



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN Y TIPO DE
PROTEÍNA DIETARIA SOBRE LA LIPOGÉNESIS
SISTÉMICA E INTRARRENAL EN UN MODELO DE
OBESIDAD GENÉTICA**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTAN:

**GARCÍA SANTAOLALLA MARÍA DE LOURDES
MONTES DE OCA SERRANO MARTHA JUDITH**

MÉXICO D. F.





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

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 DESARROLLÓ EL TEMA:

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”
(Departamento de Fisiología de la Nutrición y Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral) y Facultad de Química, UNAM.

Asesora del tema:

Dra. Claudia Teresa Tovar Palacio

Supervisora del tema:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Sustentantes:

García Santaolalla María de Lourdes

Montes de Oca Serrano Martha Judith

Agradecimientos

A la Dra. Claudia Tovar Palacio por dejarme participar en este proyecto tan importante, por transmitirme sus conocimientos y sobre todo por su paciencia.

A la Dra. Carmen Durán de Bazúa por apoyarnos con su experiencia y dedicar su tiempo para lograr que esta tesis se llevara a cabo.

Al Dr. Armando Tovar Palacio y a la Dra. Nimbe Torres por prestarnos las instalaciones del Depto de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de ella y ser una digna egresada y sobre todo a la Facultad de Química junto con todos los profesores que forman parte de ella por dejarme crecer como profesionista y obsequiarme las bases para mi vida profesional.

Dedicatorias

Mi tesis la dedico principalmente a mi Mamá Lourdes Santaolalla, por todo su apoyo incondicional, no solo en este último año de tesis sino en toda la carrera y en mi vida. Gracias mami por tu esfuerzo y amor, sin tí no podría lograrlo de igual forma y sobre todo gracias por creer en mí y estar siempre a mi lado.

A mis hermanos Mariano y Chú, los quiero mucho.

A mi bisabuela Romana, por su gran apoyo y amor que manifestó siempre a mí y a mi familia y a mí abue Soledad por apoyarme siempre a pesar de los momentos difíciles.

A Mauricio Gutierrez Sánchez, gracias mi pequeñito por estos meses que han sido pocos pero suficientes para conocerte y saber que eres una gran persona, gracias por compartir momentos hermosos y se que aun faltan muchos más, te amo y no olvides que eres muy importante para mí.

A mis amigas Clau, Lore y Adriana que desde la prepa nos hemos apoyado y compartido risas, a Frida, Ruth, Gaby y Martha por formar un gran equipo en la Universidad y apoyarnos para salir adelante en los momentos difíciles y no tan difíciles y llegar a la meta.

A todos los que directa e indirectamente hicieron posible que este proyecto se hiciera realidad.

María de Lourdes García Santaolalla

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme el tesoro más preciado, la vida; porque en el encuentro siempre la fuerza necesaria para seguir adelante y por guiarme en el camino que debo seguir para cumplir cada una de mis metas.

A la UNAM y la Facultad de Química por brindarme la maravillosa oportunidad de formarme como profesionista y ayudarme a forjar la base de un futuro.

Agradezco la colaboración y asesoría en la elaboración de esta tesis a mis asesoras:

A la Dra. Claudia Tovar Palacio y a la Dra. Carmen Durán de Bazúa, por darme la oportunidad de colaborar con ellas en este gran proyecto; gracias por su paciencia, por sus comentarios constructivos y siempre certeros y sobre todo por su invaluable asesoría.

Al Dr. Armando Tovar Palacio y a la Dra. Nimbe Torres, por haberme dejado ser parte de su equipo de trabajo.

DEDICATORIAS

En primer lugar quiero dedicar esta meta a mis papás Eduardo y Lucia, por darme la vida, a mi mamá por apoyarme y contar contigo en todo momento, por tu amor, cariño y paciencia.

A mis hermanos Lucia y Eduardo por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su cariño.

A mis amigos inseparables en esta etapa de mi vida, Ruth (el burrito), Frida (Soch), Lulú (dudu), Ivan (stinky), José Luis y a Gaby (ardillita) por cada sonrisa, por cada experiencia inolvidable, por darme la oportunidad de conocerlos y porque siempre los llevare en mi corazón.

A toda mi familia, especialmente a mi abuelita Manita, a mi tía Lulú y a mi tío Félix y a todas aquellas personas que quiero y tengo el privilegio de convivir, gracias a todos por su cariño y apoyo.

Martha Judith Montes de Oca Serrano

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	1
CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA	3
1.1. INTRODUCCIÓN	3
1.2. OBJETIVOS	5
1.2.1. OBJETIVO GENERAL	5
1.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES	5
1.3. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. SÍNDROME METABÓLICO	6
2.1.1. OBESIDAD	7
2.1.1.1. Definición de obesidad	7
2.1.1.2. Epidemiología de la obesidad	8
2.1.1.3. Obesidad y lípidos	8
2.1.2. LIPOTOXICIDAD RENAL	9
2.1.2.1. Lipoproteínas	11
2.1.2.2. Composición de las lipoproteínas	12
2.1.2.3. Metabolismo de las lipoproteínas	13
2.1.3. RESISTENCIA A LA INSULINA	15
2.1.3.1. Insulina	15
2.1.3.2. Acción de la insulina en el metabolismo de hidratos de carbono	15
2.1.3.3. Acción de la insulina en el metabolismo de lípidos	16
2.1.3.4. Resistencia a la insulina	17
2.1.4. DIABETES MELLITUS	17
2.1.5.- HIPERTENSIÓN ARTERIAL	18
2.2. RIÑÓN	18
2.2.1. ANATOMÍA DEL RIÑÓN	18
2.2.1.1. Anatomía macroscópica	19
2.2.1.2. Anatomía microscópica	20
2.2.2. FUNCIÓN RENAL	21
2.2.3. INSUFICIENCIA RENAL	24
2.2.4. NEFROPATÍA DIABÉTICA	24
2.3. PROTEÍNA DE ORIGEN VEGETAL (SOYA)	27
2.3.1. COMPOSICIÓN DE LA SOYA	28
2.3.2. PROTEÍNA DE SOYA EN LA SALUD	30
2.3.3. EFECTO DE LA SOYA EN LOS LÍPIDOS	31
2.3.4. LA SOYA EN LAS ENFERMEDADES RENALES	32
2.4. PROTEÍNA DE ORIGEN ANIMAL (CASEÍNA)	33
2.5. MODELO ANIMAL (RATA ZUCKER ^{fa/fa})	35
2.5.1. LEPTINA	36
2.5.2. RECEPTOR DE LEPTINA	38

CÁPITULO 3. DISEÑO EXPERIMENTAL	39
3.1. DIAGRAMA DE BLOQUES	40
3.2. ANIMALES	41
3.3. ALIMENTACIÓN Y DIETAS	41
3.4. MÉTODOS	44
3.4.1. MEDICIONES DE PESO E INGESTIÓN DE ALIMENTO	44
3.4.2. RECOLECCIÓN DE ORINA	44
3.4.3. OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y TEJIDOS	44
3.4.4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS	44
3.4.5. DETERMINACIÓN DE COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS EN TEJIDO	45
3.4.6. ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN RENAL	45
3.5. FUNDAMENTO DE LAS PRUEBAS	45
3.5.1. CREATININA	45
3.5.2. NITRÓGENO URÉICO EN SANGRE (BUN)	47
3.5.3. ÁCIDO ÚRICO	49
3.5.4. PROTEÍNAS TOTALES	52
3.5.5. COLESTEROL	54
3.5.6. TRIGLICÉRIDOS	56
3.5.7. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS EN RIÑÓN	59
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	59
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	60
4.1. ANÁLISIS DE ORINA BASAL	60
4.2. CONSUMO DE ALIMENTO Y CALORÍAS INGERIDAS	60
4.3. GANANCIA DE "PESO"	65
4.4. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS EN SUERO	67
4.4.1. CONCENTRACION DE TRIGLICÉRIDOS EN SUERO	67
4.4.2. CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL EN SUERO	69
4.5. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES EN TEJIDO RENAL	70
4.5.1. COLESTEROL EN TEJIDO RENAL	70
4.5.2. TRIGLICÉRIDOS EN TEJIDO RENAL	72
4.6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO Y ORINA PARA EVALUAR FUNCIÓN RENAL	73
4.6.1. CREATININA EN SUERO	73
4.6.2. CREATININA EN ORINA	74
4.6.3. NITRÓGENO ÚREICO EN SANGRE	75
4.6.4. ÁCIDO URICO EN SUERO	76
4.6.5. PROTEÍNAS TOTALES EN ORINA	77
4.7. PORCENTAJE DE "PESO" DEL RIÑÓN CON RESPECTO AL PESO TOTAL DE LA RATA	79
4.8. ANÁLISIS DE RESULTADOS	80
CÁPITULO 5. CONCLUSIONES Y ESTUDIOS A FUTURO	78
5.1. CONCLUSIONES	84
5.2. ESTUDIOS A FUTURO	84
GLOSARIO	86
ANEXOS	91

A. APÉNDICE	93
A1. DATOS	93
A.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	99
BIBLIOGRAFÍA	119

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1. Clasificación de la obesidad y el sobrepeso mediante el Índice de Masa Corporal IMC (OMS)	7
Tabla 2.2. Aminoácidos esenciales en proteínas comerciales de soya (gramos de aminoácidos por 16 g de nitrógeno)	29
Tabla 2.3. Componentes del frijol de soya en base seca	30
Tabla 2.4. Distribución de las proteínas de la leche	34
Tabla 3.1. Dietas administradas a las ratas Zucker <i>fa/fa</i>	41
Tabla 3.2. Mezcla de nutrimentos inorgánicos (g/kg)	42
Tabla 3.3. Mezcla de vitaminas (g/kg)	42
Tabla 3.4. Formulación de las dietas	43
Tabla 4.1. Determinación de creatinina en orina de ratas Zucker <i>fa/fa</i> previo al tratamiento dietario	60
Tabla 4.2. Consumo de alimento de los tratamientos dietarios en ratas Zucker <i>fa/fa</i>	61
Tabla 4.3. Calorías ingeridas con los tratamientos dietarios en ratas Zucker <i>fa/fa</i>	62
Tabla 4.4. “Peso” final de cada grupo después del tratamiento dietario en ratas Zucker <i>fa/fa</i>	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Mecanismos relacionados con el daño renal en pacientes con obesidad y síndrome metabólico	6
Figura 2.2. Lipotoxicidad y menor secreción insulínica	10
Figura 2.3. Corte sagital del riñón	19
Figura 2.4. Nefrona aislada y elongada	20
Figura 2.5. Funciones principales de cada porción de la nefrona	23
Figura 2.6. Planta del frijol de soya	28
Figura 2.7. Rata Zucker <i>fa/fa</i> , modelo de obesidad con un daño en el receptor de la leptina	35
Figura 2.8. Balance energético. Papel de la leptina como señal aferente	37
Figura 3.1. Diseño experimental	39
Figura 3.2. Diagrama de bloques de la experimentación realizada	40

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Grafica 1. Consumo de alimento de las ratas Zucker <i>fa/fa</i>	63
Grafica 2. Calorías ingeridas de las ratas Zucker <i>fa/fa</i>	64
Grafica 3. Ganancia de “peso” de las ratas Zucker <i>fa/fa</i>	66
Grafica 4. Concentración de triglicéridos en suero de ratas Zucker <i>fa/fa</i>	68
Grafica 5. Concentración de colesterol en suero de ratas Zucker <i>fa/fa</i>	70
Grafica 6. Concentración de colesterol en riñón de ratas Zucker <i>fa/fa</i>	71
Grafica 7. Concentración de triglicéridos en riñón de ratas Zucker <i>fa/fa</i>	72
Gráfica 8. Concentración de creatinina en suero de ratas Zucker <i>fa/fa</i>	74

Gráfica 9. Concentración de creatinina en orina de ratas Zucker ^{fa/fa}	75
Gráfica 10. Concentración de "BUN" en suero de ratas Zucker ^{fa/fa}	76
Gráfica 11. Concentración de ácido úrico de suero en ratas Zucker ^{fa/fa}	77
Gráfica 12. Proteínas totales en orina de ratas Zucker ^{fa/fa}	78
Gráfica 13. Porcentaje de peso del riñón en ratas Zucker ^{fa/fa}	79

RESUMEN

La obesidad es una enfermedad crónica degenerativa que se caracteriza por un aumento de la masa grasa y, en consecuencia, por un incremento de masa corporal ("peso"^{1*}). La obesidad en México se ha convertido en un serio problema de salud pública, ya que la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición demostró que 70% de los mexicanos presenta algún índice de obesidad o "sobrepeso". Durante la obesidad se producen principalmente alteraciones en el metabolismo de lípidos y éste se encuentra asociado con patologías como hipertensión arterial, dislipidemia, enfermedades cardiovasculares, Diabetes Mellitus Tipo 2, disfunción respiratoria, ciertas formas de cáncer y el principal enfoque de este proyecto, que es el daño renal. Investigaciones recientes, indican que la sustitución de las proteínas animales por proteínas de origen vegetal (como la soya) puede disminuir el riesgo de la enfermedad renal. Es posible que la sustitución de proteínas animales por proteínas de soya reduzca la proteinuria y retrase la progresión de la nefropatía. Este proyecto está dirigido a evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria en un modelo de obesidad que presenta una modificación genética en el receptor de la leptina para analizar las alteraciones en la función renal y metabolismo de lípidos sistémico e intrarrenales. Para ello se utilizaron 48 ratas Zucker^{fa/fa} macho de 4 a 5 semanas de edad. Las ratas se dividieron en 6 grupos de 8 ratas cada uno. Las ratas fueron alimentadas durante 55 días, durante los cuales se les administró dietas con dos diferentes tipos de proteínas, una de origen animal (caseína) y una vegetal (proteína de soya) con tres diferentes concentraciones de proteína de cada tipo 20, 30 y 45%. A lo largo del experimento se registró la ganancia de "peso" y el consumo de alimento. Al término del tratamiento dietario se sacrificaron los animales, se recolectó la sangre y se extrajo el tejido renal, el cual fue pesado y guardado a -70°C para su posterior análisis. Se determinó la concentración de colesterol y triglicéridos en suero, así como en el tejido renal por medio de "kits" de

1* 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

diagnóstico correspondientes. Para el análisis de la función renal se determinó la concentración de nitrógeno ureico en sangre, creatinina en orina y suero y proteína total en orina. Los resultados obtenidos permitieron llegar a las siguientes conclusiones: El funcionamiento renal de las ratas al inicio y al final del experimento se consideró dentro de los rangos de normalidad. En cuanto al consumo de alimento y calorías ingeridas se encontró que hay un mayor consumo de alimento y calorías de los grupos alimentados con soya. Se observó una tendencia de disminución de su “peso” corporal con el incremento de concentración de proteína, independiente de su origen. Adicionalmente se encontró que las dietas con proteína de origen vegetal (soya) disminuyeron la concentración de colesterol en suero de la rata Zucker^{fa/fa}. La concentración de lípidos intrarrenales muestra una tendencia a incrementar conforme se aumenta la concentración de proteína, en donde se observó que la proteína de soya ayudó a disminuir dichos valores a una concentración de 30% de proteína. Con respecto a la proteína total en orina se observa una disminución de la proteinuria en el grupo alimentado con 20 y 30% de proteína de soya, cuando se compara con su contraparte de caseína. Finalmente, se observó una ligera disminución de la hipertrofia renal en los grupos cuyo tratamiento dietario fue la proteína de origen vegetal, cuando se comparó con sus contrapartes de caseína.

Palabras clave: Concentración y tipo de proteína dietaria, lipogénesis sistémica e intrarrenal, modelo de obesidad genética, rata Zucker^{fa/fa}.

CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA

Esta investigación está enfocada a evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria en un modelo animal de obesidad genética para evaluar las alteraciones en la función renal y metabolismo de lípidos tanto sistémicos como intrarrenales. Esta evaluación es de gran importancia para conocer la posible evolución de pacientes con “sobrepeso” y obesidad durante el tratamiento dietario.

1.1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es calificada por la Organización Mundial de la Salud como la epidemia del siglo XXI y se considera como la enfermedad metabólica más prevalente en los países desarrollados y en los que están en vías de desarrollo.¹ La obesidad en México se ha convertido en un serio problema de salud pública. La última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2004) demostró que 70% de los mexicanos presentan algún índice de obesidad o “sobrepeso”. En poco tiempo, México corre el riesgo de convertirse en el país que ocupe el primer lugar mundial con esta enfermedad. Los cambios en el estilo de vida del mundo civilizado (disminución de la actividad física y aumento de la ingestión calórica) son, en gran parte, responsables del incremento de la incidencia de “sobrepeso” y obesidad desde edades tempranas de la vida.²

La obesidad es una enfermedad crónica que se caracteriza por un aumento de la masa grasa y en consecuencia por un incremento de “peso”, aumentando las reservas energéticas del organismo en forma de grasa. El término crónico se le aplica debido a que forma parte del grupo de enfermedades que no pueden curarse con el arsenal terapéutico del que se dispone en la actualidad.²

En la obesidad se producen principalmente alteraciones en el metabolismo de lípidos y éste se encuentra asociado con patologías como hipertensión arterial, dislipidemia, enfermedades cardiovasculares, Diabetes Mellitus Tipo 2, disfunción respiratoria, ciertas formas de cáncer y el principal enfoque de este proyecto, que es el daño renal.²

Dentro de las alteraciones fisiológicas más importantes de la obesidad se encuentra la alteración en el metabolismo de los lípidos asociado con patologías diversas, incluyendo el daño renal.³ La acumulación de lípidos parece tener un papel significativo en la génesis de algunas enfermedades renales. Inicialmente se supuso 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.

Recientemente se ha reconocido al síndrome metabólico como un factor de riesgo para la enfermedad renal, el cual está asociado con la intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, dislipidemia, hipertrigliceridemia, hipertensión y obesidad central.⁴ La resistencia a la insulina parece ser el común denominador de la constelación de alteraciones metabólicas que lo caracterizan.

En investigaciones realizadas por Anderson y col. (1999)⁵, entre otras, indican que la sustitución de las proteínas animales por proteínas de origen vegetal (como la soya) puede disminuir el riesgo de nefropatía diabética. Es posible que la sustitución de proteínas animales por proteínas de soya reduzca la proteinuria y retrase la progresión de la nefropatía.^{3,6}

Por otro lado, la concentración de la proteína en la dieta también está involucrada en modificar el perfil lipídico.⁷ Se ha demostrado que las dietas altas en proteínas tienen efectos benéficos para el organismo, principalmente cuando se les administra a personas obesas, ya que hay disminución temporal de “peso” corporal e incluso puede disminuir los triglicéridos, colesterol y glucosa en la sangre.

Por lo mencionado anteriormente, este proyecto está dirigido a evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria en un modelo animal de obesidad genética para evaluar las alteraciones en la función renal y metabolismo de lípidos sistémicos e intrarrenales. Esta evaluación es de gran importancia para conocer la evolución de pacientes con “sobrepeso” y obesidad.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

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

1.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la ganancia de “peso” y el consumo de alimento en ratas Zucker *fa/fa* sometidas a tratamientos dietarios donde se está variando el tipo y la concentración de proteína.
2. Analizar los parámetros bioquímicos del perfil de lípidos (colesterol y triglicéridos en suero) en ratas Zucker *fa/fa* sometidas a los tratamientos dietarios.
3. Determinar el efecto de los tratamientos dietarios sobre la acumulación de colesterol y triglicéridos en el tejido renal.
4. Determinar la función renal mediante el análisis de parámetros bioquímicos como: niveles séricos de creatinina, ácido úrico y nitrógeno ureico en sangre (BUN) por sus siglas en inglés, así como proteínas totales en orina.
5. Determinar el “peso” de los riñones con respecto al “peso” del animal, para conocer el efecto de los tratamientos dietarios.

1.3. HIPÓTESIS

Si se administra una dieta con niveles altos y muy altos en proteína de origen vegetal, entonces deberá disminuir el daño renal inducido por lípidos intrarrenales.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico se describió por primera vez en 1988.⁸ A nivel mundial esta patología puede afectar hasta 25% de los adultos jóvenes y a más de la mitad de las personas de 55 años de edad o más.⁸

De acuerdo con el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de los EEUU (National Cholesterol Education Program, USA), el síndrome metabólico se definió por la presencia de al menos tres de los siguientes criterios, con o sin diabetes: obesidad central (circunferencia de la cintura en hombres >102 cm y en mujeres >88 cm), hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dL), baja concentración de HDL colesterol (ver glosario) (hombres <40mg/dL y mujeres <50mg/dL), elevadas concentraciones de glucosa en ayuno (>110mg/dL) e hipertensión ($\geq 130/85$ mmHg).⁹ El principal rasgo del síndrome metabólico es la resistencia a la insulina, evolucionando hacia hiperglicemia e hiperinsulinemia y pudiendo concluir eventualmente en diabetes. La obesidad central es el factor más importante para desarrollar resistencia a la insulina.¹⁰ Tanto la obesidad como el síndrome metabólico están asociados con una alta mortalidad, relacionado principalmente con las enfermedades cardiovasculares.^{11,12}

Recientemente se encontró que el “sobrepeso”, la obesidad y el síndrome metabólico pueden ser un factor para contraer enfermedad renal.⁴

En la siguiente figura (Figura 2.1) se muestra que tanto la obesidad como el síndrome metabólico y varias patologías están íntimamente relacionadas para originar un daño a nivel renal.

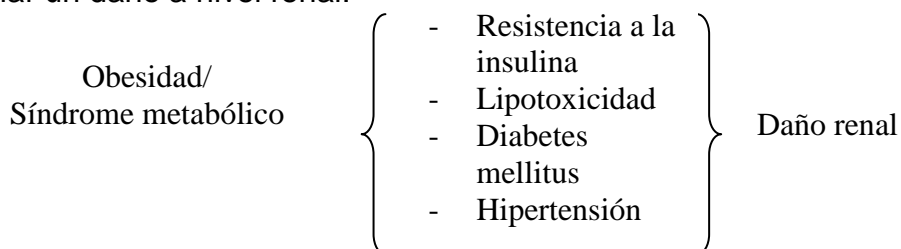


Fig. 2.1. Mecanismos relacionados con el daño renal en pacientes con obesidad y síndrome metabólico⁴

2.1.1. OBESIDAD

2.1.1.1. Definición de obesidad

El término obesidad se deriva del latín, *obesitas*, que significa excesiva corpulencia. La definición más sencilla de obesidad es: aumento de la grasa corporal.⁸ Kral (2001)¹³, la define como “enfermedad causada por exceso de grasa corporal” y está plenamente reconocida como una enfermedad crónica que puede causar graves complicaciones médicas, alteración en la calidad de la vida y mortalidad prematura.¹⁴ La obesidad se clasifica en grados según el índice de masa corporal IMC, que es el “peso”, dividido por la talla elevada al cuadrado [kg/(m)²].^{8,15}

Es importante mencionar que este índice es relativamente subjetivo ya que depende del grupo étnico, el sexo, la edad, la musculatura de los individuos, la densidad ósea, entre otros.

Tabla 2.1. Clasificación de la obesidad y el sobrepeso mediante el Índice de Masa Corporal IMC (OMS)¹⁶

CLASIFICACIÓN	TIPO DE OBESIDAD	IMC
	según IMC	kg/m ²
Bajo Peso		< 18.5
Normal		18.5-24.9
Sobrepeso		25.0-29.9
Obesidad	I	30.0-34.9
Obesidad	II	35.0-39.9
Obesidad extrema	III	≥40

2.1.1.2. Epidemiología de la obesidad

En los países desarrollados el “sobrepeso” y la obesidad están adquiriendo dimensiones epidémicas y constituyen en la actualidad uno de los principales problemas de salud pública.²

Este aumento en la prevalencia de la obesidad ha tenido un carácter general, pues se ha detectado en todos los grupos; tanto de edad, sexo, grupos étnicos y socioeconómicos.

Entre las causas que han dado lugar a este incremento, se ha de tener en cuenta el aumento de la densidad energética de la dieta y la tendencia hacia un nivel de actividad física disminuida.²

La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para la enfermedad coronaria, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, daño renal y otras alteraciones importantes.^{2,17}

Estudios recientes han mostrado que la obesidad está asociada con la enfermedad crónica del riñón. En una población mayor a 100,000 habitantes en Okinawa, Japón, Iseki y col. (2004)¹⁸ encontraron que un índice de masa corporal (IMC) alto en adultos de sexo masculino, está asociado con un incremento de riesgo en la enfermedad renal en etapa terminal.^{4,18}

2.1.1.3. Obesidad y lípidos

En la segunda mitad del siglo XX se fue describiendo la asociación de obesidad y alteraciones del metabolismo de los lípidos y, de forma más concreta, a la aparición de hipertrigliceridemia.² Un enfoque inicial del problema al que pudiera relacionarse esta alteración es una ingestión desmedida de grasas (principalmente grasa saturada) y/o hidratos de carbono propia de la excesiva ingestión energética en el paciente obeso. Ciertamente, el 90-95% de las grasas que se ingieren con la dieta son triglicéridos que se absorben prácticamente al 100%.²

Se ha podido demostrar que las dietas especialmente elevadas en grasas saturadas incrementan la resistencia a la acción de la insulina, mientras que con dietas pobres en este tipo de grasas se observa un menor índice de resistencia a la insulina (RI). Del mismo modo las dietas ricas en grasas monoinsaturadas y de bajo contenido hidratos de carbono mejora la insensibilidad a la insulina. La RI juega un papel importante en la dislipidemia del obeso.²

2.1.2. LIPOTOXICIDAD RENAL

En 1995, Unger¹⁹ introduce el concepto de *lipotoxicidad*, definiéndolo como una disminución de la secreción de insulina por el aumento crónico de los ácidos grasos libres en suero (AGL). Por lo tanto, se postulan los siguientes mecanismos:

- Menor actividad de los transportadores GLUT-2.
- Cambios en las vías metabólicas normales de los lípidos.

La hipótesis es la siguiente: el aumento de los AGL debido a una lipólisis exacerbada y la inhibición de la Acetil-CoA Carboxilasa (por los AGL) tiene como consecuencia una disminución del Malonil-CoA, lo cual lleva a la activación de la Acilcarnitina-Aciltransferasa 1 (ACAT-I), por lo que se intensifica la oxidación de ácidos grasos con disminución de los derivados Acil-CoA (metabolitos que estimulan la secreción de insulina), lo que se traduce en una menor liberación de insulina. La Figura 2.2. muestra este mecanismo.

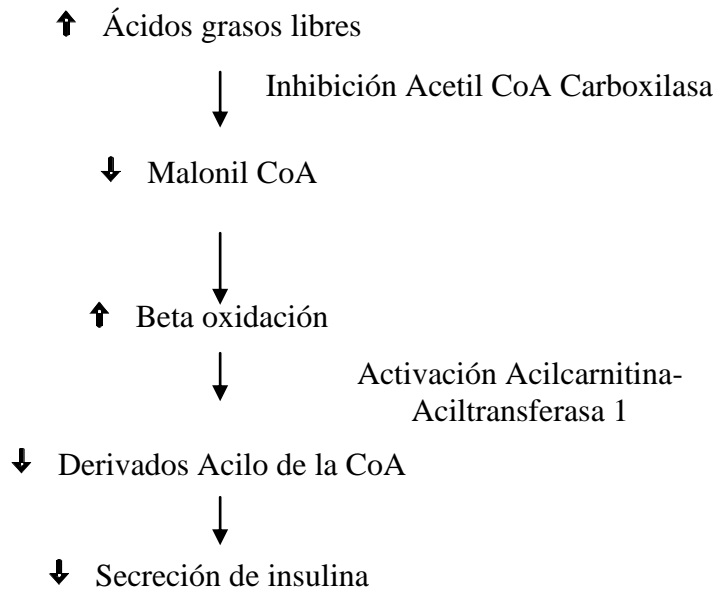


Fig. 2.2. Lipotoxicidad y menor secreción insulínica. Mecanismos: el aumento de ácidos grasos libres produce disminución de malonil Coenzima A (malonil CoA) y de los derivados acilos de la Coenzima A necesarios para la liberación de insulina¹⁹

La lipotoxicidad está asociada con la obesidad y el síndrome metabólico y se piensa que contribuye a la disfunción del riñón incluyendo el daño renal.^{20,21}

Esta asociación entre lípidos y la enfermedad renal fue revisada por primera vez en 1858 por Virchow, quien describió fases de metamorfosis de lípidos y dendritas grasas en el epitelio renal en la enfermedad de Bright.²²

En forma muy reciente la lipotoxicidad ha sido revisada por varios investigadores, quienes han postulado que los lípidos pueden causar daños en las células epiteliales promoviendo la progresión de la enfermedad renal.^{23,24}

Los mecanismos de lipotoxicidad renal no se han definido claramente, pero numerosos experimentos sugirieron que las lipoproteínas, ácidos grasos libres y sus metabolitos, están relacionados con el daño renal.

La acumulación de lípidos parece tener un papel importante en el origen de algunas enfermedades renales. Recientemente se encontró que la formación de depósitos de lípidos en el riñón no se deben exclusivamente a concentraciones elevadas de estos

en suero, sino que la síntesis endógena de lípidos, juega un papel importante en el desarrollo de estos depósitos renales.²⁵

En investigaciones realizadas por Jiang y col. (2005) han mostrado que la síntesis endógena de lípidos en riñón se encuentra regulada por proteínas que se unen a elementos regulatorios de esteroides (*SREBP*, *Sterol Regulatory Element Binding Proteins*, en inglés, proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides), involucrados en la biosíntesis de colesterol y ácidos grasos. La insulina aumenta los niveles de expresión de *SREBP'S*.²⁶

Levi y col. (2005)^{25,26} demostraron que el papel que juegan las *SREBP* es crucial para promover el daño renal. El experimento se realizó con un modelo animal de obesidad, encontrando un incremento de triglicéridos en tejido renal y una acumulación de colesterol en células intersticiales y también mostraron una significativa sobreexpresión a nivel renal de las proteínas tipo *SREBP*, acetil-CoA carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos.^{25,26}

La sobrecarga de lípidos celulares o lipotoxicidad es un fenómeno que contribuye a la aterosclerosis.^{21,27,28}

2.1.2.1. Lipoproteínas

Las lipoproteínas son moléculas de alta masa molecular encargadas del transporte de lípidos en el plasma, especialmente de triglicéridos y de ésteres de colesterol.

Cada partícula de lipoproteína está constituida por un núcleo de lípidos (ésteres de colesterol o triglicéridos en proporciones diversas de acuerdo con el tipo de lipoproteína) rodeado por una membrana hecha a base de fosfolípidos y cantidades variables de colesterol no esterificado. Además, cada lipoproteína está formada por proteínas específicas denominadas apolipoproteínas, presentes en la superficie de la partícula, que penetran hasta el núcleo de lípidos no polares. La función específica de estas apolipoproteínas es ligarse a enzimas específicas o a proteínas de transporte de las membranas celulares encargadas de definir el destino metabólico de los lípidos séricos.⁸

En el plasma existen seis clases fundamentales de lipoproteínas y la nomenclatura actual y universalmente aceptada proviene de sus siglas en el idioma inglés: *VLDL* (*Very Low Density Lipoprotein*), *IDL* (*Intermedium Density Lipoprotein*), *LDL* (*Low Density Lipoprotein*), *HDL* (*High Density Lipoprotein*), quilomicrones y remanentes de quilomicrones.²⁹

Los triglicéridos y ésteres de colesterol son insolubles en agua por lo que es necesario que sean transportados en forma de lipoproteínas, las cuales tienen un centro hidrofóbico de lípidos insolubles rodeados por una cubierta de componentes polares.²⁹

2.1.2.2. Composición de las lipoproteínas

Lípidios: Colesterol libre y esterificado, triglicéridos y fosfolípidos.

Apolipoproteínas (Apo): Se describen 19 proteínas, de las cuales a sólo en 10 se les reconoce su composición, función y metabolismo.

Apo A: Son varias subclases, las Apo A1, A2 y otras. Se sintetizan en hígado e intestino. Se transfieren activamente hacia y desde las HDL, VLDL y quilomicrones. Sus principales funciones son activar la *lecitin colesterol acyl transferasa* (LCAT), que esterifica el colesterol libre en las HDL y a nivel periférico, translocar el colesterol libre desde el interior de la célula a la membrana, activando receptores Apo A1 con intervención de los transportadores de colesterol ABCA1. Su catabolismo se realiza en el hígado, riñón y tejidos extrahepáticos.

Apo B: Tienen dos formas, la B 48 sintetizada a nivel intestinal y la B100, a nivel hepático. La B 48 es componente de los quilomicrones y la B100 de las VLDL, IDL (lipoproteínas de densidad intermedia o remanentes de VLDL) y LDL. Participan en la regulación de la síntesis de VLDL y del transporte a receptores específicos. Su catabolismo es principalmente hepático.

Apo C: Se sintetizan a nivel hepático. Existen tres subclases C1, C2 y C3. Existe una transferencia activa intravascular entre HDL, VLDL y quilomicrones. La Apo C2 estimula el sistema lipoprotein lipasa y la C3 lo inhibe. La Apo C1 estimula la LCAT.

Apo E: Se sintetizan principalmente a nivel hepático. Existen tres isoformas E2, E3 y E4. Al igual que para Apo C hay transferencia intravascular entre HDL, VLDL y

quilomicrones, su función es vectorizar las lipoproteínas hacia los receptores hepáticos y periféricos Apo E afines.²⁹

2.1.2.3. Metabolismo de las lipoproteínas

Quilomicrones: Se forman en el intestino. Contienen Apo A1 y A2 y la Apo B48. Su componente lipídico son los triglicéridos y el colesterol de la dieta (1/3 del colesterol que se absorbe) y por el colesterol proveniente de la bilis (2/3 restantes). Se absorben por vía linfática y en circulación reciben Apo C y E desde las HDL. En la pared vascular de los tejidos (especialmente adiposo y muscular) son hidrolizados por la *lipoprotein lipasa periférica*, liberando ácidos grasos y glicerol. Estos son captados a nivel tisular, originándose partículas denominadas remanentes de quilomicrones, con un contenido proporcional menor de triglicéridos. Estos transfieren Apo C y entregan Apo A1 a las HDL y son captados por los receptores hepáticos B48:E, en donde continúan su catabolismo por acción de la *lipoprotein lipasa hepática*.

VLDL: Se forman en el hígado. Su síntesis está regulada por la formación de Apo B100 y por los triglicéridos sintetizados en el hígado. Contienen Apo B100, C y E y en circulación reciben Apo C y E desde las HDL. Al igual que los quilomicrones son hidrolizadas en los tejidos extrahepáticos por el sistema de la *lipoprotein lipasa periférica*. Una proporción aproximadamente del 70%, son rápidamente captadas como remanentes de VLDL por los receptores hepáticos Apo B100:E y otra parte sigue hidrolizando sus triglicéridos y pierde Apo E, transformándose en LDL.

LDL: Son el producto del catabolismo de las VLDL. Contienen sólo Apo B100 y son ricas en colesterol libre y esterificado. Son principalmente captadas a nivel hepático por los receptores B100:E en competencia con las IDL y por los receptores periféricos B100. Los receptores la internalizan y permiten su catabolismo celular, liberando colesterol libre que inhibe a la *hidroximetilglutaril CoA reductasa* (HMGCoAR), enzima clave para la síntesis de colesterol. El colesterol libre reduce la síntesis de receptores y estimula la *acyl colesterol acyl transferasa* (ACAT) que lo esterifica. En esta forma se regula la concentración del colesterol a nivel celular. Aproximadamente, entre 20 a 30% de las LDL son captadas por receptores

inespecíficos de los macrófagos (Scavenger Receptor SR-A), que no tienen capacidad de contra-regulación, proporcionalidad que sube al reducirse la capacidad de captar e internalizar las LDL por los receptores.

HDL: Son fundamentales en el transporte reverso del colesterol desde los tejidos hacia el hígado, único órgano capaz de excretarlo (por la vía biliar). Sintetizadas por el intestino e hígado. Su forma naciente (HDL_n) es una bilamina de fosfolípidos y ApoA. Interactúa con los sistemas transportadores transmembrana de colesterol (ATP Binding Cassette – ABCA1 y G1/G4). El colesterol libre posicionado en la superficie de la molécula, es esterificado e internalizado por acción LCAT, dejando nuevos sitios para captar más colesterol, transformándose en partículas esféricas HDL₃ y luego HDL₂.

El colesterol captado por las HDL puede dirigirse hacia el hígado para su excreción por la bilis por 2 vías principales:

1) Por acción de la proteína transportadora de éster de colesterol (CEPT) transfieren el colesterol esterificado hacia las VLDL y LDL que entregan así el colesterol por receptores B100:E

2) Por captación selectiva de colesterol a través del receptor scavenger SR-B1. La HDL no es

catabolizada y vuelve a la periferia para captar más colesterol. Los receptores SR-B1 se encuentran principalmente en hígado, suprarrenales, ovarios y testículos.

Cuando existe un incremento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la CEPT condiciona un flujo de triglicéridos de VLDL hacia HDL y se transfiere el colesterol éster desde las HDL hacia las VLDL y LDL. Se generan HDL pequeñas, ricas en triglicéridos, más afines a la lipoprotein lipasa hepática y que van preferentemente a catabolismo terminal y excreción de la ApoA1 por vía renal. Este mismo fenómeno sucede con las LDL. Las LDL enriquecidas en triglicéridos son catabolizadas en el hígado por la lipoprotein lipasa hepática y se hacen más densas y pequeñas, más oxidables y poco afines a los receptores fisiológicos de LDL y son mayormente captadas por los receptores de macrófagos SR-A (que no regulan el colesterol intracelular). Los macrófagos acumulan colesterol y se transforman en células espumosas características del daño vascular aterosclerótico.²⁹

2.1.3. RESISTENCIA A LA INSULINA

2.1.3.1. Insulina

La insulina es una proteína pequeña, compuesta por dos cadenas de aminoácidos conectadas entre sí por enlaces disulfúricos. Cuando se separan ambas cadenas de aminoácidos, desaparece la actividad funcional de la molécula de insulina.³⁰

La insulina es secretada por las células beta pancreáticas, por el mecanismo celular ordinario de síntesis proteica, que se inicia con la traducción del ARN de insulina por los ribosomas fijos en el retículo endoplásmico, para formar una prehormona insulínica. Esta prehormona inicial tiene un peso molecular de 11500kDa pero, a continuación, se segmenta en el retículo endoplásmico para formar una proinsulina cuyo peso molecular es de 9000kDa 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.³⁰

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.³⁰

2.1.3.2. Acción de la insulina en el metabolismo de los hidratos de carbono

Inmediatamente después de consumir una comida rica en hidratos de carbono, la glucosa absorbida hacia la sangre induce una secreción rápida de insulina. A su vez, la insulina provoca la captación rápida, el almacenamiento y el aprovechamiento de la glucosa por casi todos los tejidos del organismo, pero sobre todo por el músculo, el tejido adiposo y el hígado.³⁰

2.1.3.3. Acción de la insulina en el metabolismo de los lípidos

La acción de la insulina sobre el metabolismo lipídico es importante a largo plazo. En particular destaca el efecto de la falta de insulina, que produce una aterosclerosis marcada, a menudo con infartos de miocardio y otros padecimientos vasculares.³⁰

La insulina ejerce diversos efectos que inducen el depósito de lípidos en el tejido adiposo. En primer lugar aumenta la utilización de la glucosa por casi todos los tejidos y reduce automáticamente la utilización de la grasa, es decir, ahorra lípidos. No obstante, la insulina también fomenta la síntesis de ácidos grasos, en mayor medida en cuantos más hidratos de carbono se ingieran, dado que estos no se emplean de manera inmediata para producir energía y aportan el sustrato para la síntesis de grasas. Gran parte de esta síntesis tiene lugar en los hepatocitos; luego los ácidos grasos son transportados desde el hígado por las lipoproteínas de la sangre a las células adiposas, donde se almacenan.³⁰

La insulina ejerce otros efectos importantes, necesarios para que la grasa se deposite en las células adiposas:

1.- La insulina inhibe la acción de la lipasa sensible (HSL) a hormona. Se trata de la enzima que hidroliza a los triglicéridos ya depositados en las células adiposas. Así pues, inhibe la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo hacia la sangre circulante. Por lo tanto la insulina favorece la síntesis de triglicéridos y frena su hidrólisis, es decir, aumenta la lipogénesis y disminuye la lipólisis.³⁰

2.- La insulina fomenta el transporte de la glucosa a las células adiposas a través de la membrana celular. Parte de la glucosa se emplea para la síntesis de pequeñas cantidades de ácidos grasos, pero lo que es más importante es que se forman grandes cantidades de α -glicerol fosfato. Este último suministra glicerol a los ácidos grasos para formar triglicéridos, forma que adoptan los depósitos de grasa en las células adiposas. Así pues, cuando falta insulina el depósito de grandes cantidades de ácidos grasos transportados desde el hígado a través de las lipoproteínas queda bloqueado.³⁰

2.1.3.4. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina, RI, es un prominente marcador biológico de la obesidad y del síndrome metabólico. Se define como una inadecuada respuesta a la insulina exógena o endógena, tal tipo alterado de respuesta no está estrictamente confinado a la relación entre insulina y glucosa, sino que se extiende a otras acciones biológicas de la insulina, incluso sus efectos sobre el metabolismo lipídico y proteínico.⁸

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. 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 induce por consecuencia una demanda excesiva de trabajo a las células beta del páncreas y conlleva a la hiperinsulinemia. Suele preceder por años al 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 esto ocurre aparece primero la intolerancia a la glucosa y luego la diabetes.³¹

2.1.4. DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus es un síndrome orgánico multisistémico crónico que se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en la sangre (conocido médicamente como hiperglucemia) como resultado de concentraciones bajas de la hormona insulina o por su inadecuado uso por parte del cuerpo, que conducirá posteriormente a alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas.^{29,32}

La diabetes mellitus está asociada con un grupo de enfermedades metabólicas tales como obesidad, intolerancia a la glucosa, hipertrigliceridemia e hipertensión, todas estas enfermedades se caracterizan por hiperglucemia que resulta de defectos en la

secreción de insulina, en la acción de la insulina o ambas. La hiperglucemia crónica se asocia con daño a largo plazo, disfunción y falla de varios órganos, especialmente los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos.³¹

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.

2.1.5. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión arterial es una condición médica caracterizada por un incremento de las cifras de presión arterial por encima de 139/89 mmHg y considerada una de los problemas de salud pública en países desarrollados afectando a cerca de mil millones de personas a nivel mundial. Se estima que el 25% de las personas son hipertensas. Su prevalencia aumenta con la edad y tiende a ser más grave en adultos jóvenes. Es uno de los factores de riesgo más importantes tanto en la enfermedad coronaria como en los accidentes cerebrovasculares. También puede conducir a una insuficiencia cardiaca congestiva, disección aórtica e insuficiencia renal.³²

2.2. RIÑÓN

2.2.1. ANATOMÍA DEL RIÑÓN EN EL HUMANO

Los riñones en el humano son órganos retroperitoneales que pesan alrededor de 150g cada uno y presentan forma de frijol.³³

La unidad anatómica y funcional del riñón es la nefrona, la cual puede dividirse en dos partes:

- **Glomérulo:** consiste en un ovillo de capilares localizados entre dos arteriolas (aferente y eferente), donde se forma el ultrafiltrado del plasma.
- **Sistema de túbulos:** integrado por una capa única de células epiteliales, puede subdividirse en varios segmentos de acuerdo con sus diferencias anatómicas y funcionales. Este sistema es responsable de los procesos de reabsorción y secreción, en los cuales el ultrafiltrado es modificado para la formación de orina.

Sus principales segmentos son: el túbulo contorneado proximal, el asa de Henle, el túbulo contorneado distal y el conducto colector.³³

2.2.1.1. Anatomía macroscópica

En el aspecto macroscópico, se divide al riñón en dos regiones principales, una exterior llamada corteza y una interior llamada médula, formada por ocho a diez estructuras triangulares o pirámides renales, cuyo vértice apunta hacia una cavidad llamada pelvis renal en el humano (Fig. 2.3.).

Corteza: localizada en la zona externa del riñón, contiene todos los glomérulos, la mayor parte de los túbulos contorneados proximales y parte de los distales.

Médula: está constituida principalmente por las asas de Henle y por los conductos colectores dispuestos en forma paralela. La médula desempeña un papel importante en la concentración de la orina.

La circulación renal presenta una característica importante. Posee dos sistemas capilares dispuestos en serie: el primer lecho capilar forma el ovillo glomerular y el segundo rodea el sistema de túbulos.³³

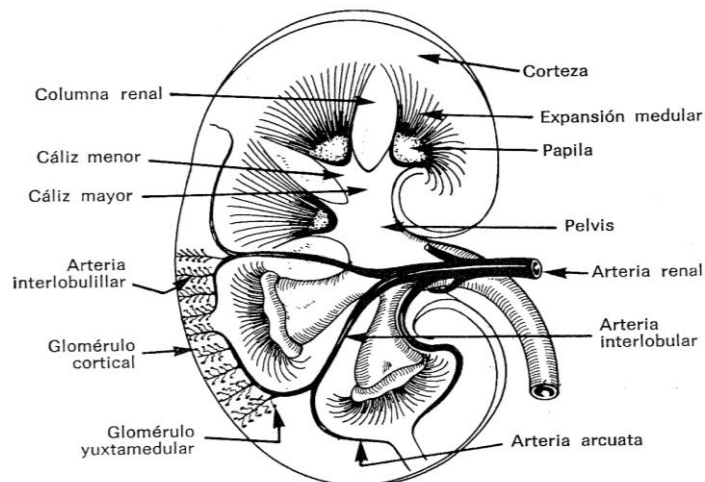


Fig. 2.3. Corte sagital del riñón. En la mitad superior se ha representado macroscópicamente la disposición anatómica general, mientras que en la inferior se expone la irrigación arterial³⁴

2.2.1.2. Anatomía microscópica

Nefrona

Cada riñón posee un millón de nefronas y cada una de ellas está formada por un glomérulo, un asa de Henle y un túbulo contorneado proximal y uno distal. Este último penetra en un conducto colector que termina en el sistema calicial, que drena otras unidades de nefronas en su trayecto a través de la corteza y las pirámides medulares (Fig. 2.4.).

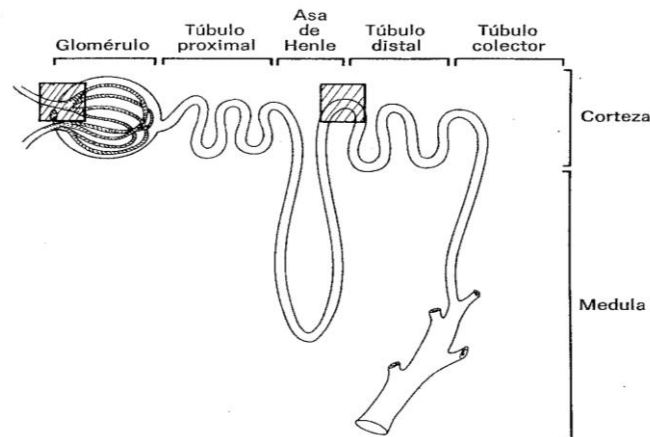


Fig. 2.4. Nefrona aislada y elongada. Las zonas en recuadro indican las regiones que, en la vida, se superponen para formar el aparato yuxtaglomerular³⁴

Cápsula de Bowman

El origen de la nefrona, llamado cápsula de Bowman, está compuesta por dos láminas: una visceral, que forma la tercera capa de la barrera de filtración (podocitos) y otra parietal que delimita el espacio capsular, receptor del ultrafiltrado glomerular.

Glomérulo

En el lado opuesto a su unión con el túbulo contorneado proximal, la cápsula de Bowman se invagina y recibe una red de asas capilares, llamada glomérulo.³⁴

Túbulo contorneado proximal

El túbulo contorneado proximal es responsable de la reabsorción de la mayoría de los pequeños solutos filtrados. Llega a retirar del ultrafiltrado hasta el 60% de los iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- y más del 90% del ion HCO_3^- . Los aminoácidos y la glucosa también se reabsorben casi en su totalidad, junto con el ion Na^+ , en este segmento. Esta porción presenta, además, la importante característica de ser más permeable al agua que las demás, lo que permite su reabsorción pasiva junto con los solutos para recuperar así gran parte del líquido del filtrado.

Asa de Henle

El asa de Henle se divide en tres segmentos: porción descendente fina, porción ascendente fina y porción ascendente gruesa. En la porción gruesa tienen lugar las principales alteraciones del ultrafiltrado. Los iones Na^+ , K^+ y Cl^- son cotransportados hacia el interior de las células tubulares. Cerca del 35% del ion Na^+ y el ion Cl^- filtrados se reabsorben en este segmento.

Nefrona distal

Este segmento, que incluye el túbulo contorneado distal, el túbulo colector y el conducto colector, es responsable de los ajustes finales de la composición, tonalidad y volumen de la orina.

2.2.2. FUNCIÓN RENAL

Las funciones fundamentales de los riñones son: eliminar los productos tóxicos del metabolismo y la conservación de sustancias indispensables para la vida. Así, los riñones son considerados órganos reguladores que excretan y conservan de manera selectiva agua y varios compuestos químicos. De esta forma, ayudan a preservar la constancia del medio interno.

Específicamente, las principales funciones de los riñones son:

- Mantenimiento del volumen de líquido, la osmolalidad, las concentraciones de

electrólitos y el estado ácido-base del organismo. Esto se logra mediante la variación de la excreción urinaria de agua y de iones como el sodio (Na^+), el potasio (K^+), el cloro (Cl^-), el calcio (Ca^{2+}), el magnesio (Mg^{2+}) y el fosfato (PO_4^{3-}).

- Excreción de productos finales del metabolismo, como la urea, el ácido úrico, los fosfatos y los sulfatos. Los riñones excretan también sustancias extrañas, como drogas o medicamentos
- Producción y secreción de hormonas y enzimas.
- Formación de la orina: Las nefronas regulan la concentración, el volumen y el pH de la sangre y eliminan de los riñones sustancias de desecho formando la orina. El proceso de formación de la orina se inicia con el pasaje del plasma por la barrera de filtración glomerular. La barrera glomerular permite el libre pasaje de agua y de pequeños solutos, pero retiene a la mayoría de las proteínas y grandes moléculas, así como a todas las células sanguíneas. El principal determinante del pasaje por el filtro glomerular es el tamaño de la molécula, aunque la carga iónica también es importante. Después de la formación del ultrafiltrado glomerular, éste es captado en la cápsula de Bowman, luego es conducido al sistema de túbulos renales, donde sufrirá una serie de modificaciones hasta formar la orina final.³³

En el riñón se consideran tres procesos: filtración, resorción y excreción. (Ver Figura 2.5).

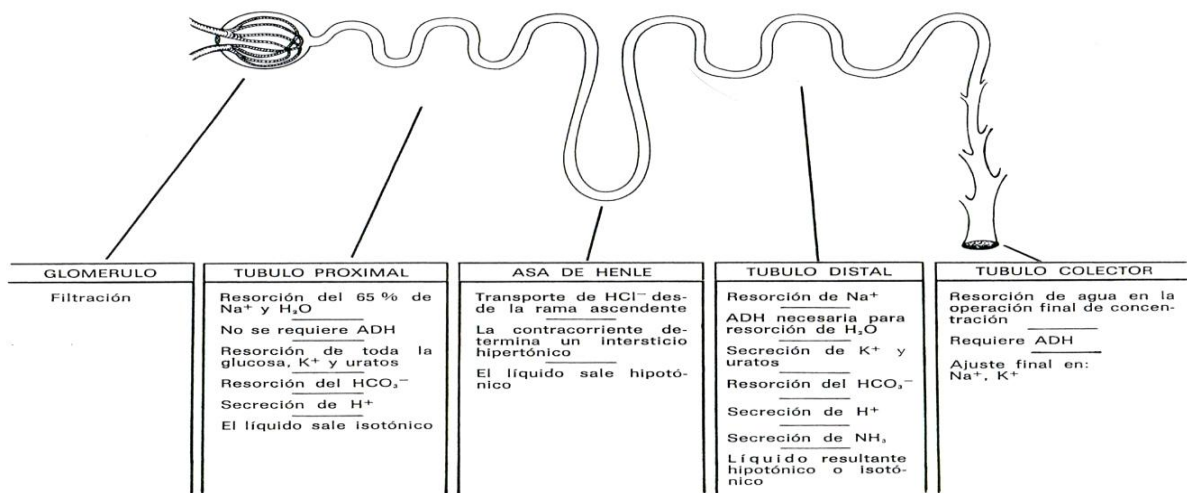


Fig. 2.5. Funciones principales de cada porción de la nefrona³⁴

Cuando la sangre entra al glomérulo y se filtra, las proteínas no pueden por su tamaño atravesar el “filtro capilar” del glomérulo; después, los túbulos reabsorben en forma selectiva agua, glucosa, aminoácidos, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻, y HCO₃⁼ regresándolos posteriormente a la sangre.³⁴

A través de la nefrona se excretan sustancias como el K⁺, ion hidrógeno, amoniaco, creatinina, entre otros, básicamente para controlar la hidratación, el pH de la sangre y eliminación de compuestos con NH₄⁺.

La cantidad y la calidad de orina son variables; normalmente, se elimina entre un litro y litro y medio en 24 horas en el humano.³⁵

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 amoniaco 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.³⁵

2.2.3. INSUFICIENCIA RENAL

La insuficiencia renal o fallo renal es la condición en la cual los riñones dejan de funcionar correctamente. Fisiológicamente, la insuficiencia renal se describe como una disminución en la filtración de la sangre. Clínicamente, esto 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.³⁶

2.2.4. 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 (HTA) y deterioro progresivo de las funciones renales.³⁷

La nefropatía diabética se divide clásicamente en cinco estadios que son:

- 1) Hiperfiltración (Es cuando se produce un aumento de la filtración glomerular y de la reabsorción tubular proximal de proteínas, hay mayor producción de mediadores de inflamación, acelerando el daño renal). La albuminuria es un marcador de hiperfiltración y renomegalia.³⁸
- 2) Lesiones tempranas en el riñón.
- 3) Diabetes con nefropatía: estado de microalbuminuria
- 4) Nefropatía clínica: proteinuria y disminución del filtrado glomerular.
- 5) Enfermedad renal terminal.

También puede dividirse en fase preclínica y fase clínica.

1.-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% mayor y generalmente relacionado con el descontrol metabólico. Existe también aumento en el tamaño renal.³⁹

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.

2.- Fase clínica

Ésta prácticamente se inicia 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.

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.³¹

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 está dado por una población de poros grandes, con poca selectividad, que determina el aumento de la fracción de filtración para moléculas mayores de 46 Å; 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 hidráulica 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. Hasta en un 44% de pacientes con proteinuria persistente se detectó en forma temprana la hipertensión arterial.³⁴

Síndrome nefrótico

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

Hematuria

La hematuria es cuando hay presencia de sangre en la orina. 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.³⁴

2.3. PROTEÍNA DIETARIA DE ORIGEN VEGETAL (SOYA)

La soya (*Glycine max*) es originaria de China y constituye un alimento fundamental de la dieta de esa región del mundo. La soya ha sido un alimento básico en las dietas vegetarianas por años. Es una excelente fuente de proteínas para las personas que deciden no ingerir productos derivados de animales. En los últimos años, los alimentos de soya han llamado la atención del mundo occidental por sus conocidos e hipotéticos beneficios para la salud.

Los investigadores continúan explorando los beneficios que tienen los alimentos de soya para la salud (Figura 2.6).

La proteína de soya ha llegado a ser considerada como una alternativa para el tratamiento de muchas enfermedades crónicas.⁴⁰

El frijol de soya representa una fuente renovable de proteína vegetal la cual ha sido usada ampliamente como un sustituto adecuado de proteína animal^{41,42} y debido a sus propiedades nutritivas, principalmente por su proteína, en los últimos años ha habido un gran desarrollo científico y tecnológico para su aprovechamiento integral.

La producción de proteínas de soya representa una alternativa muy importante para la deficiencia en producción masiva que existe de las proteínas convencionales, como las de la leche y la carne y es una alternativa de menor costo.⁴³



Fig. 2.6. Planta de soya

2.3.1. COMPOSICIÓN DE LA SOYA

A diferencia de los cereales (maíz, trigo, etc) que son abundantes en glutelinas y prolaminas, las proteínas de la soya y de otras oleaginosas son una mezcla heterogénea de globulinas (60-75% del total) y de albuminas con masas moleculares muy variadas, solubles en soluciones salinas y en agua; precipitan en su punto isoeléctrico, generalmente en el intervalo de pH entre 4.2 a 4.8; su aminograma difiere del de los cereales en que las cantidades de metionina, ácido glutámico, arginina, leucina, isoleucina y valina son menores pero en cambio es más rico en lisina.⁴³

En general, la proteína de soya presenta una deficiencia de aminoácidos azufrados que se acentúan más en los aislados proteínicos, ya que la concentración de metionina y cistina se reduce durante el proceso de manufactura de estos productos; el porcentaje de lisina es elevado lo que hace que la soya sea muy adecuada para complementar las proteínas de los cereales; su patrón de aminoácidos es, en ciertos aspectos, comparable con el de la FAO (Ver Tabla 2.2. y anexo)

Tabla 2.2. Aminoácidos esenciales en proteínas comerciales de soya (gramos de aminoácidos por 16 g de nitrógeno)⁴³

Aminoácido	Harina desengrasada	Concentrados	Aislados	Patrón de la FAO
Isoleucina	4.6	4.9	4.8	4.2
Leucina	7.7	8.0	7.8	4.8
Lisina	6.2	6.2	6.0	4.2
Metionina	1.3	1.3	1.0	2.2
Cistina	1.2	1.6	1.0	2.0
Fenilalanina	5.3	5.3	5.5	2.8
Treonina	4.2	4.3	3.7	2.8
Triptofano	1.4	1.4	1.3	1.4
Valina	4.9	5.0	4.8	4.2

A pesar de la deficiencia en aminoácidos azufrados en la soya, la Organización Mundial de la Salud (OMS) calificó con un puntaje de 1, al aislado de proteína de soya junto con la caseína y las proteínas de huevo. Esta escala de medición, aunque subjetiva, es la más avanzada. Consiste en evaluar la digestibilidad de proteína y aminoácidos, dando el mayor puntaje de esta escala al número 1. Cualquier proteína con una calificación de 1 es considerada una proteína completa para los humanos (esto, en el caso de la proteína de soya, está sesgado por los grandes países productores de este grano, como los EEUU que poseen mucha influencia en la OMS).

Uno de los beneficios nutritivos del frijol de la soya, es que contiene un elevado porcentaje de proteína (36%), comparado con otros granos. Posee fibra dietética soluble e insoluble, hidratos de carbono complejos, un adecuado balance de ácidos grasos, pequeñas proporciones de grasa saturadas, oligosacáridos, vitaminas, minerales y, por su origen vegetal, no contiene colesterol.⁴² La soya contiene isoflavonas tales como genisteína, daidzeína y gliciteína los cuales son fitoestrógenos; que son compuestos que se encuentran únicamente en las plantas y aparentemente tienen efectos similares a los del estrógeno. Se cree que contribuyen a las propiedades protectoras que tiene la soya para la salud y, además, tienen alto poder antioxidante.⁴⁴

La Tabla 2.3 presenta su composición química.^{5,45}

Tabla 2.3. Componentes del frijol de soya en base seca^{5,45}

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 α -linolénico/ linoleico	1.3:9.9
Fibra insoluble (g)	10
Fibra soluble (g)	7
Calcio (mg)	276
Magnesio (mg)	280
Potasio (mg)	1797
Hierro (mg)	16
Zinc (mg)	4.8
Isoflavonas (mg)	530

Su relación arginina:lisina es generalmente mayor que en otras proteínas, a lo cual se le ha atribuido como uno de los factores que tienen un efecto protector en la prevalencia de enfermedades cardiovasculares, porque parece disminuir cantidades importantes de lípidos.⁴⁶⁻⁴⁹

2.3.2. PROTEÍNA DE SOYA EN LA SALUD

Muchos investigadores continúan explorando y reportando los beneficios que tienen los alimentos de soya para la salud. La proteína de soya aparentemente puede proteger contra ciertas enfermedades, tales como las enfermedades del corazón, dislipidemias, osteoporosis, manejo del climaterio y enfermedades renales.^{49,50}

Anderson y col. (1995)⁴⁴ realizaron un estudio con pacientes donde encontraron que el consumo de proteína de soya ayudó a disminuir la concentración de colesterol total en suero, LDL colesterol y triglicéridos. Además, el consumo de la proteína de soya mantiene en su estado funcional a los adipocitos (las células que forman el tejido adiposo en su estado funcional). Por ello, varios trabajos de investiga

ción han llegado a la conclusión de que su consumo continuo disminuye la ganancia de “peso” y disminuye las alteraciones en el hígado y en el riñón durante el desarrollo de la diabetes.⁵¹

Kapiotis y col. (1997)⁵² reporta que la presencia de la isoflavona genisteína, el cual es un componente orgánico primordial de la proteína de soya, inhibe la oxidación del colesterol LDL, lo que mejora la salud.⁵²

En los últimos años se han encontrado distintos efectos benéficos debidos a la ingestión de la proteína de soya sobre el desarrollo de distintas enfermedades crónico degenerativas. Tales efectos han conducido a distintos grupos de investigación a explorar en distintas áreas clínicas y experimentales. Hasta el momento, el resultado de estas investigaciones han indicado que la ingestión de la proteína de soya tiende a mejorar las enfermedades durante su evolución a cronicidad.^{42,53,54}

2.3.3. EFECTO DE LA SOYA EN LOS LÍPIDOS

La soya puede ejercer un efecto hipolipemiente por medio de algunos mecanismos, aún no esclarecidos. Entre estos mecanismos, los investigadores se han dado a la tarea de examinar los diferentes componentes de la soya que pueden estar involucrados en el o los mecanismos involucrados en este efecto sobre los lípidos sistémicos

Se ha descrito un posible mecanismo es que la proteína de soya posee una alta cantidad de lisina y arginina, lo que produce una disminución en la relación insulina:glucagón. Esto aumenta la gluconeogénesis por un aumento en la secreción de glucagon lo que disminuye la biosíntesis y/o aumenta el catabolismo del colesterol, produciendo un efecto hipocolesterolémico.^{49,55}

Otro posible mecanismo descrito se refiere a que la soya disminuye la secreción de insulina y de otras hormonas pancreáticas e intestinales, produciendo una disminución en la síntesis de lipoproteínas y lípidos por parte del hígado, en especial las lipoproteínas de baja densidad (LDL).^{56,57} Wright y col. (1998)⁵⁸ en estudios con

animales de laboratorio muestran que al ingerir la soya, la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDL*) y de baja densidad (*LDL*) se encuentra inhibida y también existe un aumento en la remoción de ellas en el hígado, por lo que al entrar el colesterol al hígado se favorece la síntesis de ácidos biliares, dando como resultado una disminución en los niveles séricos de colesterol. La soya posee varios componentes que podrían favorecer la concentración de colesterol a través de ácidos biliares.

Por último, otro efecto hipocolesterolémico de la soya se atribuye a su contenido de isoflavonas. La genisteína, una de las principales isoflavonas, se ha mostrado que impide la oxidación de las partículas de las *LDL*.⁵⁹ Además las isoflavonas son estructuralmente similares a los estrógenos, por lo que al unirse a sus receptores, puede actuar como sus agonistas y promover un efecto protector contra la aterosclerosis.^{59,60}

2.3.4. LA SOYA EN LAS ENFERMEDADES RENALES

Estudios recientes realizados por Velásquez y Batean (2001)⁶² muestran que los fitoestrógenos de la soya tienen un papel benéfico sobre ciertas enfermedades renales crónicas; algunos estudios realizados en animales y humanos indican que el consumo de soya retrasa el desarrollo y progresión de algunos casos de enfermedad renal.^{6,62}

El consumo de soya y su fibra soluble por un periodo de tiempo prolongado ayuda a regular los niveles de glucosa y las filtraciones renales, con lo cual disminuye el daño renal y la respuesta inflamatoria por la diabetes.⁶³

En un estudio realizado por D'Amico y col. (1992)⁶³ en pacientes con síndrome nefrótico encontraron que con el consumo de una dieta a base de soya se logró disminuir significativamente la concentración de colesterol en suero (total, *LDL*), pero las concentraciones de triglicéridos no cambiaron. Por otro lado, encontraron una disminución de la proteinuria, menor daño histológico renal y menor hiperfiltración glomerular; el estudio se realizó en un periodo de ocho semanas. En estudios realizados en modelos genéticos de enfermedad poliquística del riñón indican una

disminución en el tamaño de los quistes y del contenido de agua, así como las lesiones patológicas asociadas, lo cual ayuda a preservar la función renal.^{64,65} En un modelo de nefropatía espontánea relacionado a la edad, Iwasaki y col. (1998)⁶⁶ demostraron que al reemplazar la dieta de caseína por la de soya se retrasa marcadamente la progresión de las lesiones renales patológicas y aumenta la vida.

Williams y Walls (1988)^{6,67} 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 gloméruloesclerosis 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 hasta un 24% de contenido proteico, 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.

2.4. PROTEÍNA DE ORIGEN ANIMAL (CASEÍNA)

Las caseínas (del latín *caseus*, queso) son por definición las fosfoglicoproteínas que precipitan de la leche descremada a pH 4.6 y 20°C; son proteínas que contienen tanto residuos de hidratos de carbono como de fosfatos. Su contenido de nitrógeno es aproximadamente de 15.6%, excepto en el caso de la fracción *k* que es de 14.3% ya que contiene una mayor cantidad de hidratos de carbono (Tabla 2.4).⁴³ Prácticamente todas las moléculas de caseína están asociadas entre sí integrando las micelas, pero existe una pequeña fracción que se encuentra en solución, existen cuatro fracciones principales que se diferencian por su movilidad electroforética α_s , β , κ y γ .

La caseína representa cerca del 77 al 88% de las proteínas presentes en la leche y el 2.7% de la composición de la leche líquida. La caseína es una proteína de alto valor biológico, especialmente porque es fuente de dos aminoácidos indispensables en el cuerpo: isoleucina y lisina (ver anexo). Está compuesta por 90-91% de proteína (%Nx 6.38), 0.1% de grasa, 4-6 % de humedad y está libre de vitaminas.⁶⁸

Cuando coagula con renina es llamada paracaseína y cuando coagula a través de la reducción del pH es llamada caseína acida. Cuando no está coagulada se llama caseinógeno.

Tabla 2.4. Distribución de las proteínas de la leche⁴³

	Total de proteínas %	Masa molecular	Número de aminoácidos
Caseínas	80	23,612	199
α_{S1}	34	25,228	207
α_{S2}	8	23,980	209
β	25	19,005	169
κ	9		
γ	4		
Proteínas del suero	20		
β -lactoglobulina	9	18,263	162
α -lactoalbúmina	4	14,174	123
Proteasa peptona	4	4,000-200,000	
Inmunoglobulinas	2	150,000-1x10 ⁶	
Seroalbúmina	1	69,000	

La caseína es un sólido blanco-amarillento, sin sabor ni olor, insoluble en agua. Se dispersa bien en un medio alcalino, como una solución de hidróxido de sodio, formando caseinatos de sodio. La caseína se obtiene coagulando leche descremada con ácido clorhídrico diluido, así se imita la acidificación espontánea. Los coágulos se decantan, se lavan con agua, se desecan y finalmente se muelen. La caseína es la proteína de origen animal más utilizada en la investigación porque es de fácil acceso y es similar a la proteína ingerida por los humanos en su etapa inicial de desarrollo.⁶⁸

Para llevar a cabo la experimentación se hizo uso de un modelo animal que cubriera las características necesarias para realizar este proyecto, para ello se utilizó la Rata Zucker^{fa/fa}.

Se necesitaba un modelo animal que presentará obesidad de comienzo rápido y que presentara los síntomas que afectan a una persona con problemas de obesidad, síndrome metabólico y con presencia de diabetes y de esta forma poder evaluar el

efecto de dos tipos de dietas, una de origen animal (caseína) y otra de origen vegetal (soya) sobre el metabolismo intrarrenal y sistémico de lípidos en el modelo animal con dichos síntomas. De esta forma se pueden extrapolar los resultados y trasladar los hallazgos encontrados a humanos con la finalidad de explotar aspectos benéficos. La rata Zucker fa/fa cumple con todas las características anteriormente mencionados por la modificación genética encontradas en uno de los receptores de la leptina. A continuación se hace una descripción breve de la rata Zucker fa/fa .

2.5. MODELO ANIMAL (RATA ZUCKER fa/fa)

La rata Zucker es uno de los pocos modelos de obesidad heredable, con carácter autosómico recesivo y ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental de obesidad y es, sin duda, de gran utilidad. Este modelo se obtuvo por el cruce de ratas Sherman con Merck Stock M. en 1961 por Zucker y Zucker (Ver Figura 2.7).⁶⁹

La obesidad se manifiesta únicamente en los animales homocigotos mientras que los heterocigotos tienen fenotipo normal. Los homocigotos llegan a ser obesos, presentan hiperlipidemia y resistencia a la insulina.⁷⁰ La condición obesa es evidente a las 5 semanas, teniendo una aparición temprana a las 3 semanas de edad, la acumulación de grasa es tanto intraabdominal como subcutánea, llegando a alcanzar grados de obesidad extremos.⁷¹

A las 40 semanas de edad el “peso” de las ratas fa/fa es casi el doble a aquellas con genotipo heterocigoto $fa/+$. La hiperlipidemia aparece después del destete, pero sigue en aumento.



Fig. 2.7. Rata Zucker fa/fa , modelo de obesidad con un daño en el receptor de la leptina

La obesidad se hereda de modo recesivo. La rata zucker ^{fa/fa} es portadora de una mutación autosómica recesiva en el cromosoma 5 del gen del receptor de la leptina que produce la pérdida de función de esta proteína, los animales afectados presentan hiperfagia, son hiperlipidémicos, hipercolesterolémicos e hiperinsulinémicos, presentan hepatomegalia, un aumento de la actividad de la lipoproteín-lipasa (LPL) y de los niveles circulantes de ácidos grasos libres y aparición láctica del suero. Por ello la rata Zucker es el modelo mejor conocido y más usado de obesidad genética de comienzo precoz.⁷²

2.5.1. LEPTINA

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. Entre otras funciones de esta hormona es que 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 supuso un importante avance en el conocimiento de los mecanismos que regulan el balance energético. La disminución de los depósitos adiposos originaría un descenso del gasto energético. El aumento del tejido graso tendría un efecto contrario (Ver Figura 2.8.).

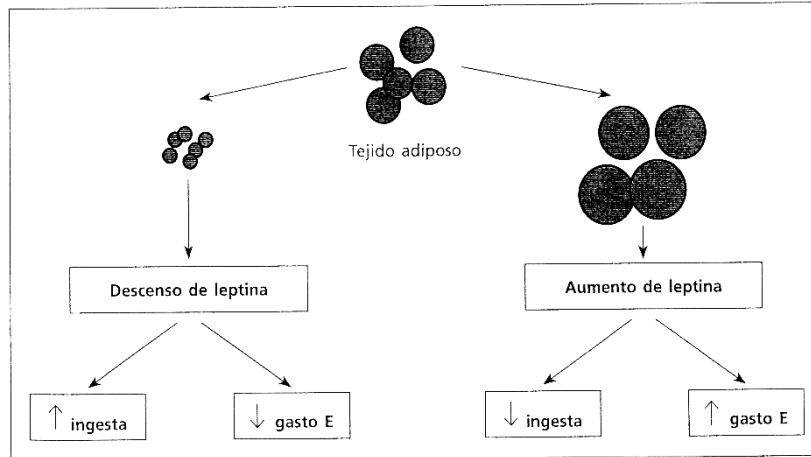


Fig. 2.8. Balance energético. Papel de la leptina como señal aferente²

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), el estatus hormonal (fundamentalmente en relación con la insulina) y de las citocinas.

En estudios conducidos tanto en animales así como en humanos se ha descrito cómo la deficiencia de leptina, o bien de su receptor, originaban hiperfagia y obesidad.² El tratamiento con leptina en animales deficientes es capaz de disminuir la ingestión y el “peso” corporal y de normalizar las alteraciones hormonales e inmunológicas.²

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 que los animales normales. Este dato indica que estas formas de obesidad están asociadas con leptino-resistencia.^{8,73}

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.

2.5.2. RECEPTOR DE LEPTINA

Una vez que la leptina es secretada por el tejido adiposo al torrente sanguíneo, debe llegar a sus órganos blanco y ser reconocida por los receptores proteínicos en la superficie de la membrana plasmática. A la fecha, se han detectado receptores para la leptina (Ob-R) en casi todos los tejidos y se han encontrado varias isoformas dependiendo del órgano blanco. El receptor más largo es un polipéptido de alrededor de mil aminoácidos insertado en la membrana plasmática en dominios extracelular, transmembranal e intracelular, lo que indica una posible función de transducción de la señal al interior de la célula. Este receptor es abundante en el hipotálamo, una región de gran importancia en la regulación del “peso” corporal. Un receptor de menor talla para la leptina ya que carece del dominio intracelular, se localiza en el hipotálamo y en tejidos como pulmones, riñones y cerebro, entre otros. Por último, hay un receptor aún más pequeño pues carece de los dominios intracelular y transmembranal y probablemente su función es transportar la leptina en el plasma.⁷⁴

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 los casos de tres hermanas 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.^{1,75}

CAPÍTULO 3. DISEÑO EXPERIMENTAL

La Figura 3.1 presenta el diagrama del diseño experimental.

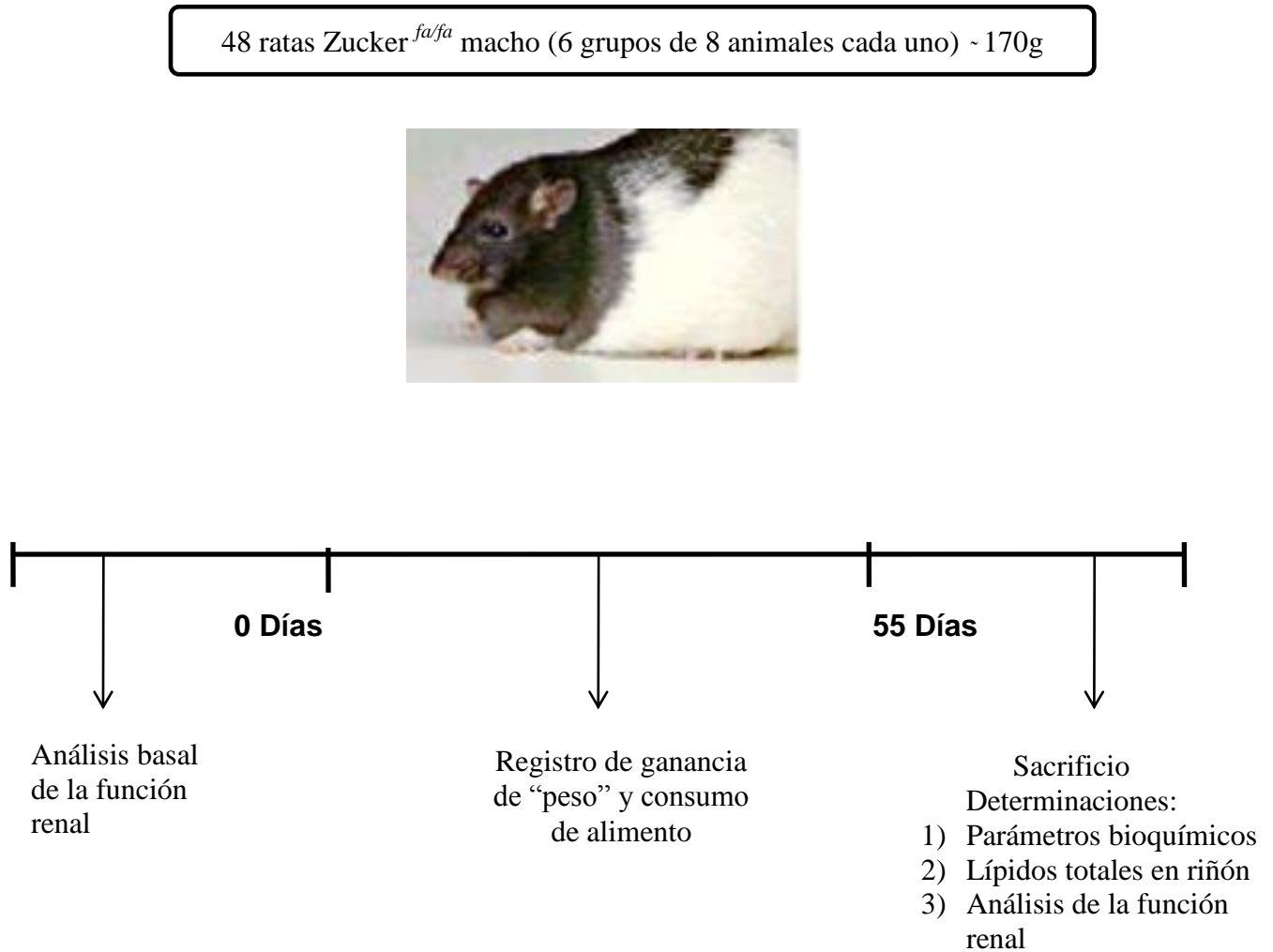


Fig. 3.1. Diseño experimental

3.1. DIAGRAMA DE BLOQUES

En la Figura 3.2 se muestra el diagrama de bloques de la experimentación realizada.

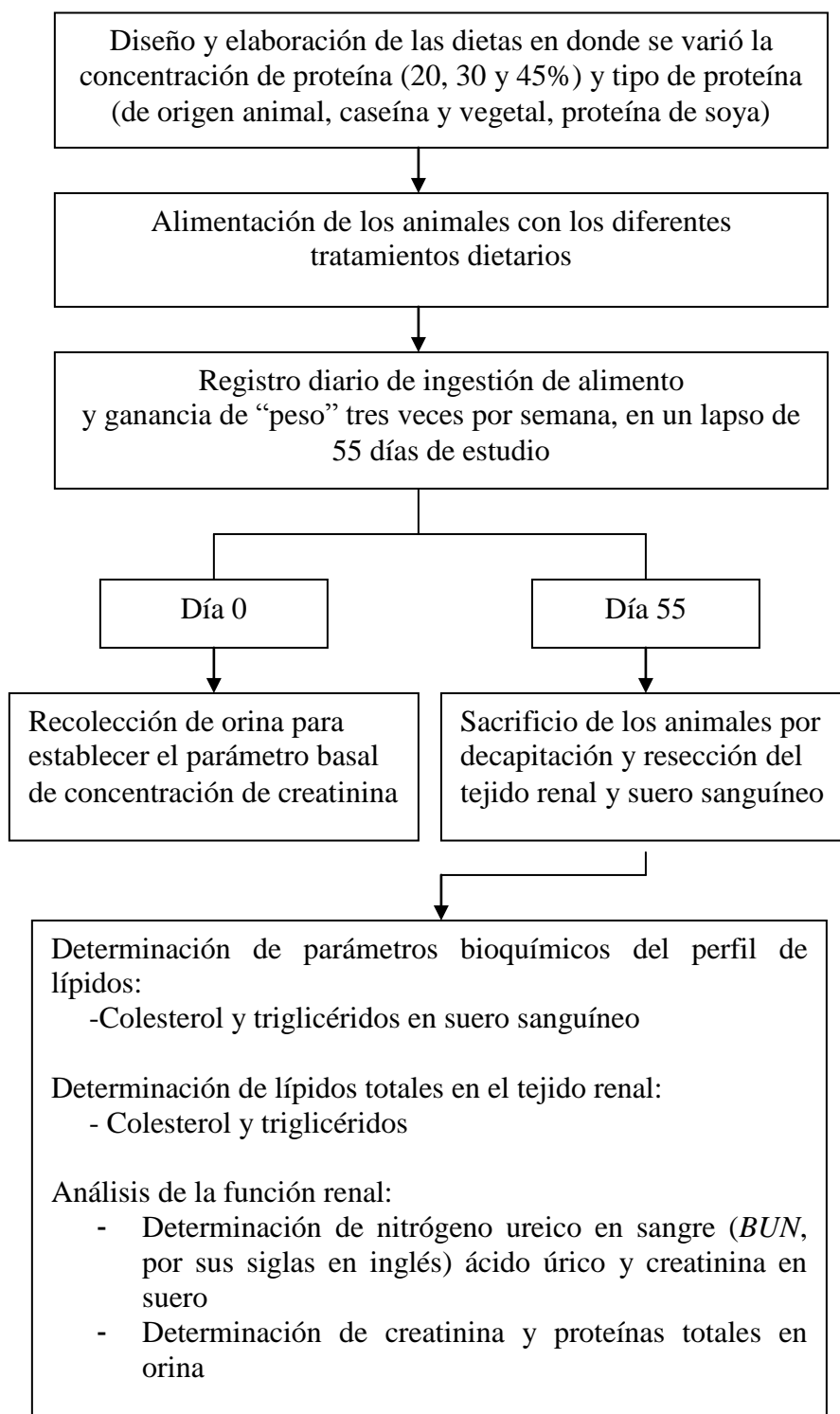


Fig. 3.2. Diagrama de bloques de la experimentación realizada

3.2. ANIMALES

Se utilizaron 48 ratas Zucker *fa/fa* 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. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto. 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 en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Dietas administradas a las ratas Zucker *fa/fa*

GRUPO	DIETA	CLAVE	OBSERVACIÓN DE LA DIETA
1	20% de proteína de caseína	C20	Dieta control
2	20% de proteína de soya	S20	Dieta control
3	30% de proteína de caseína	C30	Dieta moderadamente alta en proteína
4	30% de proteína de soya	S30	Dieta moderadamente alta en proteína
5	45% de proteína de caseína	C45	Dieta muy alta en proteína
6	45% de proteína de soya	S45	Dieta muy alta en proteína

3.3. ALIMENTACIÓN Y DIETA

Las dietas balanceadas estaban basadas en las recomendaciones reportadas por el Instituto Americano de Nutrición (American Institute of Nutrition, 1993)⁷⁶ sobre los requerimientos nutricionales de las ratas de laboratorio, incluyendo vitaminas y nutrimentos inorgánicos (Tablas 3.2, 3.3.).

Las dietas se administraron de manera oral, empleando comederos individuales de acero inoxidable con tapadera cuya capacidad era de 200g, las dietas fueron isocalóricas entre ellas, ver tabla 3.4, con estas dietas se cubrieron los requerimientos de proteínas y de grasas de las ratas con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, ya que el porcentaje de proteína que recomienda es del 20%, mientras que el requerimiento de grasa es el 5%⁷⁷ (Tabla 3.4.).

Características del alimento:

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

Tabla 3.2. Mezcla de nutrimentos inorgánicos (g/kg)

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	-----

Producto comercial de Harlan, Wisconsin, EEUU

Tabla 3.3. Mezcla de vitaminas (g/kg)

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

Producto comercial de Harlan, Wisconsin, EEUU

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 diariamente fueron pesados. Se mantuvieron en jaulas individuales.

DURACIÓN DEL ESTUDIO: El estudio tuvo una duración de 55 días.

MEDICIONES FISIOLÓGICAS: Se evaluó la ganancia de “peso” cada tercer día y el consumo de alimento diario, en los animales que se encontraban bajo los diferentes tratamientos dietarios. El registro de estos datos se llevó a cabo en una bitácora.

La Tabla 3.4. muestra la formulación de cada una de las dietas.

Tabla 3.4. Formulación de las dietas

	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 5	Dieta 6
	20%	20%	30%	30 %	45 %	45%
Ingredientes	Caseína	Soya	Caseína	Soya	Caseína	Soya
	(g/kg de dieta)	(g/kg de dieta)	(g/kg de dieta)	(g/kg de dieta)	(g/kg de dieta)	(g/kg de dieta)
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 (g)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Calorías proporcionadas (kcal/g)	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8

3.4. MÉTODOS

3.4.1. MEDICIONES DEL “PESO” E INGESTIÓN DE ALIMENTO

Se determinó la ganancia de “peso” y el consumo de alimento de los animales durante los 55 días de duración del experimento, empleando una balanza granataria (Sartorius, EEUU). El incremento de “peso” se evaluó cada tercer día, mientras que el consumo de alimento se determinó diariamente. Los comederos se llenaron cada tercer día.

3.4.2. RECOLECCIÓN DE ORINA

Al inicio y al final del tratamiento experimental los animales fueron colocados en cajas metabólicas, las cuales permiten separar la orina de las heces. Esto se hizo con la finalidad de recolectar orina de 12 horas. Se realizó la determinación de creatinina para conocer los valores basales, empleando la metodología descrita más adelante. Al final del experimento se determinó la concentración de proteínas totales.

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 CO₂ para evitar estrés y sufrimiento. Se colectó la sangre en tubos con gel separador y activador de la coagulación para la determinación de los siguientes parámetros: triglicéridos, colesterol, nitrógeno ureico en sangre (*BUN*), ácido úrico y creatinina, siguiendo la metodología descrita más adelante. Se extrajo el riñón, músculo, tejido adiposo, intestino (duodeno, yeyuno e ileon), corazón e hígado y se colocaron en solución salina, prepreparada previamente. Sólo se pesó el riñón derecho de cada animal. Todos los tejidos se mantuvieron en congelación a -80°C. Con el tejido renal se determinaron colesterol y triglicéridos, siguiendo la metodología descrita más adelante.

3.4.4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Un indicador importante de alteraciones en el metabolismo de los lípidos puede obtenerse mediante determinaciones de los niveles de colesterol y triglicéridos en suero y tejido renal, así como la evaluación de parámetros bioquímicos en suero y orina tales

como, creatinina, ácido úrico, nitrógeno ureico en sangre y proteínas totales para determinar alteraciones de la función renal. Las concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero se determinaron por medio de “kits” (Diagnostics Systems International, Alemania)⁷⁸ en los que se llevan a cabo reacciones enzimático-colorimétricas, cuyo producto se leyó en un espectrofotómetro (Beckman DU 640, EEUU) 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 & Dyer.⁷⁹ Este método se basa en la separación de la fracción lipídica de un tejido al ser homogeneizado en una solución orgánica. Al añadir agua y centrifugar (Beckman J2-MC, EEUU) se forman dos fases. En la fase superior se encuentran los compuestos hidrosolubles y en la fase inferior los hidrofóbicos con la solución orgánica, la cual al evaporarse concentra el contenido total de lípidos en el fondo del tubo, llamada pastilla. La pastilla lipídica se resuspende en isopropanol/tritón al 10%. Finalmente, se determina la concentración de colesterol y triglicéridos en el extracto, mediante una reacción enzimático-colorimétrica cuyo producto se lee en el espectrofotómetro.

3.4.6. ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN RENAL

La función renal se evaluó mediante la determinación de la creatinina, el nitrógeno ureico en sangre (*BUN*, por sus siglas en inglés, *blood ureic nitrogen*) y ácido úrico con estuches de reactivos de diagnóstico *in vitro*, con un “kit” Pointe Scientific, Inc, EEUU⁸⁰ que consisten en reacciones enzimático-colorimétricas cuyo producto se mide en un espectrofotómetro y proteínas totales por el método de Lowry, que es un método colorimétrico.⁸¹

3.5. FUNDAMENTOS DE LAS PRUEBAS

3.5.1. 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 esto la creatinina puede ser indicativo de una posible disfunción o insuficiencia renal.⁸²

Uso

Para la determinación cuantitativa de creatinina en suero y orina.

Significado clínico

Las determinaciones de creatinina se realizan con mayor frecuencia para ayudar a la determinación de la función renal.

Principio

Creatinina + Picrato de sodio $\xrightarrow{\text{Álcali}}$ Complejo creatinina-Picrato (amarillo-naranja)

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

Material necesario

1. Micropipetas
2. Tubos / soporte de tubos (*rack*)
3. Espectrofotómetro con una cubeta de temperatura controlada
4. Termo-Block (37°C)

Parámetros para el espectrofotómetro (Beckman DU 640, EEUU)

Longitud de onda: 510nm

Relación Muestra / Reactivo: 1:20

Temperatura: 37°C

Tiempo de inicio: 60 segundos

Tiempo de vaciado: 60 segundos

Procedimiento de acuerdo a las instrucciones del “kit” Pointe Scientific, Inc, EEUU⁸⁰

1. Preparar reactivos de trabajo según las instrucciones
2. Ajustar el espectrofotómetro de cubetas de temperatura a 37°C
3. Agregar 1.0 mL de reactivo de trabajo en cada tubo
4. Ajustar el espectrofotómetro a cero con el reactivo blanco a 510 nm
5. Añadir 0.05 mL (50µL) de la muestra o estándar, mezclar
6. Exactamente después de sesenta segundos leer y anotar la absorbancia (A1)
7. Exactamente sesenta segundos después de la lectura A1, una vez más leer y anotar la absorbancia (A2), es decir, el tiempo transcurrido entre A1 y A2 es sesenta segundos
8. Calcular el cambio de absorbancia (Δ Abs / min) restando (A2-A1)

Valores esperados

En humanos: 0.40 -1.40 mg / dL en suero.

En rata Zucker ^{fa/fa}: 0.56 - 0.57 mg/dL (Reportado por Harlan EEUU)⁷²

3.5.2. 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 (riñón). 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 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 nitrógeno ureico en sangre aumentan.⁸²

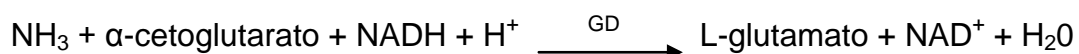
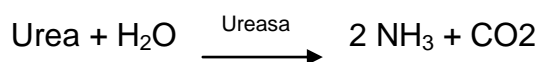
Uso

Para la determinación cuantitativa del nitrógeno ureico en el suero.

Significado clínico

La determinación del nitrógeno ureico en el suero, se utiliza ampliamente como una prueba de selección de la función renal. Cuando se usa en conjunto con la determinación de creatinina en suero es útil en el diagnóstico diferencial de los tres tipos de azotemia; pre-renal, renal y post-renal. La azotemia es un tipo de neurotoxicidad. Está presente cuando hay un exceso de compuestos nitrogenados en sangre y dependiendo del origen de su causa se clasifican en tres tipos (pre-renal, renal y post-renal).

Principio



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

Material necesario

1. Pipetas (10 μ L y 1.0mL)
2. Cronómetro (Intervalos de 30 y 60 segundos)
3. Tubos / Soporte de tubos (*rack*)
4. Espectrofotómetro con una temperatura controlada, cubeta a 340nm

Parámetros para el espectrofotómetro (Beckman DU 640, EEUU)

Longitud de onda: 340 nm

Relación Muestra / Reactivo: 1:101

Temperatura: 37°C

Tiempo de inicio: 30 segundos

Tiempo de vaciado: 60 segundos

Procedimiento de acuerdo a las instrucciones del “kit” Pointe Scientific, Inc, EEUU⁸⁰

1. Preparar los reactivos de trabajo según las instrucciones
2. Calibrar el espectrofotómetro con agua a 340 nm
3. Agregar 1 mL de reactivo en tubos de ensayo, permitir llegar a 37°C
4. Añadir 0.01mL (10µL) de estándar o la muestra en tubos de ensayo e inmediatamente colocarlos en el espectrofotómetro
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, que es el cambio entre las dos lecturas (A1-A2)
8. Repetir el proceso para cada muestra
9. Llevar a cabo el cálculo correspondiente para la determinación de resultados

Valores esperados

En humanos: 7-18 mg/dL

En ratas Zucker ^{fa/fa}: 18-21mg/dL (Reportado por Harlan EEUU)⁷²

3.5.3. ÁCIDO ÚRICO

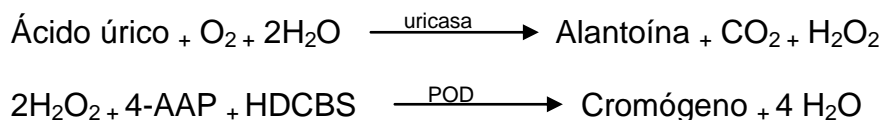
El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas. Este componente se filtra libremente por el glomérulo, y es reabsorbido en su mayor parte por los túbulos, se

encuentra en la orina en pequeñas cantidades. En la sangre humana, la concentración de ácido úrico está comprendida entre 2.5 y 7.7 mg/L y es considerada normal. Niveles por encima de estos valores pueden indicar daño renal. Tres estados patológicos principales se relacionan con la concentración alta de ácido úrico: gota, catabolismo incrementado de ácidos nucleicos y enfermedad renal.⁸²

Significado clínico

La determinación de ácido úrico en suero se practica comúnmente para el diagnóstico de gota. También se encuentran niveles altos de ácido úrico en leucemia, policitemia, hiperuricemia ideopática familiar y condiciones asociadas con el decremento de la función renal. La enzima uricasa ha sido comúnmente usada para determinaciones de ácido úrico por su mejor especificidad. Este método utiliza el acoplamiento de 4-aminoantipirina (4-AAP). 2-Hidroxi-3,5-Dicloro-benceno-sulfato (HDCBS) y peróxido de hidrógeno y la presencia de peroxidasa para obtener un cromógeno medido a 520nm.

Principio



El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno, HDCBS +4-AAP + peróxido de hidrógeno, producen un cromógeno rojo que se mide a 520nm. La absorbancia a 520nm es proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra.

Reactivos

Reactivo de ácido úrico: 4-AAP 0.2mM, HDBS 2mM, uricasa (microbiana) 150U/L, Amortiguador (*Buffer*) pH 7.6-7.7 estabilizadores no reactivos, Azida de sodio 0.02%.

El reactivo está listo para usarse. El reactivo se guarda de 2-8°C

Material

Reactivo de ácido úrico

Pipetas automatizadas

Cronómetro

Tubos de ensayo

Espectrofotómetro con capacidad de leer a 520nm

Bloque térmico

Estándar o calibrador de ácido úrico

Sueros control de ácido úrico normal y anormal con concentración conocida

Parámetros para el espectrofotómetro (Beckman DU 640, EEUU)

Longitud de onda	520nm
Tipo de ensayo	punto final
Relación muestra/reactivo	1:41
Dirección de la reacción	incremento
Temperatura	37°C
Tiempo de incubación	600 segundos

Procedimiento de acuerdo a las instrucciones del “kit” Pointe Scientific, Inc, EEUU⁸⁰

1. Identificar los tubos blanco, estándar, muestra, etc.
2. Agregar 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 mezcle
5. Incubar todos los tubos a 37°C por 10min.
6. Ajustar el espectrofotómetro a 0 con blanco de reactivo a 520nm. Leer y anotar absorbancias

Valores esperados

En humanos: 2.5 - 7.7 mg/dL

En ratas Zucker ^{fa/fa}: 1.40 mg/dL (Reportado por Harlan EEUU)⁷²

3.5.4. PROTEÍNAS TOTALES⁸¹

Uso

Para la cuantificación de proteína total en orina.

Significado clínico

La determinación de las proteínas totales es útil en la evaluación de desordenes metabólicos y renales.

La proteinuria es la presencia de proteína en la orina en cuantía superior a 150 mg en la orina de 24 horas. La causa se puede deber a una alteración del glomérulo que permite que las proteínas pasan al filtrado glomerular o a una alteración del túbulo que no las reabsorbe.

Principio

El método de Lowry (1951)⁸² es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas. A la muestra se añade un reactivo que forma un complejo coloreado con las proteínas, siendo la intensidad de color de la disolución resultante proporcional a la concentración de proteínas. Este método consta de dos etapas:

- 1) Los iones Cu^{2+} , en medio alcalino, se unen a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos Cu^{2+} -proteína tienen un color azul claro. Además, provocan el desdoblamiento de la estructura tridimensional de la proteína, exponiéndose los residuos de tirosina que van a participar en la segunda etapa de la reacción. El Cu^{2+} se mantiene en solución alcalina en forma de su complejo con tartrato.
- 2) La reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina presentes en la mayoría de las proteínas, actuando el cobre como

catalizador. El principal constituyente del reactivo de Folin-Ciocalteu es el ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico, de color amarillo, que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso.

Material y reactivos

1. Micropipetas
2. Tubos / Soporte de tubos (*rack*)
3. Espectrofotómetro con una cubeta de temperatura controlada
4. Vórtex.

Reactivos

- Reactivo A: Solución cobre-tartrato-carbonato, SDS 5% y NaOH 0.8M
- Reactivo B: Reactivo de Folin 2N y agua desionizada
- Solución patrón de albúmina de suero bovino (BSA) de concentración 2 mg/mL
- Muestra problema (orina)

Parámetros

Longitud de onda: 750nm

Temperatura: 25°C

Tiempo de incubación: 30min

Procedimiento experimental

Preparar estándares de albúmina sérica bovina (BSA) de 2 mg/mL. Disolver 20 mg de albúmina en 10 mL de agua desionizada y separar en alícuotas de 1.3 mL. Para preparar la curva patrón tomar:

500 μ L de la alícuota original (2mg/mL) + 500 μ l de agua desionizada = 1.0 mg/mL

250 μ L de la alícuota original (2mg/mL) + 750 μ l de agua desionizada = 0.5 mg/mL

125 μ L de la alícuota original (2mg/mL) + 875 μ l de agua desionizada = 0.25 mg/mL

62.5 μ L de la alícuota original (2mg/mL) + 937.5 μ l de agua desionizada = 0.125 mg/mL

Las muestras de orina se precipitan con ácido tricloroacético 10% y se resuspenden en hidróxido de sodio 0.5 N. Realizar una dilución 1:20 de todas las muestras de orina. Tomar 20 µL de cada muestra así como de cada punto de la curva patrón y colocarlas por separado en tubos de ensayo. A cada tubo se le agrega 1 mL de reactivo A, mezclar en vórtex e incubar a temperatura ambiente por 10 minutos. Agregar 0.5 mL del reactivo B a cada tubo, mezclar en vórtex e incubar por 30 minutos, transcurrido el tiempo leer en el espectrofotómetro a 750nm.

Valores esperados

En humanos: menor a 150mg/24 h

En rata Zucker ^{fa/fa}: 59-77 g/L (Reportado por Harlan EEUU)⁷²

3.5.5. 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 la apolipoproteínas. Mientras la lipoproteína *LDL (low density lipoprotein)* está involucrada en el transporte del colesterol a las células periféricas, la lipoproteína *HDL (high density lipoprotein)* es la responsable de la captación del colesterol desde las células de los tejidos hacia el hígado para su excreción.⁸³

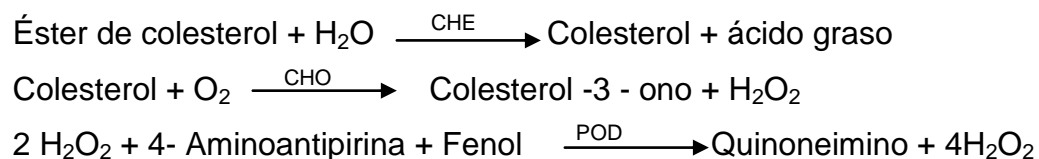
Uso

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 quinoneimino 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)	≥ 200 U/L
Colesterol oxidasa	(CHO)	≥ 50 U/L
Peroxidasa	(POD)	≥ 3 kU/L
Estándar		200 mg/dL (5.2 mmol/L)

Procedimiento de acuerdo al “kit” Diagnostic Systems Internacional⁷⁸

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

Mezclar e 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 esperados

En humanos: deseable, ≤ 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)

En rata Zucker ^{fa/fa} : 92.03- 174.40mg/dL (Reportado por Harlan EEUU)⁷²

3.5.6. TRIGLICÉRIDOS

Otro tipo de lípidos importantes son los triglicéridos, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificados sus tres grupos hidroxilo por 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 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.⁸²

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.⁸²

Uso

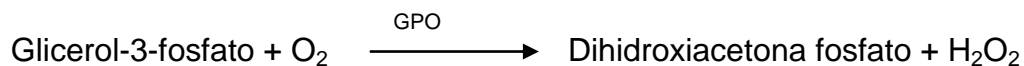
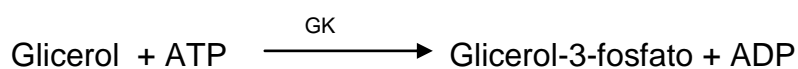
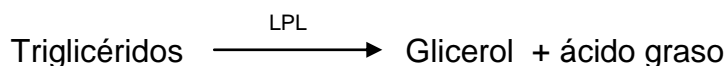
Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de triglicéridos en suero o plasma en sistemas fotométricos.

Significado clínico

La medición de los triglicéridos se usa en el control del estado de los lípidos para detectar riesgos de aterosclerosis. Concentraciones elevadas de triglicéridos

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

Principio



Determinación de los triglicéridos después de la división enzimática con la lipoproteín-lipasa. El indicador es la quinoneimina la cual se genera a partir de la 4-amino-antipirina y el 4-clorofenol por el peróxido de hidrógeno bajo la acción catalítica de la peroxidasa.

Reactivos

Componentes y concentraciones en la prueba

Reactivo:

Solución amortiguadora	pH 7.2	50 mmol/L
4-Clorofenol		4 mmol/L
ATP		2 mmol/L
Mg ²⁺		15 mmol/L
Glicerocinasa	(GK)	≥ 0.4 kU/L
Peroxidasa	(POD)	≥ 2 kU/L
Lipoproteín lipasa -	(LPL)	≥ 2 kU/L
4-Amino-antipirina		0.5 mmol/L
Glicerol-3-fosfato-oxidasa	(GPO)	≥ 0.5 kU/L
Estándar		200 mg/ dL (2.3 mmol/L)

Material necesario

Reactivo de triglicéridos

Pipetas automatizadas

Cronómetro

Tubos de ensayo

Espectrofotómetro con capacidad de leer a 520nm

Bloque térmico

Estándar o calibrador de triglicéridos

Procedimiento de acuerdo al “kit” Diagnostic Systems Internacional⁷⁸

1. Identificar los tubos del blanco, estándar y muestra.
2. Agregar 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 mezcle.
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: deseable, <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)

En ratas Zucker^{fa/fa}: 152.22-692.95 mg/dL (Reportado por Harlan, EEUU)⁷²

3.5.7. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS EN RIÑÓN (TÉCNICA DE Blich & Dyer)⁷⁹

Uso

Para la extracción de lípidos totales en tejidos y posteriormente conocer su concentración mediante el método enzimático-colorimétrico.

Procedimiento

- 1.- Tomar 100 mg de tejido renal y agregar 900 μ L de NaCl 1M.
- 2.- Con pistilo homogeneizar en 1.5 mL de una mezcla de CHCl_3 / MetOH (1:2).
- 3.- Vaciar a un tubo de vidrio en hielo.
- 4.- Agitar en un vórtex.
- 5.- Pipetear 500 μ L de CHCl_3 .
- 6.- Agitar en un 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_3 y extraer 700 μ L de la fase inferior.
- 10.- Pasar la fase inferior en un tubo con rosca.
- 11.- Secar en N_2 y almacenar a 4 °C.
- 12.- Resuspender la pastilla en 50 μ L de isopropanol/tritón al 10%.
- 13.- Colocar en refrigeración.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos son presentados como el promedio \pm el error promedio estándar (SEM, por sus siglas en inglés, std error mean). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) de una vía, cuando las diferencias fueron significativas se evaluaron por la prueba t de "student". Las diferencias fueron significativas a un valor de $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico JMP6 6.0.3 para MAC 2006 (de acuerdo con la paquetería computarizada correspondiente).

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS BASAL DE ORINA

Previo al inicio del tratamiento dietario se determinó la concentración de creatinina en orina, con el fin de conocer el valor basal para determinar el funcionamiento renal. Las determinaciones se realizaron en cuatro ratas Zucker ^{fa/fa} tomadas en forma aleatoria previo al inicio del tratamiento experimental (la edad de las ratas era de 3 a 4 semanas), las cuales se consideran que son representativas de los seis grupos estudiados ya que aún no habían sido sometidas al tratamiento dietario experimental. Los datos obtenidos se consideran normales, debido a que se encuentran dentro del rango de la normalidad (< 30 mg/dL), con un promedio de 17.29 ± 2.18 (Tabla 4.1.).

Tabla 4.1. Determinación de creatinina en orina de ratas Zucker ^{fa/fa} previo al tratamiento dietario (n = 4 ± SEM)

Grupo	Creatinina en orina mg/dL
Basal	X= 17.29 ± 2.18

4.2. CONSUMO DE ALIMENTO Y CALORÍAS INGERIDAS

Durante el desarrollo del experimento se llevó a cabo la alimentación de 48 ratas Zucker ^{fa/fa} con los seis diferentes tratamiento dietarios indicados en la Tabla 3.4.

Con respecto a la concentración de proteína dietaria, en los grupos alimentados con la proteína de soya no se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto para el consumo de alimento y calorías ingeridas entre los diferentes grupos. Sin embargo, los grupos alimentados con la proteína de caseína se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo alimentado al 20% y al 30% de caseína. Al comparar el tipo de proteína a la misma concentración, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre caseína al 20% y soya al 20% (Gráficas 1 a 2).

Sin embargo, los resultados obtenidos de consumo de alimento y calorías ingeridas que se muestran en las Tablas 4.2 y 4.3, respectivamente, muestran una tendencia a disminuir la cantidad de alimento ingerido y, por lo tanto, de calorías ingeridas conforme se aumenta la concentración de proteína dietaria. Adicionalmente, con respecto al tipo de proteína se observa un mayor consumo de alimento en los animales alimentados con proteína de origen vegetal comparado con los animales alimentados con proteína de origen animal.

Tabla 4.2. Consumo de alimento de los tratamientos dietarios en ratas Zucker ^{fa/fa}.

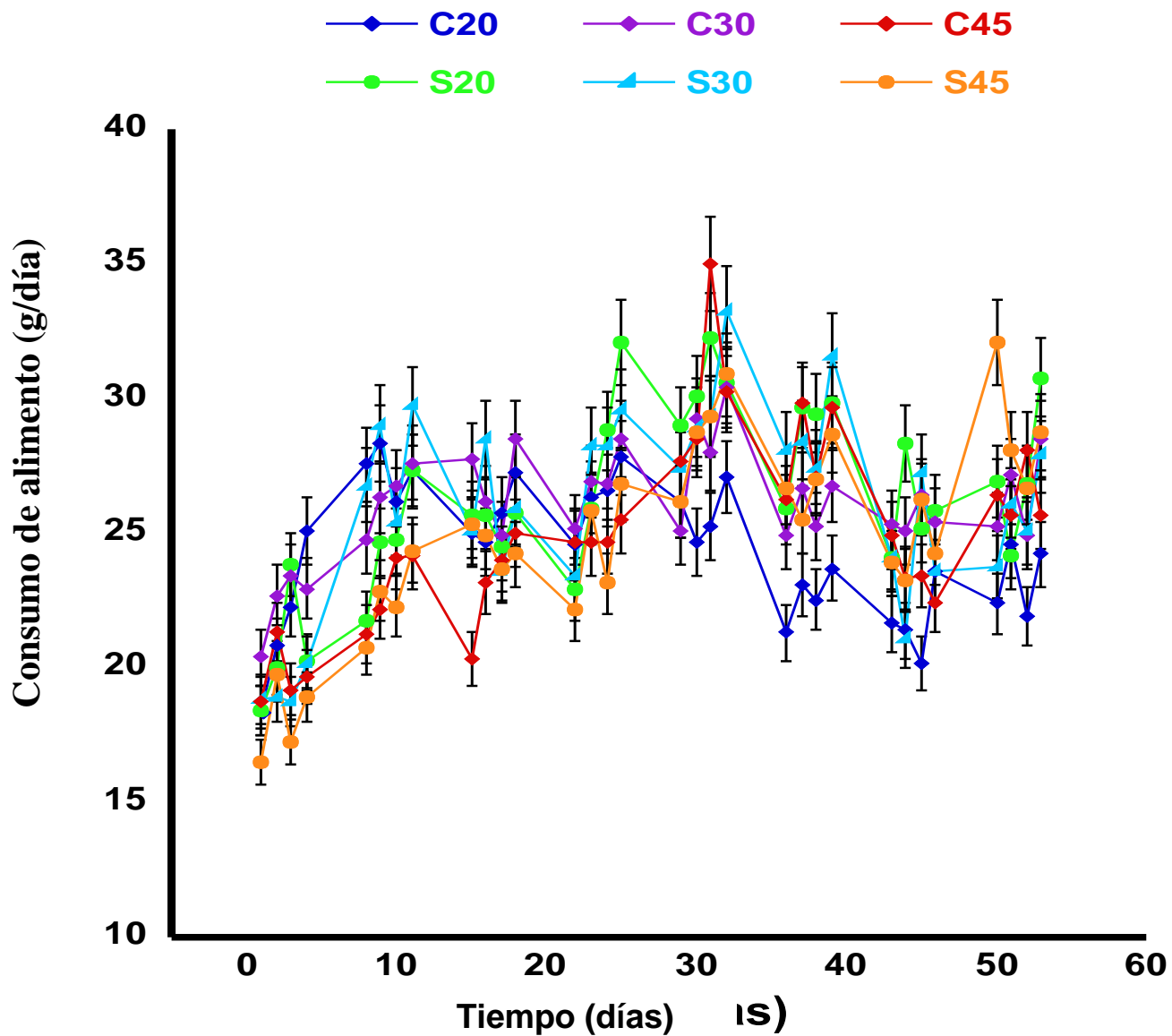
Grupo	Grupo	Consumo por día promedio de alimento (g)	Análisis estadístico (t student $\alpha = 0.05$)
C20	20% Caseína	23.86	b
S20	20% Soya	29.17	a
C30	30% Caseína	27.31	a
S30	30% Soya	28.70	a
C45	45% Caseína	26.20	a,b
S45	45% Soya	26.14	a,b

Los datos son presentados como el promedio del consumo de alimento de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b$

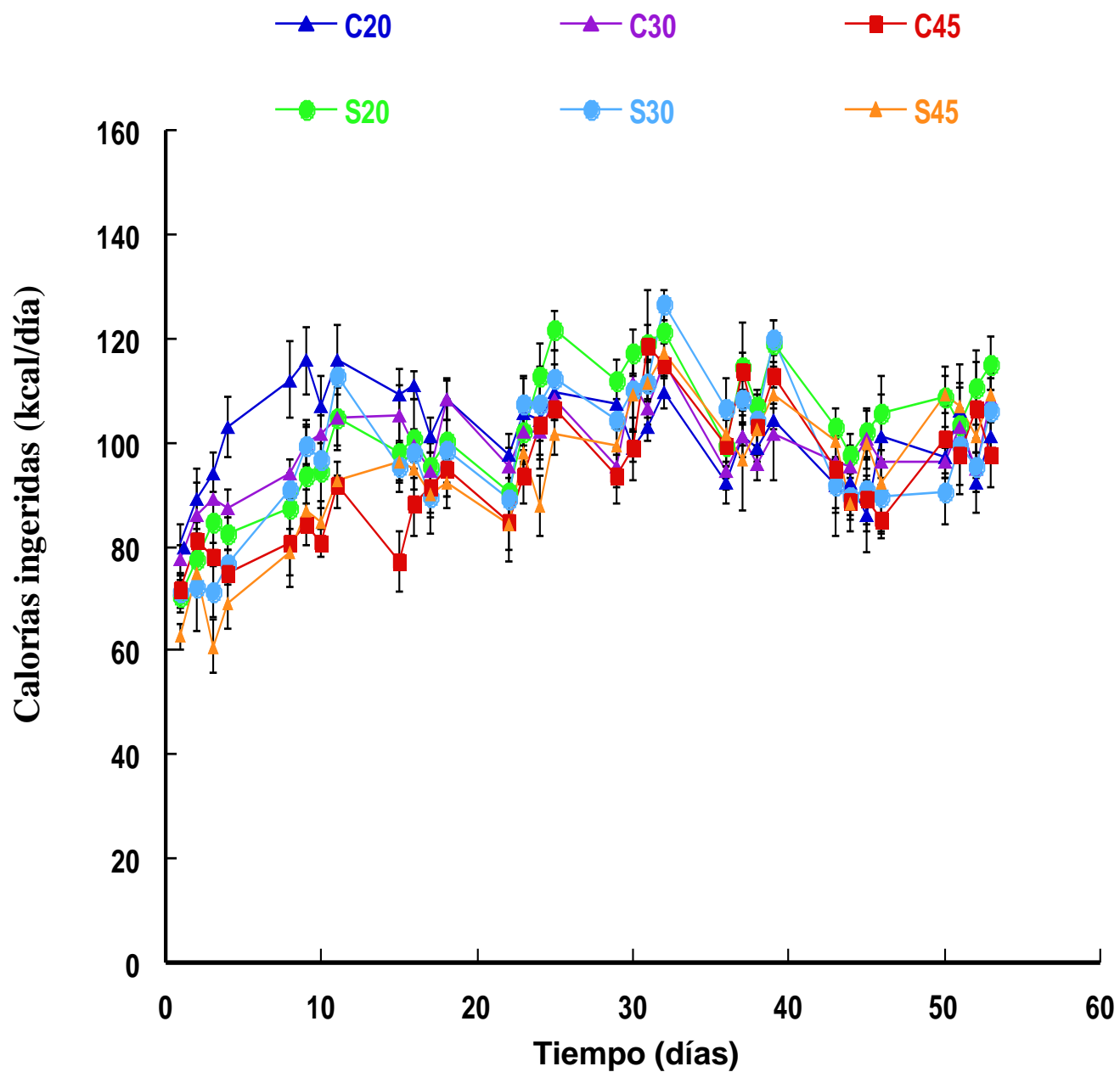
Tabla 4.3. Calorías ingeridas en ratas Zucker ^{fa/fa} con los diferentes tratamientos dietarios

Grupo	Grupo	Calorías por día ingeridas promedio (kcal/g)	Análisis estadístico (t student $\alpha = 0.05$)
C20	20% Caseína	90.66	B
S20	20% Soya	110.84	A
C30	30% Caseína	103.77	A
S30	30% Soya	109.06	A
C45	45% Caseína	99.56	a,b
S45	45% Soya	99.33	a,b

Los datos se presentan como el promedio de las calorías ingeridas de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b$



Gráfica 1. Consumo de alimento de las ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM del consumo de alimento de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$



Gráfica 2. Calorías ingeridas por las ratas Zucker *fa/fa*. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de las calorías ingeridas de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$

4.3. GANANCIA DE “PESO”

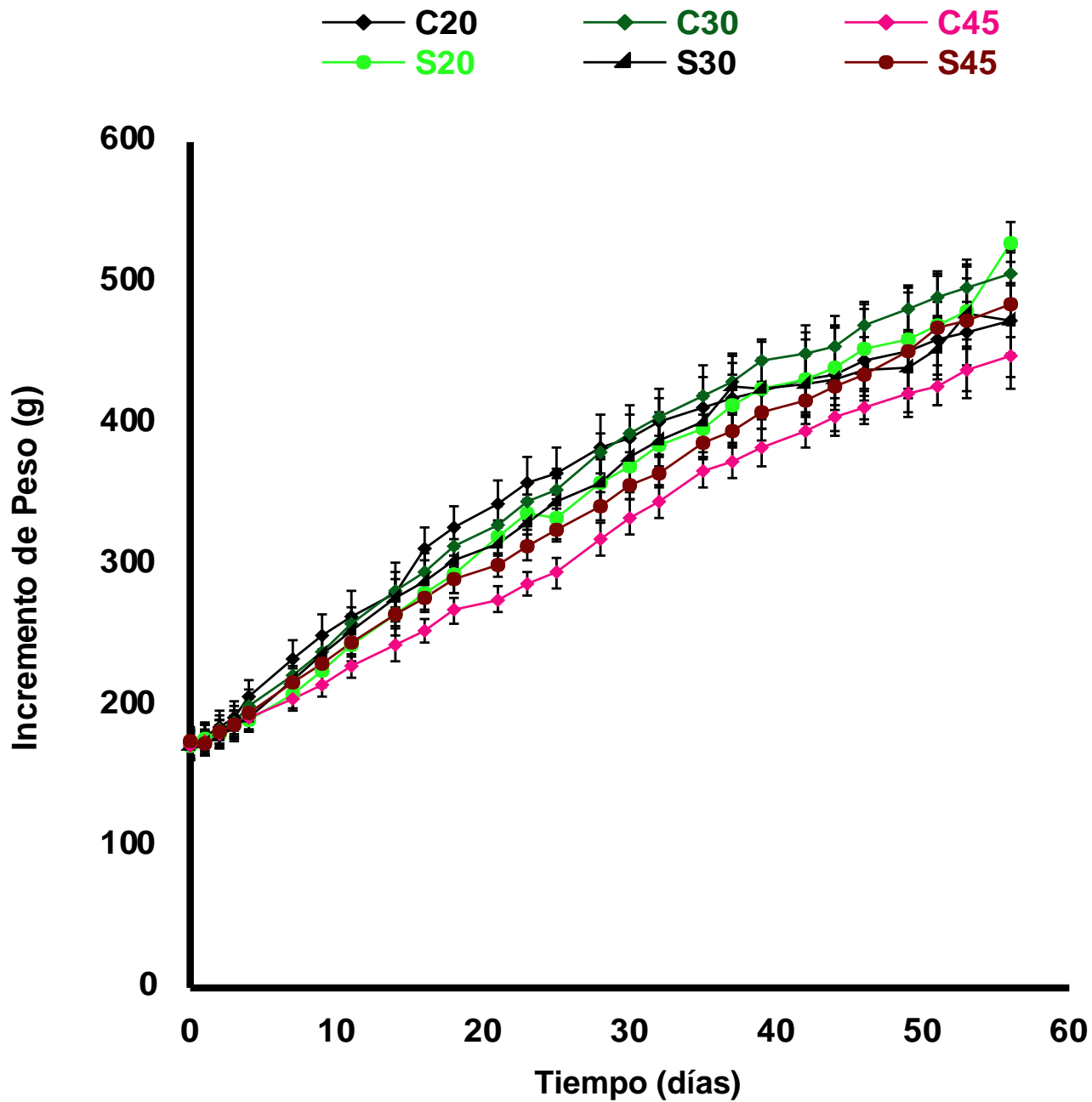
De acuerdo con los resultados obtenidos, la ganancia de “peso” cuyos datos se muestran en la Gráfica 3 y Tabla 4.4, se observa una disminución de la ganancia de “peso” conforme aumenta la concentración de proteína, específicamente en caseína alcanza la diferencia estadística al 45% con respecto al 20 y 30%. En el caso de los grupos alimentados con la proteína de soya se observa esta tendencia hacia la disminución de ganancia de “peso”, sin embargo el grupo alimentado al 30% alcanza la diferencia estadística con respecto al 20%.

Analizando los dos tipos de proteína a la misma concentración, se puede observar que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ellos (Tabla 4.2).

Tabla 4.4. “Peso” final de cada grupo después del tratamiento dietario en ratas Zucker
fa/fa.

Grupo	Grupo	“Peso” final (g)	Ganancia neta de “peso” (g)	Análisis estadístico (t student $\alpha = 0.05$)
C20	20% Caseína	517.63	343.74	a,b
S20	20% Soya	528.59	356.59	a
C30	30% Caseína	506.01	333.27	a,b
S30	30% Soya	474.10	302.36	b,c
C45	45% Caseína	448.05	276.43	c
S45	45% Soya	491.76	317.19	a,b,c

Los datos se presentan como el peso promedio por grupo al final del estudio y la ganancia neta de peso a lo largo de los 55 días de tratamiento experimental (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b > c$



Gráfica 3. Ganancia de “peso” de las ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM del incremento de “peso” de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$

4.4. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS EN SUERO

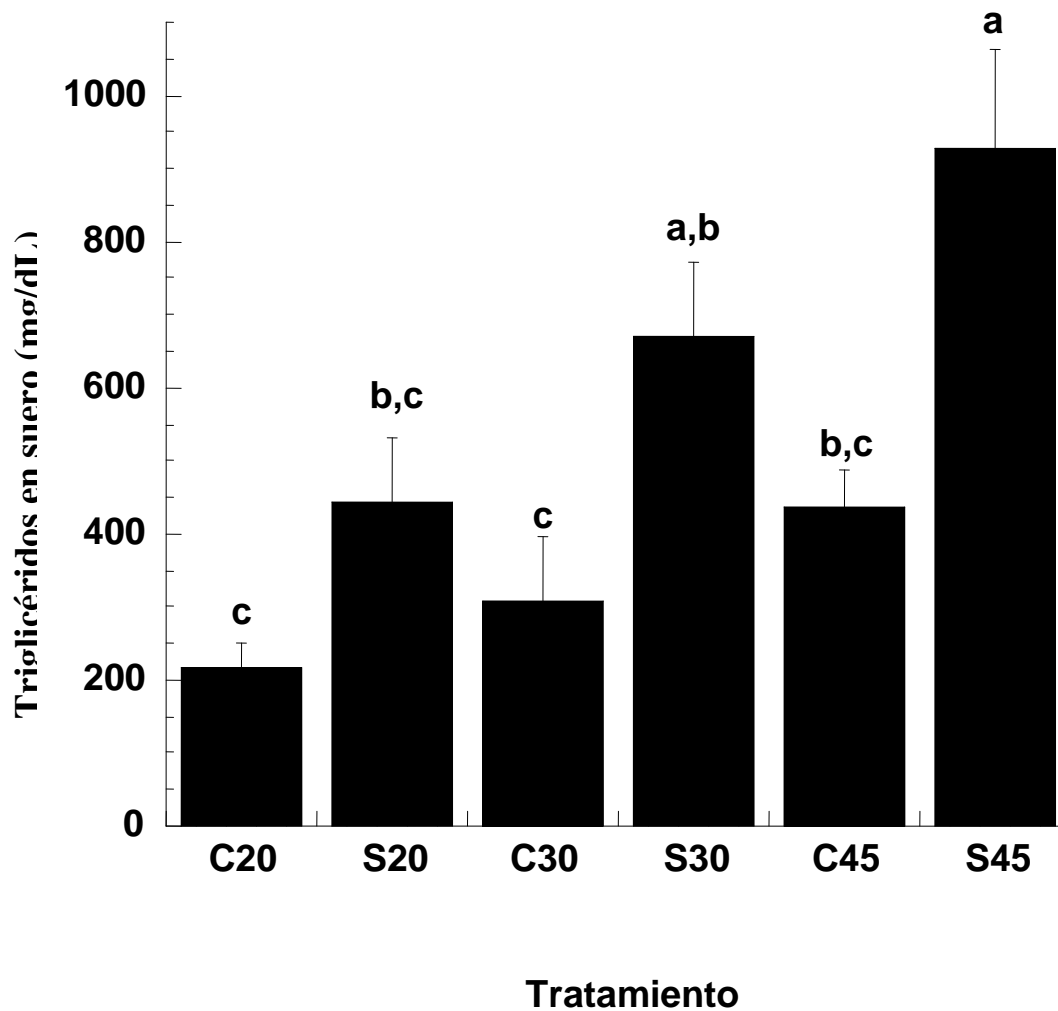
Con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria sobre el metabolismo intrarrenal y sistémico de lípidos en un modelo de obesidad genético como es la rata Zucker ^{fa/fa}, se llevó a cabo la determinación de diferentes parámetros bioquímicos en suero y en el tejido renal.

4.4.1. CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS EN SUERO

En la determinación de los parámetros bioquímicos del perfil de lípidos en suero, los valores de triglicéridos en todos los grupos de estudio se encontraron por arriba de los considerados normales (Triglicéridos < 200mg/dL), encontrando que todos los grupos experimentales de ratas Zucker presentaban hipertrigliceridemia.

Se observa en la Gráfica 4, que conforme aumenta la concentración de proteína dietaria independientemente del origen, aumenta la concentración de triglicéridos en suero sanguíneo; en cuanto al tipo de proteína se observa que los grupos de animales que ingirieron proteína de origen vegetal la cantidad de triglicéridos es mayor (casi el doble) con respecto a los que ingirieron proteína de origen animal, estadísticamente existe diferencia entre (C30 y S30) y (C45 y S45).

En cuanto a los animales que ingirieron diferentes concentraciones de caseína, no hay diferencia estadística significativa y para aquellos que ingirieron soya, solo hay diferencia significativa entre S20 y S45.

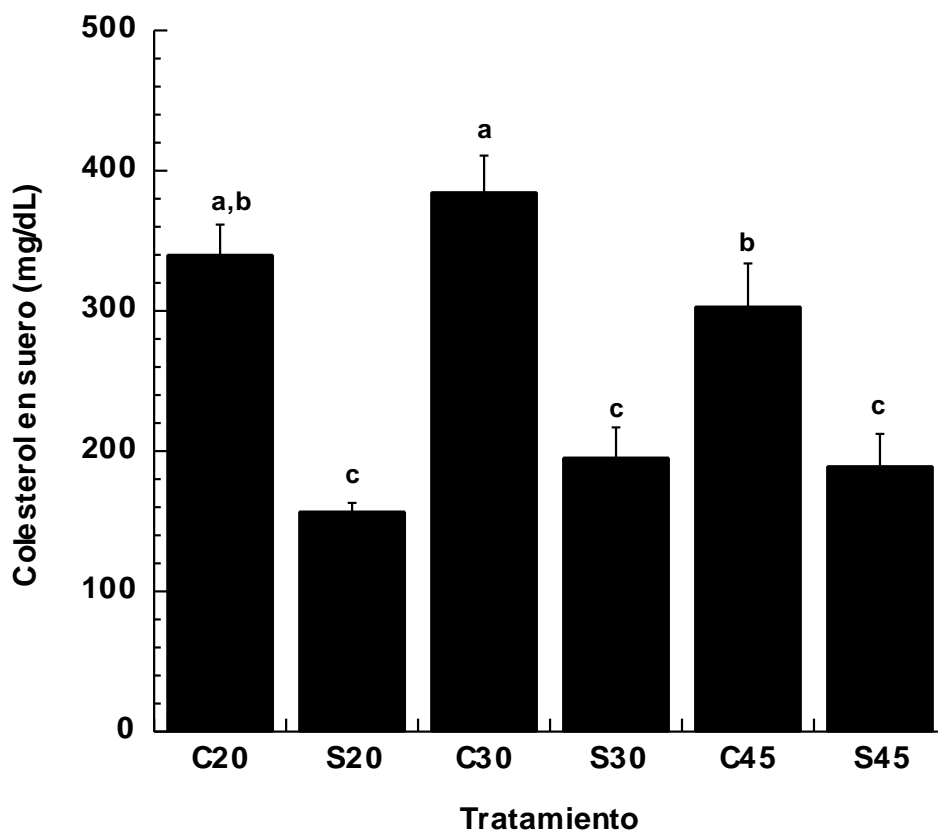


Gráfica 4. Concentración de triglicéridos en suero en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de triglicéridos en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t student*, con una diferencia significativa de $p<0.05$, donde $a>b>c$

4.4.2. CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL EN SUERO

En cuanto al tipo de proteína en la formulación de la dieta en los grupos de animales alimentados con caseína, la concentración de colesterol en suero se encontró por arriba de los valores considerados normales (Colesterol < 200 mg/dL), por lo tanto, presentaron hipercolesterolemia. Los grupos alimentados con proteína de soya mostraron una concentración de colesterol menor con respecto a los de caseína (Gráfica 5) y, además, estaban dentro de los valores considerados normal.

Estadísticamente existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en la concentración de colesterol en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración. En los grupos alimentados con diferente concentración de soya no hay diferencia estadística, y en los grupos alimentados con diferente concentración de caseína solo hay diferencia entre C30 y C45.



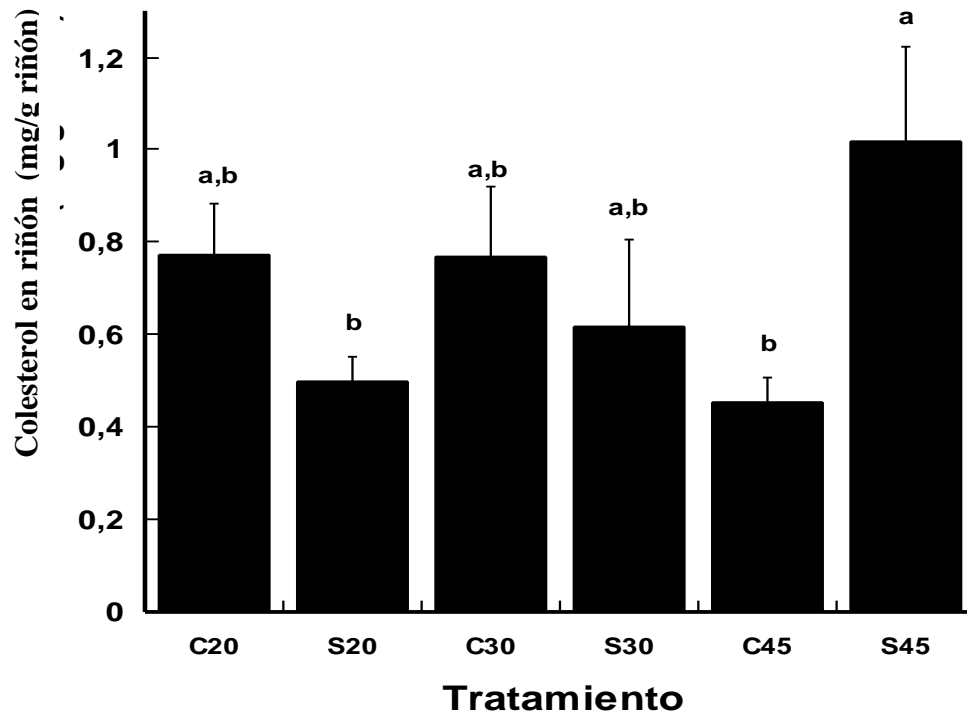
Gráfica 5. Concentración de colesterol en suero sanguíneo en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de colesterol en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$, donde $a>b>c$

4.5. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES EN TEJIDO RENAL

4.5.1. COLESTEROL EN TEJIDO RENAL

En la determinación de colesterol en el tejido renal se observó que, conforme aumenta la concentración de proteína, aumentó la concentración de colesterol, a excepción del grupo alimentado con 45% de caseína. Adicionalmente, se observa que la soya presenta un efecto benéfico para disminuir estos valores (S20, S30 < C20, C30). Sin embargo, esto no sucedió en los grupos alimentados con un 45% de proteína de soya, ya que se observó que la soya aumentó notablemente la concentración de colesterol (ver Gráfica 6).

Estadísticamente no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en la concentración de colesterol en el tejido renal, en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración a excepción con 45% de proteína donde los grupos alimentados con soya presentaron una mayor concentración. En los grupos alimentados con diferente concentración de soya, sólo hay diferencia entre S20 y S45, y en los grupos alimentados con diferente concentración de caseína no hay diferencia estadística.

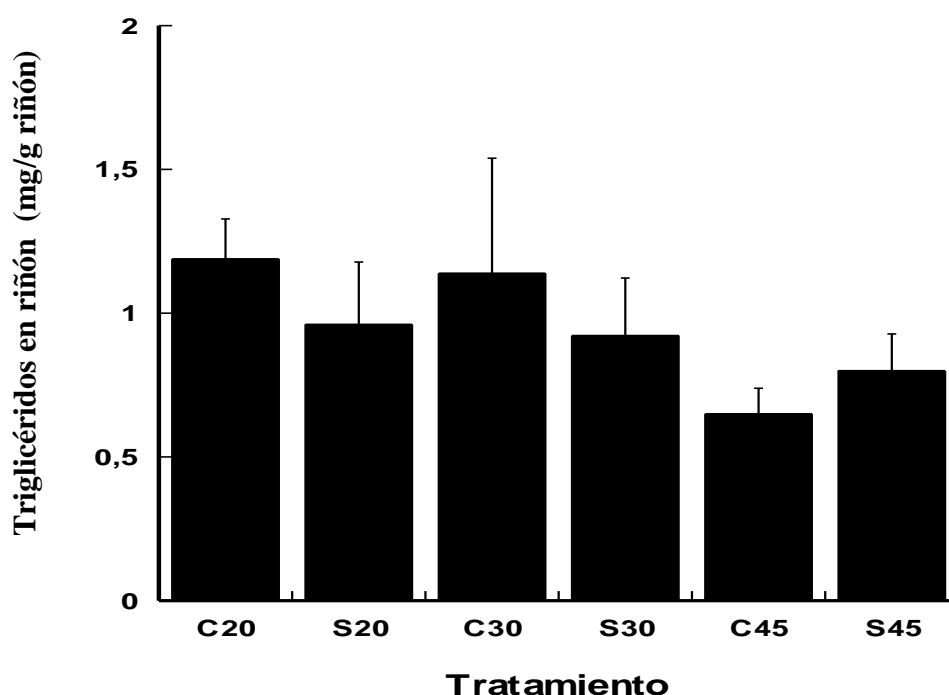


Gráfica 6. Concentración de colesterol en riñón en ratas Zucker^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de colesterol en riñón de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b$

4.5.2. TRIGLICÉRIDOS EN TEJIDO RENAL

En la determinación de triglicéridos en el tejido renal se observó una ligera tendencia a disminuir la concentración de triglicéridos conforme aumenta la concentración de proteína, tanto para soya como para caseína. Los animales que fueron alimentados con soya al 20 y al 30% disminuyeron ligeramente la concentración de triglicéridos en el tejido renal y al 45% ocurrió lo contrario (ver Gráfica 7).

Estadísticamente no hay diferencia significativas entre los seis grupos en estudio.



Gráfica 7. Concentración de triglicéridos en riñón en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de triglicéridos en riñón de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$.

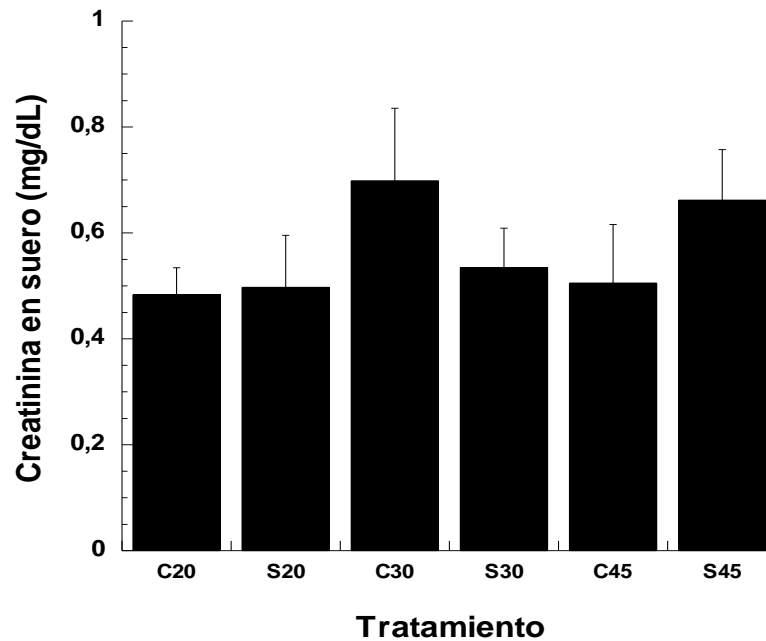
4.6. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO Y ORINA, PARA EVALUAR LA FUNCIÓN RENAL

4.6.1. CREATININA EN SUERO

Para la concentración de creatinina en suero sanguíneo se encontró que la concentración promedio en los seis grupos de estudio estuvo dentro de los niveles considerados normales (0.40 – 1.40 mg/dL).

Tanto para los grupos alimentados con soya como caseína, se observó una ligera tendencia a aumentar la concentración de creatinina en suero sanguíneo conforme aumenta la concentración de proteína, a excepción del grupo alimentado con caseína al 45% de proteína.

En la Gráfica 8 se observó que, en los grupos alimentados con soya (S20 y S45), la concentración de creatinina fue mayor, comparados con los grupos alimentados con caseína a la misma concentración (C20 y C45). Lo contrario se observó en el caso de los grupos alimentados con una concentración de 30% de proteína, en donde la soya disminuyó la concentración de creatinina en comparación con la caseína (S30<C30). Cabe destacar que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los seis grupos en estudio.



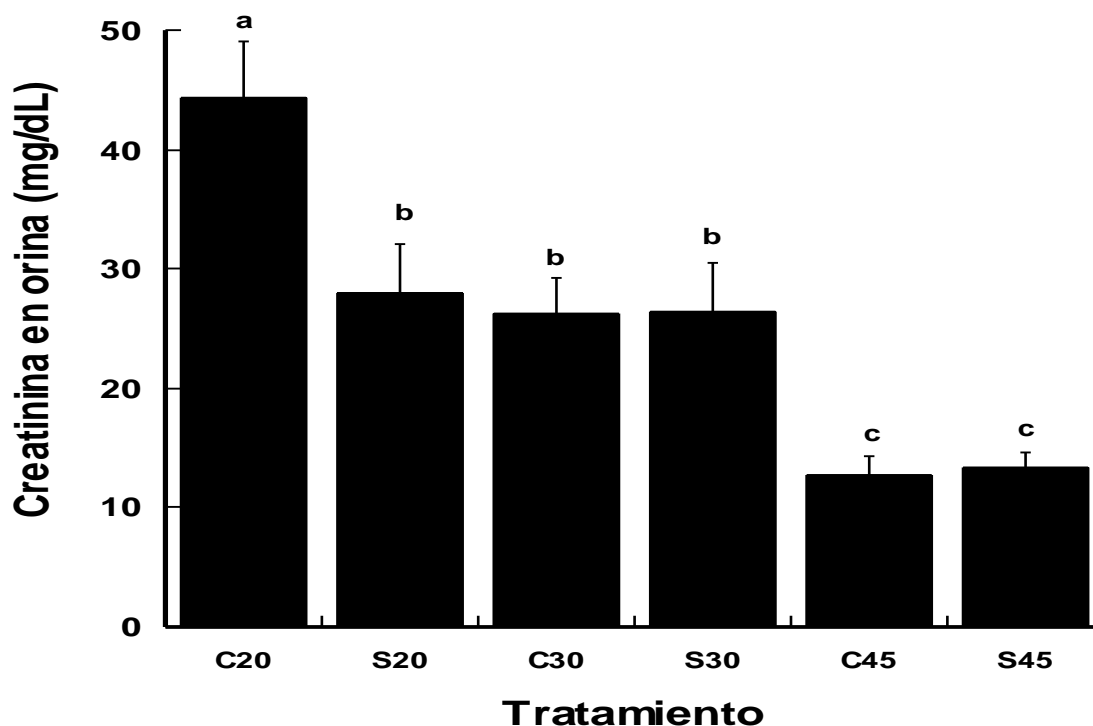
Gráfica 8. Concentración de creatinina en suero sanguíneo en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de creatinina en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$.

4.6.2. CREATININA EN ORINA

Para la creatinina en orina se encontró que la concentración promedio en los seis grupos de estudio estuvo dentro de los niveles considerados normales (<30 mg/dL), a excepción del grupo alimentado con caseína con una concentración de 20%, con una concentración de 44.27 mg/dL.

Se observa que hay una tendencia a disminuir la concentración de creatinina en orina conforme aumenta la concentración de proteína (Gráfica 9).

Estadísticamente, se observa que no hay diferencia en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración a excepción de los grupos alimentados con 20%, donde la concentración de creatinina en caseína fue mayor.



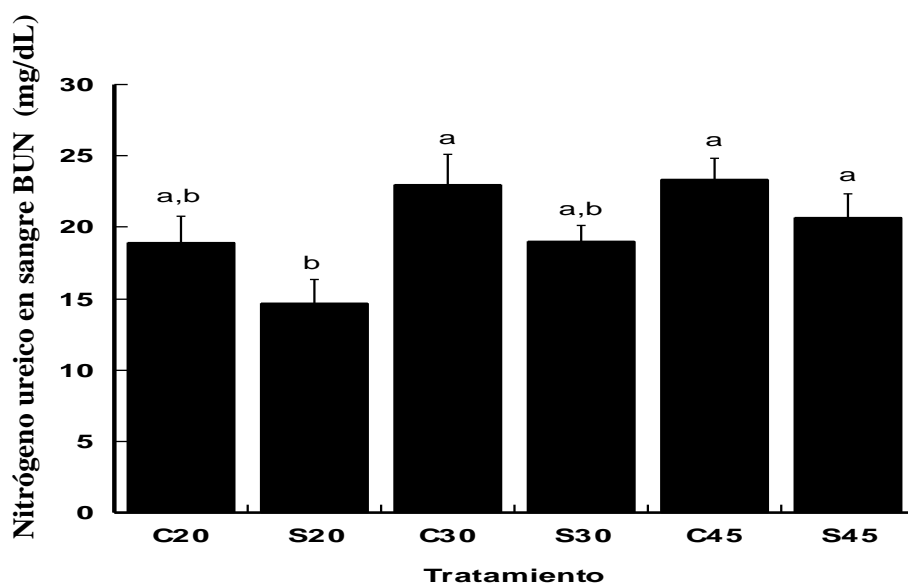
Gráfica 9. Concentración de creatinina en orina en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de creatinina en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b > c$

4.6.3. NITRÓGENO UREICO EN SANGRE

En relación al nitrógeno ureico en sangre (*blood ureic nitrogen, BUN*, por sus siglas en inglés), solamente el grupo control S20 (soya al 20%) se encuentran dentro del rango de *BUN* considerado normal (7 - 18mg/dL) con un valor de 14.68 mg/dL.

En general, se observó que al incrementar la concentración de proteína, los niveles de *BUN* en suero sanguíneo también aumentaron, pero estos valores fueron aún mayores en aquellos grupos en donde la proteína dietaria fue a base de caseína. Por tanto, se vió que la soya disminuyó ligeramente los niveles de *BUN* en suero.

Estadísticamente, se observa que en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración no hay diferencia estadística, En los grupos alimentados con diferente concentración de soya, sólo hay diferencia entre S20 y S45, y en los grupos alimentados con diferente concentración de caseína no hay diferencia estadística.

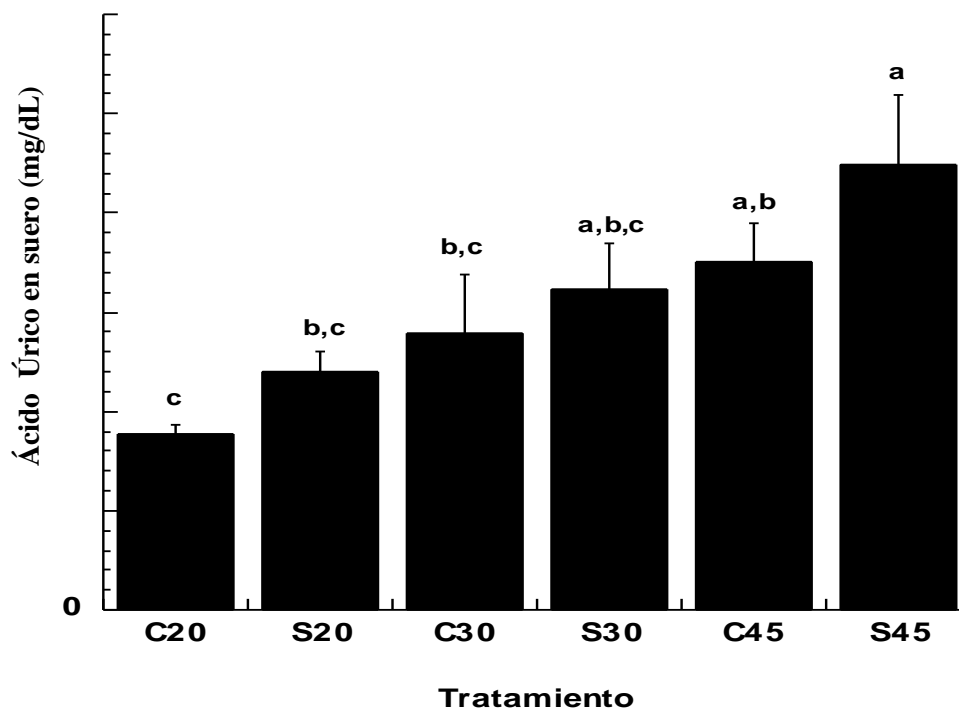


Gráfica 10. Concentración de BUN en suero en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de BUN en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p<0.05$, donde $a>b$

4.6.4. ÁCIDO ÚRICO EN SUERO

La concentración de ácido úrico en suero sanguíneo aumenta al incrementar la concentración de proteína, independientemente de su origen animal o vegetal, pero dichas concentraciones no excedían del rango considerado normal, que es de 2.5-7.7 mg/dL.

Estadísticamente no se encontró diferencia significativa en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración.

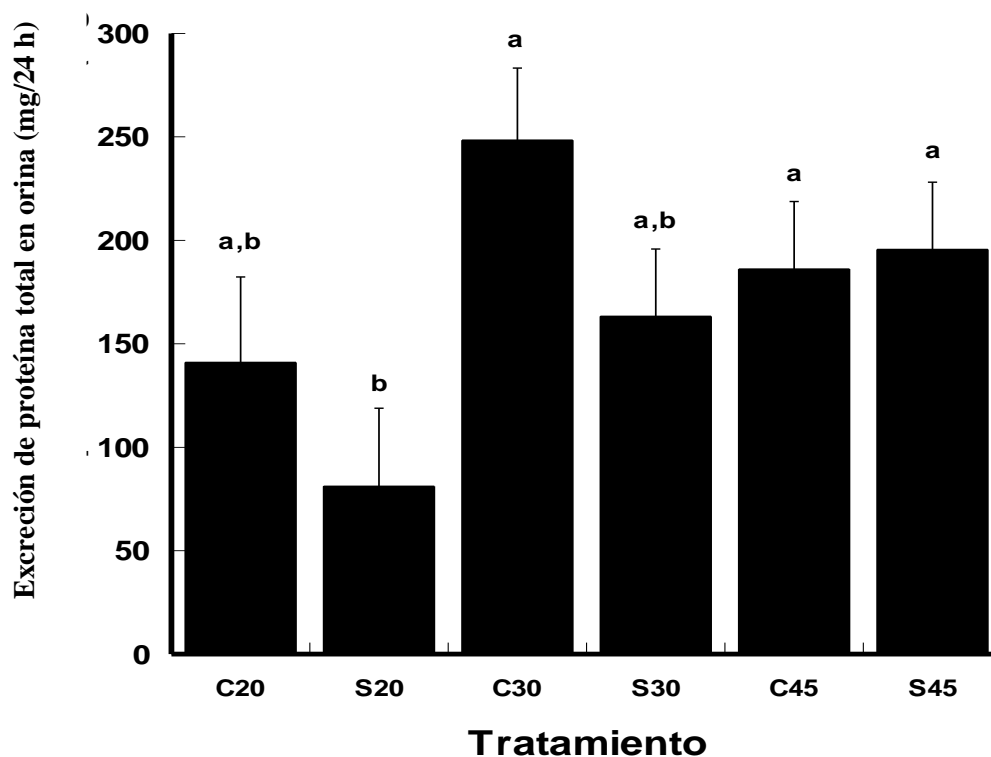


Gráfica 11. Concentración de ácido úrico en suero en ratas Zucker^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de ácido úrico en suero de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b > c$

4.6.5. PROTEÍNAS TOTALES EN ORINA

Las concentraciones de proteínas totales en orina en todos los grupos de estudio se encontraron por arriba de los valores considerados normales (Proteínas totales $< 150 \text{ mg}/24 \text{ h}$), a excepción de los controles. Esto quiere decir que los grupos de ratas en estudio presentaban proteinuria. Tanto para los grupos alimentados con soya como los grupos alimentados con caseína, se observó una tendencia a aumentar la excreción de proteína total en orina conforme aumenta la concentración de proteína dietaria, a excepción del grupo alimentado con caseína al 45% de proteína.

Estadísticamente, se observa que en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración no hay diferencia estadística. En los grupos alimentados con diferente concentración de soya, sólo hay diferencia entre S20 y S45, y en los grupos alimentados con diferente concentración de caseína no hay diferencia estadística.

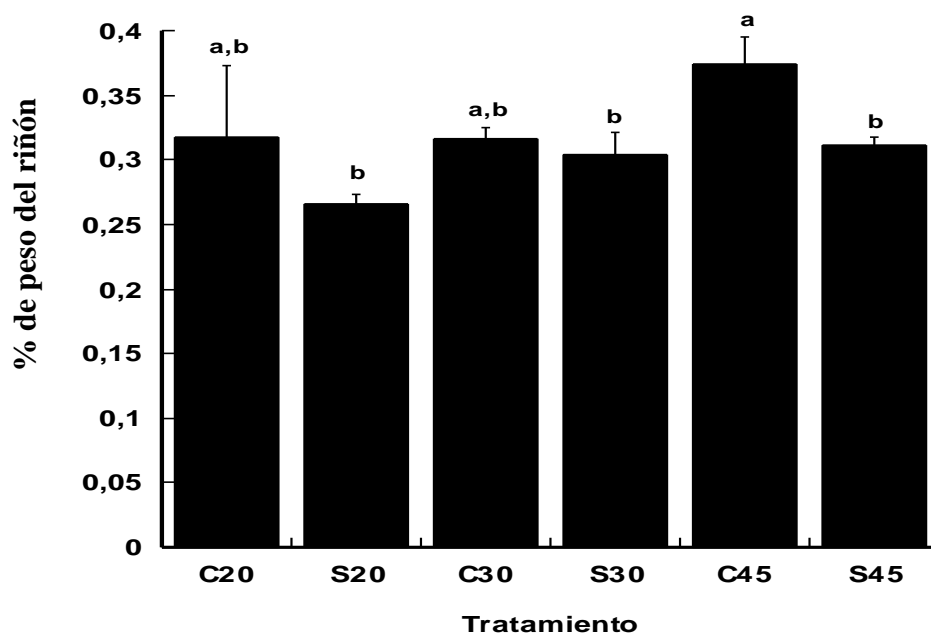


Gráfica 12. Proteínas totales en orina en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM de la concentración de proteínas totales de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio ($n=8$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba *t* student, con una diferencia significativa de $p<0.05$, donde $a>b$

4.7. PORCENTAJE DE “PESO” DEL RIÑÓN CON RESPECTO AL “PESO” TOTAL DE LA RATA

El porcentaje de “peso” del riñón es menor en los grupos de animales que fueron tratados con proteína de origen vegetal y en cuanto a la concentración de proteína se ve que, conforme aumenta la concentración de proteína, el porcentaje de “peso” del riñón también aumenta con respecto a sus controles.

Con el análisis estadístico se observa, en cuanto al tipo de proteína a la misma concentración, que sólo hay diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con 45% de proteína (Gráfica 13). En cuanto a las diferentes concentraciones tanto para caseína y soya no hay diferencia estadística.



Gráfica 13. % del peso del riñón en ratas Zucker ^{fa/fa}. Los datos se presentan como el promedio \pm SEM del % de masa del riñón derecho de cada uno de los grupos durante los 55 días de estudio (n=8). Se realizó un análisis de varianza ANOVA y las diferencias estadísticas se evaluaron utilizando la prueba t student, con una diferencia significativa de $p < 0.05$, donde $a > b$

4.8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Al inicio de la experimentación se llevó a cabo la determinación de creatinina en la orina con el fin de conocer el valor basal, el cual indicó un adecuado funcionamiento renal.

Posteriormente, los seis grupos de ratas se sometieron a los diferentes tratamientos dietarios a los cuales se les evaluó el incremento de “peso” y el consumo de alimento. Para la ganancia de “peso”, se encontró que aquellos grupos alimentados con una muy alta concentración de proteína (45%) presentaron pérdida de líquidos, manifestándose como diarrea y, por ende, un menor “peso” y en general se observó una tendencia a disminuir de “peso” conforme aumenta la concentración de proteína dietaria. De acuerdo a lo esperado, se ha descrito que dietas altas en proteína ayudan a disminuir el “peso” corporal y obtener efectos fisiológicos favorables.^{84,85} En cuanto al consumo de alimento y calorías ingeridas se encontró que hay un mayor consumo de alimento y calorías de los grupos alimentados con soya. Esto pudo deberse a que la dieta con soya resultó ser de mayor agrado a los animales por la palatabilidad de la dieta.

Después de los 55 días de experimentación y posterior a la eutanasia de los animales, se realizaron las determinaciones bioquímicas de colesterol y triglicéridos en suero sanguíneo. La concentración de colesterol fue apreciablemente menor cuando se administra una dieta a base de proteína vegetal; por lo tanto, la proteína de soya ayudó a que los animales presentaran niveles normocolesterolémicos, a diferencia de los grupos de animales tratados con caseína. Este mismo hallazgo lo encontraron Anderson y col. (1995).⁴⁴ Ellos realizaron un estudio con pacientes y encontraron que el consumo de proteína de soya ayudó a disminuir la concentración de colesterol total en suero.⁴⁴ Sin embargo, este efecto fue contrario en cuanto a la concentración de triglicéridos, ya que la soya no ayudó a disminuir la concentración, presentando todos los grupos hipertrigliceridemia. Se esperaba obtener un resultado donde las dietas a base de proteína vegetal disminuyeran los valores de triglicéridos en el suero ya que estudios anteriores demostraron este resultado, por ejemplo, Anderson y col. (1995)⁴⁴ realizaron un estudio con pacientes donde encontraron que el consumo de proteína de soya ayudó a disminuir la concentración de triglicéridos. Sin embargo, en dos estudios se obtuvo el mismo resultado que en este estudio. En un estudio realizado por Tovar y

col. (2005)⁸⁶ se encontró que la soya aumenta los niveles de triglicéridos en el suero. El otro estudio lo realizaron D'Amico y col. (1992)⁶⁴ en los EEUU con personas que fueron alimentadas con proteína de soya durante 8 semanas, se observó que hubo una disminución significativa en los niveles de colesterol en suero y, a diferencia de lo esperado, la concentración de triglicéridos tuvo un incremento.⁶⁴ Para poder evaluar el mecanismo por el cual se encontraron niveles elevados de triglicéridos en suero, sería necesario hacer estudios moleculares posteriores como la expresión de genes involucrados en el metabolismo de triglicéridos. Una posible explicación de este efecto es que la soya ayuda a aumentar la movilización de los lípidos a la circulación, en especial a los triglicéridos y la caseína tal vez lleve a cabo este proceso de forma disminuida. Como un segundo factor importante a evaluar es la característica genética del modelo experimental, el cual presenta alteraciones fisiológicas por la alteración en la señalización de la leptina.

En cuanto a los lípidos renales, la concentración de colesterol, fue menor en los grupos alimentados con soya al 20 y 30%, hubo una excepción con los animales alimentados con 45% de proteína, donde la caseína tuvo una disminución de la concentración con respecto a la soya. Esto se atribuye que este grupo consumió menor cantidad de alimento y por lo tanto menor "peso" corporal, además de que en este grupo se murieron tres de los ocho animales, los cuales estaban muy deteriorados a nivel renal, pulmonar y digestivo, de acuerdo con los resultados obtenidos en una necropsia. En general, se observó que la soya ayudó a disminuir la síntesis de colesterol en el riñón a una concentración de proteína del (20% y 30%).

Para la determinación de triglicéridos en riñón, sólo en los grupo que fueron alimentados con una concentración de 20 y 30% de proteína, la soya ayudó a disminuir ligeramente la concentración de triglicéridos.

En el análisis para evaluar el funcionamiento renal se determinaron creatinina, *BUN* y ácido úrico en suero sanguíneo, así como creatinina y proteínas totales en orina. En cuanto a la creatinina en suero, los seis grupos en estudios presentaron valores considerados normales. Por tal motivo no se percibe un daño renal importante. Cabe señalar que en los grupos alimentados con soya con una concentración de 20 y 45%, la

concentración de creatinina fue ligeramente mayor comparada con la proteína de origen animal. Este comportamiento no era esperado, ya que estudios previos como los de D'Amico y col. (1992)⁶⁴ y de Sakemi y col. (2002)⁸⁷ encontraron que la proteína de origen vegetal retarda o reduce el daño renal.^{64, 87, 88} Sólo se observó una tendencia favorable en el caso del grupo alimentado con soya con un 30% de proteína comparado con el grupo alimentado con caseína con un 30% de proteína.

Para la determinación de nitrógeno ureico en sangre (*BUN*) se observó que al incrementar la concentración de proteína dietaria, los niveles de *BUN* en suero también aumentaron, esto se debe a que las dietas altas en proteína tienen mayor cantidad de nitrógeno, pero estos valores fueron aún mayores en aquellos grupos en donde la dieta fue a base de caseína. Por tanto, en los grupos alimentados con soya disminuyó ligeramente los niveles de *BUN* en suero. La concentración de ácido úrico aumentó a medida que se incrementó la concentración de proteína, ya sea de origen animal o vegetal. Sin embargo, todos los valores se encontraron dentro del rango considerado normal y, por tal motivo, no se observa una anomalía apreciable en el lapso del estudio.

En relación a la concentración de proteínas totales en orina, todos los grupos presentan proteinuria, a excepción de los controles. Esto indica un posible desorden metabólico y renal que puede deberse a una alteración del glomérulo que permite que las proteínas se filtren o a una alteración del túbulo que no las reabsorbe.³⁹ En el grupo con una concentración de 30% de proteína de soya, la concentración de proteínas totales se vio disminuida con respecto a los otros grupos. D'Amico y col. (1992)⁶⁴ realizaron un estudio de ocho semanas de duración con pacientes que presentaban proteinuria y enfermedad glomerular crónica. A estos pacientes se le suministró una dieta a base de proteína de soya y se observó que los valores de excreción de proteína en la orina bajaron significativamente.

Por último, en la determinación del tamaño de los riñones se encontró que la soya disminuye ligeramente la hipertrofia comparada con la caseína. Algunos investigadores como Schmidt y col. (2004) encontraron que algunas enfermedades renales pueden alterar las características morfológicas y variar el tamaño del riñón.⁸⁹

Respondiendo a la hipótesis establecida de que si se administra una dieta con niveles moderadamente altos (30%) en proteína de origen vegetal, entonces deberá disminuir el daño renal inducido por lípidos intrarrenales, puede verse que se ven disminuidos los lípidos intrarrenales y hay una disminución de proteinuria en dicho grupo (S30). En cuanto a los lípidos en suero sólo el colesterol se vio disminuido con la soya, independientemente de la concentración. La soya parece ayudar a evitar la hipertrofia del riñón más que la caseína.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y ESTUDIOS A FUTURO

5.1. CONCLUSIONES

De acuerdo con el objetivo de esta investigación que es, evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria en el metabolismo intrarrenal y sistémico de lípidos en un modelo de obesidad genética, pueden darse las siguientes conclusiones:

1.-La proteína de origen vegetal (soya) disminuye la concentración de colesterol en el organismo de los animales.

2.-La proteína de origen vegetal disminuye la concentración de lípidos intrarrenales (colesterol y triglicéridos) en aquellos grupos alimentados con una concentración de proteína de 30%.

3.-Los grupos que consumieron una dieta muy alta en proteína (45%), independientemente de su origen animal o vegetal, ingirieron menor cantidad de alimento y fueron los que alcanzaron un menor “peso” que sus controles con 20% de proteína.

4.-Con respecto al funcionamiento renal, se encontró que todos los grupos presentaban proteinuria, a excepción de los grupos controles; sin embargo, la soya con una concentración de 30% disminuyó la excreción de proteínas totales. Con las otras determinaciones no se encontró un daño apreciable, ya que las concentraciones de creatinina y ácido úrico en suero sanguíneo se encontraban dentro del rango considerado normal. Sólo para la concentración de nitrógeno ureico en sangre (BUN), excedían ligeramente el rango considerado normal.

5.-La hipertrofia renal se ve disminuida cuando se administra una dieta a base de proteína vegetal (soya), comparada con una dieta a base de origen animal.

5.2. ESTUDIOS A FUTURO

Con base en los resultados encontrados, se recomienda continuar con más estudios, con la finalidad de poder entender en forma más profunda los resultados obtenidos. Los estudios que se proponen son: la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos, específicamente los que se encuentran en las rutas metabólicas de síntesis y oxidación de colesterol y triglicéridos en el tejido renal. Adicionalmente se puede llevar a cabo el análisis de la expresión de genes involucrados en el proceso inflamatorio que se encuentra altamente relacionado con el daño renal. Estos estudios implican la extracción de ARN del tejido renal. Adicionalmente, el hígado por ser uno de los órganos involucrados en forma muy importante en el metabolismo de lípidos puede ser también importante en la evaluación de los genes antes mencionados. Otro tipo de estudio es el determinar la cantidad de proteína que se encuentra traducida con la finalidad de saber qué tanto existe, no sólo del mensajero sino de la proteína como tal, esto se puede realizar por Western blot Finalmente, se propone el análisis histológico del tejido renal para observar modificaciones morfológicas y estructurales causadas por: inflamación o acumulación de lípidos. Estos estudios serían de gran utilidad para analizar a profundidad el efecto de la concentración y tipo de proteína dietaria sobre la lipogénesis intrarrenal en un modelo de obesidad genética.

GLOSARIO

Ablación renal: Es la extirpación del riñón mediante una operación o escisión quirúrgica.

Acetil-CoA carboxilasa: Enzima que cataliza el primer paso en la biosíntesis de los ácidos grasos.

Ácido hipúrico: Es un ácido orgánico encontrado en la orina.

Adipocitos: Son las células que forman el tejido adiposo. Son células redondeadas, de 10 a 200 micrómetros, que contienen una vacuola lipídica que representa el 95% del “peso” celular y que forma el elemento constitutivo del tejido graso. Su característica fundamental es que almacenan una gran cantidad de grasas.

Ácidos grasos libres (AGL): un ácido graso es una molécula orgánica de naturaleza lipídica formada por una cadena hidrocarbonada, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo, es lo mismo decir, es un ácido carboxílico de alta masa molecular.

Albumina: Es una 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. Es sintetizada en el hígado.

Apolipoproteínas: Son proteínas que son parte del complejo de moléculas que transportan los lípidos, triglicéridos y colesterol (*HDL, LDL, VLDL*).

Aterosclerosis: Es un término general para el engrosamiento y endurecimiento de las arterias

Autosómico recesivo: Significa que deben estar presentes dos copias de un gen anormal para que se desarrolle la enfermedad o el rasgo. Es una de varias maneras en que un rasgo, trastorno o enfermedad se puede transmitir de padres a hijos.

Blood ureic nitrogen (BUN): por sus siglas en inglés, nitrógeno ureico en sangre.

Citocinas: Son proteínas responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y

diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Dislipedemia: Caracterizada por el aumento de la concentración de una, varias o todas las fracciones lipídicas del plasma.

Edema: Es una hinchazón causada por fluido atrapado en los tejidos del cuerpo.

Enfermedad de Bright: Es una enfermedad renal según su etiología.

Glucagón: Es una hormona peptídica de 29 aminoácidos que actúa en el metabolismo de los carbohidratos. Esta hormona es sintetizada por las células α del páncreas (en lugares denominados islotes de Langerhans). Es una hormona que eleva el nivel de glucosa en la sangre, lo contrario a la insulina que lo baja.

Gluconeogénesis: Es la biosíntesis de la glucosa a partir de otros metabolitos ya presentes en el organismo (aminoácidos, ácidos grasos y otros).

GLUT 2: Los transportadores GLUT están encargados del ingreso de los monosacáridos a todas las células del organismo. El GLUT 2 transporta glucosa, galactosa y fructosa.

High Density Lipoprotein (HDL): por sus siglas en inglés, son lipoproteínas de alta densidad que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado.

Hidratos de carbono: Compuestos orgánicos caracterizados por la presencia de carbono, hidrógeno y oxígeno, conocidos coloquialmente como carbohidratos, por la palabra inglesa (*carbohydrates*).

Hipercolesterolemia: Se caracteriza por el aumento del colesterol plasmático por encima de un valor considerado normal.

Hiperfagia: Es una situación caracterizada por un aumento excesivo de la sensación de apetito e ingestas descontroladas de alimentos, sin razón aparente.

Hiperfiltración: Es cuando se produce un aumento de la filtración glomerular y de la reabsorción tubular proximal de proteínas, hay mayor producción de mediadores de inflamación, acelerando el daño renal. La albuminuria es un marcador de hiperfiltración.

Hiperglicemia: Es el exceso de glucosa en la sangre.

Hiperinsulinemia: Es el exceso de insulina en sangre.

Hipertensión: Término que se refiere a un incremento de las cifras de presión arterial por encima de un valor considerado normal.

Hipertrigliceridemia: Se caracteriza por el aumento de los triglicéridos plasmáticos por encima de un valor considerado normal.

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; de esta manera el órgano hipertrofiado tiene células mayores, y no nuevas.

Hipolipemiente: Cualquier sustancia farmacológicamente activa que tenga la propiedad de disminuir los niveles de lípidos en sangre.

HDL: *High Density Lipoprotein*, en inglés, lipoproteínas de alta densidad

HTA: Hipertensión arterial

IDL: *Intermedium Density Lipoprotein*, por sus siglas en inglés, lipoproteínas de densidad intermedia

IMC: Índice de masa corporal. Es una medida de asociación entre el “peso” y la talla de un individuo ($IMC = \text{kg}/\text{m}^2$), muy variable ya que depende del origen étnico, sexo, edad, musculatura, densidad ósea, etc.

LDL: *Low Density Lipoprotein*, por sus siglas en inglés, lipoproteínas de baja densidad que transportan el colesterol desde el hígado al resto del cuerpo, para que sea utilizado por distintas células.

Lipasa: Es una enzima que se usa en el organismo para disgregar las grasas de los alimentos de manera que se puedan absorber. Su función principal es catalizar la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol.

Lipogénesis: Es la reacción bioquímica por la cual son sintetizados los ácidos grasos y esterificados o unidos con el glicerol para formar triglicéridos o grasas de reserva.

Lipólisis: Es el proceso metabólico mediante el cual los lípidos del organismo son transformados para producir ácidos grasos y glicerol para cubrir las necesidades energéticas.

Lipoproteínas: Son complejos macromoleculares esféricos formados por un núcleo que contiene lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) y una capa externa polar formada por fosfolípidos, colesterol libre y proteínas.

LPL: *Lipoprotein-lipase*, en inglés, lipoproteína-lipasa.

Microalbuminuria: Las elevaciones persistentes de albúmina en la orina entre 30 y 300mg/día (20 a 200 µg/min).

Nefrona: Es la 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. Está situada principalmente en la corteza renal.

Podocitos: Uno de los tres tipos de células glomerulares altamente especializadas que forman múltiples procesos entrecruzados que cubren la superficie de la membrana basal de los capilares glomerulares. Están interconectados por diafragmas en forma de rendija que permite la filtración renal

Proteinuria: Es la presencia de proteína en la orina en cuantía superior a 150 mg en la orina de 24 horas.

Rata Zucker: Es uno modelo animal de obesidad heredable y ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental de obesidad.

Renomegalia: Aumento de tamaño del riñón.

RI: Resistencia a la insulina. Se define como la presencia de una respuesta biológica alterada a la acción de la insulina, sea exógena o endógena.

Sterol Regulatory Element Bindeing Proteins (SREBP):, por sus siglas en inglés, o Proteínas de Unión a Elementos Reguladores de Esteroles, son una familia de factores de transcripción que regulan la homeostasis de lípidos mediante el control de la expresión de una serie de enzimas endógenas necesarias para la síntesis de colesterol, ácidos grasos (AG), triglicéridos y fosfolípidos. Las tres isoformas de *SREBP*, *SREBP-1a*, *SREBP-1c* y *SREBP-2*, tienen diferentes funciones en la síntesis de lípidos.

VLDL: Very Low Density Lipoprotein, por sus siglas en inglés, son lipoproteínas de muy baja densidad y provocan que el colesterol se deposite en las paredes de las arterias

ANEXOS

Anexo 1.

1.1 Composición del aislado de proteína de soya y aislado de caseína (aminoácidos, g/100g de producto)

Aminoácido	Aislado de caseína	Aislado de proteína de soya
Alanina	2.8	3.6
Arginina	3.4	6.5
Ácido aspártico	6.3	10.3
Cisteína	0.3	1.1
Ácido glutámico	20.5	18.7
Glicina	1.6	3.6
Histidina	2.5	2.3
Isoleucina	4.7	4.3
Leucina	8.2	7
Lisina	7.2	5.5
Metionina	1.9	1.13
Fenilalanina	4.4	4.7
Prolina	9.5	4.8
Serina	5	4.5
Treonina	3.8	3.2
Triptofano	1.6	1.3
Tirosina	4.7	3.5
Valina	6	3.9
% de proteína	90.6	85.9

1.2. Ficha técnica del aislado de caseína

Compuesto	Promedio	Unidades
Nitrógeno	14.1	%
Proteína (Nx6.3809)	90	%
Grasa	≤0.01	%
Humedad	6.3	%
Calcio	0.02	%
Fosforo	0.80	%
Sodio	≤0.01	%
Potasio	≤0.01	%
Magnesio	22.1	mg/kg
Hierro	3.7	mg/kg
Cobre	1.7	mg/kg
Zinc	33.1	mg/kg
Magnesio	≤0.3	mg/kg
Ácido fólico	0.4	mg/kg

1.3 Ficha técnica del aislado de soya

Compuesto	Aislado de soya	Unidades
Proteína	93	%
Grasa	0.0	%
Humedad	4.7	%
Fibra cruda	0.2	%
Ceniza	3.8	%
ISN (Índice de solubilidad de nitrógeno)	85	%

A. APÉNDICE

A.1. DATOS

Las Tablas A.1 - A.3 contienen los resultados de consumo de alimento, calorías ingeridas e incremento de “peso” corporal promedio por día.

A.1.1. CONSUMO DE ALIMENTO PROMEDIO

TABLA A.1. CONSUMO DE ALIMENTO PROMEDIO

Días	C20	C20	S20	S20	C30	C30	S30	S30	C45	C45	S45	S45
	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error
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

A.1.2. CALORÍAS INGERIDAS PROMEDIO

TABLA A.2. CALORÍAS INGERIDAS PROMEDIO

Días	C20	C20	S20	S20	C30	C30	S30	S30	C45	C45	S45	S45
	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error
1	80.7	3.4	70.55	3	77.46	2.9	71.55	3.2	71.7	2.8	62.79	2.4
2	89.1	5.6	77.46	5	86.23	6.1	72.06	8.1	81.1	3.7	74.97	3.8
3	94.3	3.6	84.85	4	88.98	4	71.35	4.8	78.2	5.9	60.82	5.1
4	103	5.9	82.39	3.2	87.27	3.6	76.57	2.9	74.8	1.9	69.01	4.6
8	112	7.2	87.36	6.5	94.15	2.7	90.91	2.9	80.7	8.3	78.87	4.3
9	116	6.3	93.46	9.5	100.1	4.3	99.4	4	84.4	4	86.93	3.8
10	107	5.9	94.41	7	101.7	3.5	96.67	3	80.6	2.7	84.71	4
11	116	6.6	105	5.5	104.9	6.5	112.9	2.6	91.8	4.4	92.56	1.2
15	109	5	98.12	6	105.4	5.8	95.47	5	77.3	5.8	96.23	3.6
16	111	2.7	100.8	7.6	99.5	3.1	98	3.1	88.1	6.1	94.81	3.8
17	101	3.4	95.39	5.3	94.7	3.3	89.74	4.2	91.4	8.7	90.06	3.6
18	108	3.9	100.3	8	108.2	3.7	98.48	8.8	95	5.6	92.14	4.6
22	97.4	4.3	90.66	6.2	95.5	3.5	89.12	5.7	84.9	5.4	84.13	6.8
23	106	6.9	102.1	6.1	102.2	5.7	107.4	5.3	93.8	5.7	98.25	3.9
24	104	7.4	112.9	6.1	101.9	4.5	107.3	7.1	104	8.4	87.91	5.9
25	110	5.4	121.6	3.7	108.4	4.1	112.4	5.2	106	5.3	101.9	4.3
29	107	4.6	112.1	3.9	95.2	3.6	104.2	6.6	93.6	5.3	99.46	5.9
30	99.1	2.9	117.4	4.4	111.3	2.1	110.1	7.6	99	6	109.3	7.3
31	103	2.7	119.2	3.2	106.5	3.2	111.6	3.8	119	10.6	111.5	6.6
32	110	3.1	121.4	5.5	115.7	3.3	126.4	3.1	115	5.7	117.4	4.6
36	92.3	4.2	99.28	5.1	94.69	3.8	106.7	5.8	99.6	6.3	101.5	6.2
37	101	3.9	114.6	2.5	101.4	2	108.2	2.1	114	9.7	96.91	9.8
38	99	4	107.2	3.1	96.03	3.4	104.2	2.6	103	5.3	102.6	6.5
39	104	3	118.9	4.5	101.7	8.8	120.1	3.4	113	6.3	109	6.5
43	91.9	5.2	102.8	3.6	96.27	4.6	91.68	9.5	94.8	7.6	100.3	3.6
44	92.2	4.6	97.73	3.8	95.43	4.1	89.56	3.5	88.7	5.6	88.28	3.3
45	85.9	7	101.9	4.8	100.6	5.6	90.87	7.8	89	4.6	99.74	3
46	101	8	105.7	7.2	96.46	4.5	89.55	7.2	85.3	3.8	92.2	9.1
50	97	3.8	108.7	5.7	96.09	2.7	90.34	6.1	101	6.4	109.3	3.5
51	106	9.1	103.5	7	103.2	2.3	99.23	7.3	97.7	7.6	106.9	4.4
52	92.3	5.6	110.6	7	94.87	1.5	95.44	5.1	107	8.7	101.4	4.9
53	101	5.1	115.2	5.2	108.2	1.9	106.2	6	97.6	6.2	109.2	4

A.1.3. GANANCIA DE “PESO” CORPORAL PROMEDIO

TABLA A.3. GANANCIA DE “PESO” CORPORAL PROMEDIO

Días	C20	C20	S20	S20	C30	C30	S30	S30	C45	C45	S45	S45
	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error	X	Error
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.1.4. LÍPIDOS EN SUERO Y EN EL TEJIDO RENAL DE LAS RATAS ZUCKER^{fa/fa}

Tabla A.4. Niveles de colesterol en suero

Grupo	Grupo	Colesterol promedio en suero (mg/dL)	±SEM
C20	20% Caseína	340.5	21.47
S20	20% Soya	156.49	7.13
C30	30% Caseína	385.26	26.22
S30	30% Soya	195.9	21.06
C45	45% Caseína	302.43	31.11
S45	45% Soya	189.30	22.43

Tabla A.5. Niveles de triglicéridos en suero

Grupo	Grupo	Triglicéridos promedio en suero (mg/dL)	±SEM
C20	20% Caseína	218.05	33.58
S20	20% Soya	443.25	87.92
C30	30% Caseína	279.17	85.46
S30	30% Soya	668.65	104.26
C45	45% Caseína	597.39	50.22
S45	45% Soya	926.16	136.88

Tabla A.6. Niveles de colesterol en riñón

Grupo	Colesterol promedio en riñón (mg colesterol/g tejido)	±SEM
C20	0.77200	0.10
S20	0.49800	0.05
C30	0.77000	0.14
S30	0.61875	0.18
C45	0.45571	0.05
S45	1.01857	0.20

Tabla A.7. Niveles de triglicéridos en riñón

Grupo	Triglicéridos promedio en riñón (mg triglicéridos/g tejido)	±SEM
C20	1.20500	0.14
S20	1.47500	0.22
C30	2.84333	0.40
S30	2.24800	0.20
C45	1.35000	0.09
S45	2.50429	0.13

A.1.5. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO Y ORINA

Tabla A.8. Niveles de creatinina en suero

Grupo	Creatinina promedio en suero (mg/dL)	±SEM
C20	0.237	0.05
S20	0.497	0.09
C30	0.698	0.13
S30	0.43	0.07
C45	0.505	0.11
S45	0.589	0.09

Tabla A.9. Niveles de creatinina en orina

Grupo	Creatinina promedio en orina (mg/dL)	±SEM
C20	44.2720	4.86
S20	28.0583	4.05
C30	26.2571	3.02
S30	26.4688	4.07
C45	12.8013	1.58
S45	13.3388	1.34

Tabla A.10. Niveles de nitrógeno ureico en sangre(BUN)

Grupo	BUN promedio en suero (mg/dL)	±SEM
C20	18.94	1.79
S20	14.68	1.66
C30	22.98	2.17
S30	19.01	1.11
C45	23.38	1.50
S45	20.65	1.63

Tabla A.11. Niveles de ácido úrico en suero

Grupo	Ácido úrico en suero (mg/dL)	±SEM
C20	1.78	0.08
S20	2.40	0.20
C30	2.79	0.58
S30	3.23	0.46
C45	3.51	0.39
S45	4.48	0.71

Tabla A.12. Porcentaje de “peso” del riñón

Grupo	% peso del riñón	±SEM
C20	0.3176	0.008
S20	0.2658	0.008
C30	0.3161	0.009
S30	0.3045	0.01
C45	0.3740	0.02
S45	0.3111	0.007

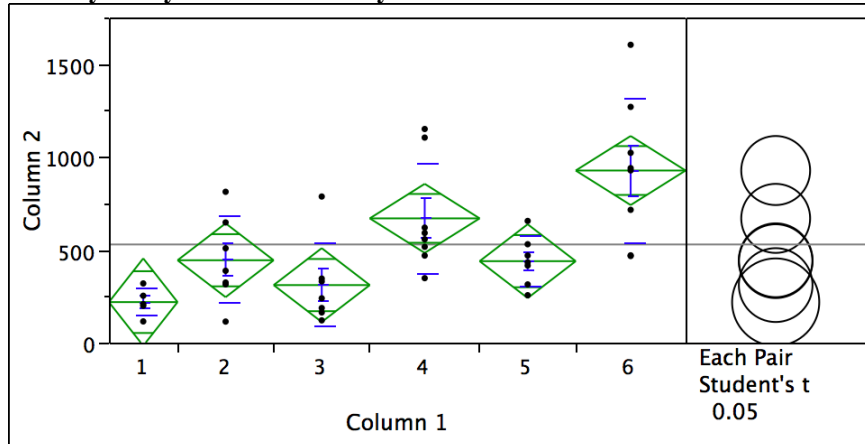
Tabla A.13. Niveles de proteína total en orina

Grupo	Proteína total en orina (mg/24 h)	±SEM
C20	141.040	42.11
S20	81.267	19.70
C30	248.529	32.20
S30	175.986	46.72
C45	186.250	23.71
S45	195.650	38.68

A.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CONCENTRACIÓN DE 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.

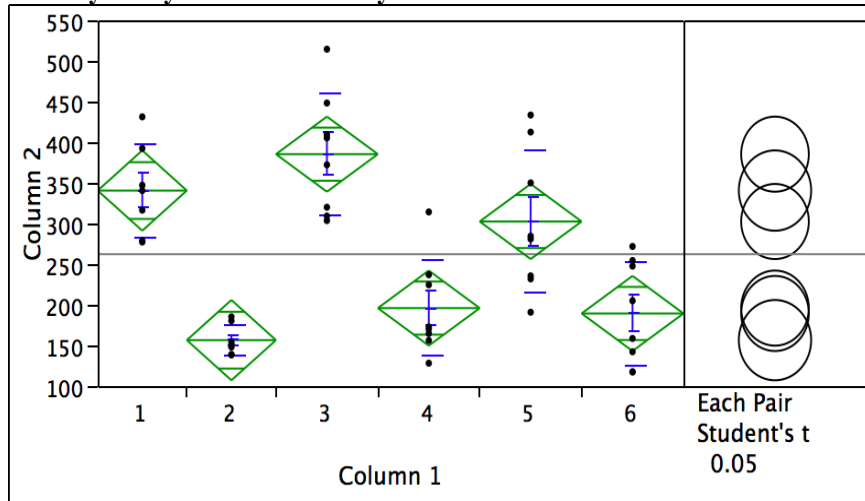
Level				Mean
6	A			926.16250
4	A	B		668.65875
2		B	C	443.25429
5		B	C	438.35857
3			C	309.62286
1			C	218.05600

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- 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	

CONCENTRACIÓN DE 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

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 and Std

Deviations

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.

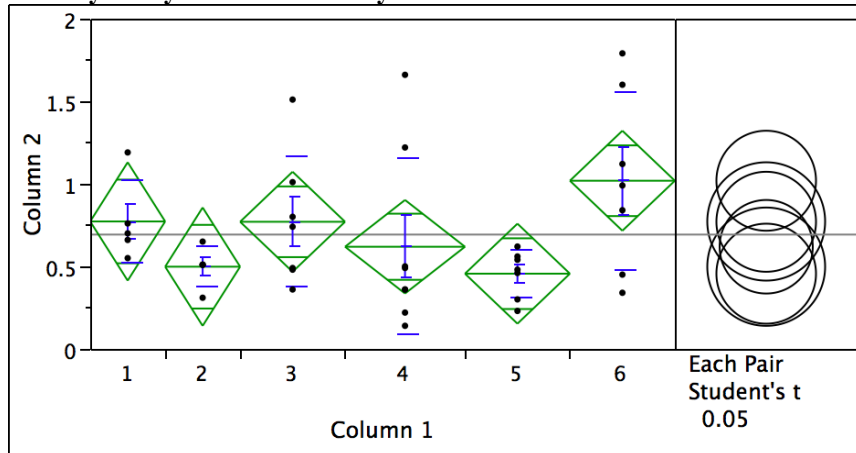
Level				Mean
3	A			385.26750
1	A	B		340.50286
5		B		302.43500
4			C	195.90000
6			C	189.30250
2			C	156.49429

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	

COLESTEROL EN TEJIDO RENAL

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
	-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.

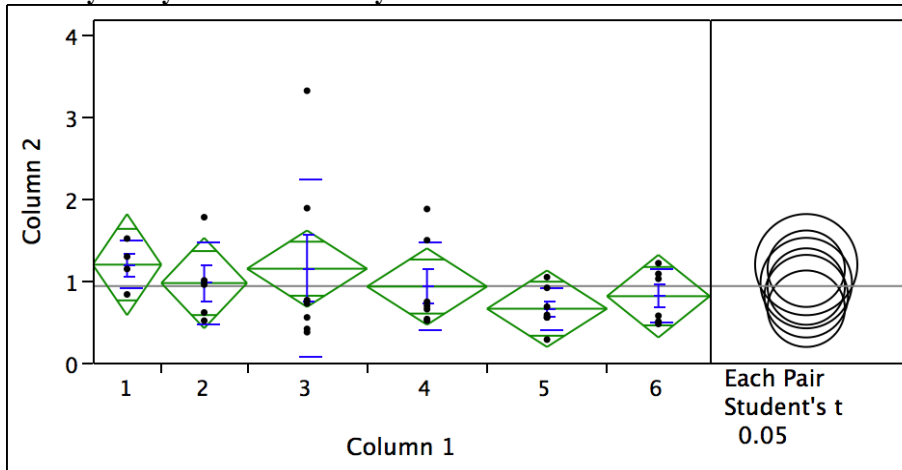
Level			Mean
6	A		1.0185714
1	A	B	0.7720000
3	A	B	0.7700000
4	A	B	0.6187500
2		B	0.4980000
5		B	0.4557143

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	

TRIGLICÉRIDOS EN TEJIDO RENAL

Oneway Analysis of Column 2 By Column 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

Means and Std Deviations

Level	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

Abs(Dif)-LSD	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.

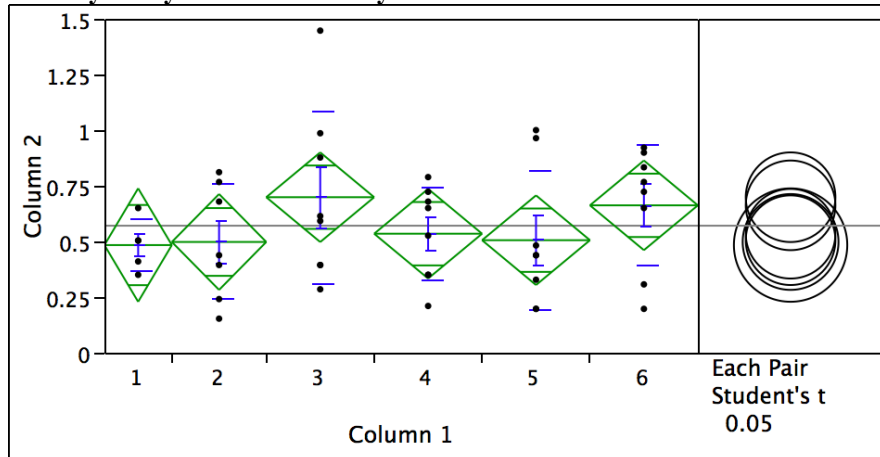
Level		Mean
1	A	1.1925000
3	A	1.1428571
2	A	0.9680000
4	A	0.9257143
6	A	0.8083333
5	A	0.6557143

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	
2	4	0.0422857	-0.678929	0.763500	0.9055	

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.

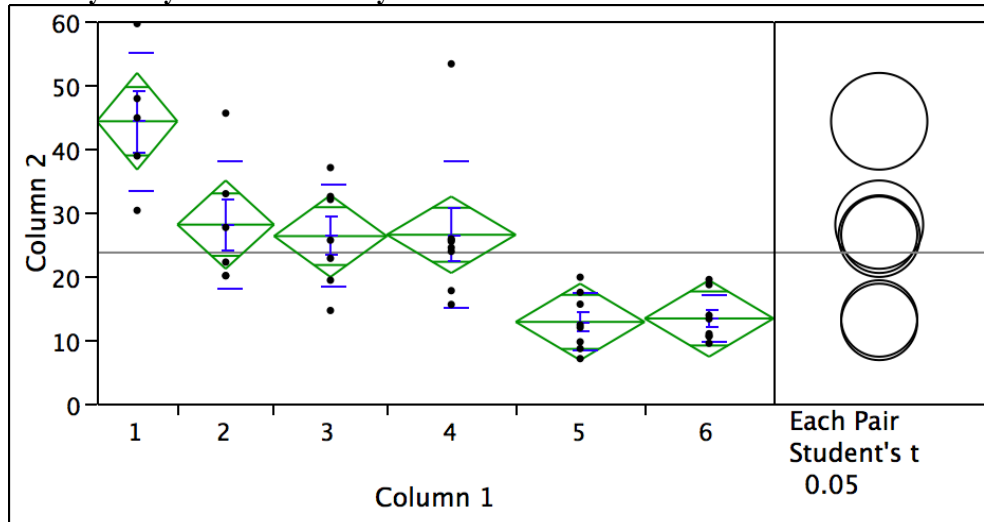
Level		Mean
3	A	0.69862500
6	A	0.66212500
4	A	0.53462500
5	A	0.50550000
2	A	0.49757143
1	A	0.48360000

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	

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.

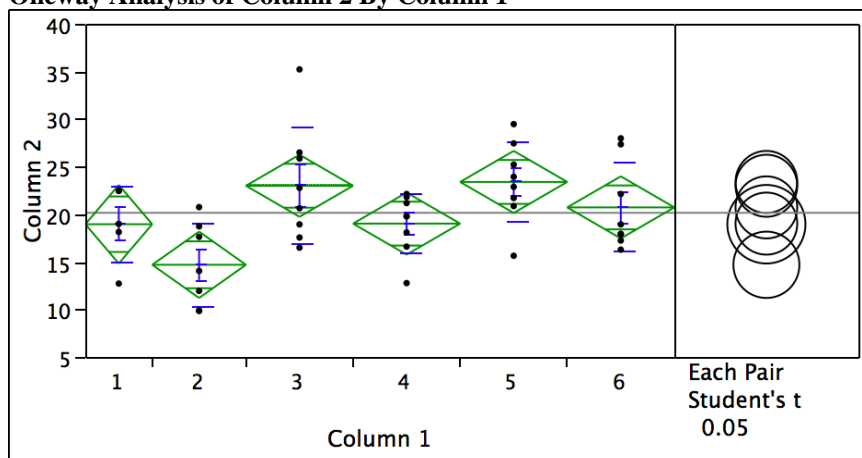
Level		Mean
1	A	44.272000
2	B	28.058333
4	B	26.468750
3	B	26.257143
6	C	13.338750
5	C	12.801250

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	

NITRÓGENO UREICO EN SANGRE

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	D F	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	Alph a
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
2	3.9296	3.5296	1.2558	-0.4467	-1.1398	-4.9304

Positive values show pairs of means that are significantly different.

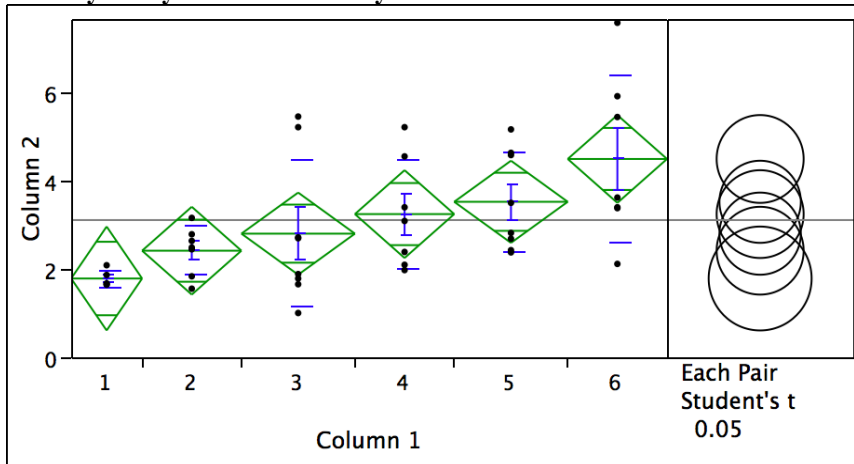
Level		Mean
5	A	23.386250
3	A	22.986250
6	A	20.712500
4	A B	19.010000
1	A B	18.944000
2	B	14.682857

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Differenc e	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	

ÁCIDO URICO EN SANGRE

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



Oneway Anova Summary of Fit

Rsquare	0.314417
Adj Rsquare	0.219198
Root Mean Square Error	1.294481
Mean of Response	3.100952
Observations (or Sum Wgts)	42

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	27.665644	5.53313	3.3020	0.0148
Error	36	60.324518	1.67568		
C. Total	41	87.990162			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	1.78000	0.57891	0.6059	2.9541
2	7	2.40857	0.48927	1.4163	3.4009
3	8	2.79375	0.45767	1.8656	3.7219
4	7	3.23571	0.48927	2.2434	4.2280
5	8	3.51375	0.45767	2.5856	4.4419
6	7	4.48143	0.48927	3.4891	5.4737

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	1.78000	0.19039	0.08515	1.5436	2.0164
2	7	2.40857	0.54995	0.20786	1.9000	2.9172
3	8	2.79375	1.65611	0.58552	1.4092	4.1783
4	7	3.23571	1.24195	0.46941	2.0871	4.3843
5	8	3.51375	1.11562	0.39443	2.5811	4.4464

6	7	4.48143	1.87968	0.71045	2.7430	6.2198
---	---	---------	---------	---------	--------	--------

Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02809	0.05

Abs(Dif)-LSD	6	5	4	3	2	1
6	-1.4033	-0.3911	-0.1576	0.3289	0.6696	1.1642
5	-0.3911	-1.3127	-1.0807	-0.5927	-0.2536	0.2371
4	-0.1576	-1.0807	-1.4033	-0.9168	-0.5762	-0.0815
3	0.3289	-0.5927	-0.9168	-1.3127	-0.9736	-0.4829
2	0.6696	-0.2536	-0.5762	-0.9736	-1.4033	-0.9087
1	1.1642	0.2371	-0.0815	-0.4829	-0.9087	-1.6604

Positive values show pairs of means that are significantly different.

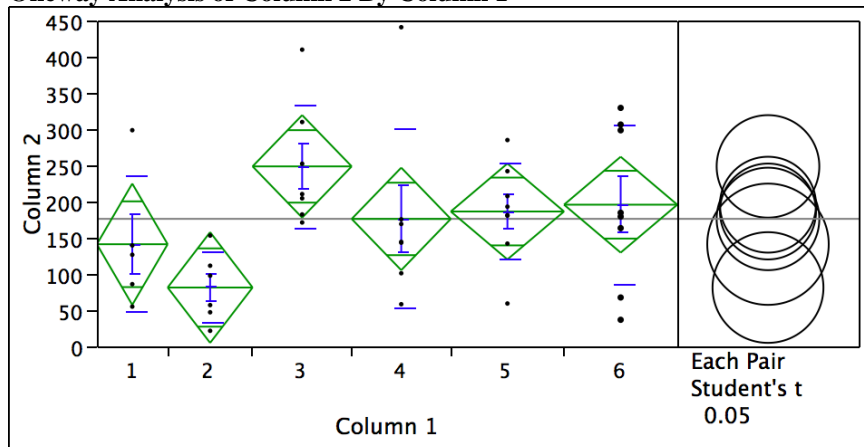
Level				Mean
6	A			4.4814286
5	A	B		3.5137500
4	A	B	C	3.2357143
3		B	C	2.7937500
2		B	C	2.4085714
1			C	1.7800000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
6	1	2.701429	1.16419	4.238664	0.0011	
6	2	2.072857	0.66956	3.476155	0.0049	
5	1	1.733750	0.23708	3.230418	0.0244	
6	3	1.687679	0.32894	3.046415	0.0163	
4	1	1.455714	-0.08152	2.992950	0.0627	
6	4	1.245714	-0.15758	2.649012	0.0802	
5	2	1.105179	-0.25356	2.463915	0.1077	
3	1	1.013750	-0.48292	2.510418	0.1780	
6	5	0.967679	-0.39106	2.326415	0.1573	
4	2	0.827143	-0.57615	2.230440	0.2397	
5	3	0.720000	-0.59266	2.032665	0.2733	
2	1	0.628571	-0.90866	2.165807	0.4124	
4	3	0.441964	-0.91677	1.800701	0.5137	
3	2	0.385179	-0.97356	1.743915	0.5689	
5	4	0.278036	-1.08070	1.636773	0.6806	

PROTEÍNAS TOTALES EN ORINA

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova
Summary of Fit**

Rsquare	0.252813
Adj Rsquare	0.146072
Root Mean Square Error	92.2181
Mean of Response	176.0878
Observations (or Sum Wgts)	41

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	100709.36	20141.9	2.3685	0.0595
Error	35	297646.25	8504.2		
C. Total	40	398355.60			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	141.040	41.241	57.32	224.76
2	6	81.267	37.648	4.84	157.70
3	7	248.529	34.855	177.77	319.29
4	7	175.986	34.855	105.23	246.75
5	8	186.250	32.604	120.06	252.44
6	8	195.650	32.604	129.46	261.84

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
1	5	141.040	94.165	42.112	24.12	257.96
2	6	81.267	48.267	19.705	30.61	131.92
3	7	248.529	85.193	32.200	169.74	327.32
4	7	175.986	123.624	46.726	61.65	290.32
5	8	186.250	67.073	23.714	130.18	242.32
6	8	195.650	109.409	38.682	104.18	287.12

Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.03011	0.05

Abs(Dif)-LSD	3	6	5	4	1	2
3	-100.07	-44.01	-34.61	-27.53	-2.13	63.11
6	-44.01	-93.61	-84.21	-77.23	-52.12	13.28
5	-34.61	-84.21	-93.61	-86.63	-61.52	3.88
4	-27.53	-77.23	-86.63	-100.07	-74.67	-9.44
1	-2.13	-52.12	-61.52	-74.67	-118.40	-53.59
2	63.11	13.28	3.88	-9.44	-53.59	-108.09

Positive values show pairs of means that are significantly different.

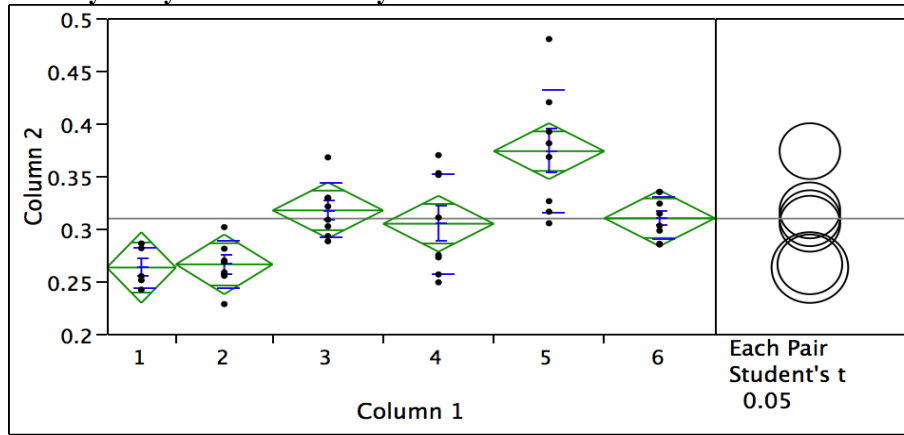
Level			Mean
3	A		248.52857
6	A		195.65000
5	A		186.25000
4	A	B	175.98571
1	A	B	141.04000
2		B	81.26667

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
3	2	167.2619	63.1064	271.4174	0.0025	
6	2	114.3833	13.2769	215.4897	0.0277	
3	1	107.4886	-2.1320	217.1091	0.0544	
5	2	104.9833	3.8769	206.0897	0.0423	
4	2	94.7190	-9.4365	198.8746	0.0733	
3	4	72.5429	-27.5265	172.6123	0.1500	
3	5	62.2786	-34.6132	159.1703	0.2004	
1	2	59.7733	-53.5896	173.1363	0.2918	
6	1	54.6100	-52.1177	161.3377	0.3060	
3	6	52.8786	-44.0132	149.7703	0.2754	
5	1	45.2100	-61.5177	151.9377	0.3957	
4	1	34.9457	-74.6748	144.5662	0.5217	
6	4	19.6643	-77.2275	116.5561	0.6828	
5	4	10.2643	-86.6275	107.1561	0.8310	
6	5	9.4000	-84.2064	103.0064	0.8396	

% DE “PESO” DEL RIÑÓN

Oneway Analysis of Column 2 By Column 1



**Oneway Anova
Summary of Fit**

Rsquare	0.523912
Adj Rsquare	0.461269
Root Mean Square Error	0.037105
Mean of Response	0.309475
Observations (or Sum Wgts)	44

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Column 1	5	0.05757272	0.011515	8.3634	<.0001
Error	38	0.05231732	0.001377		
C. Total	43	0.10989004			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
1	5	0.262920	0.01659	0.22933	0.29651
2	7	0.265943	0.01402	0.23755	0.29433
3	8	0.317238	0.01312	0.29068	0.34379
4	8	0.304550	0.01312	0.27799	0.33111
5	8	0.373500	0.01312	0.34694	0.40006
6	8	0.309800	0.01312	0.28324	0.33636

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	0.262920	0.019463	0.00870	0.23875	0.28709
2	7	0.265943	0.022694	0.00858	0.24495	0.28693
3	8	0.317238	0.025632	0.00906	0.29581	0.33867
4	8	0.304550	0.047896	0.01693	0.26451	0.34459
5	8	0.373500	0.058783	0.02078	0.32436	0.42264
6	8	0.309800	0.020237	0.00715	0.29288	0.32672

Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

t	Alpha
2.02439	0.05

Abs(Dif)-LSD	5	3	6	4	2	1
5	-0.03756	0.01871	0.02614	0.03139	0.06868	0.06776
3	0.01871	-0.03756	-0.03012	-0.02487	0.01242	0.01150
6	0.02614	-0.03012	-0.03756	-0.03231	0.00498	0.00406
4	0.03139	-0.02487	-0.03231	-0.03756	-0.00027	-0.00119
2	0.06868	0.01242	0.00498	-0.00027	-0.04015	-0.04096
1	0.06776	0.01150	0.00406	-0.00119	-0.04096	-0.04751

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Level			Mean
5	A		0.37350000
3		B	0.31723750
6		B	0.30980000
4		B C	0.30455000
2		C	0.26594286
1		C	0.26292000

Levels not connected by same letter are significantly different.

Level	- Level	Difference	Lower CL	Upper CL	p-Value	Difference
5	1	0.1105800	0.067758	0.1534021	<.0001	
5	2	0.1075571	0.068681	0.1464328	<.0001	
5	4	0.0689500	0.031393	0.1065074	0.0006	
5	6	0.0637000	0.026143	0.1012574	0.0015	
5	3	0.0562625	0.018705	0.0938199	0.0044	
3	1	0.0543175	0.011495	0.0971396	0.0143	
3	2	0.0512946	0.012419	0.0901703	0.0111	
6	1	0.0468800	0.004058	0.0897021	0.0327	
6	2	0.0438571	0.004981	0.0827328	0.0281	
4	1	0.0416300	-0.001192	0.0844521	0.0564	
4	2	0.0386071	-0.000269	0.0774828	0.0515	
3	4	0.0126875	-0.024870	0.0502449	0.4982	
3	6	0.0074375	-0.030120	0.0449949	0.6907	
6	4	0.0052500	-0.032307	0.0428074	0.7787	
2	1	0.0030229	-0.040960	0.0470056	0.8901	

BIBLIOGRAFÍA

1. Moreno-Esteban, B., Monereo-Megías, S., Álvarez-Hernández, J. Obesidad, la epidemia del siglo XXI, 2ª Edición, Editorial Díaz Santos, Madrid España, pp. 2, 11-13. 2000.
2. Moreno-Esteban, B., Monereo-Megías, S. La obesidad en el tercer milenio, 3ª Edición, Editorial Médica Panamericana, Madrid España, p. 64, 65, 93, 152,153. 2004.
3. Shils, E., Olson, J.A., Shike, M., Ross, C. Nutrición en salud y enfermedad, 9ª Edición, volumen II, Mc Graw-Hill Interamericana, México, pp. 1600, 1626, 1673. 2002.
4. Wahba, I.M., Mak, R.H. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: Mechanistic links to chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol, 2:550-562, 2007.
5. Anderson, J.W., Smith, B.M., Washnock, C.S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. Am J Clin Nutr, 70(3):464s-474s, 1999.
6. Walls, J., Williams, A.J. Influence of soya protein on the natural history of a remnant kidney model in the rat. Contrib Nephrol, 60:179-187, 1988.
7. Appel, L.J., Sacks, F.M., Carey, V.J., Obarzanek, E. Swaim, J.F., Miller, E.R., Conlin, P.R. Effects of protein, monosaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids. JAMA. Enfermedad de Bright, 294(19):2455-2464, 2005.
8. Patiño-Restrepo, J.F. Metabolismo, nutrición y shock, 4a Edición, Editorial Médica Panamericana, Bogotá, Colombia 2006, p. 521.
9. National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation, and treatment, of high blood cholesterol in adults. Adult Treatment Panel III Final Report. Circulation, 106:3143/3421, 2002.
10. Shulman, G.I. Celular mechanisms of insulin resistance. J Clin Invest, 106:171-176, 2000.

11. Calle, E.E., Thun, M.J., Petrelli, J.M., Rodríguez, C. Heath, C.W. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. *N Engl J Med*, 341:1097-1105, 1999.
12. Galassi, A., Reynolds, K., He, J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis. *Am J Med*, 119:812-819, 2006.
13. Kral, J.G. Morbidity of severe obesity. *Surg Clin North Am*, 81(10):39-61, 2001.
14. Klein, S. Medical treatment of obesity. *Prob Gen Surg*, 17:1-6, 2000.
15. Carrajal, C.M. Manejo nutricional de la obesidad. In *Obesidad. Enfoque integral*. Duperly J, Compilador, Santafe de Bogotá, Centro editorial, Universidad del Rosario, Santa Fe de Bogotá, Colombia, 2000.
16. Casanueva, E., Kaufer-Horwitz, M., Pérez, A.B., Arroyo, P. *Nutriología Médica*, 2ª Edición Editorial Panamericana, México, 2001.
17. Santi, M.J., Barba, A., Mangas, A. Bases moleculares de la obesidad: Regulación del apetito y control del metabolismo energético. *Medicina Clínica*, 117:463-76, 2001.
18. Iseki, K., Kemiya, Y., Kinjo, K., Inoue, T., Iseki, C., Takishita, S. Body mass index and the risk of development of end-stage renal disease in a screened cohort. *Kidney Int*, 65:1870-1876, 2004.
19. Unger, R.H. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes*, 44:863-70, 1995.
20. Bagdy, S.P. Obesity-initiated metabolic syndrome and the kidney: A recipe for chronic kidney disease? *J Am Soc Nephrol*, 15:2775-2791, 2004.
21. Abrass, C.K. Cellular lipid metabolism and the role of lipids in progressive renal disease. *Am J Nephrol*, 24:46-53, 2004.
22. Virchow, R. A more precise account of fatty metamorphosis. In: *Cellular pathology, as based upon physiological and pathological histology (Transl Chance F)*, 2ª Edición, J Churchill, Londres, Reino Unido, pp. 342-366. 1860.

23. Kimmelstiel, P., Wilson, C. Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney. *Am J Pathol*, 12:83-98, 1936.
24. Moorhead, J.F., Chan, M.K., El-Nahas, M., Varghese, Z. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulo-interstitial disease. *Lancet*, 2:1309-1311, 1992.
25. Jiang, T., Wang, Z., Proctor, G., Moskowitz, S., Liebman, S.E., Rogers, T., Lucia, M.S., Li, J., Levi, M. Diet-induced obesity in C57bl/6j mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. *J Biol Chem*, 280:32317-32325, 2005.
26. Jiang, T., Liebman, S.E., Lucia, M.S., Li, J., Levi, M. Role of altered renal lipid metabolism and the sterol regulatory element binding proteins in the pathogenesis of age-related renal disease. *Kidney Int*, 68:2608-2620, 2005.
27. Steinberg, D. Thematic review series: The pathogenesis of the atherosclerosis- An interpretative history of the cholesterol controversy, part III: Mechanistically defining the role of hyperlipidemia. *J Lipid Res*, 46:2037-2051, 2005.
28. Weinberg, J.M. Lipotoxicity. *Kidney Int*, 70:1560-1566, 2006.
29. Eisenberg, Sh.: Plasma lipoprotein. Structure, composition, classification and metabolism. In *Primary hyperlipoproteinemias*. Edit. Steiner and Shafrin. Mc. Graw Hill Inc. New York, EEUU, pp. 23-41. 1991
30. Islas-Andrade, S., Lifshitz-Guinzberg, A. Diabetes mellitus, 2^a edición, Mc Graw-Hill, México, pp. 247-250, 403-409. 1999.
31. Havel, R..J., Kane, J.P. Structure and metabolism of plasma lipoproteins. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.D., Valle, D. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 7^a edición, McGraw-Hill, Nueva York, EEUU, pp. 1841-1851. 1995.

32. Chobanian, A.V. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 Report. *JAMA*, 289:2560-72, 2003.
33. Riella-Miguel, C., Martins, C. *Nutrición y riñón*, 1ª Edición, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires Argentina, pp. 3-8. 2007.
34. Papper, S. *Nefrología Clínica*, 2ª Edición, Salvat editores, S.A., Barcelona España, p. 33. 1982.
35. Higashida, B. *Ciencias de la salud*, 3ª Edición, Editorial Mc Graw Hill-Interamericana, EEUU, pp. 187-190. 1996.
36. Martínez-Maldonado, M., Rodicio, J.L., Acosta-Herrera, J. *Tratado de Nefrología*, 2ª Edición, Ediciones Norma, Madrid España, p. 528. 1993.
37. Defrozo, R.A. Diabetes nephropathy. Etiologic and therapeutic consideration. *Diabetes Rev*, 3:510-564, 1995.
38. Brenner, B.M., Meyer, T.W., Hostetter, T.H. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease, *N Engl J Med*, 307:652-59, 1982.
39. Brenner, B.M., Rector, F.C.J. *The kidney*, Editorial Saunders, Philadelphia, EEUU. 1976.
40. Carroll, K.K., Kurowska, E.M. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *J Nutr*, 125:594S-597S, 1995.
41. Messina, M.J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr*, 70:439-450, 1999.
42. Messina, M.J. Modern applications for an ancient bean: Soy beans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr*, 125:576s-579s, 1995.

43. Baduí-Dergal, S. Química de los alimentos, 3a Edición, Editorial Pearson Educación, México, p. 617-619. 1993.
44. Anderson, J.W., Johnstone, J.W., Cook-Newell, M.E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New England Journal of Medicine*, 333:276-282, 1995.
45. Ascencio, C. Efecto de dos concentraciones de proteína dietaria sobre la expresión génica y la actividad enzimática de la transaminasa de los aminoácidos de cadena ramificada, en el síndrome nefrótico experimental, Universidad Iberoamericana, México DF, México. 1999.
46. Steinke, F.H. Measuring protein quality of foods. In: *Soy protein and human nutrition*. Wilcke, H.L., Hopkins, D.T., Waggle, D.H., eds. Academic Press, Nueva York, EEUU. 1979.
47. Grundy, S.M., Abrams, J.J. Comparison of actions of soy protein and casein on metabolism of plasma lipoproteins and cholesterol in humans. *Am J Clin Nutr*, 38:245-252, 1983.
48. Cohn, J.S., Kimptom, W.G., Nestel, P.J. The effect of dietary casein and soy protein on cholesterol and very low density lipoprotein metabolism in the rat. *Atherosclerosis*, 52:219-231, 1984.
49. Potter, S.M. Overview of proposed mechanism for the hypocholesteromic effect of soy. *J Nutr*, 125:606s-611s, 1995.
50. Anthony, M.S. Soy and cardiovascular disease: Cholesterol lowering and beyond. *J Nutr*, 130:662s-663s, 2000.
51. Torres-y-Torres, N., Tovar-Palacio, A. Descubrimiento del mecanismo de acción a nivel molecular de la proteína de soya, Pub. INCMYNSZ, Mexico DF, México. 2007.

52. Kapiotis, S., Hermann, M., Held, I. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17:2868-2874, 1997.
53. Setchel, K.D., Cassidy, A. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J Nutr*, 129:758s-767s, 1999.
54. Friedman, M., Brandon, D.L. Nutritional and health benefits of soy proteins. *J Agric Food Chem*, 3:1069-1086, 2001.
55. Shafir, E. Hepatic metabolic pattern in experimental nephrotic syndrome: Glycolysis, gluconeogenesis, and amino acid metabolism. *Am J Physiol*, 226 (1):162-167, 1974.
56. Anderson, J.W. Effects of soy protein on renal function and proteinuria in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*, 68(suppl):1347s-1353s, 1998.
57. Anthony, M.S., Clarkson, T.B., Williams, J.K. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 68 (suppl):1390s-1393s, 1998.
58. Wright, S.M., Salter, A.M. Effects of soy protein on plasma cholesterol and bile acid excretion in hamsters. *Comp Biochem Physiol*, 119B(2):247-254, 1998.
59. Kanazawa, T. Protective effects of soy protein on the peroxidizability of lipoproteins in cerebrovascular diseases. *J Nutr*, 125:369s-376s, 1995.
60. Tovar-Palacio, C., Intake of soy protein and soy protein extracts influences lipid metabolism and hepatic gene expression in gerbils. *J Nutr*, 128:839-842, 1998.
61. Nailausen, K., Meinertz, H. Lipoprotein (a) and dietary proteins: Casein lowers lipoprotein (a) concentrations as compared with soy protein. *Am J Clin Nutr*, 69:419-425, 1999.
62. Velásquez, M.T., Batean, S.J. Dietary Phytoestrogens: A possible role in renal disease protection. *Am J Kidney Dis*, 37:1056-1068, 2001.

63. D'Amico, G., Gentile, M.G., Manna, G. Effect of vegetarian soy diet on hyperlipidemia in nephrotic syndrome. *The Lancet*, 339:1131-1133, 1992.
64. Aukema, H.M., Housini, I., Rawling, J.M. Dietary soy protein effects on inherited polycystic kidney disease are influenced by gender and protein level. *J Am Soc Nephrol*, 2:300-308, 1999.
65. Aukema, H.M., Housini, I. Dietary soy protein effects on disease and IGF-I in male and female Han: SPRD-cy rats. *Kidney Int*, 1:52-61, 2001.
66. Iwasaki, K., Gleiser, C.A., Masoro, E.J., Mac Mahan, C.A. The influence of dietary protein source on longevity and age-related disease processes of Fisher rats. *J Gerontol*, 43(1):B5-B12, 1988.
67. Williams, J., Baker, F., Walls, J. Effect of varying quantity and quality of the dietary protein intake in experimental renal disease in rats. *Nephrol*, 1:83-90, 1987.
68. Jenness, R. Biochemical and nutritional aspects of milk and colostrum. In : *Lactation*. Larson, B.L. (ed.), Iowa State University Press, Ames, Iowa 1986.
69. Zucker, L.M., Zucker, T.F. Fatty a new mutation in the rat. *J. Hered*, 52:275-278, 1961.
70. Bray, G.A., York, D.A. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animal: An autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol Rev*, 51(3):598-646, 1971.
71. www.harlan.com (consultada el 5/01/09).
72. Argilés, J.M. 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*, 28:53-56, 1989.
73. Leible, R.L. The role of leptin in the control of body weight. *Nutr Rev*, 60:S15-S19, 2002.
74. Tartaglia, L.A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R 1995. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*. 83:1263 – 1271.

75. Mantzoros, C., Moschos. Leptin: In search of role(s) in human physiology and physiopathology. Clin Endocrinol, 49: 551-567, 1998.
76. Reeves, P. G., Nielsen, F.H. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. American Institute of Nutrition, 123:1939-1951, 1993.
77. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. [Consultado el 10 de junio de 2008]. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>
78. Diagnostic Systems International. 2008. Consulta en las redes internacionales [Consultado el 20 de junio de 2008]. <http://www.diagnosticsystemsinternational.com>
79. Bligh, E.G., Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol, 37:911-917, 1959.
80. Pointe Scientific (2008). Consulta en las redes internacionales [Consultado el 14 de junio de 2008]. <http://www.pointescientific.com>.
81. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farry, A.L, Randall, R.J. J. Biol. Chem. 193: 265-275, 1951.
82. Talaska, F. Manual de pruebas diagnósticas, 5ª Edición, Mc Graw Hill Interamericana, México, pp 436, 437, 445-447. 1997.
83. Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., editores. Tietztextbook of Clinical Chemistry. 3ª Edición, W.B. Saunders Co., Philadenphia p. 809,1999.
84. William, F.M, Lawrence, E.A., Rodriguez, R.N. Dietary protein intake and renal function. Nutrition and Metabolism, 2(25):1-9, 2005.
85. Layman, D.K., Boileau, R.A., Erickson, B.J., Painter, J.E., Shiue, H., Sather, C., Christou, D.D. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body

composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. *J Nutr* 133(2):411-417, 2003.

86. Tovar-Palacio, A., Torre-Villalvazo, I., Ochoa, M. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. *Journal of Lipids Research*, 46:1823-1832, 2005.

87. Sakemi, T., Haraguchi, S., Tomiyoshi, Y., Aoki, S. Nephrotic syndrome due to immunologically mediated hypocomplementic glomerulonephritis in a patient of Waldenström's macroglobulinemia. *Nephron Journal*, 92 (2):452-455, 2002.

88. Williams, A., Walls, J. Metabolic consequences of differing protein diets in experimental renal disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 17(2):117 -122, 1987.

89. Schmidt, I.M., Main, K.M., Damgaard, I.N. Kidney growth in 717 healthy children aged 0-18 months: a longitudinal cohort study. *Pediatr Nephrol*, 19 (9): 992-1003, 2004.