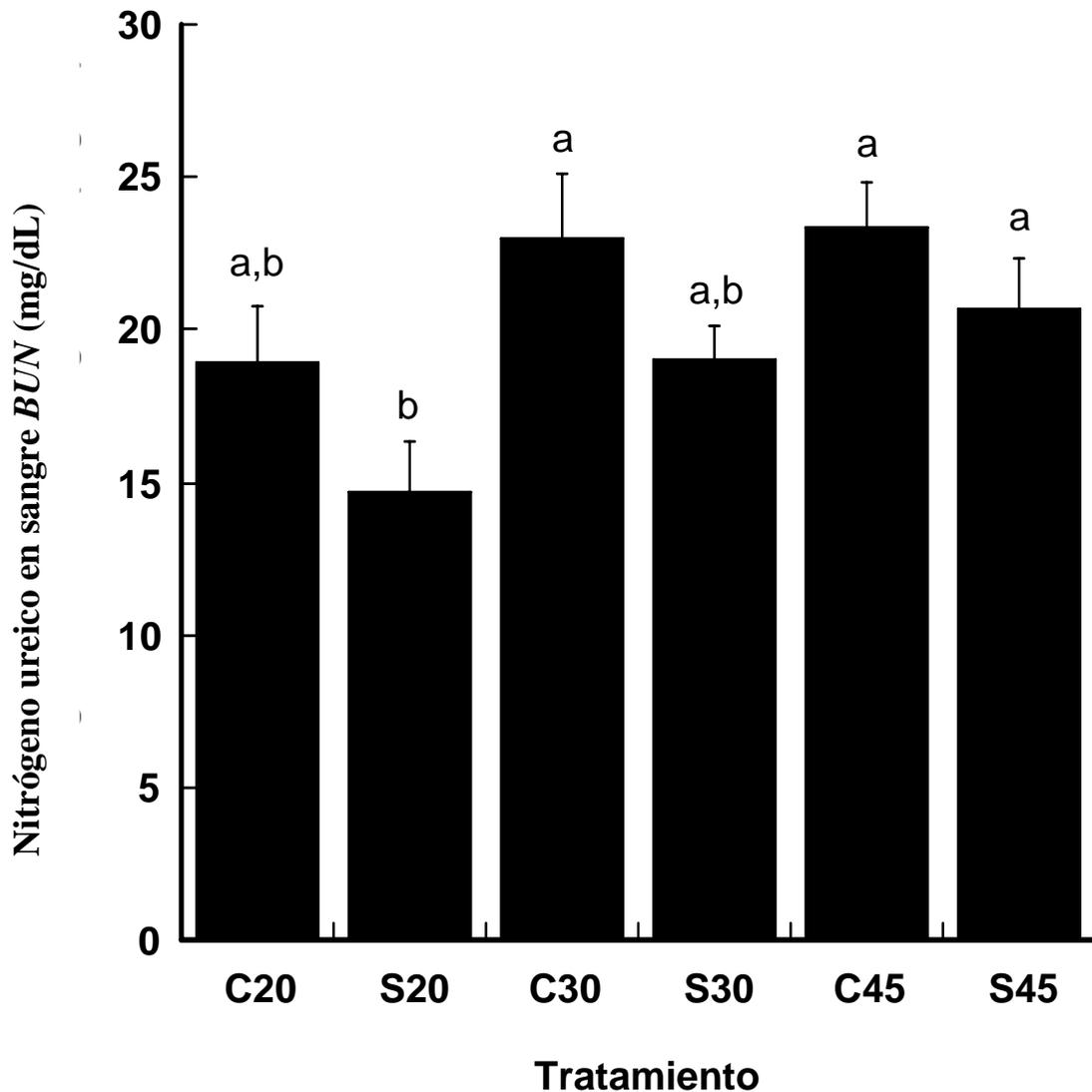
Con respecto al nitrógeno ureico en sangre (*blood ureic nitrogen, BUN*, por sus siglas en inglés), solamente el grupo S20 se encuentra dentro del rango de *BUN* considerado normal (7 - 18mg/dL). En los otros grupos, el valor de *BUN* es más elevado e indica que pudieran presentarse posteriormente complicaciones a nivel renal.

Al comparar los diferentes grupos de acuerdo a la concentración de proteína (C20 y S20), (C30 y S30) y (C45 y S45) no se observó diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de *BUN* en suero, sin embargo se observa que la concentración de *BUN* fue más alta en aquellos grupos que fueron alimentados con proteína de origen animal (caseína) que en los grupos alimentados con soya, lo cual indica una influencia benéfica de este tipo de proteína sobre el riñón.

Con respecto al tipo de proteína, los grupos que consumieron caseína muestran una tendencia hacia un incremento en la concentración de *BUN* conforme aumenta la concentración de proteína, aunque no es estadísticamente significativo. Para los grupos que consumieron soya se observa esta misma tendencia hacia un incremento de *BUN* conforme aumenta la concentración de proteína, mostrando una diferencia estadística significativa entre los grupos S20 y S45.



**Gráfica 4.10 Creatinina en orina de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio.**  
 Los resultados se presentan como el promedio  $\pm$ SEM ( $n = 8$ ). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de  $p < 0.05$



*Gráfica 4.11 BUN en suero sanguíneo de los grupos de ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante 55 días de estudio. Los resultados se presentan como el promedio ±SEM (n = 8). El análisis estadístico se determinó mediante un ANOVA, aquellas diferencias estadísticas encontradas se analizaron con la prueba de Student's "t" con un nivel de significancia de p < 0.05*

#### **4.7 DISCUSIÓN FINAL DE RESULTADOS**

La evaluación del efecto de la concentración y tipo de proteína en un modelo animal de obesidad genética se llevó a cabo con el fin de encontrar las alteraciones que pueden existir en la función renal y en el metabolismo de los lípidos.

Al llevar a cabo la experimentación, se encontró que los animales antes de ser sometidos a los diferentes tratamientos dietarios presentaban un funcionamiento renal adecuado mediante la determinación de creatinina basal en la orina.

Más adelante se les administraron las dietas cuya fuente de proteína dietaria era de origen animal o vegetal con diferentes concentraciones (20, 30 y 45%) durante 55 días, encontrando que el consumo de las ratas fue el mismo, con excepción del grupo C20, que tuvo un menor consumo y fue el único que mostró una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los demás grupos, probablemente porque las ratas no mostraron mucho gusto por la dieta de caseína debido a su palatabilidad.

El incremento de “peso” fue menor en aquellos grupos alimentados con un mayor porcentaje de proteína. Se puede argumentar que una concentración muy alta de proteína en la dieta, pudiera ser la causa de un menor “peso” corporal debido a la pérdida de líquidos que puede ocurrir durante su consumo (ya que se presentaron cuadros diarreicos).

Por otro lado este efecto era de esperarse ya que se ha argumentado que las dietas altas en proteína favorecen la pérdida de “peso” (dietas Atkins, Dieta Southbeach, the Zone).

En cuanto a las determinaciones bioquímicas de lípidos en suero, se encontró que la proteína de soya ayudó a disminuir notablemente los niveles de colesterol en el suero sanguíneo de las ratas con respecto a la caseína, afirmando de este modo el efecto hipolipemiente de esta proteína en donde se ha demostrado en estudios con modelos experimentales y en pacientes con dislipidemias que disminuye el colesterol (Sirtori y col. 1995).<sup>55</sup>

La concentración de triglicéridos en suero presentó el efecto contrario, y todos los grupos alimentados con soya reflejaron hipertigliceridemia. La tendencia que se observa es, que a medida que aumenta la concentración de proteína, independientemente de su origen, aumenta la concentración de triglicéridos.

Este efecto no era precisamente el esperado, ya que se trataba de encontrar que en todos los grupos alimentados con soya se redujeran los niveles de triglicéridos debido a que se ha planteado que esta proteína de origen vegetal reduce los niveles de lípidos en el organismo (Sirtori y col. 1995)<sup>55</sup>, sin embargo este mismo efecto se observó en un estudio realizado con personas que fueron alimentadas con proteína de soya durante 8 semanas, en el que se notó una disminución significativa en los niveles de colesterol en suero con respecto a la concentración de triglicéridos, en donde se tuvo un incremento, de acuerdo con D'Amico y col. (1992).<sup>129</sup>

Este resultado puede deberse a que este modelo animal tiende a presentar hipertrigliceridemia, y para este caso se tuvo un efecto más pronunciado con la proteína de soya debido a que con el consumo de caseína los triglicéridos se van almacenando en el tejido adiposo, y con el consumo de la proteína de soya se logra una movilización de los mismos hacia la circulación, llegando al torrente sanguíneo y en el momento de la medición se observó una mayor concentración. Este resultado no se sabe si en realidad es benéfico o no, y tendrían que realizarse estudios más detallados como una determinación de ácidos grasos libres para poder evaluarlo.

Para el tejido renal, en la determinación de colesterol, los niveles disminuyen con el consumo de proteína de soya (20 y 30%) con excepción del grupo S45 respecto de la caseína, la variabilidad en los resultados puede deberse a que el grupo C45 fue uno de los que presentó menor consumo de alimento y el fallecimiento de 3 animales durante la experimentación. Estos animales fallecidos se encontraban en una etapa crítica, y la medición de sus parámetros probablemente hubiera podido contribuir a tener resultados con mayor información.

Para la determinación de los triglicéridos se encontró que el consumo de proteína de soya contribuye a la disminución de la concentración de los mismos en el riñón, aunque este efecto no se observa en el grupo S45. Será necesario realizar más experimentación para corroborar lo que está ocurriendo a concentraciones más elevadas de proteína de soya.

En general se observa que la soya ayuda a la disminución de depósitos de lípidos en el riñón en concentraciones al 20 y 30%.

En la determinación de glucosa en suero se tuvieron en todos los grupos valores por arriba de los adecuados, indicando la hiperglicemia característica de esta cepa de animales.

Se observa que en los grupos alimentados con soya los niveles de glucosa fueron más elevados que en los de caseína, lo cual no se esperaba, ya que se ha confirmado que la proteína de soya

contribuye a la disminución de los índices de glicemia según Anderson y col. (1999).<sup>41</sup> Esto deberá ser objeto de nuevas investigaciones.

La concentración de insulina se encontraba elevada en los 6 grupos, por arriba de los niveles normales, reflejando una característica hiperinsulinemia severa de este modelo.

Para el análisis de la función renal, en la determinación de creatinina en suero se observó que hasta ese momento del estudio ninguno de los animales presentó un daño renal severo, ya que las concentraciones obtenidas se encuentran en el rango de normalidad.

Los grupos alimentados con soya al 20% y 45% presentaron niveles más elevados de creatinina con respecto a la caseína. Solamente el grupo de soya al 30% tuvo una concentración menor que el grupo de caseína. Este resultado no era el esperado, ya que varios estudios, incluyendo el de D'Amico y col. (1992)<sup>129</sup> encontraron que la proteína de origen vegetal retarda o reduce el daño renal.

Para creatinina en orina se observa que el grupo control de caseína al 20% fue el que tuvo una concentración muy elevada, mostrando una diferencia estadísticamente significativa con respecto a todos los demás grupos. No se tiene una explicación para esto, por lo que en la siguiente etapa de la experimentación se analizará con determinaciones moleculares. Los otros grupos a la misma concentración no muestran diferencia estadística significativa, y a diferentes concentraciones se observa una tendencia a la disminución de creatinina para caseína y soya conforme aumenta la concentración de proteína, que sí es estadísticamente significativo.

En la determinación de nitrógeno ureico en sangre se observa que conforme aumenta la concentración de proteína de soya o caseína, los niveles de *BUN* también aumentan debido a que las dietas con mayor concentración de proteína poseen mayor cantidad de nitrógeno y esto se refleja en el análisis.

Se observa también que la proteína de soya ayuda a disminuir los niveles de *BUN* en el organismo, y de esta forma puede retardar la aparición de alguna afección a nivel renal, aunque no sea estadísticamente significativo con respecto a la caseína

Por lo anteriormente mencionado se puede concluir que en el lapso estudiado (55 días), la proteína de soya ayuda a disminuir los niveles de colesterol en el suero sanguíneo y en el tejido renal (en concentraciones de 20 y 30%)

De acuerdo con la hipótesis: Si se administra una dieta con niveles moderadamente altos de proteína de origen vegetal, entonces deberá disminuir la glucemia, la concentración de insulina en suero sanguíneo y el daño renal. Se observa que la concentración de glucosa fue más elevada con el consumo de proteína de soya que con caseína, por lo que la soya no ayuda a disminuir la glicemia con respecto a la caseína. La insulina sí se ve disminuida con respecto a la soya en concentraciones al 30 y 45% pero no al 20%.

En cuanto al funcionamiento renal, la concentración de colesterol y triglicéridos en el riñón disminuye con concentraciones de proteína de soya al 20 y 30%.

Para creatinina en suero sólo se ve favorecida la proteína de soya con respecto a la caseína a una concentración del 30%. Y en cuanto a nitrógeno ureico en sangre sí se observa una disminución de la concentración de *BUN* con el consumo de proteína de soya al 20, 30 y 45%

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

De acuerdo con los objetivos planteados en esta investigación, se determinó el efecto lipogénico de los diferentes tratamientos dietarios en donde se varió la concentración (20, 30 y 45%) y tipo de proteína (caseína y soya), en el modelo animal de obesidad genética con hiperinsulinemia (rata Zucker<sup>fa/fa</sup>), mediante el seguimiento del consumo de alimento y la masa corporal. Se determinó la concentración de glucosa e insulina en el suero sanguíneo de las ratas sometidas a los diferentes tratamientos dietarios, se analizaron los parámetros bioquímicos del perfil de lípidos (colesterol y triglicéridos en suero y tejido) y se determinó la función renal mediante el análisis de parámetros bioquímicos como creatinina y nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, por sus siglas en inglés). Y con la experimentación realizada, puede concluirse lo siguiente:

- El incremento de “peso” mostró una tendencia a ser mayor, en los grupos alimentados con concentraciones más bajas de proteína, independientemente de su origen.
- Todos los grupos de ratas presentaron niveles moderadamente elevados de glucosa con hiperinsulinemia, indicativo del proceso característico de resistencia a la insulina en este modelo de obesidad.
- La proteína de soya no favorece la disminución de los niveles de glucosa.
- La proteína de soya contribuye a la disminución de los niveles de colesterol en la sangre.
- La proteína de soya incrementa los niveles de triglicéridos en la sangre a medida que aumenta su concentración.

- El consumo de proteína de soya contribuye a la disminución de la concentración de lípidos en el tejido renal (colesterol y triglicéridos) en concentraciones al 20 y 30%.
- No se observó daño renal considerable en ninguno de los grupos en estudio y además los niveles de nitrógeno ureico en sangre disminuyen con el consumo de proteína de soya.
- La proteína de soya puede ayudar a disminuir la progresión hacia el daño renal con respecto a la proteína de origen animal, en concentraciones al 30%

## **5.2 Recomendaciones y estudios a futuro**

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, se recomienda una siguiente fase en donde sería importante la evaluación de la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos, así como los involucrados en inflamación. Esta evaluación se puede llevar a cabo por medio de la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés *Polymerase Chain reaction*) en tiempo real, lo cual requiere que se lleve a cabo la extracción del ARN. Así mismo es importante la determinación de la concentración de proteínas totales en orina para evaluar el funcionamiento renal, y el estudio de análisis histológicos para evaluar la morfología y estructura renal. Todos estos análisis serían útiles para evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria sobre el metabolismo intrarrenal y sistémico de lípidos en este modelo de obesidad genética.

## APÉNDICE

### A.1. Diferencia entre “peso” y masa

El “peso”, en física clásica, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre.

La masa, es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio.

Por ejemplo, una persona de 60 kg de masa, pesa 60 kg-fuerza en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza, sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg.

Las unidades de “peso” y masa tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo erróneamente como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg.<sup>130</sup>

### A.2. Datos experimentales

**Tabla A.2.1 Creatinina basal en mg/dL en orina de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>**

Grupo	Creatinina basal mg/dL
C20-2	16.06
C20-3	14.34
C20-4	16.89
C20-5	20.6
S20-1	15.94
S20-2	23.37
S20-3	18.88
S204	22.58
TOTAL	18.5825

Valores normales: 30 mg/dL  $\pm$  1.39

**Tabla A.2.2 Consumo de alimento promedio (g/día) de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante la experimentación**

Días	C20		S20		C30		S30		C45		S45	
	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM
1	18.45	2	18.43	0.7	20.4	0.76	18.83	0.83	18.72	0.74	16.52	0.63
2	20.8	1.87	19.99	1.23	22.7	1.61	18.96	2.12	21.34	0.98	19.73	0.98
3	22.27	1.95	23.85	1.77	23.4	1.05	18.77	1.25	19.19	0.87	17.25	1.39
4	25.11	1.83	20.24	1.61	23	0.98	20.15	0.77	19.67	0.49	18.92	0.81
8	27.57	2.13	21.75	2.54	24.8	0.72	26.79	2.89	21.24	2.17	20.75	1.13
9	28.31	2.27	24.66	2.16	26.3	1.13	29.03	2.64	22.19	1.05	22.87	1
10	26.13	2.48	24.72	1.59	26.7	0.92	25.43	0.79	24.09	3.3	22.29	1.04
11	27.33	3.27	27.31	1.28	27.6	1.7	29.72	0.68	24.15	1.15	24.35	0.32
15	24.98	3.2	25.67	1.38	27.7	1.51	25.12	1.31	20.33	1.52	25.32	0.94
16	24.69	3.64	25.71	1.92	26.2	0.81	28.53	2.29	23.17	1.51	24.94	1.01
17	25.76	1.15	24.47	1.35	24.9	0.86	23.61	1.1	24.03	2.3	23.69	0.94
18	27.28	1.51	25.77	1.91	28.5	0.97	25.91	2.32	25.01	1.48	24.24	1.2
22	24.61	1.37	22.93	1.68	25.1	0.92	23.45	1.5	24.7	2.45	22.13	1.78
23	26.33	2.06	25.95	1.67	26.9	1.48	28.26	1.4	24.68	1.5	25.85	1.03
24	26.62	1.76	28.8	1.64	26.8	1.18	28.22	1.85	24.7	4.04	23.13	1.54
25	27.81	1.58	32.08	0.83	28.5	1.08	29.57	1.38	25.49	2.79	26.8	1.12
29	26.17	2.28	28.98	1.03	25.1	0.93	27.41	1.72	27.63	3.26	26.17	1.56
30	24.68	1.52	30.06	1.29	29.3	0.55	28.96	1.99	28.54	2.15	28.75	1.91
31	25.25	1.98	32.29	1.18	28	0.84	29.36	1	35.01	4.23	29.34	1.73
32	27.1	1.89	30.59	1.84	30.4	0.87	33.26	0.8	30.29	1.49	30.88	1.42
36	21.31	3.11	25.91	1.19	24.9	1.01	28.07	1.52	26.22	1.67	26.71	1.62
37	23.11	3.6	29.67	0.74	26.7	0.51	28.46	0.55	29.86	2.56	25.5	2.58
38	22.54	3.61	29.44	1.42	25.3	0.89	27.43	0.71	27.08	1.4	26.99	1.7
39	23.7	3.82	29.86	1.76	26.8	2.3	31.59	0.88	29.65	1.66	28.69	1.72
43	21.63	2.9	24.05	3.11	25.3	1.2	24.12	2.49	24.94	2	23.89	3
44	21.38	3.05	28.31	2.74	25.1	1.07	21.06	3.06	23.35	1.47	23.23	0.86
45	20.15	2.87	25.14	2.03	26.5	1.46	27.28	4.31	23.42	1.2	26.24	0.93
46	23.56	3.49	25.84	2.54	25.4	1.19	23.56	1.88	22.44	0.99	24.26	2.39
50	22.4	3.23	26.9	2.12	25.3	0.71	23.77	1.61	26.4	1.87	32.1	7.59
51	24.59	3.84	24.13	3.48	27.1	0.6	26.11	1.91	25.71	2.01	28.12	1.16
52	21.91	2.66	26.87	2.73	25	0.39	25.11	1.33	28.08	2.29	26.68	1.29
53	24.22	2.68	30.72	1.37	28.5	0.51	27.94	1.57	25.69	1.64	28.74	1.04

**Tabla A.2.3 Incremento de “peso” promedio (g/día) de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> durante la experimentación**

Días	C20		S20		C30		S30		C45		S45	
	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM	X	SEM
0	173.89	10.87	172	9.6	172.7	10.55	171.7	12.33	171.62	9.74	174.57	8.7
1	178.51	10.66	176.7	9.67	175.9	10.35	173.8	11.27	174.27	9.75	173.72	8.84
2	184.76	11.23	180.3	10	183.4	10.26	178.4	12.45	180.22	9.56	181.52	9.18
3	191.83	12.33	187.2	9.88	188.7	10.94	184.9	11.11	186.83	9.47	187.26	8.79
4	206.66	12.2	189.4	6.98	199.8	11.63	192.6	12.62	191.28	9.79	194.44	10.5
7	233.28	14.1	208.9	10.29	221.1	11.82	217.6	10.82	205.81	9.45	216.55	9.55
9	249.99	15.61	225.4	12.18	239	11.82	237.4	11.86	215.26	8.62	230.46	9.16
11	263.01	17.94	243.1	12.18	257.9	12.94	252.7	13.36	227.99	8.62	244.66	9.01
14	280.62	20.77	264.4	14.4	282.3	12.94	276.1	9.56	243.51	11.8	265.35	9.01
16	311.32	15.78	280.3	13.44	295.5	13.13	288.2	10.46	253.55	8.79	277.46	8.77
18	327.23	15.23	294.1	13.23	313.6	13.38	303.4	10.77	268.24	9.29	289.6	9.62
21	343.74	16.81	319.5	12.45	329	12.97	315	10.06	275.9	8.88	300.21	8.31
23	358.17	18.41	337.3	12.22	344.7	13.21	330.9	10.46	286.57	8.87	312.71	9.1
25	365.3	18.41	333.9	15.84	354.2	13.53	344.3	10.29	294.45	11	325.47	9.47
28	383.52	22.9	358	16.47	379.3	13.58	358.9	6.98	318.21	11.7	342.39	9.83
30	390.71	23.31	369.7	18.31	392.6	13.3	376.2	8.74	333.83	12.1	357.14	11.22
32	402.1	23.27	384.5	18.48	404.8	13.3	389	8.06	344.92	12	365.43	10.98
35	412.25	29.02	396.4	21.97	420.2	13.53	400.9	7.13	366.08	10.9	387.24	10.95
37	417.63	31.67	413.2	21.15	430.6	13.32	427.4	12.2	373.46	12.4	395.71	12.94
39	423.97	35.02	425.4	22.18	445.3	15.5	425.7	8.33	383.73	13.6	409.01	12.98
42	432.36	38.13	432.3	27.49	450.2	14.76	427.7	8.32	395.74	13	416.18	16.53
44	435.86	40.54	440.6	27.21	455.2	14.67	431.1	9.22	404.72	13.4	426.29	13.64
46	445.48	41.76	452.9	28.9	469.6	15.49	439	11.89	412.47	12.1	435.04	14.54
49	451.2	46.42	459.3	33.77	481.9	15.32	440.7	13.01	422.35	14.5	451.64	12.9
51	460.85	47.14	470.5	36.09	490.5	14.98	454	13.88	426.88	14.2	469.13	18.17
53	465.1	47.07	479.3	37.51	496.9	15.82	478.9	20.91	438.21	15.1	473.48	14.06
55	473.2	48.26	528.6	14.24	506	17.6	474.1	12.18	448.04	14.5	484.78	15

**A.2.4 Lípidos en suero y en el tejido renal de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup> alimentadas con diferentes tratamientos dietarios**

**Tabla A.2.4.1 Concentraciones de colesterol promedio en suero**

Grupo	Grupo	Colesterol promedio en suero (mg/dL)
C20	Control 20% Caseína	340.50
S20	Control 20% Soya	156.49
C30	Control 30% Caseína	385.26
S30	Control 30% Soya	195.90
C45	Control 45% Caseína	302.43
S45	Control 45% Soya	189.30

Valores normales: <200mg/dL

**Tabla A.2.4.2 Concentraciones de triglicéridos promedio en suero**

Grupo	Grupo	Triglicéridos promedio en suero (mg/dL)
C20	20% Caseína	218.05
S20	20% Soya	443.25
C30	30% Caseína	279.17
S30	30% Soya	668.65
C45	45% Caseína	597.39
S45	45% Soya	926.16

Valores normales: <200mg/dL

**Tabla A.2.4.3 Concentraciones de colesterol promedio en riñón**

Grupo	Colesterol promedio en riñón (mg colesterol/g tejido)
C20	0.772
S20	0.498
C30	0.770
S30	0.618
C45	0.455
S45	1.018

**Tabla A.2.4.4 Concentraciones de triglicéridos promedio en riñón**

Grupo	Triglicéridos promedio en riñón (mg triglicéridos/g tejido)
C20	1.20
S20	1.47
C30	2.84
S30	2.24
C45	1.35
S45	2.50

**A.2.5 Glucosa y Parámetros hormonales (insulina)**

**A.2.5.1 Concentraciones de glucosa promedio en suero de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>**

Grupo	Glucosa promedio en suero (mg/dL)
C20	116
S20	131
C30	110.12
S30	142.37
C45	115.37
S45	149.37

Valores normales: 70 - 105mg/dL

**A. 2.5.2 Concentraciones de insulina promedio en suero de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>**

Grupo	Insulina promedio en suero (ng/mL)
C20	7.326
S20	9.716
C30	11.872
S30	11.013
C45	11.554
S45	7.577

Valores esperados: 0.5 a 2.0 ng/mL

## A.2.6 Parámetros bioquímicos en suero y orina para evaluar la función renal

### A.2.6.1. Concentraciones de creatinina promedio en suero

Grupo	Creatinina promedio en suero (mg/dL)
C20	0.237
S20	0.497
C30	0.698
S30	0.43
C45	0.505
S45	0.589

Valores esperados: 0.40 – 1.40 mg / dL

### A.2.6.2. Concentraciones de creatinina promedio en orina

Grupo	Creatinina promedio en orina (mg/dL)
C20	44.272
S20	28.058
C30	26.257
S30	26.468
C45	12.801
S45	13.338

Valores normales: 18 mg/dL  $\pm$  1.39

### A. 2.6.3 Concentraciones de nitrógeno ureico en sangre promedio (*BUN*)

Grupo	<i>BUN</i> promedio en suero (mg/dL)
C20	18.94
S20	14.68
C30	22.98
S30	19.01
C45	23.38
S45	20.65

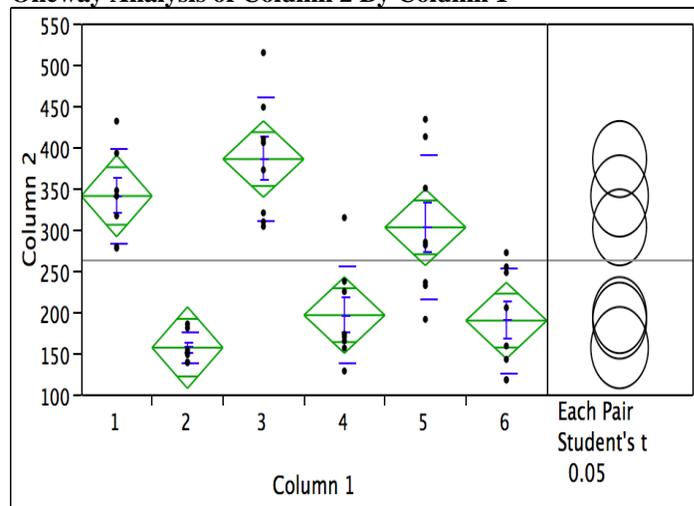
Valores esperados: 7-18 mg/dL

## A.3 Análisis estadístico

### A.3.1 Lípidos en suero y en el tejido renal de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>

#### A.3.1.1 Colesterol en suero

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



Oneway Anova  
Summary of Fit

Rsquare	0.665614
Adj Rsquare	0.623816
Root Mean Square Error	64.66335
Mean of Response	262.2222
Observations (or Sum Wgts)	46

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	332928.83	66585.8	15.9245	<.0001
Error	40	167253.98	4181.3		
C. Total	45	500182.81			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	7	340.503	24.440	291.11	389.90
2	7	156.494	24.440	107.10	205.89
3	8	385.268	22.862	339.06	431.47
4	8	195.900	22.862	149.69	242.11
5	8	302.435	22.862	256.23	348.64
6	8	189.303	22.862	143.10	235.51

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	7	340.503	56.8030	21.470	287.97	393.04
2	7	156.494	18.8864	7.138	139.03	173.96
3	8	385.268	74.1814	26.227	323.25	447.28
4	8	195.900	59.5922	21.069	146.08	245.72
5	8	302.435	87.9951	31.111	228.87	376.00
6	8	189.303	63.4413	22.430	136.26	242.34

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02108	0.05

Abs(Dif)-LSD	3	1	5	4	6	2
3	-65.34	-22.87	17.49	124.02	130.62	161.13
1	-22.87	-69.86	-29.57	76.96	83.56	114.15
5	17.49	-29.57	-65.34	41.19	47.79	78.30
4	124.02	76.96	41.19	-65.34	-58.75	-28.23
6	130.62	83.56	47.79	-58.75	-65.34	-34.83
2	161.13	114.15	78.30	-28.23	-34.83	-69.86

Positive values show pairs of means that are significantly different.

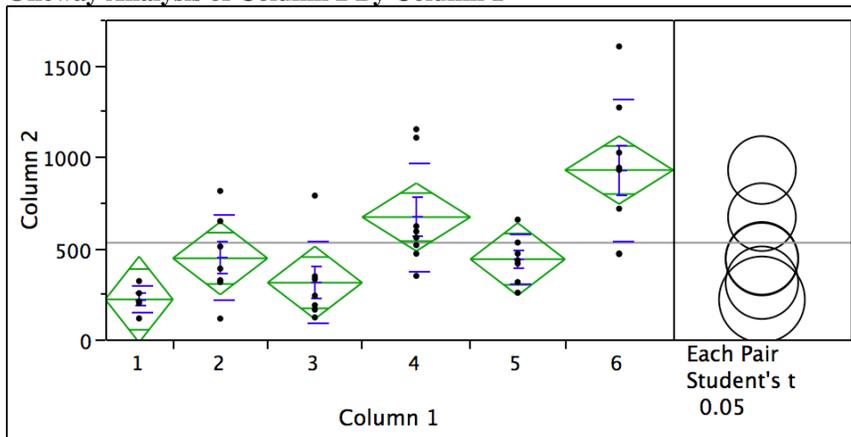
Level				Mean
3	A			385.26750
1	A	B		340.50286
5		B		302.43500
4			C	195.90000
6			C	189.30250
2			C	156.49429

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
3	2	228.7732	161.135	296.4115	<.0001	
3	6	195.9650	130.620	261.3098	<.0001	
3	4	189.3675	124.023	254.7123	<.0001	
1	2	184.0086	114.152	253.8651	<.0001	
1	6	151.2004	83.562	218.8386	<.0001	
5	2	145.9407	78.302	213.5790	<.0001	
1	4	144.6029	76.965	212.2411	<.0001	
5	6	113.1325	47.788	178.4773	0.0012	
5	4	106.5350	41.190	171.8798	0.0021	
3	5	82.8325	17.488	148.1773	0.0143	
3	1	44.7646	-22.874	112.4029	0.1886	
4	2	39.4057	-28.233	107.0440	0.2460	
1	5	38.0679	-29.570	105.7061	0.2621	
6	2	32.8082	-34.830	100.4465	0.3328	
4	6	6.5975	-58.747	71.9423	0.8393	

### A.3.1.2 Triglicéridos en suero

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



#### Oneway Anova Summary of Fit

Rsquare	0.492583
Adj Rsquare	0.422108
Root Mean Square Error	259.1599
Mean of Response	528.2738
Observations (or Sum Wgts)	42

**Analysis of Variance**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	2347211.3	469442	6.9895	0.0001
Error	36	2417899.5	67164		
C. Total	41	4765110.8			

**Means for Oneway Anova**

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	218.056	115.90	-17.0	453.1
2	7	443.254	97.95	244.6	641.9
3	7	309.623	97.95	111.0	508.3
4	8	668.659	91.63	482.8	854.5
5	7	438.359	97.95	239.7	637.0
6	8	926.163	91.63	740.3	1112.0

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	218.056	75.092	33.58	124.82	311.3
2	7	443.254	232.617	87.92	228.12	658.4
3	7	309.623	226.112	85.46	100.50	518.7
4	8	668.659	294.891	104.26	422.12	915.2
5	7	438.359	132.874	50.22	315.47	561.2
6	8	926.163	387.162	136.88	602.49	1249.8

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02809	0.05

Abs(Dif)-LSD	6	4	2	5	3	1
6	-262.80	-5.30	210.88	215.78	344.52	408.47
4	-5.30	-262.80	-46.62	-41.72	87.01	150.96
2	210.88	-46.62	-280.95	-276.05	-147.31	-82.56
5	215.78	-41.72	-276.05	-280.95	-152.21	-87.46
3	344.52	87.01	-147.31	-152.21	-280.95	-216.19
1	408.47	150.96	-82.56	-87.46	-216.19	-332.42

Positive values show pairs of means that are significantly different.

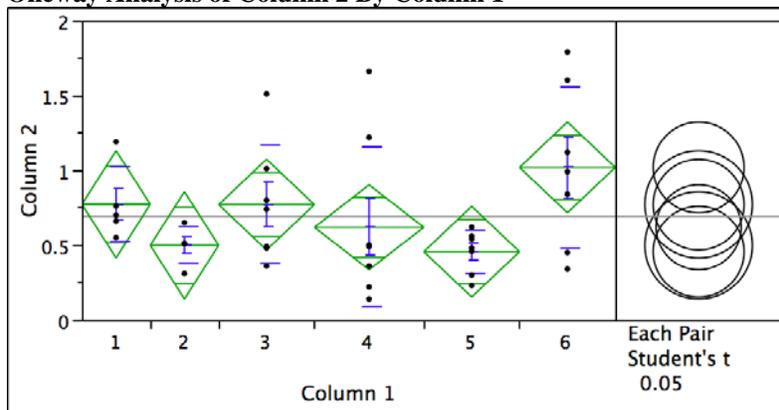
Level				Mean
6	A			926.16250
4	A	B		668.65875
2		B	C	443.25429
5		B	C	438.35857
3			C	309.62286
1			C	218.05600

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level 1	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
6	1	708.1065	408.468	1007.745	<.0001	
6	3	616.5396	344.515	888.564	<.0001	
6	5	487.8039	215.780	759.828	0.0009	
6	2	482.9082	210.884	754.932	0.0009	
4	1	450.6028	150.964	750.241	0.0043	
4	3	359.0359	87.012	631.060	0.0111	
6	4	257.5038	-5.297	520.304	0.0545	
4	5	230.3002	-41.724	502.324	0.0946	
4	2	225.4045	-46.620	497.429	0.1015	
2	1	225.1983	-82.562	532.959	0.1465	
5	1	220.3026	-87.458	528.063	0.1552	
2	3	133.6314	-147.314	414.577	0.3412	
5	3	128.7357	-152.210	409.681	0.3589	
3	1	91.5669	-216.193	399.327	0.5500	
2	5	4.8957	-276.050	285.841	0.9720	

### A.3.1.3 Colesterol en riñón

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova  
Summary of Fit**

Rsquare	0.219957
Adj Rsquare	0.101769
Root Mean Square Error	0.393797
Mean of Response	0.692564
Observations (or Sum Wgts)	39

**Analysis of Variance**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	1.4430389	0.288608	1.8611	0.1281
Error	33	5.1175046	0.155076		
C. Total	38	6.5605436			

**Means for Oneway Anova**

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	0.77200	0.17611	0.41370	1.1303
2	5	0.49800	0.17611	0.13970	0.8563
3	7	0.77000	0.14884	0.46718	1.0728
4	8	0.61875	0.13923	0.33549	0.9020
5	7	0.45571	0.14884	0.15289	0.7585
6	7	1.01857	0.14884	0.71575	1.3214

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	0.77200	0.245906	0.10997	0.46667	1.0773
2	5	0.49800	0.121326	0.05426	0.34735	0.6486
3	7	0.77000	0.395306	0.14941	0.40440	1.1356
4	8	0.61875	0.534320	0.18891	0.17205	1.0655
5	7	0.45571	0.141875	0.05362	0.32450	0.5869
6	7	1.01857	0.541585	0.20470	0.51769	1.5195

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.03452	0.05

Abs(Dif)-LSD	6	1	3	4	2	5
6	-0.42825	-0.22255	-0.17968	-0.01483	0.05145	0.13461
1	-0.22255	-0.50671	-0.46713	-0.30350	-0.23271	-0.15284
3	-0.17968	-0.46713	-0.42825	-0.26340	-0.19713	-0.11397
4	-0.01483	-0.30350	-0.26340	-0.40059	-0.33600	-0.25162
2	0.05145	-0.23271	-0.19713	-0.33600	-0.50671	-0.42684
5	0.13461	-0.15284	-0.11397	-0.25162	-0.42684	-0.42825

Positive values show pairs of means that are significantly different.

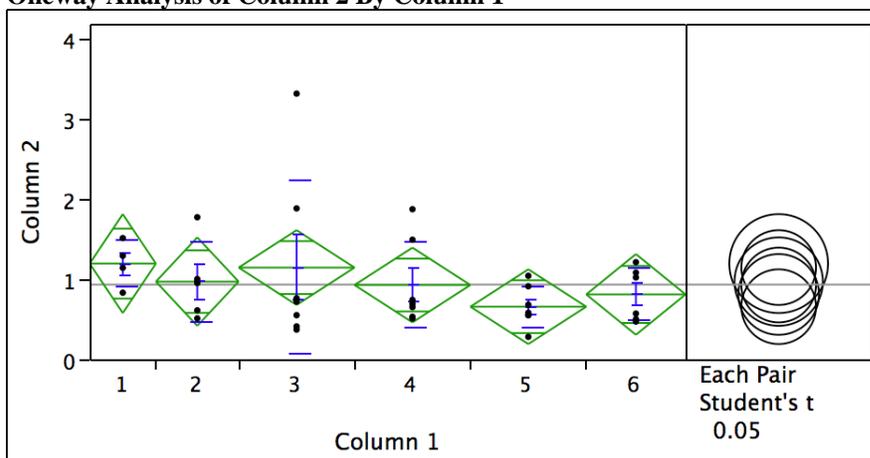
Level			Mean
6	A		1.0185714
1	A	B	0.7720000
3	A	B	0.7700000
4	A	B	0.6187500
2		B	0.4980000
5		B	0.4557143

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
6	5	0.5628571	0.134605	0.9911088	0.0116	
6	2	0.5205714	0.051445	0.9896977	0.0307	
6	4	0.3998214	-0.014831	0.8144743	0.0583	
1	5	0.3162857	-0.152841	0.7854119	0.1794	
3	5	0.3142857	-0.113966	0.7425374	0.1449	
1	2	0.2740000	-0.232714	0.7807142	0.2792	
3	2	0.2720000	-0.197126	0.7411262	0.2466	
6	3	0.2485714	-0.179680	0.6768231	0.2461	
6	1	0.2465714	-0.222555	0.7156977	0.2927	
4	5	0.1630357	-0.251617	0.5776886	0.4295	
1	4	0.1532500	-0.303496	0.6099960	0.4996	
3	4	0.1512500	-0.263403	0.5659029	0.4633	
4	2	0.1207500	-0.335996	0.5774960	0.5943	
2	5	0.0422857	-0.426841	0.5114119	0.8556	
1	3	0.0020000	-0.467126	0.4711262	0.9931	

### A.3.1.4 Triglicéridos en riñón

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



Missing Rows

1

Oneway Anova

Summary of Fit

Rsquare	0.100226
Adj Rsquare	-0.04974
Root Mean Square Error	0.603107
Mean of Response	0.931389
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	1.215507	0.243101	0.6683	0.6504
Error	30	10.912124	0.363737		
C. Total	35	12.127631			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	4	1.19250	0.30155	0.57665	1.8084
2	5	0.96800	0.26972	0.41716	1.5188
3	7	1.14286	0.22795	0.67732	1.6084
4	7	0.92571	0.22795	0.46017	1.3913
5	7	0.65571	0.22795	0.19017	1.1213
6	6	0.80833	0.24622	0.30549	1.3112

Std Error uses a pooled estimate of error variance

### Means and Std Deviations

	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	4	1.19250	0.28547	0.14273	0.73826	1.6467
2	5	0.96800	0.49560	0.22164	0.35263	1.5834
3	7	1.14286	1.08406	0.40974	0.14027	2.1454
4	7	0.92571	0.53316	0.20152	0.43262	1.4188
5	7	0.65571	0.25238	0.09539	0.42230	0.8891
6	6	0.80833	0.33054	0.13494	0.46145	1.1552

### Means Comparisons

#### Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.04227	0.05

	1	3	2	4	6	5
1	-0.87095	-0.72237	-0.60175	-0.50523	-0.41090	-0.23523
3	-0.72237	-0.65838	-0.54636	-0.44123	-0.35074	-0.17123
2	-0.60175	-0.54636	-0.77900	-0.67893	-0.58617	-0.40893
4	-0.50523	-0.44123	-0.67893	-0.65838	-0.56788	-0.38838
6	-0.41090	-0.35074	-0.58617	-0.56788	-0.71113	-0.53264
5	-0.23523	-0.17123	-0.40893	-0.38838	-0.53264	-0.65838

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Level		Mean
1	A	1.1925000
3	A	1.1428571
2	A	0.9680000
4	A	0.9257143
6	A	0.8083333
5	A	0.6557143

Levels not connected by same letter are significantly different.

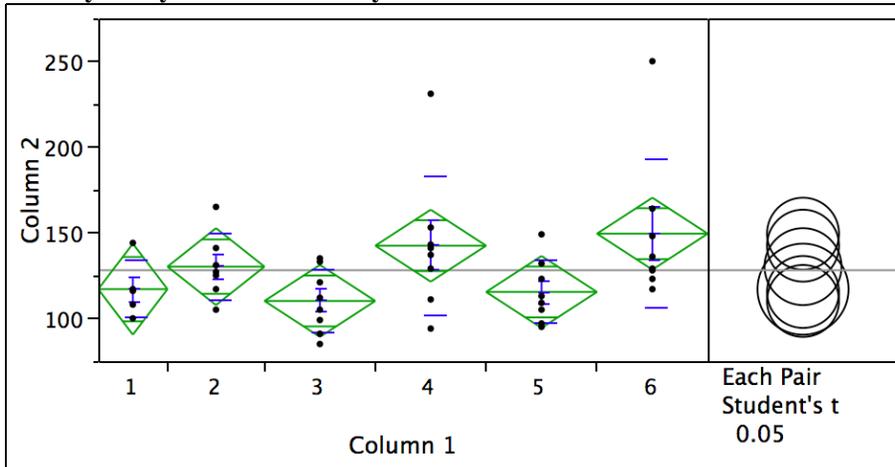
Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
1	5	0.5367857	-0.235228	1.308799	0.1659	
3	5	0.4871429	-0.171233	1.145518	0.1412	
1	6	0.3841667	-0.410897	1.179231	0.3316	
3	6	0.3345238	-0.350735	1.019783	0.3267	
2	5	0.3122857	-0.408929	1.033500	0.3836	
4	5	0.2700000	-0.388376	0.928376	0.4089	
1	4	0.2667857	-0.505228	1.038799	0.4858	
1	2	0.2245000	-0.601755	1.050755	0.5831	
3	4	0.2171429	-0.441233	0.875518	0.5057	
3	2	0.1748571	-0.546357	0.896071	0.6241	
2	6	0.1596667	-0.586169	0.905503	0.6651	
6	5	0.1526190	-0.532640	0.837878	0.6525	
4	6	0.1173810	-0.567878	0.802640	0.7289	
1	3	0.0496429	-0.722371	0.821657	0.8964	

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
2	4	0.0422857	-0.678929	0.763500	0.9055	

### A.3.2 Glucosa y Parámetros hormonales (insulina)

#### A.3.2.1 Glucosa en suero de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



#### Oneway Anova Summary of Fit

Rsquare	0.230189
Adj Rsquare	0.128898
Root Mean Square Error	29.33265
Mean of Response	128.0455
Observations (or Sum Wgts)	44

#### Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	9776.552	1955.31	2.2725	0.0667
Error	38	32695.357	860.40		
C. Total	43	42471.909			

#### Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	117.000	13.118	90.44	143.56
2	7	130.143	11.087	107.70	152.59
3	8	110.125	10.371	89.13	131.12
4	8	142.375	10.371	121.38	163.37
5	8	115.375	10.371	94.38	136.37
6	8	149.375	10.371	128.38	170.37

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Abs(Dif)-LSD	6	4	2	1	5	3
6	-29.690	-22.690	-11.500	-1.477	4.310	9.560
4	-22.690	-29.690	-18.500	-8.477	-2.690	2.560
2	-11.500	-18.500	-31.740	-21.627	-15.965	-10.715
1	-1.477	-8.477	-21.627	-37.556	-32.227	-26.977
5	4.310	-2.690	-15.965	-32.227	-29.690	-24.440
3	9.560	2.560	-10.715	-26.977	-24.440	-29.690

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	117.000	16.5831	7.416	96.41	137.59
2	7	130.143	19.0388	7.196	112.53	147.75
3	8	110.125	18.5583	6.561	94.61	125.64
4	8	142.375	40.5355	14.331	108.49	176.26
5	8	115.375	18.4076	6.508	99.99	130.76
6	8	149.375	43.3192	15.316	113.16	185.59

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02439	0.05

Positive values show pairs of means that are significantly different.

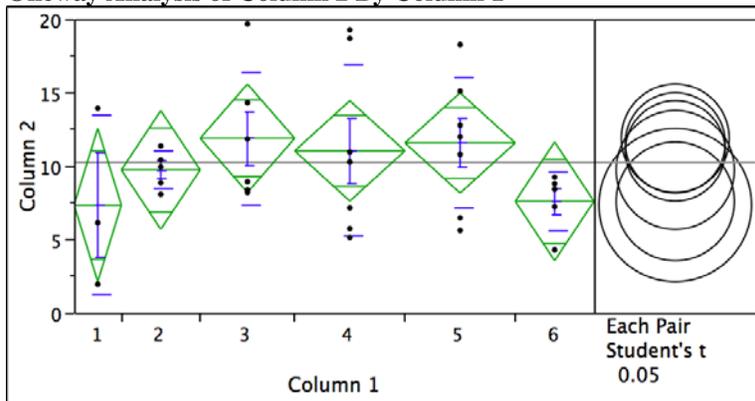
Level				Mean
6	A			149.37500
4	A	B		142.37500
2	A	B	C	130.14286
1	A	B	C	117.00000
5		B	C	115.37500
3			C	110.12500

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
6	3	39.25000	9.5596	68.94042	0.0109	
6	5	34.00000	4.3096	63.69042	0.0259	
6	1	32.37500	-1.4773	66.22729	0.0603	
4	3	32.25000	2.5596	61.94042	0.0340	
4	5	27.00000	-2.6904	56.69042	0.0734	
4	1	25.37500	-8.4773	59.22729	0.1374	
2	3	20.01786	-10.7146	50.75036	0.1952	
6	2	19.23214	-11.5004	49.96465	0.2129	
2	5	14.76786	-15.9646	45.50036	0.3368	
2	1	13.14286	-21.6270	47.91272	0.4489	
4	2	12.23214	-18.5004	42.96465	0.4254	
6	4	7.00000	-22.6904	36.69042	0.6359	
1	3	6.87500	-26.9773	40.72729	0.6833	
5	3	5.25000	-24.4404	34.94042	0.7224	
1	5	1.62500	-32.2273	35.47729	0.9231	

### A.3.2.2 Insulina en suero de las ratas Zucker<sup>fa/fa</sup>

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



#### Oneway Anova Summary of Fit

Rsquare	0.152929
Adj Rsquare	-0.00394
Root Mean Square Error	4.403731
Mean of Response	10.23234
Observations (or Sum Wgts)	33

### Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	94.53137	18.9063	0.9749	0.4508
Error	27	523.60690	19.3928		
C. Total	32	618.13827			

### Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	3	7.3262	2.5425	2.1094	12.543
2	5	9.7161	1.9694	5.6752	13.757
3	6	11.8728	1.7978	8.1840	15.562
4	7	11.0134	1.6645	7.5982	14.429
5	7	11.5547	1.6645	8.1395	14.970
6	5	7.5789	1.9694	3.5380	11.620

Std Error uses a pooled estimate of error variance

### Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	3	7.3262	6.07867	3.5095	-7.774	22.426
2	5	9.7161	1.29219	0.5779	8.112	11.321
3	6	11.8728	4.49804	1.8363	7.152	16.593
4	7	11.0134	5.84506	2.2092	5.608	16.419
5	7	11.5547	4.49007	1.6971	7.402	15.707
6	5	7.5789	1.99456	0.8920	5.102	10.055

### Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.05183	0.05

Abs(Dif)-LSD	3	5	4	2	6	1
3	-5.2168	-4.7089	-4.1676	-3.3147	-1.1775	-1.8426
5	-4.7089	-4.8298	-4.2885	-3.4522	-1.3149	-2.0067
4	-4.1676	-4.2885	-4.8298	-3.9935	-1.8563	-2.5480
2	-3.3147	-3.4522	-3.9935	-5.7147	-3.5774	-4.2088
6	-1.1775	-1.3149	-1.8563	-3.5774	-5.7147	-6.3461
1	-1.8426	-2.0067	-2.5480	-4.2088	-6.3461	-7.3776

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Level		Mean
3	A	11.872800
5	A	11.554714
4	A	11.013400
2	A	9.716120
6	A	7.578880
1	A	7.326200

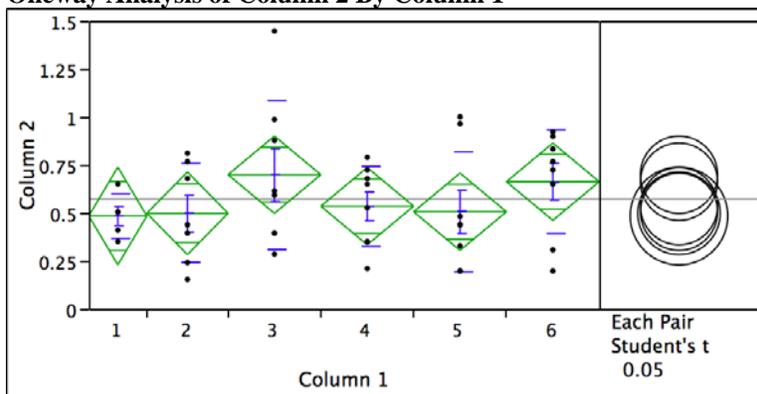
Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
3	1	4.546600	-1.84261	10.93581	0.1558	
3	6	4.293920	-1.17747	9.76531	0.1190	
5	1	4.228514	-2.00672	10.46375	0.1754	
5	6	3.975834	-1.31494	9.26660	0.1347	
4	1	3.687200	-2.54803	9.92243	0.2355	
4	6	3.434520	-1.85625	8.72529	0.1940	
2	1	2.389920	-4.20883	8.98867	0.4638	
3	2	2.156680	-3.31471	7.62807	0.4257	
2	6	2.137240	-3.57744	7.85192	0.4495	
5	2	1.838594	-3.45218	7.12936	0.4819	
4	2	1.297280	-3.99349	6.58805	0.6190	
3	4	0.859400	-4.16760	5.88640	0.7285	
5	4	0.541314	-4.28848	5.37110	0.8199	
3	5	0.318086	-4.70892	5.34509	0.8977	
6	1	0.252680	-6.34607	6.85143	0.9380	

### A.3.3 Parámetros bioquímicos en suero y orina para evaluar la función renal

#### A.3.3.1. Creatinina en suero

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova  
Summary of Fit**

Rsquare	0.095496
Adj Rsquare	-0.02352
Root Mean Square Error	0.281346
Mean of Response	0.570636
Observations (or Sum Wgts)	44

**Analysis of Variance**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	0.3175726	0.063515	0.8024	0.5550
Error	38	3.0079175	0.079156		
C. Total	43	3.3254902			

**Means for Oneway Anova**

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	0.483600	0.12582	0.22889	0.73831
2	7	0.497571	0.10634	0.28230	0.71284
3	8	0.698625	0.09947	0.49726	0.89999
4	8	0.534625	0.09947	0.33326	0.73599
5	8	0.505500	0.09947	0.30413	0.70687
6	8	0.662125	0.09947	0.46076	0.86349

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	0.483600	0.113784	0.05089	0.34232	0.6249
2	7	0.497571	0.259030	0.09790	0.25801	0.7371
3	8	0.698625	0.387239	0.13691	0.37489	1.0224
4	8	0.534625	0.209754	0.07416	0.35927	0.7100
5	8	0.505500	0.313111	0.11070	0.24373	0.7673
6	8	0.662125	0.269823	0.09540	0.43655	0.8877

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02439	0.05

Abs(Dif)-LSD	3	6	4	5	2	1
3	-0.28478	-0.24828	-0.12078	-0.09165	-0.09372	-0.10967
6	-0.24828	-0.28478	-0.15728	-0.12815	-0.13022	-0.14617
4	-0.12078	-0.15728	-0.28478	-0.25565	-0.25772	-0.27367
5	-0.09165	-0.12815	-0.25565	-0.28478	-0.28684	-0.30280
2	-0.09372	-0.13022	-0.25772	-0.28684	-0.30444	-0.31953
1	-0.10967	-0.14617	-0.27367	-0.30280	-0.31953	-0.36022

Positive values show pairs of means that are significantly different.

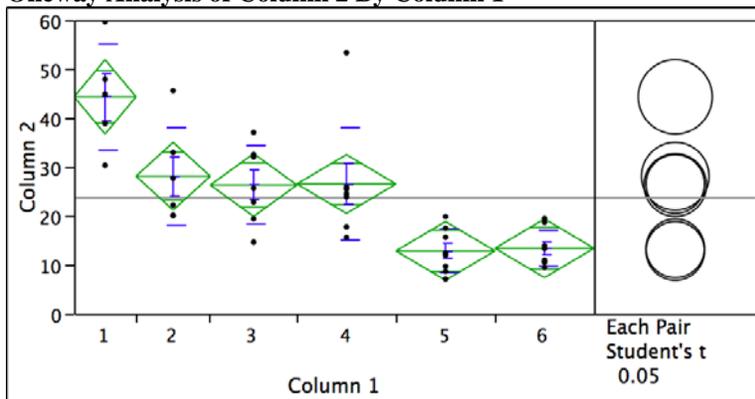
Level		Mean
3	A	0.69862500
6	A	0.66212500
4	A	0.53462500
5	A	0.50550000
2	A	0.49757143
1	A	0.48360000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
3	1	0.2150250	-0.109672	0.5397217	0.1880	
3	2	0.2010536	-0.093720	0.4958267	0.1754	
3	5	0.1931250	-0.091653	0.4779029	0.1778	
6	1	0.1785250	-0.146172	0.5032217	0.2727	
6	2	0.1645536	-0.130220	0.4593267	0.2655	
3	4	0.1640000	-0.120778	0.4487779	0.2510	
6	5	0.1566250	-0.128153	0.4414029	0.2725	
6	4	0.1275000	-0.157278	0.4122779	0.3705	
4	1	0.0510250	-0.273672	0.3757217	0.7521	
4	2	0.0370536	-0.257720	0.3318267	0.8005	
3	6	0.0365000	-0.248278	0.3212779	0.7967	
4	5	0.0291250	-0.255653	0.3139029	0.8371	
5	1	0.0219000	-0.302797	0.3465967	0.8921	
2	1	0.0139714	-0.319526	0.3474691	0.9329	
5	2	0.0079286	-0.286845	0.3027017	0.9569	

### A.3.3.2. Creatinina en orina

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova  
Summary of Fit**

Rsquare	0.622097
Adj Rsquare	0.56961
Root Mean Square Error	8.3644
Mean of Response	23.67571
Observations (or Sum Wgts)	42

**Analysis of Variance**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	4146.1883	829.238	11.8525	<.0001
Error	36	2518.6750	69.963		
C. Total	41	6664.8632			

**Means for Oneway Anova**

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	44.2720	3.7407	36.686	51.858
2	6	28.0583	3.4148	21.133	34.984
3	7	26.2571	3.1614	19.845	32.669
4	8	26.4688	2.9573	20.471	32.466
5	8	12.8013	2.9573	6.804	18.799
6	8	13.3388	2.9573	7.341	19.336

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	44.2720	10.8717	4.8620	30.773	57.771
2	6	28.0583	9.9213	4.0504	17.647	38.470
3	7	26.2571	7.9963	3.0223	18.862	33.653
4	8	26.4688	11.5150	4.0712	16.842	36.096
5	8	12.8013	4.4706	1.5806	9.064	16.539
6	8	13.3388	3.8175	1.3497	10.147	16.530

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02809	0.05

Abs(Dif)-LSD	1	2	4	3	6	5
1	-10.729	5.942	8.132	8.082	21.262	21.800
2	5.942	-9.794	-7.572	-7.637	5.558	6.096
4	8.132	-7.572	-8.482	-8.568	4.648	5.186
3	8.082	-7.637	-8.568	-9.068	4.139	4.676
6	21.262	5.558	4.648	4.139	-8.482	-7.944
5	21.800	6.096	5.186	4.676	-7.944	-8.482

Positive values show pairs of means that are significantly different.

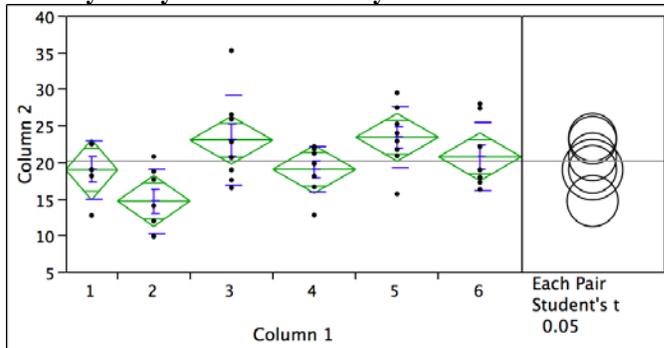
Level				Mean
1	A			44.272000
2		B		28.058333
4		B		26.468750
3		B		26.257143
6			C	13.338750
5			C	12.801250

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
1	5	31.47075	21.7999	41.14160	<.0001	
1	6	30.93325	21.2624	40.60410	<.0001	
1	3	18.01486	8.0819	27.94784	0.0008	
1	4	17.80325	8.1324	27.47410	0.0007	
1	2	16.21367	5.9416	26.48575	0.0029	
2	5	15.25708	6.0956	24.41858	0.0018	
2	6	14.71958	5.5581	23.88108	0.0024	
4	5	13.66750	5.1856	22.14940	0.0024	
3	5	13.45589	4.6763	22.23549	0.0037	
4	6	13.13000	4.6481	21.61190	0.0034	
3	6	12.91839	4.1388	21.69799	0.0051	
2	3	1.80119	-7.6366	11.23897	0.7010	
2	4	1.58958	-7.5719	10.75108	0.7270	
6	5	0.53750	-7.9444	9.01940	0.8985	
4	3	0.21161	-8.5680	8.99120	0.9613	

### A. 3.3.3 Nitrógeno ureico en sangre (BUN)

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova  
Summary of Fit**

Rsquare	0.323683
Adj Rsquare	0.234694
Root Mean Square Error	4.556382
Mean of Response	20.14227
Observations (or Sum Wgts)	44

**Analysis of Variance**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	377.5662	75.5132	3.6373	0.0087
Error	38	788.9034	20.7606		
C. Total	43	1166.4696			

**Means for Oneway Anova**

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	18.9440	2.0377	14.819	23.069
2	7	14.6829	1.7222	11.197	18.169
3	8	22.9863	1.6109	19.725	26.247
4	8	19.0100	1.6109	15.749	22.271
5	8	23.3863	1.6109	20.125	26.647
6	8	20.7125	1.6109	17.451	23.974

Std Error uses a pooled estimate of error variance

**Means and Std Deviations**

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	18.9440	4.00346	1.7904	13.973	23.915
2	7	14.6829	4.39834	1.6624	10.615	18.751
3	8	22.9863	6.13849	2.1703	17.854	28.118
4	8	19.0100	3.14169	1.1108	16.383	21.637
5	8	23.3863	4.25352	1.5038	19.830	26.942
6	8	20.7125	4.61696	1.6323	16.853	24.572

**Means Comparisons**

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02439	0.05

Abs(Dif)-LSD	5	3	6	4	1	2
5	-4.6120	-4.2120	-1.9382	-0.2357	-0.8162	3.9296
3	-4.2120	-4.6120	-2.3382	-0.6357	-1.2162	3.5296
6	-1.9382	-2.3382	-4.6120	-2.9095	-3.4899	1.2558
4	-0.2357	-0.6357	-2.9095	-4.6120	-5.1924	-0.4467
1	-0.8162	-1.2162	-3.4899	-5.1924	-5.8337	-1.1398

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
5	2	8.703393	3.92956	13.47722	0.0007	
3	2	8.303393	3.52956	13.07722	0.0011	
6	2	6.029643	1.25581	10.80347	0.0147	
5	1	4.442250	-0.81619	9.70069	0.0954	
5	4	4.376250	-0.23571	8.98821	0.0623	
4	2	4.327143	-0.44669	9.10097	0.0743	
1	2	4.261143	-1.13983	9.66211	0.1185	
3	1	4.042250	-1.21619	9.30069	0.1280	
3	4	3.976250	-0.63571	8.58821	0.0890	
5	6	2.673750	-1.93821	7.28571	0.2478	
3	6	2.273750	-2.33821	6.88571	0.3246	
6	1	1.768500	-3.48994	7.02694	0.5001	
6	4	1.702500	-2.90946	6.31446	0.4595	
5	3	0.400000	-4.21196	5.01196	0.8616	
4	1	0.066000	-5.19244	5.32444	0.9799	

## **GLOSARIO**

Ácido úrico - Producto de desecho del metabolismo de nitrógeno en el organismo y se encuentra en la orina en pequeñas cantidades.

Adipocitos - Células que forman el tejido adiposo.

Albumina - Proteína que se encuentra en gran proporción en el plasma sanguíneo, siendo la principal proteína de la sangre y a su vez la más abundante en el ser humano.

Aterosclerosis - Síndrome caracterizado por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas, en las paredes de las arterias.

Autoinmune - Inflamación y destrucción de tejidos por anticuerpos propios.

Caja metabólica - Contenedor en el que se depositan las ratas para separar las heces y la orina.

Células beta del páncreas- Tipo de células del páncreas localizadas en los islotes de Langerhans. Sintetizan y segregan la insulina, una hormona que controla los niveles de glucosa en la sangre.

Células parenquimatosas – Células propias del hígado.

Creatina - Es un ácido orgánico nitrogenado que se encuentra en los músculos y células nerviosas de algunos organismos vivos, es un producto químico derivado de los aminoácidos muy parecido a ellos en cuanto a su estructura molecular.

Creatinina - Compuesto orgánico generado a partir de la degradación de la creatina.

Diabetes mellitus - Enfermedad crónica del metabolismo. Se debe a la falta total o parcial de la hormona llamada insulina, secretada por los islotes de langerhans en el páncreas.

Dislipidemia - Serie de diversas condiciones patológicas cuyo único elemento común es una alteración del metabolismo de los lípidos, con su consecuente alteración de las concentraciones de lípidos y lipoproteínas en la sangre.

Edema - Acumulación de líquido en el espacio tisular intercelular o intersticial y también en las cavidades del organismo.

Fagocito - Célula con capacidad fagocitaria que es capaz de rodear, engullir y digerir microorganismos, sustancias extrañas, células envejecidas a los que engloban con sus pseudópodos para luego digerirlas en el citoplasma.

Glicerol - Alcohol con tres grupos hidroxilos.

Glomérulo - Unidad anatómica funcional del riñón donde radica la función de aclaramiento o filtración del plasma sanguíneo.

Glucoproteínas - Moléculas compuestas por una proteína unida a uno o varios hidratos de carbono, simples o compuestos. Tienen entre otras funciones el reconocimiento celular cuando están presentes en la superficie de las membranas plasmáticas.

Glucosilación - Proceso químico en el que se adiciona un carbohidrato a otra molécula.

Glucagón - Hormona peptídica de 29 aminoácidos que actúa en el metabolismo de los hidratos de carbono.

Glucemia - Medida de concentración de glucosa en el plasma sanguíneo.

Glucógeno - Polisacárido de reserva energética formado por cadenas ramificadas de glucosa.

Hemoglobina - Heteroproteína de la sangre, de masa molecular 64.000 (64 kD), de color rojo característico, que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos.

Hepatomegalia – Tamaño acrecentado del hígado.

Hipercolesterolemia - Presencia de colesterol en sangre por encima de los niveles considerados normales.

Hiperfagia – Apetito desmedido.

Hiperglucemia - Cantidad excesiva de glucosa en la sangre.

Hiperinsulinemia – Concentración elevada de insulina en la sangre.

Hiperlipidemia - Elevación de los niveles sanguíneos de lípidos totales.

Hipertensión arterial - Condición médica caracterizada por un incremento de las cifras de presión arterial por encima de 139/89 mmHg.

Hipertrigliceridemia – Concentración elevada de triglicéridos en la sangre.

Hiperuricemia - Es el aumento de la concentración del ácido úrico en sangre.

Hipoalbuminemia - Déficit de albúmina en la sangre.

Hematuria - Presencia de sangre en la orina.

Hipertrofia - Nombre con que se designa un aumento del tamaño de un órgano cuando se debe al aumento correlativo en el tamaño de las células que lo forman.

Hipogonadismo - Trastorno en que los testículos no son funcionales o hay incapacidad genética del hipotálamo para secretar cantidades normales de gonadotropina.

Hipotiroidismo - Disminución de los niveles de hormonas tiroideas en plasma y consecuentemente en tejidos que puede ser asintomática u ocasionar múltiples síntomas y signos de diversa intensidad en todo el organismo.

Idiopático - Enfermedad que no tiene causa u origen conocido

Ingestión - Introducción del alimento en el aparato digestivo y se realiza a través de la boca.

Insuficiencia renal - Condición en la cual los riñones dejan de funcionar correctamente.

*In – vitro* - Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

Leptina - Hormona producida en su mayoría por los adipocitos (células grasas) aunque también se expresa en el hipotálamo, el ovario y la placenta.

Metabolito - Cualquier molécula utilizada o producida durante el metabolismo.

Microalbuminuria – Excreción urinaria de albúmina.

Morbilidad - Efectos de una enfermedad en una población en el sentido de la proporción de personas que la padecen en un sitio y tiempo determinado.

Nefrona - Unidad estructural y funcional básica del riñón, responsable de la purificación de la sangre. Su función principal es filtrar la sangre para regular el agua y las sustancias solubles, reabsorbiendo lo que es necesario y excretando el resto como orina.

Nefropatía - Se refiere a daño o a la enfermedad del riñón.

Nefropatía diabética - Complicación vascular crónica, específica de la diabetes.

Obesidad – Aumento de la grasa corporal.

Permeabilidad - capacidad de un material para permitir que un fluido lo atraviese sin alterar su estructura interna.

Papila renal - Áreas del riñón donde las aberturas de los conductos colectores desembocan en la pelvis renal.

Polidipsia - Aumento anormal de la sed.

Polifagia - Aumento anormal de la necesidad de comer que puede deberse bien a ciertos trastornos psicológicos o a alteraciones de tipo hormonal.

Poliuria - Emisión de un volumen de orina superior al esperado.

Presión hidrostática - Parte de la presión debida al “peso” de un fluido en reposo.

Presión oncótica - Presión hidroestática a consecuencia del efecto osmótico ejercido por las proteínas dentro de un espacio específico (matriz extracelular, vasos sanguíneos, etc.) delimitado por una membrana selectivamente permeable.

Proteinuria - Es la presencia de proteína en la orina en cuantía superior a 150 mg en la orina de 24 horas, esta puede ser transitoria, permanente, ortostática, monoclonal o de sobrecarga.

Radioinmunoensayo – Método que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) lo que le dota de una gran especificidad unido a la sensibilidad de los métodos radiológicos.

Rata Zucker<sup>fa/fa</sup> - De obesidad heredable con carácter autosómico recesivo.

Renomegalia – Aumento del tamaño del riñón.

Retinopatía - Complicación ocular de la diabetes causada por el deterioro de los vasos sanguíneos que irrigan la retina.

Ribosomas - Complejos supramoleculares encargados de ensamblar proteínas a partir de la información genética que les llega del ADN transcrita en forma de ARN mensajero (ARNm).

Tritón – Solución detergente de dimetilsulfóxido, DMS

Urato – Sal de ácido úrico.

Urea - Compuesto químico cristalino e incoloro, de fórmula  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Se encuentra abundantemente en la orina y en las heces fecales.

Ureasa - Enzima que cataliza la hidrólisis de urea a dióxido de carbono y amoníaco.

Vasodilatador – Dilatación de los vasos sanguíneos.

## **ABREVIATURAS**

Ac – anticuerpo

Ag - antígeno

AIN – American Institute of Nutrition

ANOVA (ANDEVA) – Análisis de varianza en inglés (*Analysis of variance*)

ARN – ácido ribonucleico

ATP – Trifosfato de adenosina

C20 – 20% de proteína de caseína

C30 – 30% de proteína de caseína

C45 – 45% de proteína de caseína

CCK- Colecistocinina

CHD – *Coronary heart disease* en inglés (enfermedad coronaria cardíaca)

CHE – *Cholesterol esterase* en inglés, colesterol esterasa en español

CHO- *Cholesterol oxidase* en inglés, colesterol oxidasa en español

FDA- Food and Drug Administration (Oficina de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos)

GD – Glutamato deshidrogenasa

GK – Glicerol kinasa (cinasa)

GLUT - proteínas transportadoras

GPO – Glicerol-fosfato-oxidasa em inglés (*glycerol phosphate oxidase*)

HDL – Lipoproteínas de alta densidad, por sus siglas en inglés

HTA - Hipertensión arterial

IMC – Índice de masa corporal

INCMNSZ – Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán

LDL - lipoproteínas de baja densidad

Leprdb – Leptin-receptor

LPL- Lipoproteín-lipasa

NPY – Neuropéptido Y

OMS- Organización Mundial de la Salud

PCR – Reacción en cadena de la polimerasa

POD- Peroxidasa

RIA- Radioinmunoensayo, por sus siglas en inglés

S20 – 20% de proteína de soya

S30 – 30% de proteína de soya

S45 – 45% de proteína de soya

SEM – *Standard error mean* en inglés (Error estándar promedio)

VLDL- Very Low Density Lipoprotein, lipoproteína de muy baja densidad en inglés

## **BIBLIOGRAFÍA**

- <sup>1</sup> Villa, R., Escobedo, M. 2004. Estimación y proyección de la prevalencia de obesidad en México a través de la mortalidad por enfermedades asociadas. *Gaceta Médica de México*. 140 (Supl. 2): 21 – 25.
- <sup>2</sup> Wang, Z., Tao, J., Jinping, Li., Proctor, G., James, L., McManaman, S., Scott, L., Chua, S., Moshe, L. 2005. Regulation of Renal Lipid Metabolism, Lipid Accumulation, and Glomerulosclerosis in FVB<sup>db/db</sup> Mice With Type 2 Diabetes. *Am. Diab. Assoc. Inc.* 54: 2328-2335
- <sup>3</sup> Reaven, G.M. 1988 Banting lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 37:1595-1607
- <sup>4</sup> Liese, A.D., Mayer-Davis, E.J., Haffner, SM. 1988. Development of the multiple metabolic syndrome: An epidemiologic perspective. *Epidemiol Rev.* 20:157-172
- <sup>5</sup> Chen, J., Munter, P., Hamm, L.L., Jones, D.W., Batuman, V., Fonseca, V., Whelton P.K., He J. 2004. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in US adults. *Am. Intern. Med.* 140: 167-174
- <sup>6</sup> Djuric, Z., Azadbakht, R., Shakerhosseini, S., Atabak, M., Jamshidian, Y., Mehrabi, A., Esmail-Zadeh. 2003. Beneficiary effect of dietary soy protein on lowering plasma levels of lipid and improving kidney function in type II diabetes with nephropathy. *Eu. J. Clin. Nutr.* 57: 1292 - 1294
- <sup>7</sup> Patiño-Restrepo, F. 2006. *Metabolismo, nutrición y shock*, 4<sup>a</sup> Edición, Editorial Médica Panamericana, 521. Bogotá, Colombia
- <sup>8</sup> Alden, J.F. 1997. Gastrical and jejunal bypass: A comparison in the treatment of morbid obesity. *Arch. Surg.* 112:799 – 804.

- <sup>9</sup>. Moreno-Esteban, B., Monereo-Megías, 2004. La obesidad en el tercer milenio. 3ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. pp. 93,64,65,152,153. Madrid España
- <sup>10</sup>. Barbany, M., Faz, M. 2002. Obesidad: Concepto, clasificación y diagnóstico. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. 25: 7 – 16.
- <sup>11</sup>. Carrillo, M., Barbany, M., 2000. Protocolos de obesidad. Ed. Doyma, España.
- <sup>12</sup>. Pouliot, M. C., Després, J.P., Lemieux, S., Moorjani, S., Bouchard, C., Trambly, A. 1994. Waist circumference and abdominal sagittal diameter. Best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol.* 73:460 – 468.
- <sup>13</sup>. Chagnac, A., Weinstein, T., Korzets, A. 2000. Glomerular hemodynamics in severe obesity. *Am. J. Physiol.* 278: F817-F822.
- <sup>14</sup>. Praga, M., Hernández, E., Herrero, J.C. 2000. Influence of obesity on the appearance of proteinuria and renal insufficiency after unilateral nephrectomy. *Kidney Int.* 58: 2111-2118.
- <sup>15</sup>. Ford, Dietz. 2002. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 287: 356 -359.
- <sup>16</sup>. Álvarez, C. R. 1998. Treatment of clinically severe obesity. A Public Health Problem: Introduction. *World J. Surg.* 22: 905 – 906.
- <sup>17</sup>. Carvajal, C. M. 2000. Manejo nutricional de la obesidad. En: Duperly, J., Compilador. Obesidad. Enfoque integral. Centro Editorial Universidad del Rosario. Santa Fe de Bogotá Colombia.
- <sup>18</sup>. Mason, E, E. 1992. Gastric surgery of morbid obesity. *Surg. Clin. North. Am.* 72: 501 – 513.

- <sup>19</sup>. Ihab, M., Mak, R.H. 2007. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: Mechanistic links to chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2: 550 – 562.
- <sup>20</sup>. Islas, A., Lifshitz, A. 1995. *Diabetes Mellitus*. Mc Graw – Hill Interamericana. 2ª Ed. pp 5, 6, 74,75,76. México.
- <sup>21</sup>. Roher, N., Samokhvalov, V., Diaz, M., MacKenzie, S., Klip, A., Planas, V. 2008. "The proinflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha increases the amount of glucose transporter-4 at the surface of muscle cells independently of changes in interleukin-6. *Endocrinology*, 149 (4): 1880-1889.
- <sup>22</sup>. Guyton, A. 1991. *Tratado de fisiología médica*. Mc Graw –Hill Interamericana. 1ª Ed. Pág. 298, 813, 814, 893, 894, 895, 900. Madrid España.
- <sup>23</sup>. Magnen,J.L. 1983. Body energy balance and food intake: A neuroendocrine regulatory mechanism. *Physiol. Rev.*, 63: 314 - 320.
- <sup>24</sup>. Altura, B.M., Altura, B.T. 1984. Magnesium, electrolyte transport and coronary vascular tone. *Drugs*,28 (Suppl.1):120 - 129.
- <sup>25</sup>. Bronwnell, K. D. 1984. The psychology and physiology of obesity: Implications for screening and treatment. *J. Am. Diet. Assoc.* 84: 406 - 411
- <sup>26</sup>. Bukowiecki, L. J. 1984. Mechanism of stimulus-calorigenesis coupling in brown adipose tissue. *Can. J. Biochem. Cell.* 62: 623 - 631.
- <sup>27</sup>. Howard, L., Michalek, A. V. 1984. Home parenteral nutrition (HPN). *Annu. Rev. Nutr.*, 4: 69 - 76.
- <sup>28</sup>. Jenness, J. 1980. Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science.* 63(10): 1605-1630.

- <sup>29</sup>. Lonnerdal, B., Forsum, E. 1985. Casein content of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* 41(1): 113-120.
- <sup>30</sup>. Ribadeau-Dumas, B. Grappin, R. 1989. Milk protein analysis. *Le Lait.* 69(5): 357-416..
- <sup>31</sup>. Willamson, M.B. 1944. The amino acid composition of human milk proteins. *Journal of Biological Chemistry.* 156(1): 47 - 52.
- <sup>32</sup>. Farrell, H.M., Jiménez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang K.F., Swaisgood, H.E. 2004. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science* 87(6): 1641-1674.
- <sup>33</sup>. Kunz, C., Lonnerdal, B. 1989. Human milk proteins: Separation of whey proteins and their analysis by polyacrylamide gel electrophoresis, fast protein liquid chromatography (FPLC) gel filtration, and anion-exchange chromatography. *American Journal of Clinical Nutrition.* 49(3): 464-470.
- <sup>34</sup>. Van Hekken, D.L., Thompson, M.P. 1992. Application of Phast System® to the resolution of bovine milk proteins on urea-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science.* 75(5): 1204-1210.
- <sup>35</sup>. Mercier, J.C., Brignon, G., Ribadeau-Dumas, B. 1973. Structure primaire de la caséine-κ B bovine. *European Journal of Biochemistry* 35(2): 222-235.
- <sup>36</sup>-. Swaisgoo, H.E. 1993. Review and update of casein chemistry. *Journal of Dairy Science.* 76(10): 3054-3061.
- <sup>37</sup>. Pepper, L., Farrell H.M. 1982. Interactions leading to formation of casein submicelles. *Journal of Dairy Science.* 65(12): 2259-2266.
- <sup>38</sup>. McMahon, D.J., Brown, R.J. 1984. Enzymic coagulation of casein micelles: A review. *Journal of Dairy Science* 67(5): 919-929.

- <sup>39</sup>. Messina, M.J. 1999. Legumes and soybeans: Overview of their nutritional profiles and health effects. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 439s –450s.
- <sup>40</sup>. Anderson, J.W., Johnstone, B.M., Cook - Newwell, M.E. 1995. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N.Engl. J. Med.* 333: 276-282.
- <sup>41</sup>. Anderson, J.W., Smith, B.M., Washnock, C.S. 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *Am. J. Clin Nutr.* 70: 464s – 474s.
- <sup>42</sup>. Steinke F.H. 1979. Measuring protein quality of foods. In: *Soy protein and human nutrition* (Wilcke, H.L., Hopkins, D.T., Waggle, D.H., eds). Academic Press New York.
- <sup>43</sup>. Messina, M.J. 1995. Modern applications for an ancient beans: soybeans and the prevention and treatment of chronic diseases. *J. Nutr.* 125: 567s - 569s.
- <sup>44</sup>. Carroll, K. K., Kurowska, E. M, 1995. Soy consumption and cholesterol reduction: Review of animal and human studies *J. Nutr.*125: 594s – 595.
- <sup>45</sup>. Setchell, K. 1998. Phytoestrogens: The biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.* 68: 1333s - 1345s.
- <sup>46</sup>. Setchell, K.D. 1999. Cassidy A. Dietary Isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J. Nutr.* 129: 758s-767s.
- <sup>47</sup>. Wiseman, H. 2000. The therapeutic potential of phytoestrogens. *Opin. Investig. Drugs.* 9 :1829 – 1840.
- <sup>48</sup>. Grundy, S. M., Abrams, J.J. 1983. Comparison of actions of soy protein and casein on metabolism of plasma lipoproteins and cholesterol in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 38: 245 – 252.

- <sup>49</sup>. Cohn, J.S., Kimpton, W.G., Nestel, P.J. 1984. The effect of dietary casein and soy protein on cholesterol and very low density lipoprotein metabolism in the rat. *Atherosclerosis*. 52: 219 – 231.
- <sup>50</sup>. Potter, S.M. 1995. Overview of mechanism for the hypocholesterolemic effect of soy. *J. Nutr.* 125: 606s – 611s.
- <sup>51</sup>. Friedman, M., Brandon, D.L. 2001. Nutritional and health benefits of soy proteins. *J. Agric. Food. Chem.* 3: 1069 – 1086.
- <sup>52</sup>. Brandi, M.L. 1992. Flavonoids: Biochemical effects and therapeutic applications. *Bone Mineral*. 19: s3 – s14.
- <sup>53</sup>. Breslau, N. A., Brinkley, L., Hill, K.D., Pack, C.C. 1988. Relationship of animal protein – rich diet to kidney stone formation and calcium metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66: 140 – 146.
- <sup>54</sup>. Anderson, J.J., Ambrose, W.W., Gerner, S.C. 1995. Orally dosed genistein from soy and prevention of cancellous bone loss in two ovariectomized rat models. *J. Nutr.* 125: 799s -813s.
- <sup>55</sup>. Sirtori, C.R., Lovati, M.R., Manzoni, C., Monetti, M. 1995. Soy and cholesterol reduction : Clinical experience. *J. Nutr.* 125: 598s – 605s.
- <sup>56</sup>. Sirtori, C.R., Agradi, E., Conti, F. 1977. Soybean – protein diet in the treatment of type II hyperlipoproteinaemia. *Lancet*. 1: 275 – 277.
- <sup>57</sup>. Lai, H.H., Yen, G.C. 2002. Inhibitory effect of isoflavones on peroxynitrite- mediated low-density lipoprotein oxidation . *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 22 – 28.
- <sup>58</sup>. Boersma, B.J., Patel, R.P., Kirk, M. 1999. Chlorination and nitration of soy isoflavones. *Arch. Biochem. Biophys.* 368: 265 – 275.

- <sup>59</sup>. Lissin, L.W., Cooke, J.P. 2000. Phytoestrogens and cardiovascular health. *J. Am. Coll. Cardiol.* 35: 1403 – 1410.
- <sup>60</sup>. Tikkanen, M.J., Wahala, K., Ojala, S. 1998. Effect of soybean phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 3106 – 3110.
- <sup>61</sup>. Wiseman, H., O'Reilly, J.D., Adlercreutz, H. 2000. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decreased F(2)- isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 395 – 400.
- <sup>62</sup>. Barnes, S., Boersma, B., Kim, H. 2000. Isoflavonoids and chronic disease: Mechanism of acting. *Biofactors.* 1: 209-215.
- <sup>63</sup>. Velásquez, M. T., Bhathena, S.J. 2001. Dietary phytoestrogens: A possible role in renal disease protection. *Am. J. Kidney. Dis.* 37:1056- 1068.
- <sup>64</sup>. Walls, J., Williams, A. J. 1988. Influence of soy protein on the natural history of a remnant kidney model in the rat. *Contrib. Nephrol.* 60: 179 – 187.
- <sup>65</sup>. Tomobe, K., Philbrick, D.J., Ogborn, M.R. 1988. Effect of dietary soy protein and genistein on disease progression in mice with polycystic kidney disease. *Am. J. Kidney. Dis.* 1: 56-61.
- <sup>66</sup>. Aukema, H.M., Housini, I., Rawling, J.M. 1999. Dietary soy protein effects on inherited polycystic kidney disease are influenced by gender and protein level. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2: 300-308.
- <sup>67</sup>. Aukema, H.M., Housuni, I. 2001. Dietary soy protein effects on disease and IGF-I in male and female Han: SPRD- cy rats. *Kidney. Int.* 1: 52-61.
- <sup>68</sup>. Tovar, A.R., Murguía, F., Cruz, C., Hernández-Pando. 2002. A soy protein alters hepatic lipid

metabolism gene expresión and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokines in rats with chronic nephrotic síndrome. *J. Nutr.* 132:2562 – 2569.

<sup>69.</sup> Ishinaga, M., Hamada, M., Ohnaka, K., Fukunaga, K., Minato, Y. 1993. Effects of casein and soy protein on accumulation of colessterol and dolicol in rat liver. *Proc Soc Exp Biol. Med.* 203: 74 – 77.

<sup>70.</sup> Vahouny, G.V., Adamson, I., Chalcarz, W., Satchithanandam, T. 1985. Effects of casein and soy protein on hepatic and serum lipids and lipoprotein lipid distribution in the rat. *Atheroscl.* 2:127-137.

<sup>71.</sup> Iwasaki, K., Gleiser, C.A., Masoro, E.J., MacMahan, C.A. 1988. The influence of dietary protein source on longevity and age-related disease proceses of fischer rats. *J. Gerontol.* 43 (1): B5- B12.

<sup>72.</sup> Williams, J. A.J., Baker, F., Walls, J. 1987. Effect of varyng quantity and quality of the dietary protein intake in experimental renal disease in rats. *Nephron.* 1: 83 – 90.

<sup>73.</sup> Jacobs, S., Cuatrecasas, P. 1983. Insulin receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23: 461 - 471.

<sup>74.</sup> Baskin, D. G. 1990. Insulin in the brain. *Annu. Rev. Physiol.* 49:335 - 341.

<sup>75.</sup> Fein, F.S., Sonnenblick, E.H. 1991. Diabetic cardiomyopathy. *Prog. Cardiovascular. Disease.* 27: 255 - 260.

<sup>76.</sup> Post, R.L. 1991. Regulation of glucose uptake in muscle III. The interaction of membrane transport and phosphorylation in the control of glucose uptake. *J. Biol. Chem.* 236: 269 - 277.

<sup>77.</sup> Meisler, M. H., Howard, G. 1989. Effects of insulin on gene transcription. *Annu. Rev. Physiol.* 51: 701 - 709.

- <sup>78</sup>. Gammeloft, S. 1997. Insulin receptors: Binding Kinetics and structure- function relationship of insulin. *Physiol. Rev.* 64:1321 - 1333.
- <sup>79</sup>. Czech, M. P. 1984. New perspectives on the mechanism of insulin action. *Recent. Prog. Horm. Res.* 40: 347 - 355.
- <sup>80</sup>. Kraus- Friedman, N. 1989. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. *Physiol. Rev.* 64:170 - 177.
- <sup>81</sup>. Bennet, P. H. 1993. The diagnosis of diabetes: New International classification and diagnostic criteria. *Annu. Rev. Med.* 34: 295 - 301.
- <sup>82</sup>. Cudworth, A. G. 1990. Etiology of type I diabetes mellitus: Heterogeneity and immunological events leading to clinical onset. *Annu. Rev. Med.*, 34: 13 - 19a.
- <sup>83</sup>. Reaven , G. M. 1996. Aging glucose intolerance, and non-insulin- dependent diabetes mellitus. *Current Concepts.* Upjohn.
- <sup>84</sup>. Pipeleers, D. 1994. Islet cell interactions with pancreatic b- cells. *Experientia.* 40: 1114 - 1121.
- <sup>85</sup>. Nishimoto, I, Kojima, I. 1989. Calcium signalling system triggered by insulina-like growth factor II. *News. Physiol. Sci.*,4: 94 - 99.
- <sup>86</sup>. Fagin, J.A., Genetic basis of endocrine disease 3: Molecular defects in thyroid gland neoplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*75:1398-400.
- <sup>87</sup>. DeGroot, L.J. 1999. *Endocrinology.* 2<sup>a</sup>Ed. W.B. Saunders Co. Filadelfia, EEUU.
- <sup>88</sup>. Cheng, K., Larner, J. 1985. Intercellular mediators of insulin action. *Annu. Rev. Physiol.*,47: 405 - 411.

- <sup>89</sup>. Bergeron, J.J.M. 1995. Uptake of insulina and other ligands in to receptor rich endocytic components of target cells: The endosomal apparatus. *Annu. Rev. Physiol.* 47: 383 - 391.
- <sup>90</sup>. Jackson, R. L., Guthrie, R. A. 1986. *The Physiological management of diabetes in children.* Nueva York, Elsevier Science Publishing Co.
- <sup>91</sup>. Kraus- Friedman, N. 1984. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. *Physiol. Rev.* 64:170 - 175.
- <sup>92</sup>. Rull, A., Zorrilla, E., Jadzinsky, M. 1992. *Diabetes mellitus: Complicaciones crónicas.* Mc Graw – Hill Interamericana. 1ª Ed. pp.3. México D.F.
- <sup>93</sup>. Detrozo, R, A. 1995. Diabetes nephropathy etiologic and terapeutic consideration. *Diabetes Rev.* 3: 510 – 564.
- <sup>94</sup>. Havel, R.J., Kane, J.P. 1995. Structure and metabolism of plasma lipoproteins. En: Scriver, C.R., Beauder, A. L., Sly, W.D., Valle D. *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* 1ª Ed. Mc Graw - Hill. Pp.1841 – 1851. Nueva York, EEUU.
- <sup>95</sup>. Camerini, D., Cole, R. 1988. *Prediabetes.* Plenum Publishing.Corp. New York.
- <sup>96</sup>. Guyton, J. R. 1998. A model of glucose – insulin homeostasis in a man that incorporates the heterogeneous fast pool theory of pancreatic insulin release. *Diabetes.* 27:1027 - 1034.
- <sup>97</sup>. Pitts, R. 1969. *Fisiología del riñón y liquidos corporales,* 3ª Ed. Interamericana. pp. 1. México D.F.
- <sup>98</sup>. Vander, A. 1986. *Fisiología Renal.* Mc Graw Hill. 3ª Ed. pp. 7 – 12. México D.F.
- <sup>99</sup>. Wirthensohn, G., Guder, W, G. 1986. Renal Substrate metabolismo. *Physiol. Rev.* 66: 469 - 477.

- <sup>100</sup>. Solttoff, S.P. 1986. ATP and regulation of renal cell function. *Annu. Rev. Physiol.* 48: 9 - 16.
- <sup>101</sup>. Smith, H.W. 1971. *The Kidney, Structure and function in Health and Disease.*, Oxford University Press. New York.
- <sup>102</sup>. Beeuwkes, R. 1980. The vascular organization of the kidney. *Annu. Rev. Physiol.* 42: 531 - 535.
- <sup>103</sup>. Andersson, B. 1977. Regulation of body fluids. *Annu. Rev. Physiol.* 39: 185 -190.
- <sup>104</sup>. Baylis, C., Blantz, R.C. 1986. Glomerular hemodynamics. *News in physiology. Sci.* 1: 86 - 95.
- <sup>105</sup>. Aronson, P. S. 1989. The renal proximal tubule: A model of diversity of anion exchanger and stilbene- sensitive anion transporters. *Annu. Rev. Physiol.* 51:419 - 425.
- <sup>106</sup>. Pitts. R. 1974. *Physiology of the kidney and Body Fluids.* Year Book Medical Publishers. Chicago. EEUU.
- <sup>107</sup>. Barajas, L. 1979. Anatomy of the Juxtaglomerular Apparatus. *Am J. Physiol.* 237: 333 – 341.
- <sup>108</sup>. Beeuwkes, R. 1980. The vascular Organization of the kidney. *Am. Rev. Physiol.* 42: 531 - 539.
- <sup>109</sup>. Bulger, R.E., Dobyán, D.C. 1982. Recent Advances in Renal Morphology. *Ann. Rev. Physiol.* 44:147 - 157.
- <sup>110</sup>. Carretero, O.A., Scicli, A.G. 1980. The renal Kallikrein- kinin System. *Am. J. Physiol.* 238: 247 - 252.

- <sup>111</sup>. Dunn, M. J. 1981. Renal prostaglandins. "Contemporary Nephrology, Vol. 1," Plenum, New York.
- <sup>112</sup>. Higashida, B. 1996. Ciencias de la salud, 3ª Edición, Editorial Mc Graw Hill-Interamericana, pp. 187-190. EEUU.
- <sup>113</sup>. Martínez, M.M., Rodicio, J.L., Acosta H. J. 1993. Tratado de Nefrología, 2ª Ed. Ediciones Norma. pp. 528. España.
- <sup>114</sup>. Zucker, L.M., Zucker, T.F. 1961. Fatty a new mutation in the rat. *J. Hered.* 52: 275 – 278.
- <sup>115</sup>. Argilés, J.M. 1989. The obese Zucker rat: A choice for fat metabolism. 1968-1988: Twenty years of research on the insights of the Zucker mutation. *Prog. Lipid. Res.* 28: 53-66.
- <sup>116</sup>. Bray, G.A., York D.A. 1971. Genetically transmitted obesity in rodents. *Physiol. Rev.* 51 (3): 598-646.
- <sup>117</sup>. Johnson, P.R., Greenwood, M.R.C., Horwitz, B.A., Stern, J.S. 1991. Animal models of obesity: Genetic aspects. *Annu. Rev. Nutr.* 11: 325 – 353.
- <sup>118</sup>. Levin, B.E., Triscari, J., Sullivan, .A.C. 1983. Studies of origins of abnormal sympathetic function in obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.* 245: E87 – E 93.
- <sup>119</sup>. Arase, K., York, D.A., Shimizu, H., Shargill, N., Bray, G.A. 1988. Effect of corticotropin-releasing factor on fod intake and brown adipose tissue termogénesis in rats. *Am. J. Physiol.* 255: E255-E259.
- <sup>120</sup>. Arias-Díaz, J.; Balibrea, J. 2007. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutr. Hosp.* 22: 33 - 45.
- <sup>121</sup>. Rifai, N., Bachorik, P,S., Albers, J.J. 1999. Lipids, Lipoproteins and apolipoproteins. *Tietztextbook of clinical Chemistry.* 3ªEd. W.B Saunders Company. pp.809. Philadelphia.

- <sup>122</sup>. Talaska, F. 1997. Manual de pruebas diagnósticas. 5ª Ed.. Mc Graw Hill - Interamericana. pp. 436 - 437,445-447. México.
- <sup>123</sup>. García, S., Montes de Oca, S. 2008. La lipogénesis renal en la obesidad. Trabajo sin publicar.
- <sup>124</sup>. Philip, G. 1997. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. J. Nutr. 127 (5): 838S - 841S.
- <sup>125</sup>.- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- <sup>126</sup>. Bligh, E.G., Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917.
- <sup>127</sup>. Diagnostic Systems International 2008. Consulta en las redes internacionales [Consultado el 20 de junio de 2008]. <http://www.diagnosticsystemsinternational.com>
- <sup>128</sup>. RIA kit de insulina. 2004. Linco Research USA.
- <sup>129</sup>. D'Amico, G., Gentile, M.G., Manna, G., Felin, G., Ciceri, R., Cofano, F., Petrini, C., Lavarda, F., Perolini, S., Porrini, M.1992. Effect of vegetarian soy diet on hyperlipidaemia in nephrotic syndrome.339:1131 – 34.
- <sup>130</sup>. “peso” y masa 2009. Consulta en las redes internacionales [Consultado el 6 de junio de 2009]. <http://es.wikipedia.org/wiki/Peso>.