



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Programa de Maestría

y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud

**“ EFECTOS DE UN ESTUDIO DE INTERVENCION CON METFORMINA Y ACIDO LINOLEICO
CONJUGADO SOBRE EL VALOR R_d DE SENSIBILIDAD A LA INSULINA EN PACIENTES
PEDIATRICOS CON OBESIDAD INCLUIDOS EN UN PROGRAMA DE INTERVENCION DE
CAMBIOS EN EL ESTILO DE VIDA”**

ENSAYO CLINICO CONTROLADO ALEATORIZADO DOBLE CIEGO

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA

DRA. GUADALUPE NAYELY GARIBAY NIETO

TUTOR: DRA GLORIA EUGENIA QUEIPO GARCIA

COORDINADOR DEL PROGRAMA DE MAESTRIAS Y DOCTORADOS

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, DR. EDUARDO LICEAGA.

México D.F. Noviembre de 2015



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.

INDICE	Página
RESUMEN	3
ANTECEDENTES	4
JUSTIFICACION	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
HIPOTESIS	11
OBJETIVOS	11
METODOLOGIA	11
CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA	13
DESCRIPCION DE LAS VARIABLES Y ANALISIS ESTADISTICO	13
FASE DE INTERVENCION	13
Evaluación inicial	13
Aleatorización	20
Visitas de seguimiento	21
Pinza Euglucémica-Hiperinsulinémica	22
RESULTADOS	23
DISCUSION	33
CONCLUSIONES	38
REFERENCIAS	40

RESUMEN

El manejo del paciente pediátrico con obesidad sigue siendo un reto. El éxito de los programas de intervención de cambios en el estilo de vida al corto y mediano plazo es de alrededor del 30% y el beneficio sostenido se logra apenas en el 5% de los programas. La gran mayoría de las comorbilidades observadas en niños pequeños están en relación a la existencia de resistencia a la insulina desde etapas tempranas de la vida. El Acido Linoléico Conjugado y la Metformina son dos moléculas que han demostrado tener efectos benéficos sobre la composición corporal y la sensibilidad a la insulina en población pediátrica en meta-análisis publicados recientemente. En uno solo de estos estudios se realizó una Prueba de Pinza Euglucémica-hiperinsulinémica que es el estándar de oro para evaluar la sensibilidad a la insulina. Los resultados son aún controversiales.

OBJETIVO GENERAL: Comparar los niveles postratamiento del valor Rd de sensibilidad a la insulina medido por técnica de CLAMP en pacientes pediátricos con obesidad incluidos en un Programa de intervención de cambios en el estilo de vida y tratados en forma coadyuvante con Metformina, Acido Linoléico o Placebo durante 4 meses.

DISEÑO: Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado Doble Ciego.

RESULTADOS: La principal variable modificadora del efecto sobre el valor Rd de sensibilidad a la insulina en este estudio fue el estadio puberal de Tanner. Al ajustar el modelo para ésta y otras variables potencialmente modificadoras y confusoras, el tamaño del efecto adicional al cambio en el estilo de vida se hace evidente en el grupo de pacientes tratados con Acido Linoléico Conjugado con un tamaño de efecto de 35%, que es clínicamente relevante, aunque con una p no significativa. Se hizo evidente un efecto subóptimo del Acido Linoléico Conjugado sobre los valores de Triglicéridos y Colesterol HDL que fué independiente del estadio de Tanner y del valor inicial de triglicéridos y de HDL, así como del índice de masa corporal inicial y el estado basal de resistencia a la insulina medido por HOMA-IR. Sin embargo, las diferencias fueron evidentes al comparar este efecto con el de la metformina y no cuando se comparó con placebo.

CONCLUSION: Este tamaño de efecto sobre el valor Rd justificaría continuar con la línea de investigación. Sería indispensable incrementar el tamaño de muestra para evidenciar si el efecto sobre triglicéridos es un efecto adverso de tratamiento.

Palabras Clave:

Obesidad infantil, resistencia a la insulina, Pinza euglucémicaHiperinsulinémica, Metformina, Acido Linoléico Conjugado.

EFFECTOS DE UN ESTUDIO DE INTERVENCION CON METFORMINA Y ACIDO LINOLEICO CONJUGADO SOBRE EL VALOR R_d DE SENSIBILIDAD A LA INSULINA EN PACIENTES PEDIATRICOS INCLUIDOS EN UN PROGRAMA DE INTERVENCION DE CAMBIOS EN EL ESTILO DE VIDA

ANTECEDENTES:

El incremento en la incidencia y prevalencia de obesidad en niños y adolescentes promueve el desarrollo de resistencia a la insulina desde edades tempranas de la vida. El hiperinsulinismo sobrecompensatorio tiene una duración variable y el estado de prediabetes, el desarrollo de síndrome metabólico o de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es cada vez más frecuente en la etapa de la infancia.

Hace algunos años la obesidad era considerada como una enfermedad del adulto, sin embargo, en la actualidad se considera también como un problema de salud en niños tanto en México como a nivel mundial. Según reportes de la organización Mundial de la Salud México ocupa el primer lugar de obesidad en el mundo, y los datos de obesidad en la población infantil y adolescente son alarmantes.

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2006 reportó que tienen sobrepeso u obesidad el 5.3% de los niños menores de 5 años, 26% de los niños en edad escolar y más del 30% de los adolescentes. Estos datos cobran gran importancia si se considera que un niño obeso tiene más probabilidades de ser un adulto obeso; el 40% de los niños obesos de entre 6 meses de edad y 7 años serán adultos obesos y es más alarmante aun cuando la obesidad inicia entre los 10 y 13 años de edad, en donde las probabilidades son del 70%.

La obesidad se define como la presencia de una cantidad excesiva de grasa corporal o tejido adiposo, que se manifiesta por un incremento del peso corporal asociado a una mayor distribución de tejido adiposo visceral abdominal. En la actualidad la obesidad es considerada como una enfermedad y un factor determinante en el desarrollo de síndrome metabólico (resistencia a la insulina, hipertensión y dislipidemia). Además, la mayoría de los niños con sobrepeso tienen anormalidades

metabólicas asociadas tales como resistencia a la insulina y Diabetes Mellitus tipo 2. Morrison describe una cohorte retrospectiva con un tiempo de seguimiento promedio de 25-30 años donde evidencia el riesgo incrementado hasta de 9.4 veces de padecer síndrome metabólico en la edad adulta cuando el individuo lo padeció en la edad pediátrica. Se detectó un riesgo 11.5 veces mayor de ser diabético si se manifestó síndrome metabólico en la infancia; los riesgos fueron positivamente influidos por el antecedente familiar de DM2 lo cual confiere una mayor susceptibilidad en una población como la nuestra, particularmente si las alteraciones metabólicas persisten (1).

Resistencia a la insulina y Citocinas

La sobresaturación del flujo de ácidos grasos libres hacia el tejido adiposo saturan su capacidad de almacenamiento por lo que éste se torna hipertrófico. La respuesta de la vasculatura y el estroma a la hipertrofia del tejido resulta insuficiente por lo que se crea un medio hipóxico y sobreviene necrosis y apoptosis generadas, por lo menos en parte, por la migración de macrófagos con fenotipo proinflamatorio mediada principalmente por la proteína MCP-1(2,3). Gran parte de las complicaciones en obesidad se relacionan con el excesivo acúmulo de grasa a nivel del tejido adiposo blanco (subcutáneo y visceral) y con su actividad disfuncional, caracterizada por la producción de adipocitocinas con efecto autócrino, parácrino y endócrino responsables del estado inflamatorio crónico, del daño vascular sistémico y del establecimiento de un estado de resistencia a la insulina en los tejidos blanco (tejido adiposo, músculo e hígado). El tipo de macrófagos que infiltran el tejido adiposo (M1 o M2) determinan el tipo de citocinas que infiltran el medio y las que son liberadas a la circulación (4). En el estado de obesidad la infiltración por el fenotipo M1 (marcador específico CD11) predomina y con esto la liberación de citocinas proinflamatorias que inducen resistencia a la insulina y daño endotelial. El fenotipo M2 contribuye de manera indirecta a incrementar la sensibilidad a la insulina al producir citocinas como IL-10 e IL-1RA (antagonista del receptor de IL-1) evitando la polarización al fenotipo M1 (5,6). Las células M2 (marcadores específicos CD 163 y CD 206) regulan también las modificaciones estromales y vasculares para optimizar el estado de hipertrofia e hiperplasia limitando la hipoxia y necrosis; esto a su vez limita el estado inflamatorio. Las citocinas producidas en cascada y en respuesta a la activación de M1 son principalmente el Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF- α),

Interleucinas 1 β y 6 (IL-1 β , IL-6), quimiocina MCP-1 (también CCL2) y su receptor CCR2, resistina y proteína C reactiva ultrasensible (usPCR) las cuales han sido caracterizadas como moléculas inductoras de resistencia a la insulina, de lipólisis y de daño endotelial (7-12)

El factor de necrosis tumoral (TNF- α) es una citocina endógena producida por los macrófagos y linfocitos como consecuencia de un estímulo inflamatorio. Bajo condiciones de obesidad, el TNF- α se sobre-expresa y secreta por el tejido adiposo, elevándose localmente sus niveles, por lo que se ha sugerido que actúa de manera paracrina más que endocrina. El papel del TNF- α como promotor del estado de resistencia a la insulina se apoya en estudios realizados en modelos animales con resistencia a la insulina asociado a obesidad. En estos animales, el knockout del gen de TNF- α o de su receptor, mejora de manera notable la sensibilidad a la insulina. En términos moleculares, el TNF- α tiene un efecto dual sobre el IRS: por una parte disminuye la fosforilación en tirosina de IRS inducida por la insulina, mientras que por otra incrementa el estado de fosforilación del sustrato en residuos de serina/treonina. Este último estado desacopla a IRS de otras proteínas de señalización de la vía de la insulina, como PI3K, promoviendo la desensibilización de la señal de la insulina. También se ha observado que el TNF- α afecta la sensibilidad a la insulina debido a la disminución de la expresión de proteínas clave de la señalización de la insulina como lo son su receptor, el transportador GLUT4, y el IRS-1, además de la adiponectina, la cual en condiciones fisiológicas aumenta la sensibilidad a la insulina en diversos tejidos como hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (12,13). Además, el TNF- α promueve un estado mayor de hiperinsulinemia y de resistencia a la insulina al incrementar la liberación de ácidos grasos libres y la producción de ceramidas, mediante inducción de la lipólisis y de la activación de la esfingomielinasa, respectivamente (12,13)

La interleucina-6 (IL-6) es una citocina proinflamatoria secretada por el tejido adiposo y sus niveles en plasma correlacionan directamente con el grado de resistencia a la insulina relacionada con la obesidad. La IL-6 directamente afecta la señalización de la insulina por la inducción de SOCS-3, que inhibe la autofosforilación del receptor de insulina impidiendo su asociación con IRS-1 e IRS-2, la disminución de la asociación de PI3K e IRS y la inhibición de la activación de Akt/PKB dependiente de insulina. Además, la IL-6 puede reducir la actividad de la lipoprotein lipasa en el tejido adiposo

de ratón, conllevando a una menor hidrólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (11,12) de esta manera contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina

Tratamiento del paciente pediátrico con obesidad

La obesidad es probablemente el problema de salud más urgente y que requiere de una atención prioritaria. El manejo y la prevención se basan en el establecimiento de una alimentación saludable propuesta para México en el Proyecto de **Norma Oficial Mexicana PROY NOM SSA20431999** y basada en una representación gráfica que ilustra los grupos de alimentos y explica cómo tener una dieta completa y equilibrada para conseguir una buena nutrición, teniendo presente la importancia de combinar y variar los alimentos. La alimentación debe ser:

- **Completa** al incluir un alimento de cada grupo en cada comida. Se recomienda comer muchas verduras y frutas, suficientes cereales, pocos alimentos de origen animal y consumir lo menos posible de grasas, aceites, azúcar y sal.
- **Equilibrada** al guardar proporciones entre los nutrientes.
- **Suficiente** para cubrir las necesidades nutritivas y favorecer el crecimiento.
- **Variada** al integrar diferentes alimentos en cada grupo.
- **Adecuada** a los gustos y cultura de quien la consume de acuerdo a sus recursos económicos

Esta alimentación debe combinarse con cambios en el estilo de vida que promuevan disminución del sedentarismo el establecimiento de hábitos diarios de ejercicio programado. El mantenimiento y el establecimiento de estos hábitos depende de la autoeficacia de cada paciente (voluntad de mantener estos hábitos) por lo que es común que los pacientes dejen este tipo de tratamiento a pesar de hacer una recomendación formal en términos de una alimentación estructurada basada en requerimientos para la edad y estadio de desarrollo y el planteamiento de un programa de actividad física. En nuestro medio, factores como la globalización, la occidentalización de la dieta, la pobre educación para la salud, la condición económica, social, familiar y comunitaria hacen que el cumplimiento de las recomendaciones sea pobre en la mayoría de los programas (14).

Son escasos los programas de intervención multidisciplinaria en población pediátrica que han sido publicados en nuestra población, sin embargo lo que sí es evidente es la creciente incidencia de casos nuevos en niños y adolescentes con repercusiones metabólicas y cardiovasculares graves. El cambio en el estilo de vida disminuye de manera significativa el

sobrepeso y mejora los parámetros metabólicos de resistencia a la insulina, síndrome metabólico y riesgo de desarrollo de complicaciones cardiometabólicas. Desafortunadamente, la evidencia sugiere que la mayoría de los programas tienen un efecto apenas moderado, y particularmente cuando hablamos de éxito a largo plazo (15)

Metformina en el tratamiento del paciente pediátrico con obesidad

Meta-análisis recientemente publicados en población pediátrica evidencian el resultado de estudios controlados y aleatorizados que demuestran el efecto benéfico del uso de metformina en niños y adolescentes en el manejo de estados relacionados con resistencia a la insulina tales como DM2, Síndrome de Ovarios Poliquísticos e hígado graso no alcohólico (13,16). En una revisión sistemática que incluyó 3 estudios en pacientes pediátricos con obesidad y resistencia a la insulina posterior a 6 meses de tratamiento se evidencia disminución en los niveles de insulinemia, HOMA-IR y en el índice de masa corporal en comparación con placebo (17). Estos cambios son también evidentes cuando se comparan ambas estrategias, aún cuando los pacientes se encuentran incluidos en un programa de cambios en el estilo de vida (17,18). El manejo farmacológico con metformina paralelo al cambio en el estilo de vida parece ser de beneficio en la prevención de evolución a complicaciones cardiometabólicas. Brufani y cols.(19) publicaron una revisión sistemática realizada en niños y adolescentes obesos no diabéticos en la cual se concluye que existe una disminución discreta ($1.1-1.7\text{kg/m}^2$) en el Índice de masa corporal al corto y mediano plazo. En algunos estudios se evidenció de igual manera mejoría en índices subrogados de resistencia a la insulina y solo en el estudio publicado por Yanovski y cols. se muestra mejoría de la homeostasis de la glucosa con disminución en los niveles de insulinemia, sin embargo no hubo diferencias entre la secreción de insulina en la primera fase o en la sensibilidad a la insulina medida por Pinza Hiperglucémica al comparar metformina contra el grupo placebo (20). Se requiere realizar estudios donde se evalúe de manera más específica la sensibilidad a la insulina (mediante pinza euglucémica-hiperinsulinémica) y preferentemente con tiempos de tratamiento prolongados, con la finalidad de evaluar el desenlace de las principales comorbilidades asociadas a resistencia a la insulina.

Acido Linoléico Conjugado (ALC) en el paciente pediátrico con obesidad

El ALC es un conjunto de ácidos octadecadienóicos que son isómeros del ácido graso esencial linoléico y que se encuentran de modo natural en algunos alimentos como la carne de rumiantes y productos lácteos. Desde 1979 se han descrito algunos efectos benéficos del

ALC en carcinogénesis, sistema inmune, aterosclerosis y obesidad. Estudios realizados en animales de experimentación y en humanos han evidenciado mecanismos moleculares con efectos sobre el tejido adiposo. En animales se han descrito efectos sobre la disminución de la ingesta calórica, lo cual no ha sido demostrado en humanos (21-23). Sin embargo se ha descrito incremento en el gasto y consumo de energía, disminución de la adipogénesis supresión de la lipogénesis, así como mejoría en la sensibilidad a la insulina. Los estudios en humanos adultos han demostrado una reducción del contenido de grasa y un aumento relativo de la masa magra (24-27). Así mismo otro estudio con suplementación de ALC en adultos (3.76g/día) mostró aumento en el gasto energético basal y aumento en la expresión génica en el tejido adiposo de PPAR- γ y una reducción en los niveles de mRNA de la lipasa. Los niveles de UCP-2 y del mRNA de lipoprotein lipasa adipocitaria no se vieron modificados (28). Un estudio doble ciego en pacientes pediátricos con una dosis de 3g/día por 16 semanas reportó un descenso significativo de los niveles plasmáticos de glucosa e insulina con mejoría del índice de resistencia a la insulina, sin evidencia de cambios en el peso corporal, IMC, niveles circulantes de lípidos o adiponectina (29). La dosis mayormente recomendada en los estudios es de 3g que debe incluir una mezcla de c9,t11 y t10,c12 en proporción 50:50 para evitar efectos deletéreos sobre el perfil lipídico, la peroxidación de membranas y sobre la sensibilidad a la insulina. La mayoría de los efectos adversos descritos son leves y en relación a molestias gastrointestinales.

JUSTIFICACIÓN

El manejo del paciente pediátrico con obesidad sigue siendo un reto. El éxito de los programas de intervención de cambios en el estilo de vida al corto y mediano plazo es de alrededor del 30% y el beneficio sostenido se logra apenas en el 5% de los programas. En la clínica de Obesidad Infantil del servicio de Pediatría del Hospital General de México la prevalencia de síndrome metabólico es de alrededor de 35%. La gran mayoría de las comorbilidades observadas en niños pequeños están en relación a la existencia de resistencia a la insulina desde etapas tempranas de la vida. Hemos detectado en niños de nuestra clínica una frecuencia de 25% de infiltración grasa del hígado y una correlación positiva entre el Índice de Masa Corporal y el engrosamiento de la íntima carotídea aunado a alteraciones de la relajación endotelial en la arteria braquial, lo cual denota daño cardiovascular temprano. Existen actualmente pocas estrategias farmacológicas de intervención en el paciente pediátrico con obesidad, los estudios existentes son escasos y los resultados controversiales, sin embargo, dos de las sustancias propuestas en la última década para el manejo de la resistencia a la insulina son la Metformina y el Acido Linoléico Conjugado. Un solo estudio realizado en adultos utilizando el estándar de oro para la evaluación de la resistencia a la insulina y otro más en niños sugieren que ambos medicamentos podrían proporcionar un efecto benéfico adicional al cambio en el estilo de vida y que pudieran ser de utilidad en prevenir el desarrollo de complicaciones relacionadas con ésta como hígado graso no alcohólico, prediabetes, diabetes y enfermedad cardiovascular.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad infantil es un problema de salud pública a nivel mundial; el tratamiento actual está dirigido a modificar el estilo de vida con cambios en la alimentación e impulsar la actividad física diaria, sin embargo pocos sujetos logran resultados óptimos, y los que lo logran durante la implementación de los cambios de estilo de vida, recuperan el peso perdido en menos de un año, una vez que los delegan. Las alteraciones metabólicas se presentan de forma crónica predisponiendo al paciente con obesidad a presentar síndrome metabólico y diabetes tipo 2 aumentando la morbilidad y mortalidad a edades tempranas por estas enfermedades. Es necesario buscar estrategias alternas a los cambios en alimentación y actividad física para lograr éxito en el tratamiento del paciente obeso pediátrico, a través de opciones farmacológicas o quirúrgicas para los casos con mayor riesgo. El Acido Linoléico Conjugado y la Metformina son dos moléculas que han

demostrado tener efectos benéficos sobre la composición corporal y la sensibilidad a la insulina en meta-análisis publicados recientemente.

HIPOTESIS

Si el tratamiento con Metformina o Acido Linoléico Conjugado (CLA) mejoran la sensibilidad a la insulina medida por la Pinza Euglucémica-Hiperinsulinémica (CLAMP) en pacientes pediátricos con obesidad sometidos a un programa de intervención de cambios en el estilo de vida, **entonces** la diferencia del tamaño del efecto del valor Rd de sensibilidad a la insulina medida por este método posterior a 4 meses de intervención con estos fármacos será de por lo menos 50% en comparación al grupo tratado con placebo.

OBJETIVO GENERAL:

Comparar los niveles postratamiento del valor Rd de sensibilidad a la insulina medido por técnica de CLAMP en pacientes pediátricos con obesidad incluidos en un Programa de intervención de cambios en el estilo de vida y tratados en forma coadyuvante con Metformina, Acido Linoléico o Placebo durante 4 meses.

OBJETIVOS SECUNDARIOS:

Comparar los cambios antropométricos (IMC, composición corporal medida por bioimpedancia eléctrica, circunferencias de cintura) y tensión arterial posterior a 4 meses de tratamiento con Metformina, Acido Linoléico o Placebo en pacientes pediátricos con obesidad sometidos a un Programa de intervención de cambios en el estilo de vida

METODOLOGÍA

Tipo de estudio: Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, placebo controlado.

Sujetos:

Se incluyeron pacientes pediátricos que acudieron a la Clínica de Obesidad del Hospital General de México con las siguientes características:

Criterios de inclusión

- ✓ Pacientes de ambos sexos entre 8 y 18 años de edad
- ✓ $IMC \geq Pc\ 95$ y $< 35kg/m^2$
- ✓ Con aminotransferasas normales

- ✓ Hoja de consentimiento y asentimiento firmados

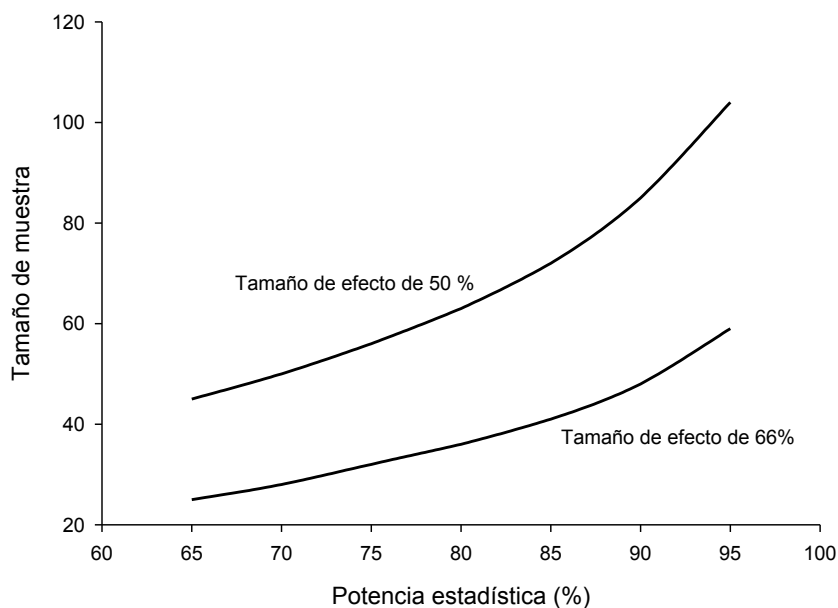
Criterios de exclusión

- ✓ Enfermedades endocrinológicas, incluida diabetes mellitus
- ✓ Enfermedades sistémicas
- ✓ Enfermedades genéticas
- ✓ Recibir tratamiento farmacológico que afecte metabolismo lipídico o de la glucosa
- ✓ Antecedentes de inmovilización aguda o prolongada

Criterios de eliminación:

- ✓ Inasistencia a 2 de las sesiones de intervención de cambios en el estilo de vida
- ✓ Falta de apego a tratamiento farmacológico (metformina, ALC o placebo) con ingesta de las tabletas en menos del 80%
- ✓ Intolerancia al medicamento
- ✓ Presencia de efectos adversos graves (manifestaciones de hipoglucemia, hiperémesis, gastritis grave, diarrea crónica, alteración de las pruebas de función hepática)
- ✓ Retiro del consentimiento informado

CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA



Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó el programa G Power. Se muestra en el gráfico la potencia y tamaño de muestra de acuerdo al tamaño del efecto esperado. El mejor poder (entre 85 y 97%) estaría con un tamaño de muestra entre 60 y 70 pacientes. Se consideran 40 pacientes por grupo para obtener poder mayor del 80% considerando un tamaño del efecto mayor de 66%.

DESCRIPCION DE LAS VARIABLES A ESTUDIAR Y ANALISIS ESTADISTICO

Las variables independientes son los grupos de tratamiento (Placebo, Metformina 1gr y Acido Linoléico Conjugado 3gr (mezcla 50:50 de los isómeros de *c9,t11* y *t10,c12*)).

La variable dependiente es el valor Rd de sensibilidad a la insulina obtenido por la pinza metabólica hiperinsulinémica euglucémica, que denota la administración de glucosa en mg/kg/min que tolera el paciente para mantener sus niveles de glucemia entre 85-95 mg/dL.

Las variables potencialmente confusoras o modificadoras del efecto que fueron consideradas fueron el IMC al inicio del estudio, la edad, el estadio del desarrollo puberal de Tanner, el apego al plan de alimentación y al ejercicio. El estado inicial de resistencia a la insulina medido por variables subrogadas como la insulinemia de ayuno, el HOMA-IR y el QUICKI se consideraron también como covariables. Se realizó análisis descriptivo para las variables numéricas y categóricas. Se utilizó análisis de la varianza para evaluar las diferencias entre las variables antropométricas, metabólicas y de sensibilidad y resistencia a la insulina, incluido el valor Rd

que es la variable de desenlace principal para los diferentes grupos de tratamiento. Se realizaron también ANOVAS de medidas repetidas para evaluar las diferencias de los biomarcadores al inicio y al final de la intervención. Se realizó análisis de la covarianza para evaluar las diferencias entre los índices de sensibilidad y resistencia a la insulina entre los tres grupos de tratamiento controlando por variables potencialmente confusoras o modificadoras del efecto antes mencionadas.

Para el análisis se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 22. Se realizó un análisis inicial univariado para evaluar outliers. Se aplicaron pruebas de normalidad, linealidad y homocedasticidad para las variables numéricas. Para evaluar normalidad se analizaron los histogramas, puntos Q-Q, sesgo y curtosis y pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Asimismo se analizó prueba de Levene para evaluar homogeneidad de varianzas. En el caso de ANOVA de medidas repetidas se utilizó prueba de esfericidad de Mauchly. Para pruebas de ANCOVA y ANOVAS de medidas repetidas se evaluó prueba de cajas. En ninguno de los casos se violaron los preceptos básicos de análisis.

FASE DE INTERVENCION

1.- Fase de evaluación inicial: VISITA 0 (-15 días)

- a) Firmas de consentimientos Informados: Se invitó a los pacientes a firmar un consentimiento informado por parte de los tutores y asentimiento por parte del paciente para participar en el estudio. Se explicó con detalle a los pacientes el objetivo del estudio y se les invitó a participar.
- b) Realización de historial clínico: Una vez firmadas las cartas de consentimiento y asentimiento, el paciente fue evaluado de primera instancia por un médico pediatra o endocrinólogo pediatra. Se realizó una historia clínica detallada investigando antecedentes familiares de Obesidad (IMC de los padres), Hipertensión arterial, Diabetes mellitus tipo 2, Dislipidemias, Cardiopatía isquémica Síndrome de Ovarios Poliquísticos y enfermedad vascular cerebral. Dentro de los antecedentes perinatales de riesgo se interrogó historia de Diabetes gestacional, Preclampsia / Eclampsia, Insuficiencia placentaria, Tabaquismo de la madre durante el embarazo, Desnutrición materna durante la gestación, Ganancia de peso excesiva en la madre durante la gestación, Peso bajo al nacimiento (<2.5 Kg), Peso alto al nacimiento (>4 Kg), Lactancia materna menor a 6 meses,, Tiempo de inicio y calidad de la alimentación complementaria, Crecimiento rápido y sobrealimentación en los primeros 2 años de vida postnatal.

- c) Exploración Física: Se registró antropometría (Peso, Talla, Índice de masa corporal, circunferencia de cintura, circunferencia de cintura de acuerdo a técnica de Fernández, circunferencia de abdomen, circunferencia de cadera, relación cintura/talla, circunferencia de cuello) y tensión arterial. Se realizó una exploración física completa en búsqueda de datos de resistencia a la insulina como acantosis en cuello, ingles y axilas o zonas de fricción. Se buscaron datos de comorbilidades asociadas.
- d) Toma de muestras sanguíneas basales: Se tomó una muestra de sangre periférica venosa con ayuno de 12hrs para la determinación de glucemia de ayuno, insulinemia, Col- HDL, Col-LDL, triglicéridos, colesterol total, ácido úrico, PCR ultrasensible, ALT, HbA1C, Adiponectina, citocinas séricas proinflamatorias y antiinflamatorias tales como IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, MCP-1, TNF- α , además de niveles de las adipocitocinas Leptina, Resistina y Visfatina al inicio y al finalizar los 4 meses de intervención. Las citocinas y adipocitocinas fueron procesadas con la técnica de Bio-plex la cual permite la detección de hasta 100 analitos diferentes en una simple muestra y corrida. El principio está conformado por perlas de diferentes tonalidades basadas en dos colores definidos. Las perlas se conjugan con un reactor específico para cada uno de los ensayos que pueden ser anticuerpos, antígenos, oligonucleótidos, sustratos enzimáticos o receptores. Estos reactores se fijan a varias perlas de la misma tonalidad y posteriormente un anticuerpo secundario es utilizado para cuantificar la cantidad de la molécula de interés que se fija a los receptores sobre las perlas. Posteriormente el sistema es excitado mediante técnica con láser para cuantificar la fluorescencia que emiten los colorantes de las perlas y de esta manera establecer la cantidad de molécula presente en el medio.

Las muestras para citocinas e insulina fueron centrifugadas y almacenadas a -20oC para realizar una corrida homogénea de todas las muestras una vez que se hubieran reclutado el total de los pacientes. La muestra para los estudios metabólicos fué enviada inmediatamente al laboratorio central del Hospital General de México y fueron corridas mediante métodos habituales. Todos estos exámenes se tomarán al inicio y al final de la intervención.

Se calcularon de igual manera, los índices subrogados de resistencia a la insulina HOMA-IR y Quicki antes y después de la intervención.

e) Estudios Adicionales

➤ **Bioimpedancia eléctrica**

Se refiere a la medición de la grasa corporal total basada en el principio según el cual el tejido magro, que contiene grandes cantidades de agua y electrolitos, es un buen conductor eléctrico, y la grasa que es anhidra, es un mal conductor. Entre mayor sea la impedancia a la corriente, mayor cantidad de tejido no graso almacenado.

Mientras la persona se encuentra recostada, se colocan dos electrodos en pie y mano del mismo lado, por los que se hace pasar una pequeña corriente eléctrica por medio de los cables del analizador de bioimpedancia eléctrica.

El procedimiento se realizará con el paciente libre de sudoración, fiebre, estado de shock o sensación de frío, sin zapatos, calcetines, ni joyería en los brazos, los tobillos y en el cuerpo (pulseras, relojes, collares, cadenas), sin haber realizado ejercicio extenuante ni haber consumido alcohol, 8 horas y 12 horas antes de la prueba respectivamente (dado que ambas actividades pueden afectar a niveles de hidratación). Se registran el nombre, sexo, edad, altura, peso, y el costado del cuerpo en el que se efectuará la prueba. El paciente permanecerá en posición supina sobre en una cama con superficie no conductora, con las piernas separadas una de la otra, y los brazos en aproximadamente un ángulo de 30 grados con respecto al cuerpo. Se realiza la limpieza de la zona donde se colocarán los electrodos con un algodón humedecido en alcohol: superficie dorsal de la mano por debajo de las prominencias distal del radio y el cúbito en la muñeca, en la parte distal metacarpianos y metatarsos, respectivamente, y la pared medial y lateral del maléolo a la altura del tobillo. Se colocan los 4 electrodos y los cables correspondientes. El paciente deberá evitar moverse durante la prueba. No existe riesgo de descarga eléctrica pues la cantidad de corriente es muy pequeña

➤ **Calorimetría indirecta**

Se realizó en tiempo basal y posterior a la prueba de Harvard (para medir capacidad aeróbica en todos los pacientes) un estudio de calorimetría indirecta, cuantificando el gasto energético en reposo (GER) y postejercicio. Esta medida refleja el requerimiento calórico en 24 hr y la medida de utilización de sustrato, reflejado por el cociente respiratorio (RQ) el cual se asocia a la concentración de nitrógeno urinario. Se utilizó un calorímetro REEVUE, de la marca KORR. La medición del calor absorbido o liberado por un sistema o cuerpo estima el gasto de energía en estado de reposo (REE) calculado a partir de la cantidad de O₂ aspirado y la cantidad de CO₂ excretado. El gasto de energía en estado de reposo es la cantidad de calorías que el paciente gasta en 24 horas en estado de reposo.

Se realizó con el paciente sentado o reclinado cómodamente, relajado y despierto y un ayuno de 8hrs, adaptando una mascarilla Meta Breathe sobre los corredores nasales y la parte inferior externa de la boca la cual tiene en su extremo un tubo expansible que se conecta al calorímetro Reevue marca Korr, que mide el intercambio de gases entre el individuo y la atmósfera que lo rodea. La prueba se concluye automáticamente en 10 minutos.

Una vez realizada la evaluación basal el paciente fué sometido a una prueba de capacidad aeróbica máxima, la prueba del escalón de Harvard, y posteriormente se realizó calorimetría postejercicio. Estos estudios se realizaron al inicio y después de los 4 meses de intervención.

Posteriormente todos los pacientes fueron incluidos al Programa de cambios en el estilo de vida enfocado a lograr una alimentación ordenada y equilibrada, así como inclusión a un programa de ejercicio con una duración de 16 semanas.

➤ **Prueba de capacidad aeróbica (Escalón de Harvard)**

Se realizó una prueba de capacidad aeróbica máxima mediante la aplicación de la prueba del escalón de Harvard la cual consiste en bajar y subir un escalón de 50,8 centímetros de altura durante 5 minutos con una frecuencia de 30 ciclos por minuto. Un ciclo se considera cuando el paciente coloca un pie sobre el escalón, sube colocando ambos pies en el mismo, extiende completamente las piernas y endereza la espalda, e inmediatamente desciende, comenzando con el pie que subió primero. Cuando el paciente termina la prueba se sienta y se realizan tres tomas de frecuencia cardíaca, de 30 segundos cada una, del siguiente modo: Una al minuto de finalizar el ejercicio (P1), otra a los dos minutos (P2) y una última a los 3 minutos (P3). Se obtiene una puntuación, que es el resultado de la prueba según la siguiente ecuación:

(Duración del ejercicio x 100) : 2 (P1 + P2 + P3).

La prueba se interpreta de acuerdo al siguiente cuadro:

Valores Promedios – Prueba de Harvard

0-55	Condición Física muy mala
55-64	Nivel Bajo de Condición Física
65-79	Nivel Medio de Condición Física
80-90	Nivel Alto de Condición Física
Más de 90	Nivel Muy Alto de Condición Física

2.- Programa de Intervención de Cambios en el estilo de vida:

El programa consta de 4 sesiones mensuales en las cuales se realiza una sesión de actividad física dirigida y se trabaja un taller psicoeducativo en sesión grupal con temas enfocados al cambio a un estilo de vida saludable.

Sesión de actividad física dirigida:

Se realizó en cada visita una sesión de ejercicio coordinada por un experto en medicina deportiva con duración de una hora en la cual participaron los pacientes y sus familias. La sesión consta de 10 min de calentamiento, 30 min de actividad física intensa (aeróbica y anaeróbica) y 20 minutos de estiramiento y relajación. Se integraron a los participantes en dos grupos: Escolares (pacientes entre 8-11 años) y Adolescentes (12-18 años) con la finalidad de adecuar las actividades físicas pertinentes y de interés para cada grupo.

Prescripción del programa de ejercicio:

En la primera visita se recomendó en forma general un programa de ejercicio ambulatorio, el cual consta de 5 sesiones por semana de una hora de duración en las cuales se prescribieron 40 minutos de actividad física aeróbica y 20 minutos de ejercicios de resistencia.

Por otra parte, se enfatizó la importancia de intervenciones dirigidas a disminuir actividades sedentarias. Dentro de las estrategias para incrementar la actividad física se recomendaron:

- ✓ Disminuir el tiempo frente a una pantalla a menos de 2 hrs al día (*televisión, computadora, videojuegos*)
- ✓ Favorecer el juego activo
- ✓ Realizar alguna actividad deportiva aeróbica y anaeróbica 1 hora todos los días (caminar, baile, bicicleta, natación, etc.)
- ✓ Respetar los horarios de sueño
- ✓ Utilizar al mínimo transporte público o privado e incrementar desplazamiento individual (caminata, no uso de elevadores)

Prescripción del plan de Alimentación:

En cada caso se realizó una evaluación nutricional completa por un nutriólogo capacitado en obesidad, que constó de un cuestionario de hábitos alimenticios, así como un recordatorio de 24hrs de días ordinarios de escuela y de días de fin de semana. Se realizó entonces un cálculo estimado de las calorías que consumía el paciente.

Se adaptó la dieta disminuyendo el aporte calórico a no más de un 30% del consumo habitual y tomando en cuenta el aporte requerido para la edad y el estadio de desarrollo puberal de Tanner, para otorgar una óptima nutrición que mantuviera el estado de salud, favoreciendo el crecimiento normal y reforzando los hábitos saludables de alimentación (30). Tal y como recomienda la academia americana de pediatría se restringieron no más de 300 a 400 kCal por debajo de la ingesta energética referida en la historia de alimentación (31). Se tomó en cuenta el requerimiento energético fisiológico recomendado para edad y sexo. El aporte energético para niños de 6 a 12 años no debe ser menor a 900 kcal al día y para adolescentes de 13 a 18 años no debe ser menor a 1200 kcal por día (32). El cálculo se ajustó asimismo para el grado de actividad física del paciente.

La composición de la alimentación se realizó en todos los casos de la siguiente manera:

- ✓ El aporte de carbohidratos se calculó en 55 al 60% de las calorías totales.
- ✓ El aporte de lípidos se calculó de 25 al 30% de las calorías totales, (menos del 7% de grasas saturadas, menos del 1% de grasas trans y menos de 300 mg/día de colesterol) [45].
- ✓ El aporte de proteínas se ajustó a 15 al 20% de las calorías totales.
- ✓ Se limitó el consumo de sal a menos de 1 gr al día en menores de 1 año, no más de 2 gr entre 1 y 3 años y máximo de 3 gr en niños mayores

Se hizo énfasis en recomendaciones sobre hábitos básicos de alimentación saludable en los pacientes y sus familias. Se procuró que los pacientes habitaran en el área metropolitana de tal forma que pudieran acudir de forma regular a sus citas y que se pudiera hacer la intervención en la mayoría de miembros de la familia. Se sugirió en forma explícita y en lenguaje claro para los pacientes las siguientes recomendaciones:

- ✓ Establecer horarios para los alimentos
- ✓ Desayunar todos los días
- ✓ Hacer 3 comidas al día y 2 colaciones sin saltarse ninguna
- ✓ Consumir 5 raciones de frutas y verduras todos los días.
- ✓ Consumir de los diferentes grupos de alimentos en las proporciones indicadas en el “plato del bien comer “
- ✓ Evitar comidas abundantes
- ✓ Recomendar el consumo de alimentos ricos en fibra

- ✓ Preferir alimentos bajos en grasas (carnes magras, eliminar la piel del pollo, productos lácteos descremados, desgrasar sopas y guisados, utilizar margarina en lugar de mantequilla, evitar fritos, capeados y empanizados).
- ✓ Consumir una dieta rica en calcio. Limitar en consumo de sal.
- ✓ Evitar el consumo de alimentos poco saludables como dulces, frituras y productos industrializados
- ✓ Evitar el consumo de bebidas dulces y favorecer el consumo de agua natural
- ✓ Procurar comer en casa en lugar de restaurantes o cafeterías
- ✓ Comer en familia e involucrarla en todos los cambios

Se utilizó como instrumento de información un tríptico impreso donde se plasmaron las recomendaciones antes mencionadas y que el paciente podía llevar a casa.

FASE DE INTERVENCION

Visita 1 (día 0)

Si el paciente cumplió con todos los criterios de inclusión y ninguno de no inclusión, y una vez que se habían programado las citas para las sesiones del programa de intervención de cambios en el estilo de vida, se procedió entonces a realizar la aleatorización.

3.- Aleatorización:

La aleatorización se hizo utilizando una tabla de números aleatorios. Todos los pacientes recibieron la misma intervención de cambios en el estilo de vida y en esta visita de manera paralela se aleatorizaron a recibir:

GRUPO 1: Metformina: dosis total 1gr/día (tabletas de 250mg). El paciente tomó 2 tabletas con el desayuno y 2 tabletas con la cena, además de 2 tabletas de placebo con la comida por 4 meses.

GRUPO 2: Acido Linoléico Conjugado (mezcla c9,t11 y t10,c12 en proporción 50:50): dosis total 3gr/día (cápsulas de 500mg). El paciente tomó 2 cápsulas con el desayuno, 2 cápsulas con la comida y 2 cápsulas con la cena por 4 meses.

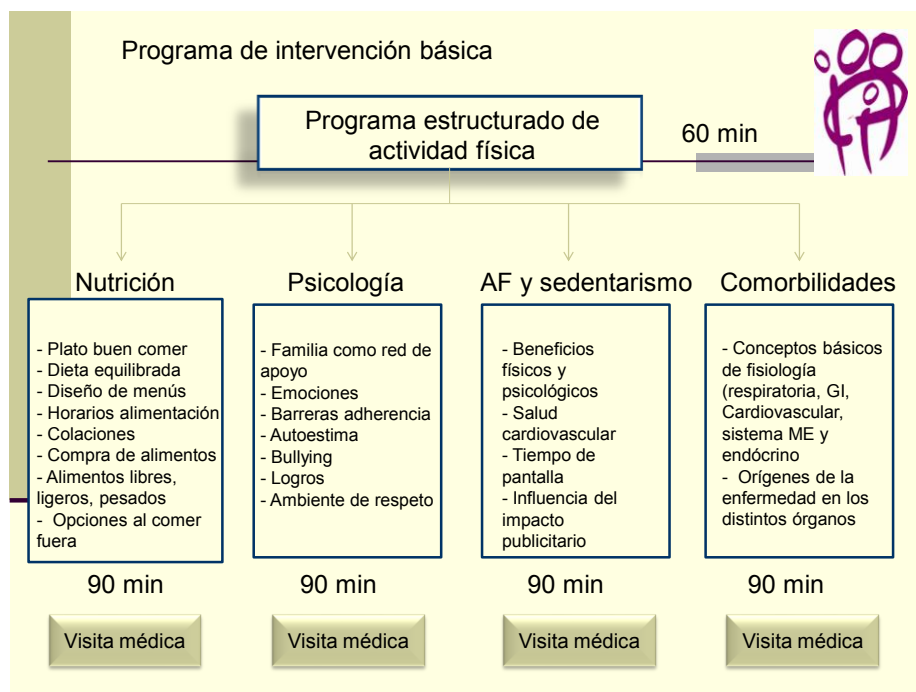
GRUPO 3: Placebo: dosis total: 6 tabletas/día. El paciente tomó 2 tabletas con el desayuno, dos tabletas con la comida y dos tabletas con la cena por 4 meses.

Los medicamentos fueron empaquetados en forma idéntica por el laboratorio Silanes (frasco de plástico blanco y opaco) de tal forma que la persona que hacía el conteo de tabletas era la única que conocía las características físicas de las mismas. Los medicamentos estaban etiquetados como tratamiento A, B y C. La persona que realizó las evaluaciones de las variables principales de desenlace Pinza euglucémica-Hiperinsulinémica y variables antropométricas, así como estudios metabólicos, insulinas y citocinas desconocían el tipo de tratamiento al que fue asignado el paciente.

4.- Visitas de Seguimiento:

Los pacientes fueron citados en forma mensual. En cada una de las visitas el paciente participó inicialmente en la sesión de actividad física coordinada por un experto en medicina deportiva con duración de una hora, donde se trabajaron los aspectos antes mencionados. Posteriormente se realizó en cada visita un el taller psicoeducativo, con duración de 60 minutos e impartido por un experto en el tema. Tuvimos la participación de psicólogos, sociólogos, pediatras, endocrinólogos pediatras, médicos generales y especialistas en medicina deportiva. Los talleres psicoeducativos impartidos fueron los siguientes: a) El plato del buen comer y la importancia de una alimentación equilibrada, b) Asertividad y familia como red de apoyo, c) Importancia y beneficios de realizar actividad física, d) Comorbilidades asociadas a obesidad

Programa Psicoeducativo:



Posteriormente el paciente fue evaluado en consulta médica por un médico pediatra o endocrinólogo pediatra el cual realizó en cada visita la antropometría habitual, revisión general y resolvió dudas sobre el estado de salud del paciente. El nutriólogo evaluó el conocimiento y manejo de la alimentación por parte del familiar y del propio paciente, así como el apego a la dieta recomendada en la visita anterior, realizando el recordatorio de 24 hrs, para después hacer énfasis en las modificaciones que debían realizarse. También evaluó las horas de ejercicio realizadas por semana por el paciente desde su última visita.

Al finalizar cada visita, se entregó al paciente los frascos de medicamento suficientes para un mes de tratamiento, con las indicaciones precisas para su administración. Asimismo, se entregó el diario del paciente, con la finalidad de registrar las dosis de medicamento tomadas, así como cualquier molestia presentada. Se hizo énfasis en que acudiera con todos los frascos del medicamento sobrantes así como con su diario a la próxima visita. En cada visita posterior en los siguientes 4 meses se revisó el diario de registro de toma de medicamento y se realizó el conteo de las tabletas con la finalidad de evaluar el apego al tratamiento que debía ser del 80% mínimo y no más del 100%. De ser así los pacientes fueron eliminados del estudio. En cada visita se interrogó sobre posibles eventos adversos y se revisó los que se hubieran registrado en el diario.

5.- Visita Final

En la visita final se realizó evaluación antropométrica, y se tomaron muestras para determinar nuevamente los marcadores metabólicos, bioquímicos y de inflamación. Se realizó nuevamente prueba de capacidad física mediante escalón de Harvard, además de impedanciometría, calorimetría basal y postejercicio. Se evaluó el apego al tratamiento farmacológico por medio del diario del paciente y el conteo de tabletas sobrantes. Se buscaron posibles eventos adversos a través del diario del paciente y por medio de preguntas específicas.

Realización de estudio de Pinza metabólica Euglucémica-Hiperinsulinémica

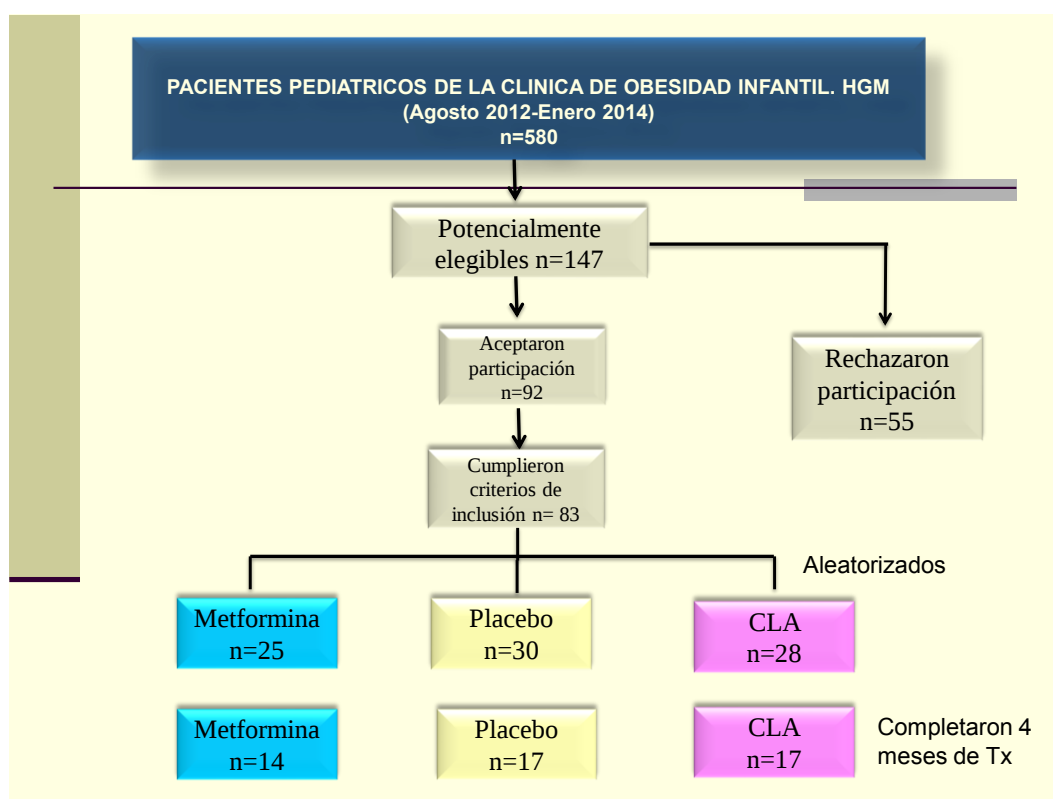
Posterior a 12 horas de ayuno los pacientes llegaron a la unidad de Farmacología y Desarrollo Tecnológico del Hospital General de México que cuenta con la infraestructura adecuada para la realización de este tipo de estudios. Se le explicó al paciente los detalles del procedimiento por el personal previamente capacitado que incluyó enfermeras especializadas, pediatras y un endocrinólogo pediatra. Es importante mencionar que los especialistas que realizaron el procedimiento estaban cegados al tipo de tratamiento que recibieron los pacientes.

La mano derecha del paciente fue introducida en una caja caliente a 60 grados C y se canalizó la vena cefálica del mismo lado en forma retrógrada, lo que permitió obtener sangre arterializada. En el brazo izquierdo se canalizó la vena cefálica en forma anterógrada para infusión de insulina y glucosa. Se inició una infusión de insulina a razón de $120\text{mU/m}^2/\text{min}$ que fue utilizada para realizar el cebamiento durante los primeros 10 minutos. Posterior a este período se disminuye la dosis gradualmente hasta administrar $60\text{mU/m}^2/\text{min}$, dosis que permanece constante durante todo el estudio. A partir del minuto 5 del cebamiento se inicia la infusión de glucosa al 20% de concentración, la cual se varía de manera dinámica para mantener glucemias en el paciente entre 85-95mg/dl. Se toman muestras de 25 μl cada 5 minutos para determinación de glucosa central. Se toma muestra para insulina cada 30 minutos durante el tiempo que dura el estudio (aproximadamente dos horas después de que se logró la estabilización de la glucosa en el rango antes mencionado). El período crítico donde se logra la pinza de estabilidad en el nivel de glucemia central está alrededor de los 90-120 minutos. Se considera el valor Rd de sensibilidad alcanzado por cada paciente a la dosis de glucosa al 20% administrada en mg/kg/min que el paciente tolera en la última media hora del estudio para mantener sus niveles de glucemia estables entre 85-95mg/dL. Cuanto mayor sea la cantidad de mg/kg/min de glucosa tolerada se interpreta que el paciente tiene una mejor capacidad de incorporación de glucosa al músculo, por lo que su sensibilidad a la insulina es más óptima. No se presentaron complicaciones por la realización del procedimiento. En un solo caso fue necesario suspender el estudio ya que el paciente presentó una hipoglucemia sintomática, la cual se corrigió sin complicaciones con carga aguda de solución glucosade. El estudio se reprogramó la siguiente semana.

RESULTADOS:

El total de pacientes fueron reclutados de la Clínica de Obesidad Infantil del servicio de Pediatría del Hospital General de México. De los 147 sujetos potencialmente elegibles, se aleatorizaron 86 pacientes de los cuales 38 cumplieron criterios de eliminación y en su mayoría fue debido a falta de apego al tratamiento. No detectamos efectos adversos clínicamente relevantes. Los más frecuentes se relacionaron con dolor abdominal, diarrea, náusea y cólico y fueron en su mayoría transitorios. En el primer análisis Interim detectamos que existía disminución en los niveles de colesterol HDL e incremento en los niveles de Triglicéridos en el grupo de pacientes con tratamiento C, que fue estadísticamente significativo y particularmente al compararlo con uno de los dos tratamientos restantes. Decidimos entonces detener el estudio y abrir el cegado. Se analizaron por lo tanto 48

pacientes en los diferentes grupos de tratamiento (Grupo A que correspondió a METFORMINA con $n=14$, B a PLACEBO con $n= 17$ y C a ACIDO LINOLEICO CONJUGADO con $n= 17$). A continuación se muestra el flujo de inclusión de pacientes:



Las características antropométricas y metabólicas que incluyen las principales variables de interés en condiciones basales se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

Variable	Metformina n=14 Media DE	Placebo n=17 Media DE	Acido Linoléico (CLA) n=17 Media DE	P
Edad (años)	11.43±2.1	12.59±2.62	11.41±2.71	0.31
Peso (kg)	63.25±12.6	70.15±13.11	62.11±18.47	0.26
Talla (cm)	148.4±10	153.4±12	148.6±13	0.42
IMC (kg/m ²)	28.54±2.8	28.79±2.8	27.48±3.7	0.45
Gluc (mg/dL)	87 ±7	87±8.2	85±8.1	0.62
Col T (mg/dL)	167±27	167±28	162±23	0.79
Col HDL	41±10	37±8	38±8	0.42
Col LDL	107±24	106±24	100±25	0.67
Trig (mg/dL)	150±62	161±60	159±84	0.89
Cap. Física	81±56	83±45	85±66	0.98
Insulina (μU/mL)	43.5±22	37.1±17	42.5±27	0.25
HOMA-IR	9.42±4	8.07±4	9.2±6	0.68
QUICKI-IS	0.63±0.08	0.64±0.06	0.66±0.15	0.54

La edad media de los sujetos estudiados fue 12 ± 1.6 años. Los datos estratificados por edad, mostraron que el grupo con mayor número de pacientes fue el de 8 a 12 años con un 67%. El sexo femenino representó el 60% del total de la población estudiada. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las principales variables antropométricas, metabólicas y bioquímicas, así como en la capacidad física que mostraron los pacientes al inicio de la intervención, lo cual denota que los grupos de tratamiento eran homogéneos.

Con la finalidad de evaluar el efecto global de la intervención analizamos los cambios en las variables antropométricas, metabólicas e índices subrogados de sensibilidad a la insulina, antes y después de la intervención para todos los pacientes independientemente del grupo al que fueron aleatorizados, lo cual evidenció una mejoría significativa en el IMC, peso, talla, circunferencia de cintura, insulinemia de ayuno, e índices de sensibilidad y resistencia a la

insulina HOMA-IR y QUICKI (Ver tabla 2), lo cual refleja un beneficio significativo de la intervención.

TABLA 2. Modificación de las variables de interés antes y después de la intervención para todos los grupos de tratamiento

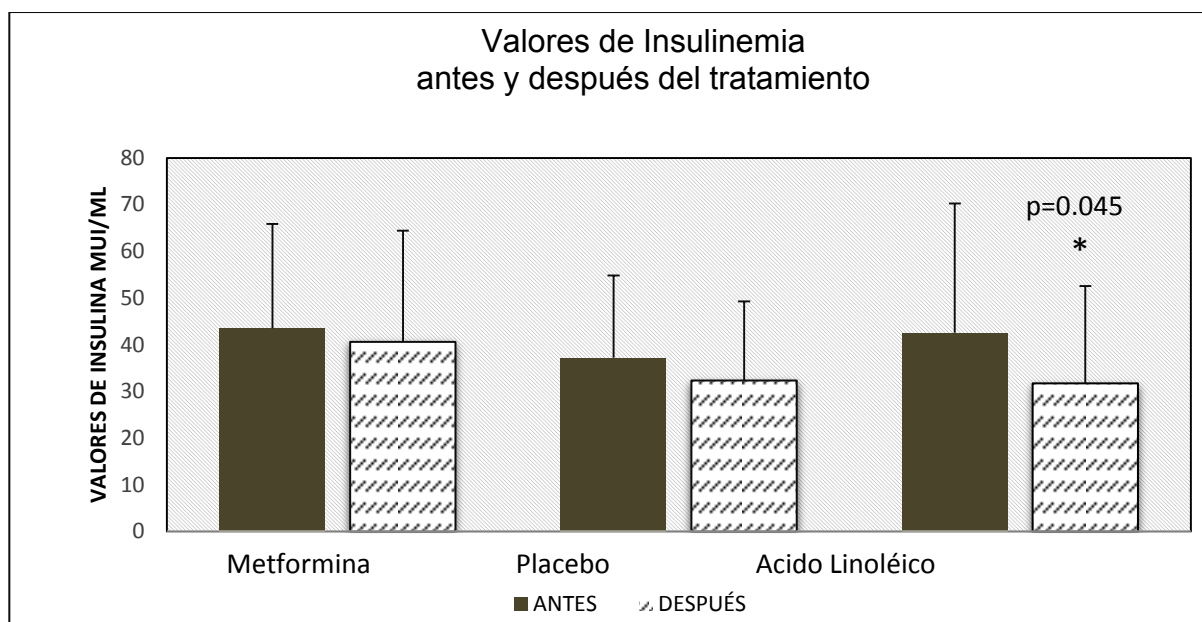
Variable	Basales n=48 Media DE	Postratamiento n=48 Media DE	p
Peso (kg)	65.29±15.24	62.51±14.92	<0.001
Talla (cm)	150.29±12.17	151.77±11.56	<0.001
IMC (kg/m ²)	28.25±3.18	26.56±3.55	<0.001
Circunf. Cint (cm)	87.96±9.15	83.82±8.63	<0.001
Gluc (mg/dL)	87±7.3	85±5.7	0.28
Col T (mg/dL)	167±24	161±28	0.07
Col HDL (mg/dL)	39.2±8.8	40.4±8.3	0.24
Col LDL (mg/dL)	105±23	100±24	0.056
Trig (mg/dL)	154±67	139±68	0.22
Insulina (μul/mL)	40.9±22	34.5±20	0.025
HOMA-IR	8.86±5	7.27±4	0.018
QUICKI-IS	0.64±0.1	0.68±0.1	0.014
Cap. Física	83.82±55.61	124.0±38.0	<0.001

La capacidad aeróbica que refleja el apego al plan de ejercicio mejoró también en forma significativa. El apego al plan de alimentación (datos no mostrados) fue también registrado y expresado como porcentaje del apego al plan de alimentación prescrito y considerado como variable potencialmente confusora, así como la capacidad física adquirida. Ninguna de estas dos variables mostró un efecto modificador sobre la variable de desenlace principal Rd.

Al analizar el comportamiento de los índices subrogados de resistencia y sensibilidad a la insulina encontramos mejoría en el total de pacientes considerados como grupo global de intervención, sin embargo, fue en el grupo de Acido Linoléico Conjugado donde disminuyó en forma significativa la insulinemia de ayuno y esto se correlacionó en forma negativa y

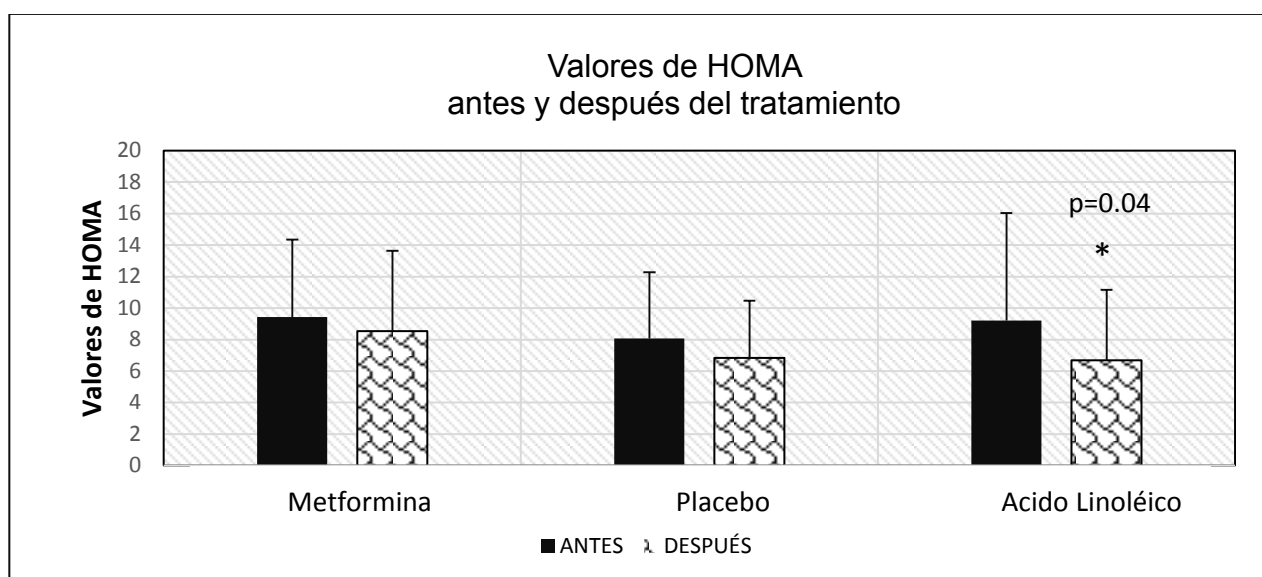
marginal con el mayor tamaño de efecto encontrado en el valor Rd medido por el estándar de oro que es la Pinza Euglucémica-Hiperinsulinémica ($r = -0.26$, $p = 0.064$). Ver Gráfica 1

GRAFICA 1.



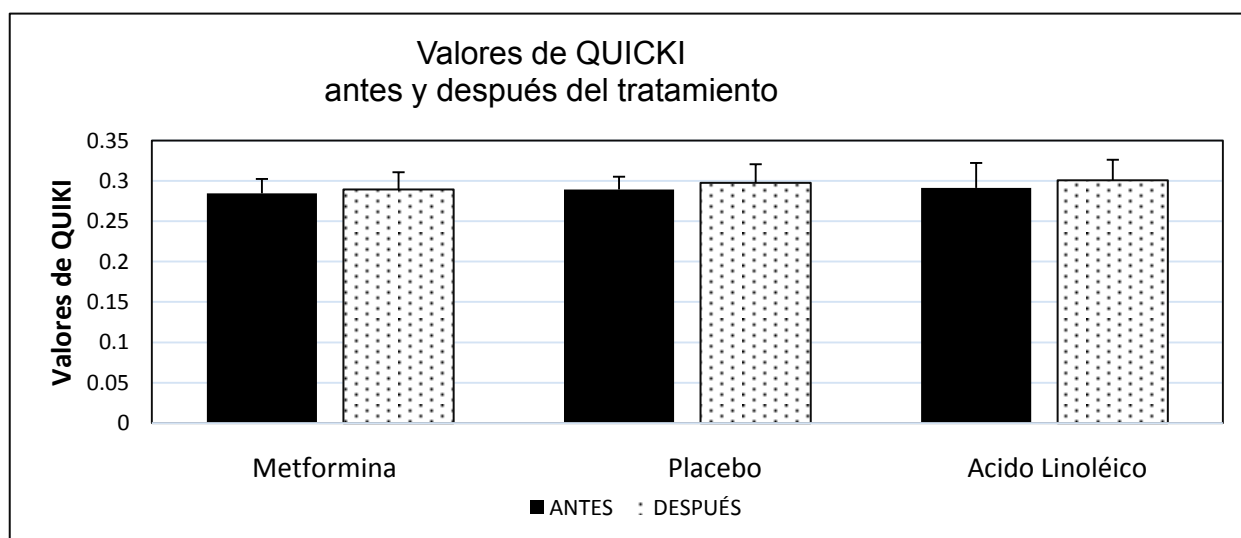
Si bien se evidenció una disminución de los niveles de insulinemia en todos los grupos, lo cual denota una mejoría en la sensibilidad a la insulina, esta no fue estadísticamente significativa al analizar los cambios antes y después del tratamiento en los grupos de pacientes tratados con Metformina y con Placebo. De igual manera, el valor del HOMA-IR disminuyó en forma significativa en el grupo tratado con Acido Linoléico ($p = 0.04$). Ver Gráfica 2

GRAFICA 2.



El índice de sensibilidad a la insulina QUICKI mostró mejoría en todos los grupos de tratamiento, sin embargo en ninguno se evidenció una diferencia estadísticamente significativa (Ver Gráfica 3)

GRAFICA 3.



En relación a las modificaciones en los niveles de Colesterol-HDL se concluyó una ventaja de metformina al incrementar significativamente los niveles. Este efecto persistió cuando se ejecutó un análisis de ANCOVA considerando el índice de masa corporal inicial, los niveles basales de Colesterol-HDL y el HOMA-IR basal como variables potencialmente confusoras. Solo el IMC y los niveles iniciales de Colesterol-HDL tuvieron una influencia significativa sobre el valor final de Colesterol-HDL, no así el HOMA-IR inicial. Este efecto benéfico de Metformina fue estadísticamente diferente solo cuando se comparó con el grupo tratado con Acido Linoléico ($p < 0.0001$) y no con el placebo ($p = 0.22$). En relación a los niveles de triglicéridos ninguna de las variables confusoras mencionadas anteriormente ni el valor inicial de triglicéridos modificaron los niveles de triglicéridos en el período de post intervención. El ANCOVA en este caso mostró que solo el tratamiento modificó los niveles finales de triglicéridos ($p = 0.31$).

La diferencia fue solo significativa al comparar metformina y acido linoléico, donde metformina disminuyó considerablemente los niveles de triglicéridos ($p = 0.01$). No hubo diferencias significativas al comparar cualquiera de los dos grupos de tratamiento con placebo.

En la tabla 3 se muestra el desenlace de las principales variables de interés posterior a 4 meses de intervención en los diferentes grupos de tratamiento mediante análisis de ANOVA. Al comparar el valor de sensibilidad a la insulina expresado como valor Rd se muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.035$, con un tamaño de efecto de 74%). El análisis Post hoc evidenció que el Acido Linoléico Conjugado ofrece un beneficio adicional al estándar de tratamiento que es el cambio a un estilo de vida saludable sobre el estado de sensibilidad a la insulina.

TABLA 3.

Variable	Metformina n=14 Media DE	Placebo n=17 Media DE	CLA n=17 Media DE	p
Peso (kg)	60.85±12.79	66.48±13.18	59.91±17.91	0.397
Talla (cm)	149.89±9.17	154.82±11.66	150.27±13.15	0.407
IMC	26.17±3.71	27.53±3.23	25.92±3.72	0.377
% apego dieta	92.04±23.02	83.78±24.05	83.09±14.69	0.435
Cap. Física	103.82±59.89	132.9±53.99	132.79±60.26	0.299
Valor Rd SI	5.57±1.76 ^{ab}	5.05±1.46 ^b	6.53±2.54 ^a	* 0.035
Insulina (μUI/mL)	40.5±23	32.3±16	31.6±20	0.42
HOMA-IR	8.53±5	6.83±3	6.68±4	0.45
QUICKI-IS	0.65±0.1	0.69±0.1	0.71±0.1	0.38
Col HDL	44.86±8.74 ^a	40.00±8.89 ^{ab}	36.87±5.43 ^b	* 0.031
Trig	113.14±27.18 ^b	134.12±83.96 ^{ab}	169.80±69.47 ^a	*0.027

Con la finalidad de evaluar el efecto de las principales variables potencialmente modificadoras del efecto sobre el valor Rd, se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA) donde se identificó que el estadio puberal de Tanner era la variable que modificaba en forma significativa la variable dependiente Rd ($p=0.029$, tamaño de efecto de 86%). Se evidenció un mayor grado de resistencia a la insulina conforme progresaron los estadios de Tanner, lo cual apoya un comportamiento biológico esperado. Sin embargo, el efecto del tratamiento fue similar en todos los estadios de Tanner. Otra variable modificadora fue el estado de resistencia a la insulina medido por HOMA-IR, con un tamaño de efecto de 49, aunque la p no fue significativa ($p=0.12$). El índice de masa corporal no mostró algún efecto modificador sobre el valor Rd ($p=0.55$, tamaño de efecto de 19%). El apego al plan de alimentación y al ejercicio no mostraron influencia sobre la variable Rd. El efecto del Acido Linoléico Conjugado sobre el valor Rd persistió cuando se hizo el ajuste para estas dos variables. Una vez ajustado el modelo para todas las variables modificadoras y confusoras, el Acido Linoléico muestra un tamaño de efecto sobre el valor Rd de 35%, lo cual es clínicamente relevante a pesar de que la p no fue significativa y que muy probablemente se debe al tamaño de la muestra. Este efecto sugiere que el Acido Linoléico

Conjugado provee un beneficio adyuvante a la intervención de cambios en el estilo de vida que mejora la sensibilidad a la insulina en los pacientes incluidos en este grupo de tratamiento. Los valores de p, η^2 y d de Cohen se muestran en la Tabla 4.

TABLA 4. Influencia de las principales variables modificadoras y confusoras sobre el valor Rd de sensibilidad a la insulina (ANCOVA)

Variables modificadoras y confusoras	Influencia de la variable sobre el valor Rd p	η^2 Tamaño del efecto del tratamiento sobre el valor Rd	Valor correspondiente a la D de Cohen para tamaño del efecto sobre el valor Rd
Tratamiento	0.46	0.03	35%
Estadio desarrollo puberal de Tanner	0.02	0.13	77%
IMC previo a la intervención	0.28	0.017	26%
HOMA-IR basal	0.87	0.0004	4%
Apego a la dieta	0.17	0.0004	4%
Apego al ejercicio	0.8	0.02	28%

En la tabla 5 se muestran los niveles pre y postratamiento de las diferentes citocinas inflamatorias y anti inflamatorias en el total de pacientes. Estos resultados reflejan una mejoría importante del estado inflamatorio, lo cual es un reflejo del efecto benéfico de la intervención

Tabla 5. Modificaciones de los niveles de citocinas y adipocitocinas en el total de pacientes antes y después de la intervención

Adipocitocina	Basales n=48 Media DE	Postratamiento n=48 Media DE	p
IL-1 (ng/mL)	0.70±0.95	0.44±0.67	0.02
IL-4 (pg/mL)	0.20±0.20	0.19±0.14	0.58
IL-6 (pg/mL)	6.54±8.36	3.05±3.65	<0.001
IL-10 (pg/mL)	13.08±17.64	3.11±3.07	<0.001
IL-12 (pg/mL)	17.98±21.70	4.72±7.4	<0.001
TNF-α (pg/mL)	6.21±4.79	5.95±3.26	0.63
MCP-1 (pg/mL)	97.29±54.57	78.58±52.45	0.008
Visfatina (pg/mL)	611.23±673	362.72±436	0.001
Resistina (pg/mL)	779.2±1147	2954±2120	0.001
Leptina (ng/mL)	12.98±9.56	7.74±6.28	0.001
Adipsina (ng/mL)	7.37±2.26	6.04±1.85	0.06
Adiponectina (ng/mL)	52.03±29.47	44.64±25.81	0.186

Tabla 6. Niveles de citocinas en los 3 grupos de intervención posterior a la intervención.

Tabla 6. Comparación de los niveles de citocinas por grupos de tratamiento posterior a la intervención

Interleucina	METFORMINA n=14	PLACEBO n=17	ACIDO LINOLEICO N=17	p
IL-1 (ng/mL)	0.45±0.63	0.34±0.65	0.51±0.73	0.76
IL-4 (pg/mL)	0.20±0.14	0.18±0.12	0.19±0.16	0.87
IL-6 (pg/mL)	3.31±3.6	2.38±3.5	3.52±3.9	0.63
IL-10 (pg/mL)	2.71±3.38	2.37±2.58	4.19±3.12	0.19
IL-12 (pg/mL)	5.85±7.93	3.72±6.41	4.79±8.16	0.73
TNF-α (pg/mL)	7.03±2.91	5.12±3.29	5.89±3.44	0.27

En la Tabla 7 se muestran los niveles de adipocitocinas en los diferentes grupos de tratamiento posterior a 4 meses de intervención.

Tabla 7. Comparación de los niveles de adipocitocinas por grupo de tratamiento posterior a la intervención.

Adipocitocina	METFORMINA n=14	PLACEBO n=17	ACIDO LINOLEICO N=17	p
MCP-1 (pg/mL)	79.04±48.2	71.71±53.2	85.07±57.1	0.76
Visfatina (pg/mL)	369.4±527	422.7±460	297.1±336	0.71
Resistina (pg/mL)	3271±2496	3327±1987	2319±1879	0.31
Leptina (ng/mL)	8.21±6.36	9.39±7.29	5.71±4.73	0.22
Adipsina (ng/mL)	7.19±2.54	5.70±1.21	5.5±1.40	0.046
Adiponectina (ng/mL)	55.07±30.19	45.52±21.87	36.22±24.18	0.18

DISCUSION

En el presente ensayo clínico controlado aleatorizado y doble ciego, logramos demostrar que el Acido Linoléico Conjugado mejoró la sensibilidad a la insulina medida por Pinza Euglucémica Hiperinsulinémica, con un tamaño de efecto de 49% adicional al obtenido por el programa de intervención de cambios en el estilo de vida, que continúa siendo el estándar de tratamiento en estos pacientes.

La obesidad ha surgido en la actualidad como una epidemia mundial y nuestra población mexicana se encuentra en el mayor riesgo al ser comparada con otros grupos raciales. Este hecho denota la necesidad imperiosa de investigar medidas preventivas y de tratamiento enfocadas en disminuir los riesgos y comorbilidades relacionados con la resistencia a la

insulina. La obesidad y el síndrome metabólico que se manifiestan en la edad pediátrica usualmente progresan a la edad adulta. La prevalencia de síndrome metabólico en la Clínica de Obesidad Infantil del Hospital General de México asciende a 35%, siendo los parámetros mayormente afectados la obesidad abdominal, la hipertrigliceridemia y los niveles bajos de Colesterol-HDL. Es importante hacer notar que la edad promedio de nuestra población es de 11 años. Morrison y cols (1) publicaron en un estudio de cohorte que el hecho de ser diagnosticado con síndrome metabólico en la edad pediátrica confiere un OR de 11 de desarrollar diabetes tipo 2 en la etapa de la adultez temprana. La resistencia a la insulina es el primer evento fisiopatológico en el desarrollo de diabetes tipo 2 y ha sido demostrado por muchos investigadores que la alteración temprana de los índices subrogados de resistencia a la insulina, como la insulinemia de ayuno, el HOMA-IR, el índice de Matsuda y de QUICKI en niños y adolescentes son predictores importantes de diabetes en la vida futura (33). Explorar intervenciones farmacológicas enfocadas en optimizar la resistencia a la insulina, resulta imperante. La Metformina (1,1-Dimetilbiguanida) es el fármaco mayormente utilizado en el tratamiento de la diabetes tipo 2 y ha demostrado a través de las décadas su efecto benéfico de mejoría de los estados de resistencia a la insulina en niños, adultos y adolescentes. La gran mayoría de los estudios en los que se ha utilizado Metformina en edad pediátrica han enfocado sus principales variables de desenlace en parámetros antropométricos como peso, Índice de Masa Corporal y composición corporal, sin embargo algunos estudios más recientes han enfatizado la mejoría que induce en parámetros de resistencia a la insulina. En un meta-análisis realizado por Brufani y cols. (19) donde se incluyen 11 ensayos clínicos sobre el efecto de la metformina en el manejo de la obesidad pediátrica, se reporta un efecto benéfico de la misma comparado con placebo o con la sola intervención de cambios en el estilo de vida en relación a parámetros antropométricos. Resultados controversiales han sido encontrados al comparar el efecto sobre índices subrogados de resistencia a la insulina y ninguna diferencia ha sido significativa cuando la resistencia a la insulina ha sido evaluada por curva de tolerancia a la glucosa intravenosa con muestras frecuentes o utilizando técnica de pinza hiperglucémica. Wiegand y cols (34). Demostraron en un ensayo aleatorizado un efecto benéfico de Metformina sobre el índice de sensibilidad a la insulina Matsuda en adolescentes obesos resistente a insulina, sin evidenciar mejoría significativamente diferente en parámetros antropométricos y de composición corporal (35). El DPPRG (Diabetes Prevention, Program Research Group) publicó recientemente resultados de un estudio de intervención a largo plazo realizado entre 1996-2001 y con seguimiento hasta el 2014, en el cual se comparó el efecto de metformina

y placebo en sujetos con alto riesgo de desarrollo de diabetes inmersos en un programa de intervención de cambios en el estilo de vida (36). En un período de seguimiento de 15 años la incidencia de diabetes disminuyó en un 27% en el grupo de intervención de hábitos saludables (OR 0.72, 95% CI 0.65-0.8; $p < 0.0001$) y 18% en el grupo tratado con metformina (OR 0.82, 95% CI 0.72-0.93; $p = 0.001$). Parece evidente por lo tanto, que el estado de resistencia a la insulina mejoró con ambas intervenciones. Nuestro grupo de estudio decidió evaluar el efecto de metformina dados los beneficios que se han sugerido en adolescentes y niños con estados de riesgo tales como la prediabetes, el síndrome de ovarios poliquísticos, el retardo en el crecimiento intrauterino y dado que su uso en población pediátrica con obesidad se ha extendido de manera masiva. Nuestros propios resultados evidencian una mejoría significativa en todos los parámetros antropométricos de peso, índice de masa corporal, circunferencia de cintura y relación cintura-talla, sin embargo sin diferencia entre los 3 grupos de tratamiento. Los índices subrogados insulinemia de ayuno, HOMA-IR y QUICKI mejoraron substancialmente en todos los grupos, lo cual está muy probablemente en relación a disminución en la adiposidad, sobretodo abdominal, así como al apego al plan de alimentación y a la adquisición de capacidad física que mejoró en forma significativa en todos los grupos. El efecto sobre el valor Rd de sensibilidad a la insulina medida por pinza euglucémica-hiperinsulinémica no mostró diferencias al comparar el grupo tratado con metformina en comparación con el grupo placebo. Sin embargo, fue evidente que la mejoría de los otros parámetros antropométricos y metabólicos como Índice de masa corporal, circunferencia de cintura, Colesterol-HDL y triglicéridos experimentaron modificaciones con un mayor tamaño de efecto en el grupo de metformina comparado con placebo (72%, 65%, 37% y 55% respectivamente y todos con un efecto clínicamente relevante). Por otro lado, el incremento en los niveles de colesterol-HDL y la disminución en los niveles de triglicéridos fue un efecto muy relevante de metformina, sin embargo éste solo fue evidente al hacer la comparación con Acido Linoléico Conjugado. Parece evidente que el efecto sobre la dislipidemia mayormente observada en el paciente con obesidad se puede corregir potencialmente solo con el cambio en el estilo de vida, sin embargo es posible que incrementando el poder del estudio mediante el tamaño de muestra, pudiera ser estadísticamente significativa la diferencia entre metformina y placebo. Estos beneficios de la metformina han sido previamente publicados en numerosos estudios.

El Acido Linoléico Conjugado es un grupo de isómeros del Acido Linoléico que se encuentra en forma abundante en el tejido graso de rumiantes. Productos animales derivados de carnes, lácteos y grasa de reses y corderos contienen grandes cantidades de estos

isómeros. Los que se encuentran con mayor frecuencia son el *cis-9*, *trans-11* y el *trans-10*, *cis-12*. Desde el año 2000 diversos estudios han sugerido un efecto benéfico de estos isómeros sobre la composición corporal, la respuesta inmune, la inflamación colónica mediada por bacterias, así como mejoría en la sensibilidad a la insulina y el perfil lipídico en humanos pero sobretodo en modelos animales (29,37-39). La sofisticación actual en el diseño de los estudios de investigación, particularmente en humanos, ha permitido que esta evidencia haya sido plasmada como controversial, sin embargo la evidencia parecería sugerir un efecto benéfico del Acido Linoléico Conjugado sobre la disminución en el depósito de grasa, sobre la diferenciación adipocitaria, la regulación del metabolismo lipídico y de los procesos apoptóticos en adipocitos. Asimismo, se ha sugerido que algunos isómeros en forma individual tienen efectos diferentes a las mezclas. Estudios en animales han demostrado que el isómero *trans-10*, *cis-12* induce resistencia a la insulina; este hallazgo fue evidenciado en humanos por Riserus y cols (40) al realizar un ensayo clínico en adultos varones con síndrome metabólico que fueron tratados con una mezcla o con el isómero *trans-10*, *cis-12* en comparación con un grupo placebo durante 3 meses. Los sujetos tratados con el isómero mostraron disminución en la sensibilidad a la insulina medida por pinza Euglucémica-Hiperinsulinémica en comparación con los otros dos grupos. Otros efectos deletéreos del isómero fueron incremento en los niveles de insulina y glucemia y disminución en los niveles de Colesterol-HDL. No observaron diferencias al comparar los desenlaces entre el grupo tratado con la mezcla y el grupo control, particularmente en relación a cambios en el metabolismo de la glucosa o sensibilidad a la insulina. En nuestro estudio ha sido evidente que existe una mejoría clínicamente relevante aunque no estadísticamente significativa en la sensibilidad a la insulina medida por pinza euglucémica-hiperinsulinémica, que correlaciona además con la disminución significativa en los niveles de insulinemia en el grupo tratado con Acido Linoléico. A pesar de que el poder estadístico del estudio disminuyó considerablemente al no haber completado el total de la muestra, el efecto del tratamiento es evidente. Es muy factible que al incrementar el tamaño de muestra la diferencia pudiera tornarse significativa, sin embargo es probable que el tamaño del efecto ya encontrado no se modificaría sustancialmente. Parece evidente que las mezclas de isómeros podrían contrarrestar los efectos negativos de algunos de ellos. El efecto adicionado de las mezclas parece brindar beneficios sobre los parámetros antropométricos y metabólicos.

Se ha propuesto que un efecto del isómero *trans-10*, *cis-12* radica en la capacidad que tiene de inhibir la captación de glucosa, disminuyendo la expresión de transportadores de glucosa

GLUT-4 y de ácidos grasos hacia el interior de los adipocitos, lo cual podría implicar un riesgo in vivo de desarrollar hiperglucemia e hiperlipidemia (41,42). Es factible que pueda existir disminución en la expresión de PPAR- γ a nivel de los adipocitos (43), y que pudiera estar relacionado con el desarrollo de resistencia a la insulina. Sin embargo, poco se ha estudiado este efecto a nivel muscular que es el órgano de captación de glucosa por excelencia. Cabe señalar que la gran mayoría de los estudios realizados en animales de experimentación han utilizado dosis significativamente más altas de las que habitualmente se utilizan en humanos.

Algunos meta-análisis publicados recientemente han evidenciado que los efectos deletéreos asociados al consumo de suplementos de Acido Linoléico Conjugado son escasos y que los beneficios aunque discretos parecen ser más relevantes. Onakpoya y cols (44) analizaron los resultados de 7 ensayos clínicos en los que se administraron mezclas de los isómeros, evidenciando que existe una diferencia estadísticamente significativa aunque discreta en la pérdida de peso en comparación con placebo (-0.7kg; 95% CI -1.09, -0.32), así como en la pérdida de grasa corporal (-1.33kg; 95% CI -1.79,-0.86; $I^2=54\%$) que favoreció a los grupos tratados con Acido Linoléico Conjugado. En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en el peso o IMC en comparación con placebo; el tamaño del efecto para la mayor pérdida de IMC fue para el grupo de pacientes tratados con Metformina (72% en comparación con placebo que mostró 43% y el grupo tratado con Acido Linoléico Conjugado 41%); de igual manera, el mayor tamaño de efecto de disminución en circunferencia de cintura lo observamos en el grupo tratado con Metformina, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. No encontramos en general disminución en el porcentaje total de grasa medido por impedancia bioeléctrica en ninguno de los 3 grupos. Los niveles séricos de Leptina (datos no mostrados) disminuyeron significativamente en los tres grupos de tratamiento ($p<0.014$). Los niveles de Adiponectina solo incrementaron en el grupo de pacientes tratados con metformina, lo cual podría explicar el tamaño de efecto del incremento de los niveles de Colesterol-HDL, sin embargo no fue estadísticamente diferente. Se encontraron diferencias marginales al comparar los niveles de adiponectina en el período post tratamiento ($p=0.069$) los cuales incrementaron más en el grupo de Metformina comparado con Acido Linoléico. En el caso de la leptina se encontró también una diferencia marginal con niveles de leptina ligeramente más bajos en el grupo tratado con Acido Linoléico Conjugado en comparación con el grupo placebo ($p=0.07$).

Racine publicó en 2010 un estudio en población pediátrica con sobrepeso y obesidad en el cual se incluyeron un total de 53 pacientes entre 6 y 10 años que fueron en forma aleatoria tratados con Acido Linoléico Conjugado (3g/día de una mezcla de *c9,t11* y *t10,c12* en proporción 50:50) o Placebo por un período de 6 meses en promedio (29). Se asignó un plan de alimentación estructurado y las visitas se programaron cada 3 meses; se consideró que un 75% de apego al consumo del suplemento era adecuado. Los pacientes no acudían de manera formal a un programa de intervención de cambios en el estilo de vida. Se observó que el grupo de pacientes tratados con Acido Linoléico Conjugado incrementaron menos el IMC que el grupo placebo y disminuyeron ligeramente la cantidad de grasa corporal total. No se estudiaron parámetros de resistencia a la insulina. En relación a otros marcadores metabólicos en sangre, este estudio evidenció disminución de los niveles de Colesterol-HDL en comparación con el grupo placebo, sin embargo la diferencia fue discreta. En nuestro estudio observamos una mejoría significativa ($p=0.045$) en el grupo placebo de los niveles de Colesterol-HDL entre el inicio y el final de la intervención. Esta diferencia no fue evidente en el grupo de Acido Linoleico (la tendencia fue más bien a disminuir, pero no en forma estadísticamente significativa). Considero que en nuestro estudio el programa de intervención estructurado en forma mensual en que fueron incluidos los pacientes tuvo un efecto significativo sobre estos parámetros metabólicos, por lo que los efectos visibles relacionados al uso de medicamentos parecen ser reales. Para lograr evidenciar una diferencia significativa entre los niveles de Colesterol-HDL entre el grupo de Acido Linoleico y placebo sería tal vez necesario incrementar el tamaño de muestra.

CONCLUSIONES

- ✓ Existen diferencias significativas en el Valor Rd que se demuestra por una mayor sensibilidad a la insulina medida por Pinza Euglucémica Hiperinsulinémica en el grupo tratado con Acido Linoléico Conjugado (74%), cuando no se considera el ajuste para las variables potencialmente modificadoras o confusoras.
- ✓ La principal variable modificadora del efecto sobre el valor Rd de sensibilidad a la insulina en este estudio fue el estadio puberal de Tanner. Al ajustar el modelo para ésta y otras variables potencialmente modificadoras y confusoras, el tamaño del efecto adicional al cambio en el estilo de vida se hace evidente en el grupo de pacientes tratados con Acido Linoléico Conjugado con un tamaño de efecto de 35%, que es clínicamente relevante, aunque con una p no significativa. Este tamaño de efecto justificaría continuar con la línea de investigación.

- ✓ Existe un efecto positivo global de la Intervención de Cambios en el Estilo de Vida que es estadísticamente significativo sobre el peso, talla, Índice de Masa Corporal, circunferencia de cintura, capacidad física y estado proinflamatorio caracterizado por disminución significativa en los niveles de IL-1, IL-6, IL-12, MCP-1, visfatina, adiposina y leptina que fue evidente en todos los grupos de tratamiento.
- ✓ La leptina disminuyó de manera significativa en todos los grupos con tamaños de efecto que oscilaron entre 53-85%. La mayor disminución se observó en el grupo tratado con Acido Linoléico Conjugado.
- ✓ Se hizo evidente un efecto subóptimo del Acido Linoléico Conjugado sobre los valores de Triglicéridos y Colesterol HDL que fué independiente del estadio de Tanner y del valor inicial de triglicéridos y de HDL, así como del índice de masa corporal inicial y el estado basal de resistencia a la insulina medido por HOMA-IR.. Sin embargo, las diferencias fueron evidentes al comparar este efecto con el de la metformina y no cuando se comparó con placebo. Este hecho apoya más un efecto positivo de la metformina sobre los niveles de estos lípidos, que un efecto deletéreo real del Acido Linoléico Conjugado. Para hacer conclusiones a este respecto sería indispensable aumentar el tamaño de muestra con la finalidad de incrementar el poder de la prueba y evidenciar diferencias significativas entre el grupo placebo y el de Acido Linoléico Conjugado. En relación a la disminución en los niveles de Col-HDL que se hizo aparente en el grupo tratado con Acido Linoléico Conjugado sería indispensable de igual manera incrementar el tamaño de muestra, sin embargo llama la atención que este hallazgo ha sido reportado por otros autores en anteriores publicaciones. La metformina mostró una tendencia a incrementar los niveles de Col-HDL y disminuir los de triglicéridos. Estas diferencias no fueron significativas cuando se comparó con el grupo control.
- ✓ Cabría la posibilidad de diseñar un nuevo ensayo clínico donde pudiera utilizarse la terapia combinada (CLA y metformina) comparada con el grupo de intervención de cambios en el estilo de vida y evaluar sus efectos sobre la dislipidemia y la sensibilidad a la insulina.
- ✓ No se evidenciaron efectos adversos graves.

REFERENCIAS

- 1.- Morrison, J.A., Friedman, L.A., Wang, P. and Glueck, C.J. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J Pediatr* 2008;152, 201-6.
- 2.- Sell H, Eckel J. Monocyte chemotactic protein-1 and its role in insulin resistance. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18:258-262.
- 3.- Dahlman I, Kaaman M, Olsson T, et al. A unique role of monocyte chemoattractant protein 1 among chemokines in adipose tissue of obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5834-5840
- 4.- Shapiro H, Lutaty A, Ariel A. Macrophages, meta-inflammation, and immunometabolism *The Scientific World Journal* 2011;11:2509-29.
- 5.- Zeyda M, Stulnig TM. Adipose tissue macrophages. *Immunology letters* 2007;112:61-7
- 6.- Eagle AR, Chawla A. In obesity and weight loss, all roads lead to the mighty macrophage. *J Clin Invest* 2010;120:3437-40
- 7.- Cheung AT, Ree D, Kolls JK, Fuselier J, Coy DH, et al. (1998) An in vivo model for elucidation of the mechanism of tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced insulin resistance: evidence for differential regulation of insulin signaling by TNF- α . *Endocrinology* 139: 4928–4935.
- 8.- Sell H, Eckel J (2007) Monocyte chemotactic protein-1 and its role in insulin resistance. *Curr Opin Lipidol* 18: 258–262.
- 9.- Sell H, Eckel J (2009) Chemotactic cytokines, obesity and type 2 diabetes: in vivo and in vitro evidence for a possible causal correlation? *Proc Nutr Soc* 68: 378–384.
- 10.- Fernandez-Veledo S, Nieto-Vazquez I, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, et al., Molecular mechanisms involved in obesity-associated insulin resistance: therapeutic approach. *Arch Physiol Biochem* 2009, 4, 115 227-39
- 11.- Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, and Bastard JP, *Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity*. *Diabetes & Metabolism* 2008, 1, 34 2-11.
- 12.- Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, and Broedl UC, *Adipokines and insulin resistance*. *Mol Med* 2008, 11-12, 14 741-51.
- 13.- Jones, K.L. Why test the children?: Understanding insulin resistance, its complications, and its progression. *Diabetes Care* 2002; 25, 2350-1.
- 14.- Barquera, S., Campirano, F., Bonvecchio, A., Hernandez-Barrera, L., Rivera, J.A. and Popkin, B.M. Caloric beverage consumption patterns in Mexican children. *Nutr J* 2010; 9, 47.
- 15.- Peirson L, Fitzpatrick-Lewis MSW, Morrison K, Warren R, Usman M, Raina P. Treatment of overweight and obesity in children and youth: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ Open* 2015. DOI:10.9778/cmajo.20140047
- 16.- Norman, R.J., Davies, M.J., Lord, J. and Moran, L.J. The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13, 251-7.
- 17.- Quinn, S.M., Baur, L.A., Garnett, S.P. and Cowell, C.T. (2010) Treatment of clinical insulin resistance in children: a systematic review. *Obes Rev* 11, 722-30.
- 18.- Freemark, M. (2007) Liver dysfunction in paediatric obesity: a randomized, controlled trial of metformin. *Acta Paediatr* 96, 1326-32.

- (19) Brufani C, Crinó A, Fintini D, Patera PI, Cappa M, Manco M. Systematic Review of Metformin use in Obese Nondiabetic Children and adolescents. *Horm Res Paediatr* 2013;80:78-85.
- (20) Yanovski JA, Krakoff J, Salaita CG, McDuffie JR, Kozlosky M, Sebring NG, Reynolds JC, Brady SM, Calis KA. Effects of Metformin on body weight and body composition in obese insulin-resistant children. A randomized clinical trial. *Diabetes* 2011;60:477-85
- 21.- Lambert, E.V., Goedecke, J.H., Bluett, K., Heggie, K., Claassen, A., Rae, D.E., West, S., Dugas, J., Dugas, L., Meltzer, S., Charlton, K. and Mohede, I. Conjugated linoleic acid versus high-oleic acid sunflower oil: effects on energy metabolism, glucose tolerance, blood lipids, appetite and body composition in regularly exercising individuals. *Br J Nutr* 2007; 97, 1001-11.
- 22.- Tholstrup, T., Raff, M., Straarup, E.M., Lund, P., Basu, S. and Bruun, J.M. An oil mixture with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid increases markers of inflammation and in vivo lipid peroxidation compared with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in postmenopausal women. *J Nutr* 2008; 138, 1445-51.
- 23.- Medina, E.A., Horn, W.F., Keim, N.L., Havel, P.J., Benito, P., Kelley, D.S., Nelson, G.J. and Erickson, K.L. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids* 2000; 35, 783-8.
- 24.- Watras, A.C., Buchholz, A.C., Close, R.N., Zhang, Z. and Schoeller, D.A. The role of conjugated linoleic acid in reducing body fat and preventing holiday weight gain. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31, 481-7.
- 25.- Nazare, J.A., de la Perriere, A.B., Bonnet, F., Desage, M., Peyrat, J., Maitrepierre, C., Louche-Pelissier, C., Bruzeau, J., Goudable, J., Lassel, T.,
- 26.- Vidal, H. and Laville, M. Daily intake of conjugated linoleic acid-enriched yoghurts: effects on energy metabolism and adipose tissue gene expression in healthy subjects. *Br J Nutr* 2007; 97, 273-80.
- 27.- Kleinman, R.E. American Academy of Pediatrics, Pediatric Obesity, in *Pediatric Nutrition Handbook*. American Academy of Pediatrics. E.U. 2004 .
- 28.- Vásquez-Garibay, E. Guía clínica para el diagnóstico, tratamiento y prevención del sobrepeso y la obesidad en pediatría. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2007; 45, 173-86.
- 29.- Racine NM, Watras AC, Carrel AL, Allen DB, McVean JJ, Clark RR, O'Brien AR, O'Shea M, Scott CE, Schoeller DA. Effects of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. *Am J Clin Nutr* 2011;91:1157-64
- 30.- Daniels, S.R., Arnett, D.K., Eckel, R.H., Gidding, S.S., Hayman, L.L., Kumanyika, S., Robinson, T.N., Scott, B.J., Jeor, S.S. and Williams, C.L. AHA Scientific Statement. Overweight in Children and Adolescents Pathophysiology, Consequences, Prevention, and Treatment. *Circulation* 2005; 111, 1999-2010.
- 31.- Kleinman, R.E. American Academy of Pediatrics, Pediatric Obesity, in *Pediatric Nutrition Handbook*. American Academy of Pediatrics. E.U. 2004 .
- 32.- Vásquez-Garibay, E. Guía clínica para el diagnóstico, tratamiento y prevención del sobrepeso y la obesidad en pediatría. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2007; 45, 173-86.
- 33.- Nguyen QM, Srinivasan SR, Xu JH, Chen W & Berenson GS. Changes in risk variables of metabolic syndrome since childhood in pre-diabetic and type 2 diabetic subjects: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes Care* 2008;31;2044-9.

- 34.- Wiegand S, l'Allemand D, Hubel H, Krude H, Burmann M, Martus P, Gruters A, Holl RW: Metformin and placebo therapy both improve weight management and fasting insulin in obese insulin resistant adolescents: a prospective, placebo-controlled, randomized study. Eur J Endocrinol 2010; 163: 585–92
- 35.- Matsuda M & DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. Diabetes Care 1999 22 1462–1470
- 36.- Diabetes Prevention Program Research Group. Long-term effects of lifestyle intervention or metformin on diabetes development and microvascular complications over 15-year follow-up: The Diabetes Prevention Program Outcomes Study. Lancet Diabetes Endocrinol 2015 Sept 11th. doi:10.1016/S2213-8587(15)00291-0
- 37.- Hontecillas R, Wannemeulher MJ, Zimmerman DR, Hutto DL, Wilson JH, et al. Nutritional regulation of porcine bacterial-induced colitis by conjugated linoleic acid. J Nutr 2002;132:2019–27.
- 38.- Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, et al. Activation of PPAR gamma and delta by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2004;127:777–91.
- 39.- Song H-J, Grant I, Rotondo D, Mohede I, Sattar N, Heys SD, Wahle KWJ. Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. European J Clin Nutr 2005;59:508-17.
- 40.- Risérus U, Arner P, Brismar K, Vessby B. Treatment with dietary *trans*-10,*cis*-12 Conjugated Linoleic Acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with metabolic syndrome. Diabetes Care 2002;25:1516-21.
- 41.- Clement, L., Poirier, H., Niot, I., Bocher, V., Guerre-Millo, M., Krief, S., Staels, B. & Besnard, P. (2002) Dietary *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. J. Lipid Res. 43:1400–1409.
- 42.- Tsuboyama-Kasaoka, N., Takahashi, M., Tanemura, K., Kim, H. J., Tange, T., Okuyama, H., Kasai, M., Ikemoto, S. & Ezaki, O. (2000) Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. Diabetes 49: 1534–1542.
- 43.- Brown JM, McIntosh MK. Conjugated Linoleic Acid in Humans: Regulation of adiposity and Insulin Sensitivity. J Nutr 2003;133:3046-46.
- 44.- Onakpoya IJ, Posadzki PP, Watson LK, Davies LA. The efficacy of long-term conjugated linoleic acid (CLA) supplementation on body composition in overweight and obese individuals: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. Eur J Nutr 2012;51:127-34

