



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EL EFECTO DEL ÁCIDO GRASO *TRANS*-  
PALMITOLÉICO SOBRE LA SENSIBILIDAD A LA  
INSULINA EN UN MODELO MURINO DE OBESIDAD  
INDUCIDA POR DIETA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA DE  
ALIMENTOS

PRESENTA:  
BRENDA DANIELA TAPIA VARGAS



CD. MX.

2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE**

*José Pedraza Chaverri*

**VOCAL**

*Iliana Elvira González Hernández*

**SECRETARIA**

*María Eugenia Frigolet Vázquez Vela*

**1er. SUPLENTE**

*Tania Gómez Sierra*

**2DA. SUPLENTE**

*María del Consuelo Plata Ramos*

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO “FEDERICO GÓMEZ” (HIMFG)**

**LABORATORIO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS: OBESIDAD Y DIABETES**

**DRA. MARÍA EUGENIA FRIGOLET VÁZQUEZ VELA**

**ASESOR DEL TEMA**

**BRENDA DANIELA TAPIA VARGAS**

**SUSTENTANTE**

## ÍNDICE GENERAL

página

Abreviaturas	1
Resumen	2
1. Introducción y antecedentes	3
1.1 Obesidad y diabetes	3
1.2 Insulina	3
1.3 Resistencia a la insulina	5
1.4 Modelo murino para evaluar la homeostasis a la glucosa	6
1.5 Prueba de tolerancia a la glucosa	7
1.5.1 Características de los animales	8
1.5.2 Dieta y composición corporal	9
1.5.3 Dosis y vías de administración	10
1.5.4 Prueba de tolerancia a la glucosa oral (oGTT)	11
1.5.5 Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (ipGTT)	12
1.6 Prueba de tolerancia a la insulina (ITT)	12
1.7 Efectos de los ácidos grasos sobre la salud	14
1.8 Ácido graso <i>trans</i> -palmitoléico	15
1.8.1 Fuentes de obtención	15
1.8.2 Efectos sobre el metabolismo	16
2. Planteamiento del problema	19
3. Justificación	19
4. Hipótesis	20
5. Objetivos	20
5.1 Objetivos generales	20
5.2 Objetivos particulares	20
6. Metodología	21
7. Material y métodos	22
8. Resultados	26
9. Resumen de resultados	34
10. Discusión de resultados	35
11. Conclusiones	38
12. Perspectivas	39
13. Referencias	41
14. Anexos	47

## ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Contenido	página
Fig.1 Órganos blanco de la insulina.	4
Fig. 2 Comparación de vías de administración de la glucosa (ipGTT y oGTT) en ratones con una dosis de 2 g/kg).	11
Fig. 3 Estructura química de los isómeros del ácido graso palmitoléico: <i>cis</i> -palmitoléico (16: 1 c9) y <i>trans</i> -palmitoléico (16:1 t9).	15
Fig. 4 Tejido adiposo de grupos: Control, Control + TP, High fat y High fat + TP	30
Gráfica 1. Consumo de alimento durante 11 semanas.	26
Gráfica 2 Consumo acumulado de alimento durante 11 semanas de alimentación.	27
Gráfica 3. Consumo de energía durante 11 semanas de alimentación.	27
Gráfica 4. Consumo acumulativo de energía durante 11 semanas de alimentación.	28
Gráfica 5. Ganancia de peso durante 11 semanas de alimentación.	29
Gráfica 6. Peso de tejido adiposo de grupos: Control, Control + TP, High fat y High fat + TP.	30
Gráfica 7. Concentración de glucosa en sangre después de la administración de una dosis de glucosa intraperitoneal.	31
Gráfica 8. Concentración de insulina en suero con muestras de ipGTT.	32
Gráfica 9. Concentración de glucosa a través del tiempo después de una administración de insulina.	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Contenido</b>	<b>página</b>
Anexo 1. Composición química de las dietas Control, Control + TP, Fat y Hight Fat TP.	47

## Listado de abreviaturas

- C Grupo Control.
- CP *cis*-palmitoléico.
- CTP Grupo Control adicionado con *trans*-palmitoléico.
- GTT Prueba de tolerancia a la glucosa (Glucose Tolerance Test)
- H Grupo con alto contenido en grasa (High)
- HTP Grupo con alto contenido en grasa adicionado con TP
- ipGTT Prueba de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal (Intraperitoneal Glucose Tolerance Test).
- ITT Prueba de tolerancia a la insulina (Insulin Tolerance Test).
- ivGTT Prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa (Intravenoso Glucose Tolerance Test).
- oGTT Prueba de tolerancia a la glucosa oral (Oral Glucose Tolerance Test).
- TP *trans*-palmitoléico.
- RI Resistencia a la insulina.

## Resumen

La obesidad es una de las enfermedades de mayor prevalencia en México y a nivel mundial. Esta enfermedad no solo trae consigo el aumento del tejido adiposo en el cuerpo, sino que conlleva otras afectaciones crónicas, tales como el síndrome metabólico, la hipertensión y la diabetes tipo 2, por mencionar algunas. La diabetes se ha posicionado como uno de los retos más importantes en materia de salud pública pues afecta a un gran porcentaje de la población. Así mismo, se ha identificado que una de las implicaciones más recurrentes de estas enfermedades es la resistencia a la insulina. Por otra parte, se ha visto que distintos nutrimentos tienen efectos favorables sobre unas de las afectaciones más importantes de la diabetes, la resistencia a la insulina; uno de ellos es el TP. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es determinar el efecto que tiene el TP sobre la sensibilidad a la insulina utilizando un modelo murino de obesidad inducido por la dieta. Para lograr esto, se estudiaron 4 grupos de animales; en dos de ellos se indujo un cuadro de obesidad y los otros dos grupos correspondieron a los controles; a un grupo obeso y a un grupo control se les adicionó TP en la dieta. La alimentación se realizó durante 11 semanas. Al final del periodo de alimentación, se evaluó el peso corporal, el consumo de alimento, así como el peso del tejido adiposo. Por otra parte, para evaluar la sensibilidad a la insulina se emplearon las pruebas de tolerancia a la glucosa y a la insulina. Así mismo, se determinó la concentración de insulina por un ELISA. Los resultados obtenidos en el presente trabajo revelan que los animales que consumieron TP presentaron una tendencia a reducir el peso corporal, una disminución significativa en el peso del tejido epididimal y un mejoramiento de la tolerancia a la glucosa. Esto sugiere que el ácido graso *trans*-palmitoléico tiene efectos favorables sobre el metabolismo. De esta manera, se concluye que el TP disminuye el tejido adiposo epididimal y mejora la tolerancia intraperitoneal a la glucosa.

## **1. Introducción y antecedentes**

### **1.1 Obesidad y diabetes**

La obesidad es definida como la acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo que es perjudicial para la salud (1). Esta enfermedad tiene como característica un IMC  $> 30 \text{ kg/m}^2$  en las personas que lo padecen. Se trata de una enfermedad crónica y de carácter multifactorial (2).

La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo 2 (3). A este respecto la prevalencia de diabetes se ha relacionado con el aumento de la población que padece obesidad, ya que se estima que un 60% de los diabéticos tienen algún grado de obesidad (4).

De acuerdo con la ENSANUT de Medio camino 2016, se encontró que la prevalencia de diabetes en nuestro país pasó de 9.2% en 2012 a 9.4% en 2016, esto con base a un diagnóstico previo de la enfermedad (5).

La diabetes tipo 2 o diabetes no dependiente de insulina se presenta cuando el organismo es incapaz de utilizar eficazmente la insulina (6). La etiología de esta enfermedad está relacionada con la obesidad, poca actividad física y una alimentación no adecuada (7). Este padecimiento se debe a una combinación de resistencia a la insulina y una incapacidad de las células  $\beta$  para aumentar la liberación de insulina (8).

### **1.2 Insulina**

La insulina es una hormona anabólica secretada por las células  $\beta$  pancreáticas, la cual es liberada en respuesta a las concentraciones elevadas de nutrientes en la sangre, controlando así funciones energéticas como el metabolismo de la glucosa y de lípidos. De esta forma, posterior a la ingestión de una comida los niveles de glucosa aumentan en el plasma, activando las células  $\beta$  y secretando así la insulina. Los tejidos blanco (Fig. 1) de esta hormona son principalmente hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (9,10). Cabe mencionar que todas las células poseen receptores de insulina, sin embargo, cobra mayor relevancia en los tejidos ya mencionados.

La insulina ayuda a controlar la concentración de glucosa postprandial de tres maneras. Inicialmente, la insulina se une a los receptores de las células en los tejidos periféricos sensibles (principalmente el músculo esquelético) aumentando así la captura de glucosa. En segundo lugar, la insulina actúa sobre el hígado inhibiendo la producción de glucosa y promoviendo la glucogénesis.

Finalmente, esta hormona inhibe la secreción de glucagón, con lo cual se inhibe la producción hepática de glucosa mediante la inhibición simultánea de la glucogenólisis y la gluconeogénesis (11). Por otra parte, la insulina suprime la liberación de ácidos grasos mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo (12).

La homeostasis a la glucosa en el organismo depende sustancialmente de la interacción entre las hormonas pancreáticas como glucagón e insulina secretadas por las células  $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente. Es por ello, que cualquier alteración en la insulina afecta directamente a esta regulación.

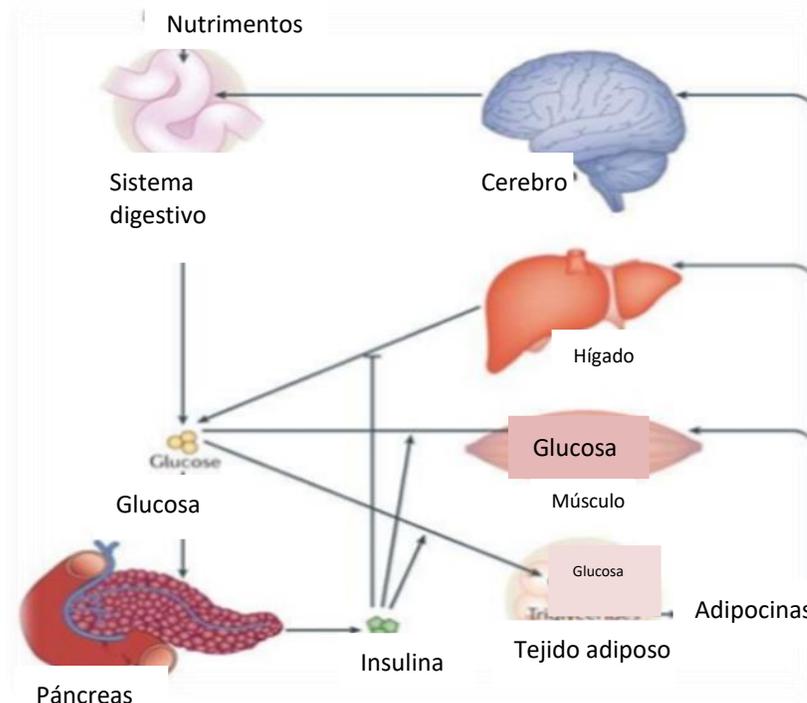


Figura.1 Órganos blanco de la insulina

### 1.3 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es una alteración definida como la incapacidad de las células blanco como adipocitos, miocitos y hepatocitos de responder a su estímulo. Suele preceder a situaciones claramente patológicas como la diabetes tipo 2 o el síndrome metabólico y está asociada a circunstancias como el sobrepeso o la obesidad (13).

De manera general, la resistencia a la insulina se manifiesta por:

- ✓ Disminución en el transporte de glucosa en adipocitos y músculo esquelético.
- ✓ Aumento en la producción de glucosa hepática.
- ✓ Alteraciones en el metabolismo de lípidos en tejido adiposo y hepático (14).

Las alteraciones antes mencionadas se presentan a nivel de tejido; sin embargo, los mecanismos por los que se genera la resistencia a la insulina también se presentan a nivel molecular. En algunos casos, la resistencia se debe a un defecto en la unión de la insulina a su receptor, pero se atribuyen más a alteraciones posteriores a dicha unión. Estas alteraciones van desde la funcionalidad de su receptor hasta la actividad de proteínas que desempeñan funciones importantes en la señalización de la insulina (14, 15, 16).

También existen diversos factores patogénicos como, por ejemplo, la resistencia mediada por inflamación y por exceso de lípidos (12).

La resistencia a la insulina se puede determinar directamente si se evalúa la respuesta fisiológica a la acción de una infusión de insulina exógena que promueve la captación de glucosa en los tejidos insulino dependientes y de manera indirecta, a través de la relación glucosa e insulina en el estado de ayuno y/o después de haber recibido un estímulo por vía oral o intravenosa. En cualquiera de las evaluaciones anteriores, los modelos animales son cada vez más empleados debido a la información que se puede obtener de estos, así como su practicidad, entre otros.

Por tanto, las pruebas *in vivo* se han convertido en una herramienta esencial para comprender los mecanismos que provocan la resistencia a la insulina y de esta manera proponer tratamientos alternativos para la prevención de la misma.

## 1.4 Modelo murino para evaluar la homeostasis de la glucosa

La búsqueda para conocer los mecanismos por los cuales se desarrolla una patología humana ha llevado a desarrollar técnicas estandarizadas en modelos animales para su entendimiento. Estos modelos no sólo ayudan a la comprensión de la patogénesis de muchas enfermedades, sino que también pueden ayudar en el desarrollo de tratamientos adecuados para las mismas (17).

Para la medicina experimental, el ratón es un organismo modelo que ofrece muchas ventajas con respecto a otros modelos genéticos como la mosca y la rata. Algunas de las ventajas son: al tratarse de un mamífero, una gran parte de sus procesos bioquímicos son similares a los del hombre. Además, tienen un tiempo generacional muy corto, son muy prolíficos y se adaptan fácilmente a la vida en los bioterios, lo que permite controlar de mejor manera las variables ambientales en los experimentos (17).

Aún persisten múltiples incógnitas acerca de los mecanismos patogénicos y las implicaciones de una enfermedad tan prevalente como es la diabetes tipo 2. El avance en la prevención y el tratamiento de la misma dependen en gran parte de la comprensión de estos mecanismos y para ello es imprescindible seguir utilizando estos modelos animales.

Al emplear un modelo murino en el que se pretende evaluar la tolerancia a la glucosa como es el objetivo específico de este trabajo, se deben tomar en cuenta los siguientes factores involucrados:

- ✓ La sensibilidad de los tejidos a la insulina.
- ✓ La secreción de insulina de los islotes de Langerhans del páncreas.

El balance entre estos dos factores determina la fisiología de la tolerancia a la glucosa, así como su capacidad para mantener la homeostasis de esta. De esta manera, para una valoración integral de la homeostasis de la glucosa en un modelo con ratones, se debe hacer una evaluación de la sensibilidad de los tejidos blanco a la insulina así como la cuantificación de la secreción de la misma, en respuesta a los cambios en la glucosa plasmática.

Cabe señalar que, la elección de una metodología depende de los objetivos a evaluar. Por ejemplo, existen estudios sobre la adaptación y la función de los islotes que pueden centrarse en la liberación de hormonas en respuesta a la glucosa y otros estímulos. En el caso de los estudios sobre la obesidad y la diabetes tipo 2 como es el caso del presente trabajo, pueden centrarse en la resistencia a la insulina característica de estos estados (8).

Por lo anterior, resulta imprescindible realizar pruebas que permitan evaluar la tolerancia a la glucosa, ya que de manera indirecta se puede conocer si existen alteraciones en la sensibilidad o en la secreción de insulina.

Existen técnicas que pueden aplicarse en los modelos murinos para medir diferentes aspectos de la tolerancia a la glucosa y a la insulina, cada uno de estos métodos tiene ventajas y desventajas. Por lo tanto, la metodología apropiada puede variar de estudio a estudio, dependiendo de los puntos finales deseados, así como las consideraciones prácticas (8).

### **1.5 Prueba de tolerancia a la glucosa**

El método más utilizado para evaluar la homeostasis de la glucosa en roedores es el test de tolerancia a la glucosa (GTT). El GTT evalúa la eliminación de una carga de glucosa administrada por vía oral (oGTT), por inyección intraperitoneal (ipGTT) o por inyección intravenosa (ivGTT) (18). Un GTT proporciona una visión fisiológica de cualquier cambio en la tolerancia a la glucosa sin determinar los mecanismos causales (8). El presente trabajo se centró en la vía intraperitoneal; posteriormente se justificará el uso de la misma.

De manera general, técnicamente los ratones se someten a un período de ayuno antes de la administración de una dosis de glucosa por vía oral. Previamente a la administración de la glucosa, se mide la glucemia basal (en ayunas) y posteriormente se realizan mediciones a 5, 15, 30, 45, 60 y 120 minutos, mediante la obtención de una gota de sangre de la cola.

En un método relativamente simple como el GTT, se está expuesto a distintas variables mismas que deben ser consideradas en el diseño del estudio, por ejemplo:

- ✓ Características de los animales utilizados.
- ✓ Dieta y composición corporal.
- ✓ La dosis de glucosa y su vía de administración.

### **1.5.1 Características de los animales.**

Las características de los animales como cepa, edad y sexo son de suma importancia debido a que, diferencias entre estas pueden generar resultados contrastantes. Por ejemplo, en algunos estudios se ha visto que distintas cepas de ratón presentan variaciones en el metabolismo de la glucosa (19) así mismo, se ha demostrado que existen diferencias dependientes de la cepa en la acción y secreción de la insulina (18).

Las cepas de ratón comúnmente utilizadas tienen variaciones en el metabolismo de la glucosa, lo que complica aún más las comparaciones directas entre los estudios (19). En los modelos murinos para inducir obesidad y diabetes existen ciertas cepas que resultan convenientes para utilizarlas en las pruebas. Tal es el caso de la cepa C57BL/6, la cual es de las más utilizadas en este tipo de estudios (20, 21).

Es importante señalar que aun cuando se usa la misma cepa animal, es imprescindible que provengan de la misma fuente, ya que se han informado diferentes niveles de secreción de insulina en ratones C57BL/6 de diferentes proveedores, esto debido a que pueden introducir variabilidad (22).

Por otro lado, se ha observado que el envejecimiento de los ratones y las ratas aumenta la resistencia a la insulina (23). Así mismo, la tolerancia a la glucosa se deteriora con la edad del animal (24). Por lo tanto, los experimentos metabólicos deben llevarse a cabo en ratones de la misma edad y también considerar el tiempo del estudio.

Otro de los factores que se deben considerar en este tipo de estudios es el sexo del animal. Se recomienda que se realicen estudios en ratones del mismo sexo, debido a que este factor puede influir en el fenotipo resultante de mutaciones genéticas (25) además de que existen diferencias en el metabolismo de la glucosa entre animales machos y hembras (26).

Por todo lo anterior, es esencial que todos los estudios en los que se pretenda evaluar homeostasis de la glucosa en modelos murinos se utilicen animales de la misma cepa, sexo, edad y que procedan del mismo proveedor cuando sea posible. Estos factores se deben reportar en los resultados presentados.

### **1.5.2 Dieta y composición corporal**

En muchas investigaciones donde se han empleado modelos murinos de obesidad inducida se han usado dietas conocidas como “chow”, “low fat” o high fat”. Esto con la finalidad de obtener una comparación de los resultados a distintas condiciones al finalizar el estudio.

La composición de las dietas varía de acuerdo con el fin que se quiere evaluar. Por ello, es importante tomar en cuenta que uno de los factores a considerar en las dietas utilizadas en los estudios es el porcentaje de energía proveniente de carbohidratos, grasas y proteínas.

Uno de los tipos de dieta más utilizadas para el mantenimiento de los animales, son las dietas con menor porcentaje de grasa también conocida como dietas control. Por otro lado, las dietas ricas en grasa se usan regularmente para provocar cambios en la composición corporal (por ejemplo, aumento de masa grasa) y para precipitar la resistencia a la insulina en ratones (27). Al utilizar dietas ricas en grasas, se deben tener en cuenta los efectos sobre la composición corporal. Las diferencias en el peso corporal no solo afectan el metabolismo de la glucosa, sino que también influyen en la manera en que se realizan las pruebas metabólicas y en cómo se normalizan los resultados en estas pruebas (28).

La respuesta fenotípica a la alimentación con alto contenido de grasa puede ser heterogénea dentro de una cepa de ratones, como se informó en ratones C57BL/6J. Aunque lo ideal es comparar ratones de peso equivalente, esto no siempre es posible (28). Por lo tanto, es importante tener en cuenta las diferencias en el peso corporal en el diseño experimental y en la interpretación de los datos.

### **1.5.3 Dosis y vías de administración**

La dosis de glucosa administrada para los experimentos de GTT es una fuente adicional de variabilidad. Cuando se realiza un GTT a humanos, se administra una dosis fija (estándar) de glucosa, independientemente del peso del paciente. El enfoque estándar en ratones es basar la dosis de glucosa en el peso del ratón, generalmente a 1 o 2 g/kg (29,30). Lo anterior es razonable siempre y cuando el peso, así como la composición corporal para diferentes cohortes sean similares.

Sin embargo, en los modelos murinos con aumento de peso, común en muchos modelos de diabéticos, el aumento de peso corporal generalmente se debe a una mayor masa grasa, sin una

masa magra proporcionalmente mayor. Esta es una consideración importante, ya que la masa magra (músculo, cerebro e hígado) es el sitio principal de eliminación de glucosa. Si se administra una dosis de glucosa según el peso corporal total, entonces la dosis administrada a un ratón obeso se verá influida por el aumento de la masa grasa. Por lo tanto, la cantidad de glucosa a la que se expone el tejido magro en un ratón obeso será altamente desproporcionada en comparación con la de un ratón no obeso con una masa magra similar (18).

Lo anterior quiere decir que los ratones obesos pueden ser diagnosticados erróneamente como intolerantes a la glucosa simplemente porque reciben más glucosa por la misma masa corporal magra. Este sesgo hacia la intolerancia a la glucosa en ratones obesos será mayor al aumentar la dosis de glucosa (por ejemplo, 2 g/kg frente a 1 g/kg) (19).

Si los datos de composición corporal están disponibles, entonces para un GTT es más apropiado basar la dosis de glucosa en la masa corporal magra (31). En caso contrario, se sugiere obtener la media por cada grupo de alimentación y así de esta manera se evita el sesgo anterior.

Hasta este momento, se han abordado las características experimentales que se deben considerar al emplear un modelo murino en el cual se pretende evaluar la homeostasis a la glucosa. A continuación, se hablarán de las pruebas que se realizaron en este trabajo.

Los métodos más comunes para administrar la glucosa en un GTT en roedores son las vías oral (oGTT) e intraperitoneal (ipGTT). Ambas vías de administración son aceptadas como métodos apropiados para administrar la glucosa. Sin embargo, se sabe que la administración oral de glucosa genera otra información con respecto a la intraperitoneal (8).

Los GTT evalúan la eliminación de una carga de glucosa administrada por las vías ya mencionadas. Los resultados de un GTT están determinados por la secreción y la acción de la insulina (18). A continuación, se describirán de una forma más detallada en qué consisten estas variantes del GTT.

### 1.5.4 oGTT

La prueba oGTT es una variante del GTT, en la que la forma de administración de la glucosa es vía oral. Esta forma de administración permite evaluar la respuesta de la insulina y otras hormonas, para mediar la concentración de glucosa en sangre. Está bien establecido que la absorción de glucosa a través del intestino conduce al efecto de las incretinas, que son hormonas gastrointestinales que se liberan bajo el estímulo de este nutrimento. De manera general, estas hormonas potencian la producción de insulina (32, 33, 34). Por lo anterior, esta variante representa de mejor manera la fisiología de entrada de la glucosa al organismo (8).

En un experimento con ratones administrados con la misma dosis de glucosa (2 g/kg) por vía oral e intraperitoneal, se encontró que el GTT oral es significativamente menor en comparación con un ipGTT (Gráfica 1).

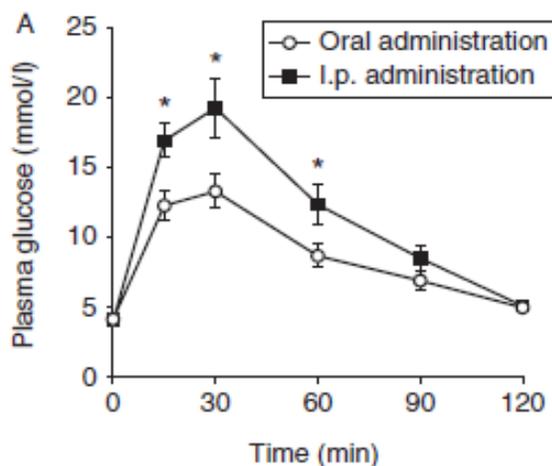


Figura 2 . Comparación de vías de administración de la glucosa (ipGTT y oGTT) en ratones con una dosis de 2 g/kg. (Bowe J, 2014)

Lo anterior indica que la glucosa intraperitoneal produce una respuesta más lenta a los 30 min de administrar la glucosa (19). Por lo tanto, se puede constatar el efecto de las incretinas en la administración oral de glucosa ya que provoca un aumento en la secreción de la insulina con la consecuente disminución de los niveles de glucosa en sangre con respecto a un ipGTT.

### **1.5.5 ipGTT**

Otra variante del GTT es la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal, la cual se diferencia de un oGTT porque la vía de administración de la glucosa es intraperitoneal. Esta variante es una de las formas más aceptadas, ya que los resultados obtenidos representan exclusivamente la respuesta de la insulina y no la de otras hormonas (18).

Como se presenta en la Gráfica 1, el ipGTT tiene una mayor concentración de glucosa ya que no existe el efecto de las incretinas. Por lo anterior, para fines del presente trabajo se consideró evaluar el efecto del TP sobre la sensibilidad a la insulina empleado esta variante.

La presentación estándar de los resultados de los GTT (ya sea ipGTT u oGTT) es una descripción de los niveles de glucosa en sangre a lo largo del tiempo después de la administración de glucosa. En general, se presenta un curso temporal de niveles absolutos de glucosa. Esto es válido siempre y cuando los grupos que se comparan tengan niveles de glucosa en ayunos equivalentes.

Cuando los niveles de glucosa en ayunas difieren, como suele ser el caso con los modelos de diabéticos o resistentes a la insulina, debe presentarse un curso temporal de los niveles de glucosa junto con un cálculo del área bajo la curva por encima de la glucosa de referencia.

La resistencia a la insulina contribuye a la fisiopatología de la diabetes y es un sello de la obesidad, síndrome metabólico y muchas enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, determinar la sensibilidad / resistencia a la insulina en humanos y modelos animales es de gran importancia para estudios epidemiológicos, investigaciones clínicas y de ciencias básicas (32). Una de las pruebas más utilizadas para evaluar la sensibilidad a la insulina en modelos *in vivo*, es mediante una prueba de tolerancia a la insulina.

### **1.6 Prueba de tolerancia a la insulina**

La prueba de tolerancia a la insulina (ITT) es técnicamente muy similar al GTT, ya que implica el seguimiento de los niveles de glucosa en sangre con el tiempo, pero en respuesta a la administración de insulina en lugar de la carga de glucosa. El grado en que los niveles de glucosa en sangre caen en respuesta a la administración de insulina es indicativo de la acción de la insulina en todo el cuerpo.

La convención es realizar el ITT en ratones después de un ayuno corto (de 5 a 6 horas) (18). En esta prueba, el ayuno cobra aún más relevancia; debido a que la administración de insulina en animales en ayunas conlleva el riesgo de inducir hipoglucemia, por lo que se recomienda un tiempo máximo de ayuno de 6 h.

La concentración de glucosa se determina cada 15 a 30 minutos durante 60 a 90 minutos después de una dosis de insulina administrada por inyección intraperitoneal o intravenosa. Es importante tener en cuenta que la vida media de la insulina es de aproximadamente 10 minutos en ratones (35). Por lo tanto, las diferencias en la concentración de glucosa después de la caída inicial (es decir, más de 30 minutos después de la dosis de insulina) podrían no reflejar un efecto sobre la acción de la insulina.

Por lo tanto, si la única diferencia en los niveles de glucosa entre los grupos ocurre a los 120 minutos, esto no es indicativo de un efecto sobre la acción de la insulina. La interpretación de tales datos requiere la medición de los niveles de insulina.

Al igual que en los GTTs, los resultados se pueden expresar como mediciones de glucosa en sangre en el curso del tiempo. Algunas de las consideraciones que se deben tomar en cuenta al realizar un ITT, ya sea en la práctica como en la interpretación de los resultados son la posibilidad de hipoglucemia y los mecanismos homeostáticos contrarreguladores (30).

Es importante hacer mención que tanto el GTT como el ipGTT proporcionan información útil sobre la tolerancia a la glucosa, pero no sobre la sensibilidad/resistencia a la insulina per se. En el caso del ITT, la magnitud de la disminución de la concentración de glucosa en plasma en respuesta a una inyección de la insulina proporciona una estimación de la sensibilidad a la insulina (30).

Otros métodos comúnmente utilizados para determinar la sensibilidad a la insulina son: la insulina en ayunas, la evaluación del modelo de homeostasis (HOMA), la relación insulina-glucosa y el índice de Bennett (36). Sin embargo, por cuestiones de costos y practicidad, en el presente trabajo se empleó una prueba de tolerancia a la insulina

## 1.7 Efectos de los ácidos grasos sobre la salud

En los últimos años ha cobrado relevancia la relación de algunos nutrimentos con alteraciones en el metabolismo. Un caso particular es el consumo de ácidos grasos, los cuales han generado controversia por los diversos efectos sobre la salud.

Por ejemplo, los ácidos grasos saturados se asocian con mayor riesgo de cardiopatías coronarias y resistencia a la insulina, mientras que los ácidos grasos insaturados tienen múltiples efectos benéficos sobre la salud cardiovascular (37-39) y la sensibilidad a la insulina (40-42) en estudios clínicos y en modelos animales. Por su parte, los ácidos grasos monoinsaturados promueven un buen perfil de lípidos en la sangre, mejoran la presión arterial, la sensibilidad a la insulina y el control de la glucemia (43-46). Los ácidos grasos poliinsaturados impactan positivamente en la sensibilidad a la insulina, la salud cardiovascular y mental, el desarrollo y la reducción de la hipertensión y la inflamación.

Así mismo, la isomería en los ácidos grasos se hace notable debido a los riesgos pero también posibles beneficios que pueden ofrecer. Un ejemplo de ello son los ácidos grasos *trans*, los cuales son objeto de un debate continuo sobre las asociaciones positivas y negativas sugeridas con factores de riesgos metabólicos y cardiovasculares (47).

### 1.8 Ácido graso *trans*-palmitoléico

El ácido graso monoinsaturado palmitoléico o palmitoleato (16: 1n7) se encuentra como dos de los isómeros mostrados en la (Fig. 2) *cis* (16:1 c9) y *trans* (16:1 t9). Se ha demostrado que los efectos en el organismo dependen de la isomería de este ácido graso.

La isoforma *cis* (CP) se ha asociado con la disminución en la acumulación de lípidos en el hígado y un incremento en la sensibilidad a la insulina (48), mientras que el isómero *trans* (TP) se ha asociado con efectos favorables en el metabolismo y una disminución en la incidencia de la diabetes. A pesar de lo anterior, aún existe una fuerte asociación general de los ácidos grasos *trans* que se producen; entre otros procesos, al freír los alimentos; entre otros procesos con un mayor riesgo de cardiopatías coronarias (49,50). Lo anterior sugiere que algún efecto positivo causado por el TP no sea del todo viable; sin embargo, el presente trabajo se basó en los estudios que si han demostrados los efectos favorables.

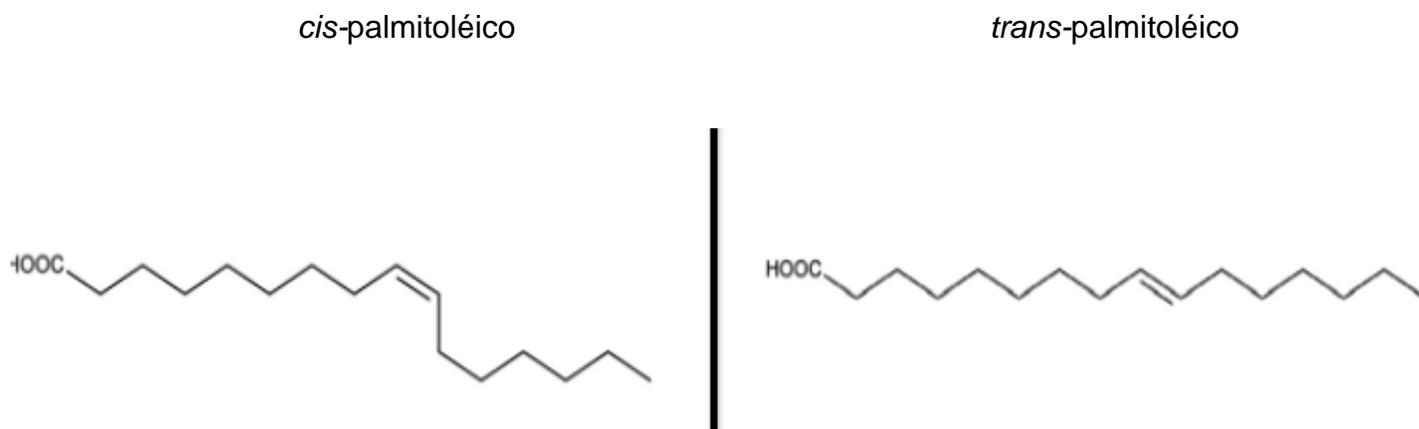


Fig. 3 Estructura química de los isómeros del ácido graso palmitoléico: *cis*- ácido palmitoléico (16:1 c9) y *trans*-ácido palmitoléico (16:1 t9)

### 1.8.1 Fuentes de obtención de TP

Existen dos formas de obtención de palmitoleato, la primera es por la síntesis endógena mediante la lipogénesis de *novo* en seres humanos. La lipogénesis es mediada por la esteroil-CoA desaturasa 1 (SCD1), esta enzima cataliza la síntesis de los ácidos grasos monoinsaturados, principalmente oleato y palmitoleato (51). En los seres humanos, la biosíntesis de CP se produce principalmente en el hígado y en segundo lugar en el tejido adiposo, en la se incorpora más tarde en ésteres de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y ceras. Algunos autores han asumido que la producción endógena de palmitoleato está representada sólo por el CP. Sin embargo, existen descubrimientos recientes que demuestran que el TP podría también generarse endógenamente por el acortamiento de la cadena del ácido vaccénico (18:1 t11) (52).

La segunda forma de obtención es mediante fuentes dietéticas. Por ejemplo, el salmón, el aceite de hígado de bacalao y el aceite de macadamia contienen una alta concentración de palmitoleato. Hasta ahora, la mayor concentración informada de este ácido graso es en alimentos correspondientes al espino amarillo (*Hippophae rhamnoides* L.) nativo de Asia y Europa. El aceite de pulpa del espino amarillo contiene de 32-42% de ácido palmitoleico (53,54). Otras fuentes naturales donde se puede encontrar son el aceite de oliva, el chocolate y los huevos.

El TP, también se puede encontrar en aceites parcialmente hidrogenados; sin embargo, se deriva principalmente de las grasas *trans* de la leche de rumiantes (55). Las concentraciones plasmáticas de TP se correlacionan positivamente con el consumo de leche entera, mantequilla, margarinas y postres al horno (56). En un estudio prospectivo se correlacionó la concentración de

TP en circulación con biomarcadores de ácidos grasos provenientes de la ingesta de grasa láctea, pero la correlación con marcadores de aceites parcialmente hidrogenados fue débil (57,58), sugiriendo que el TP se encuentra principalmente en grasas naturales.

### **1.8.2 Efectos en el metabolismo**

Existen evidencias que apuntan hacia los efectos favorables de las dos isoformas en las que se presenta el palmitoleato. A continuación se presentan algunos de los estudios referentes a ambos isómeros.

Uno de los estudios enfocados al isómero *cis* del palmitoleato es el realizado por Cao y colaboradores (48). Este estudio consistió en realizar una infusión de triacilgliceroles con el CP como ácido graso sustituyente a ratones; se observó una mejora de la sensibilidad a la insulina *in vivo*, potenciando fuertemente la acción de la insulina en músculo e hígado. Además, se observó la supresión de la síntesis de grasa hepática. La supresión de la síntesis de grasa hepática resulta importante ya que existen evidencias experimentales de que el aumento de la síntesis de grasa hepática contribuye a la resistencia a la insulina (57,58). Los últimos hallazgos sugirieron que el palmitoleato circulante (derivado de fuentes no hepáticas), podría proporcionar una función contrarreguladora en la síntesis de grasa hepática.

Por lo anterior, este trabajo concluyó que el CP actúa como una hormona sensibilizadora de insulina que mejora el metabolismo de la glucosa. Este estudio resulta importante debido a que sirve como antecedente de los siguientes estudios realizados con TP

Para el caso del TP existen controversias por la naturaleza de su estructura química y los efectos sobre la salud. Se conoce muy bien que los ácidos grasos *trans* que se producen al cocinar y freír comercialmente, están relacionados con un mayor riesgo de disfunción endotelial y enfermedades coronarias. Sin embargo, existen estudios que demuestran un efecto positivo en el metabolismo de este tipo de grasas provenientes de otras fuentes. Por ejemplo, el TP que se deriva principalmente de las grasas *trans* de los lácteos producidas de forma natural por los rumiantes (59), no se ha asociado con un mayor riesgo cardiovascular (60). De hecho, varias cohortes han observado asociaciones inversas entre el consumo de lácteos y el riesgo de resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la diabetes (61). A continuación, se abordarán estas evidencias.

Uno de los trabajos a este respecto, fue el realizado por Mozaffarian et al. (56) en adultos de E.U.A. En esta gran cohorte prospectiva, los niveles de *trans*-palmitoléico de fosfolípidos se asociaron con un menor riesgo metabólico. Entre los riesgos metabólicos se encontraron: niveles más bajos de triacilglicéridos, de colesterol total y de resistencia a la insulina; así como un inicio de diabetes sustancialmente menor (con un riesgo casi 3 veces menor). Este trabajo relaciona específicamente el consumo de productos lácteos, el TP y la diabetes incidente, representando el primer trabajo que vincula estos tres aspectos.

Los resultados obtenidos en este estudio para TP se relacionan con efectos paralelos a la protección metabólica del CP circulante, mencionados por Mozaffarian et al (48). Uno de los efectos del CP producido por el tejido adiposo es que mejora directamente la resistencia a la insulina del músculo hepático y esquelético, así como la supresión de la síntesis de grasa hepática. Este último efecto mencionado resulta importante ya que, existen evidencias experimentales de que el aumento de la síntesis de grasa hepática contribuye a la resistencia a la insulina (57,58). Los últimos hallazgos sugirieron que, el palmitoleato circulante (derivados de fuentes no hepáticas), podría proporcionar una función contrarreguladora en la síntesis de grasa hepática.

Por toda la información anterior, se sugirió que el TP circulante derivado de fuentes exógenas y no hepáticas podría proporcionar una supresión de la síntesis de grasa hepática, así como un aumento de la captación de la glucosa en músculo esquelético. La evidencia limitada sugiere que las grasas *trans* de los rumiantes pueden regular la síntesis de grasas. Por ejemplo, en modelos bovinos, el ácido linoléico conjugado *trans*-10 / *cis*-12 de la dieta inhibió la síntesis de la grasa de la glándula mamaria. Esto se demostró al disminuir la expresión de los genes lipogénicos (46) con una regulación positiva compensatoria de los genes del tejido adiposo involucrados en la síntesis de grasas.

Los hallazgos de Mozaffarian et al (56) sugieren que el *trans*-palmitoléico, el cual es relativamente exclusivo de los alimentos para rumiantes, podría contrarrestar en parte los efectos adversos de otras grasas *trans* en los alimentos para rumiantes. Además, varias cohortes grandes han informado recientemente sobre asociaciones inversas entre el consumo de productos lácteos y el riesgo de obesidad, los factores de riesgo metabólico o la diabetes tipo 2 (53-55). Por tales motivos, este trabajo respalda los posibles beneficios metabólicos del consumo de lácteos y sugiere que el TP puede ser un candidato de los efectos benéficos encontrados.

Dentro de los resultados de este estudio, también se encontró una asociación significativa con el TP y una adiposidad menor, la cual se refleja en un IMC ligeramente bajo, además de una circunferencia menor de la cintura.

Finalmente, con base en las asociaciones positivas del TP y el consumo de productos lácteos así con respecto a cambios benéficos en el metabolismo, se ha sugerido que los esfuerzos para promover el consumo exclusivo de productos lácteos bajos en grasa y sin grasa, podrían reducir la exposición de la población a este ácido graso y, por tanto, eliminar los efectos benéficos.

En resumen, todos los hallazgos encontrados en este estudio en E.U.A por Mozaffarian et al (56), apoyan el papel del TP en los beneficios metabólicos observados previamente en el consumo de lácteos, con vías potencialmente relacionadas con la resistencia a la insulina, la regulación de la síntesis de grasa hepática, entre otros.

En otro estudio realizado también por Mozaffarian y colaboradores (49), se sugirió la relación del TP circulante con una menor prevalencia de diabetes en hombres y mujeres de origen multiétnico. Esta relación implicaría que, si se alteran las concentraciones circulantes de TP por medio de la dieta sería posible reducir el riesgo de diabetes.

Aunque este estudio no deja claro si se observó un menor riesgo metabólico relacionado con el *trans*-palmitoléico por sí solo o con otros componentes de la grasa láctea, se ha propuesto que los hallazgos más sólidos relacionados con el TP podrían asociarse con su medición objetiva como biomarcador circulante, en comparación con la ingesta de lácteos. En este estudio se observó que el 15:0 y 14:0 otros biomarcadores del consumo de productos lácteos, se asociaron débilmente o no se asociaron con la diabetes incidente, por cual sugieren que la asociación podría ser más específica para el TP (49).

Cabe mencionar que hasta al momento, no se han realizados estudios con TP en un modelo murino. Considerando que los modelos con ratones ayudan a comprender los mecanismos de patogénesis de diversas enfermedades, entre ellas la diabetes, resulta conveniente realizar un estudio de este tipo para conocer si cabe la posibilidad de que el TP tenga un efecto sobre la sensibilidad a la insulina. Por lo tanto, la finalidad de este trabajo fue realizar un estudio sobre el efecto del TP sobre la sensibilidad a la insulina utilizando un modelo murino.

## **2. Planteamiento del problema**

La obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 son enfermedades que tienen un impacto sobre la salud y economía de la sociedad. La prevención de éstas revierte el efecto negativo en la población.

Es posible que la incorporación del ácido graso *trans*-palmitoléico a la dieta tenga un efecto sobre la sensibilidad a la insulina y, por tanto, resulte en un tratamiento alternativo para la diabetes tipo 2. Por tanto, un modelo murino de obesidad inducido por dieta, puede ayudar a evidenciar el efecto de TP sobre estos trastornos.

## **3. Justificación**

En el año 2016, se estimó que 1 de cada 11 de personas en el mundo sufrían diabetes. La prevalencia de la diabetes ha aumentado de manera constante en los tres últimos decenios, en paralelo al incremento de la prevalencia de la obesidad y el sobrepeso.

El desarrollo de métodos de prevención enfocados al manejo del estado nutricional ha tenido un impacto positivo sobre enfermedades como la obesidad y el mejoramiento en la resistencia a la insulina. Así mismo, la estandarización de pruebas que ayuden a comprender y promover estrategias para combatir estas enfermedades resulta de vital importancia.

La intención del presente trabajo es aportar conocimiento sobre la funcionalidad del ácido TP para probablemente utilizarlo como una estrategia nutricional, que prevenga el desarrollo de la resistencia a la insulina asociada a la obesidad.

Este trabajo se realizó financiado parcialmente por el Instituto Danone y Fondos federales (HIM-2016-079).

#### **4. Hipótesis**

El ácido graso *trans*-palmitoléico promueve una mayor sensibilidad a la insulina en un modelo murino de obesidad inducida por dieta.

#### **5. Objetivos**

##### **5.1 Objetivo general**

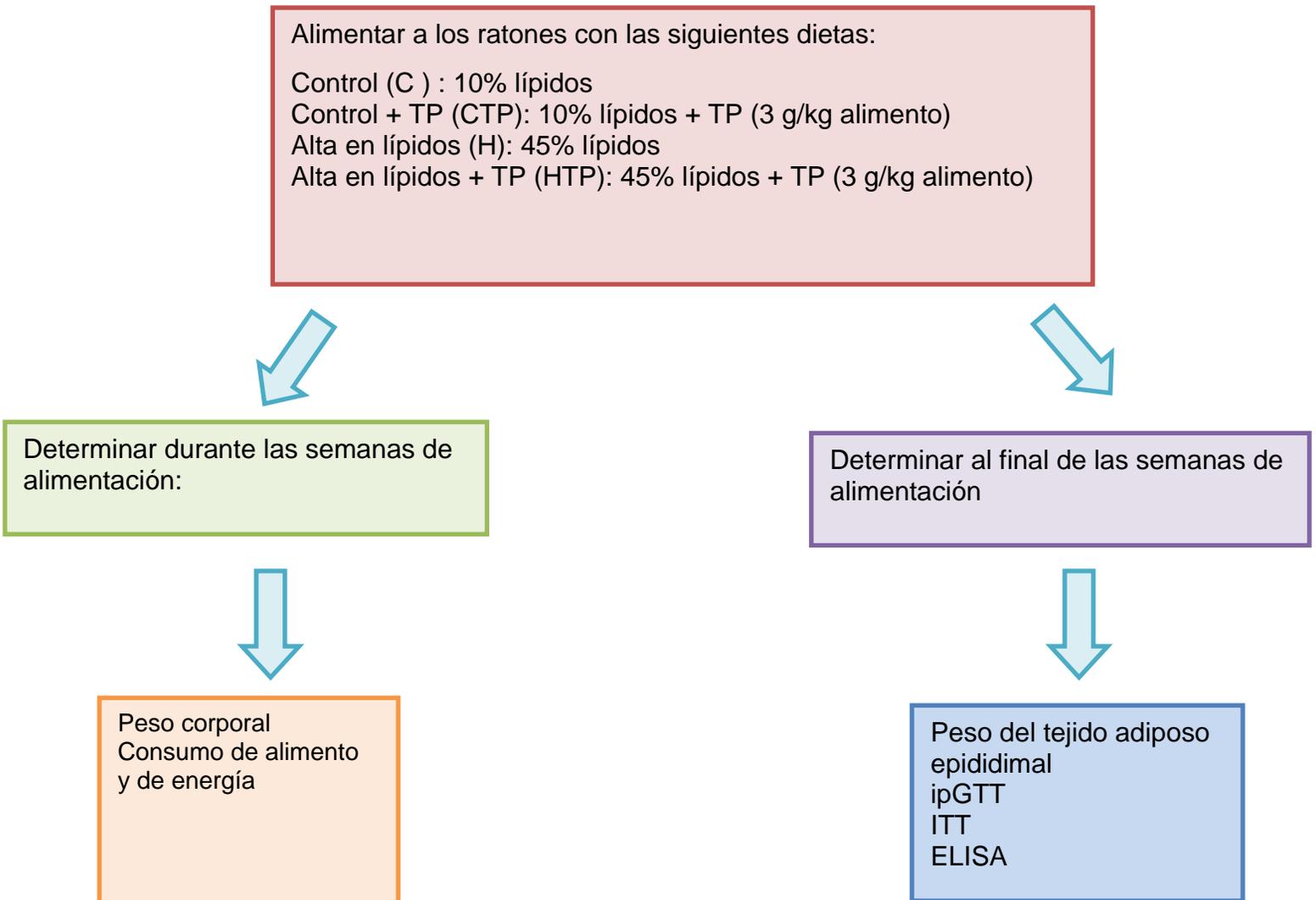
Determinar la influencia del ácido graso *trans*-palmitoléico sobre la sensibilidad a la insulina en un modelo murino de obesidad inducida por dieta.

##### **5.2 Objetivos particulares**

- Determinar el peso corporal, el consumo de alimento y de energía en los animales alimentados con las dietas experimentales.
- Medir el peso del tejido adiposo epididimal al término del tratamiento con las dietas experimentales.
- Evaluar la tolerancia a la glucosa e insulina a través de las pruebas específicas al final del tratamiento con las dietas experimentales.
- Determinar la secreción de insulina en muestras de suero tomado durante la prueba final de tolerancia a la glucosa.

## 6. Metodología

Diagrama de bloques



## 7. Material y métodos

- **Alimentación de ratones**

Se utilizaron 40 ratones C-57BL1 macho de 8 semanas, con peso inicial promedio de 22 gramos aproximadamente provenientes del bioterio UAM-Xochimilco. El estudio se llevó a cabo en el bioterio del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, con una duración de 11 semanas. El protocolo fue aprobado por los Comités de Ética, Bioseguridad e Investigación del Hospital Infantil de México, con clave HIM-2016-079. Los animales permanecieron en jaulas individuales con ciclos de luz/oscuridad de 12 h con libre acceso a la dieta y agua. Fueron asignados a 4 distintos grupos de alimentación (10 animales por grupo). A continuación, se presentan los grupos de estudio:

**Grupo Control (C).** Este grupo recibió una dieta de mantenimiento con 10% de lípidos.

**Grupo Control + TP (CTP).** Grupo experimental el cual se alimentó con 10% de lípidos y 3 mg/g de TP en la dieta. Este grupo se empleó para observar si en condiciones normales el TP pudiera tener efectos en la sensibilidad a la insulina.

**Grupo con alta concentración de lípidos (H).** Grupo experimental alimentado con una dieta con 45% de lípidos. En este grupo se generó obesidad por alta concentración de lípidos y densidad de energía (kcal/g) en la dieta.

**Grupo con alta concentración de lípidos + TP (HTP).** Finalmente, este grupo se alimentó con una dieta con 45% de lípidos y adicionado con 3 mg/g de TP. En este grupo se observó el efecto de TP sobre la obesidad y padecimientos subsecuentes.

La composición química de las dietas que consumieron los animales se explica en el Anexo 1. Las dietas fueron elaboradas por ResearchDiets, Inc. (Nueva Jersey, E.U.A).

- **Peso de los animales y el consumo de alimento**

Durante 11 semanas se registró el peso corporal de los ratones, así como el alimento consumido. Se empleó una balanza analítica con la opción de peso dinámico; esta función permite registrar el peso varias veces con el animal en movimiento y calculando un peso promedio del mismo.

- **Ayuno**

La finalidad del ayuno en este tipo de experimentos es obtener mediciones consistentes en la glucosa plasmática después de su administración. El ayuno sirvió así, para que no exista ninguna otra fuente de glucosa y eso no intervenga en las mediciones posteriores. Es por ello que para evaluar el metabolismo de la glucosa sólo bastan con 4 horas de ayuno.

- **Preparación de los animales para GTT e ITT**

Para obtener las muestras de sangre, se procedió a cortar la cola de 1–2 mm de tejido desde la punta de la cola distal al hueso con tijeras afiladas. Posteriormente se obtuvo la sangre por flujo directo o masajeadando suavemente la cola y finalmente se recogió la sangre en un tubo capilar. La primera muestra que se tomó debió ser descartada para evitar errores en la lectura.

- **Prueba de tolerancia a la glucosa**

- **Prueba de tolerancia a la glucosa vía intraperitoneal**

Después de 11 semanas de alimentación se realizó un ipGTT con los ratones después de 4 horas de ayuno. Primero se determinó la concentración basal de glucosa y a continuación se administró una dosis (1.5 mg glucosa /g de peso corporal) vía intraperitoneal. Posteriormente, a los minutos 15, 30, 45, 60 y 120 se midió la concentración de glucosa en sangre, empleando el glucómetro Accu-Chek®.

Al medir la concentración de glucosa en estado basal, a los 5 y 15 min se extrajo sangre en otros tubos capilares, de la que posteriormente se separó el suero por centrifugación y se almacenaron a -80°C hasta su utilización para medir la concentración de insulina en suero con la prueba ELISA.

- **Prueba de tolerancia a la insulina**

Para llevar a cabo la prueba, se colocaron a los ratones en ayuno durante 4 horas. Después se determinó la concentración basal de glucosa y posteriormente se administró una dosis (1 UI de insulina/ kg peso corporal). Finalmente, a los minutos 15, 30, 45 y 60 se midió la concentración de glucosa en sangre utilizando glucómetros Accu-Chek®.

- **Obtención de muestras**

Los animales se decapitaron después de realizar una dislocación. Se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales que de cada grupo. Las muestras de sangre se recolectaron en tubos con gel separador.

- **Determinación de insulina en suero**

La prueba ELISA se realizó con un estuche comercial de ALPCO Mouse Insulin ELISA tipo sándwich, con un número de catálogo 80-INSMS-E01. La microplaca consta de 96 pocillos recubiertos por un anticuerpo monoclonal específico para insulina.

Los estándares, controles y muestras se agregan a los pozos de microplaca con el conjugado. Posteriormente, la microplaca se incubó a temperatura ambiente en un agitador. Después de que se completó la primera incubación, los pocillos se lavaron con amortiguador de lavado y se secaron. Se agregó el sustrato TMB y la microplaca se incubó por segunda vez a temperatura ambiente. Una vez que se completó la segunda incubación, se agregó la solución de parada y se midió la densidad óptica (OD) mediante un espectrofotómetro a 450 nm. En este ensayo, la intensidad del color generado es directamente proporcional a la cantidad de insulina en la muestra.

Para la cuantificación se procedió a hacer la medición mediante espectrofotometría. Esto ocurre mediante una reacción en la que intervienen el sustrato peroxidasa y tetrametil bencidina en cantidad proporcional a la cantidad de insulina de cada muestra. La intensidad del color generado es directamente proporcional a la cantidad de insulina en la muestra (62,63,64).

La determinación de la concentración de insulina en el suero mediante un ELISA se realizó con las muestras obtenidas en el ipGTT a los 0, 5 y 15 minutos.

- **Peso del tejido adiposo**

Se obtuvieron los tejidos adiposos de cada uno de los cuatro grupos para pesarlos en una balanza analítica.

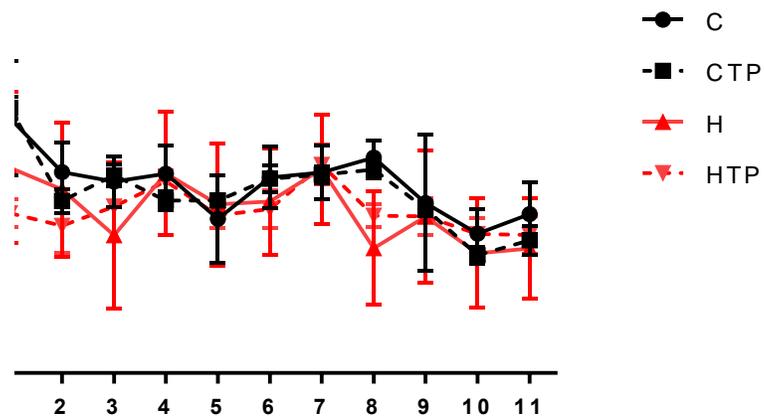
- **Análisis estadístico**

Los resultados se expresan como la media de cada grupo +/- el error estándar de la media. Los parámetros de peso corporal, consumo de energía y las curvas de tolerancia a la glucosa e insulina fueron tratados mediante el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Mientras que, la concentración de insulina fue tratada mediante el análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Los ANOVA se realizaron utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 7®. Se realizaron pruebas de Tukey para la comparación entre grupos. Se señalan las diferencias entre los valores con letras distintas indicando diferencias estadísticamente significativas ( $a > b$ ,  $p < 0.05$ ).

## 8.Resultados

### Consumo de alimento de los ratones alimentados.

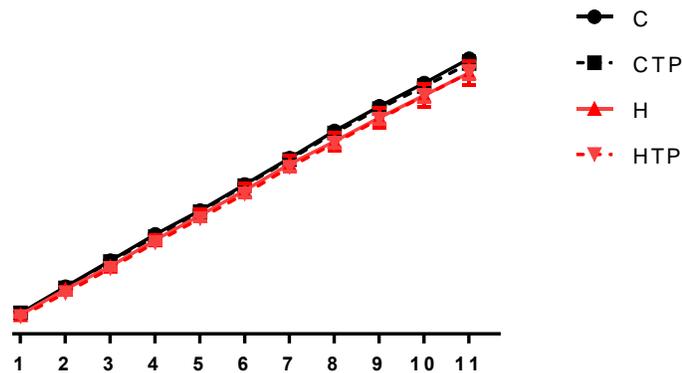
Cada semana durante el período de alimentación se pesó el alimento consumido, lo anterior se presenta en la gráfica 1. Se puede observar que no existen diferencias significativas entre los grupos controles y los grupos con alto contenido en lípidos en cuanto al alimento que consumieron.



Gráfica 1. Ingesta de alimento (g) promedio por día durante 11 semanas de alimentación de los cuatro grupos de estudio (N=40)

### Consumo acumulativo de alimento.

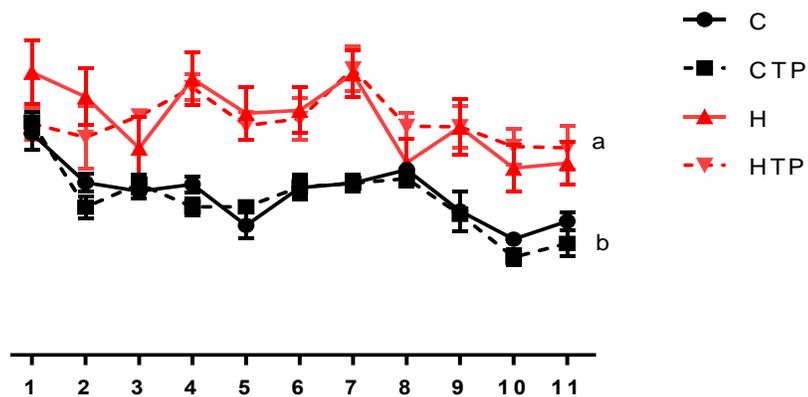
Se presenta la gráfica 2 la cual muestra el consumo acumulativo de alimento durante las 11 semanas de alimentación. En esta gráfica se muestra que no existen diferencias significativas entre los grupos controles y los HF. Lo anterior concuerda con lo observado en la gráfica 1, donde el consumo de alimento no presenta diferencia.



Gráfica 2. Ingesta de alimento acumulado (g) promedio por día durante 11 semanas de alimentación de los cuatro grupos de estudio (N=40)

### Consumo de energía de los ratones alimentados.

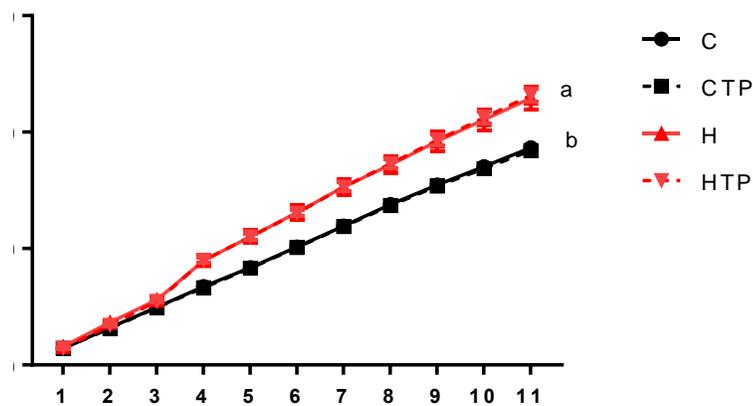
La siguiente gráfica representa la energía consumida en las 11 semanas de alimentación. Se observan diferencias significativas entre los grupos controles y los grupos HF. Lo anterior se debe a que, a pesar de que no hubo diferencias en cuanto al consumo de alimento, los grupos alimentados con un alto contenido en grasa consumieron más energía respecto a los grupos controles.



Gráfica 3. Ingesta de energía (kcal) durante 11 semanas de alimentación (N=40)  
 Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y los grupos con alto contenido de grasa. ( $p < 0.05$ )

### Consumo acumulativo de energía.

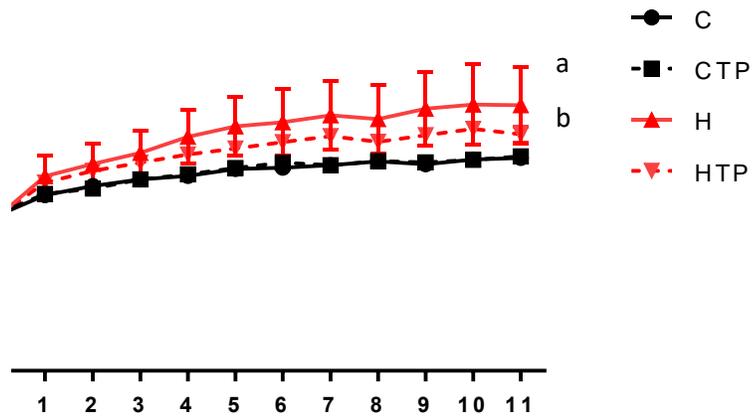
La siguiente gráfica presenta el consumo acumulado de energía en los cuatro grupos de alimentación. Se observan diferencias significativas, donde los grupos con alto contenido de grasa en su dieta presentaron un mayor consumo de energía durante la experimentación.



Gráfica 4. Ingesta de energía acumulada (kcal) durante 11 semanas de alimentación (N=40)  
 Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y los grupos con alto contenido en grasa ( $p < 0.05$ )

## Peso corporal de los ratones alimentados.

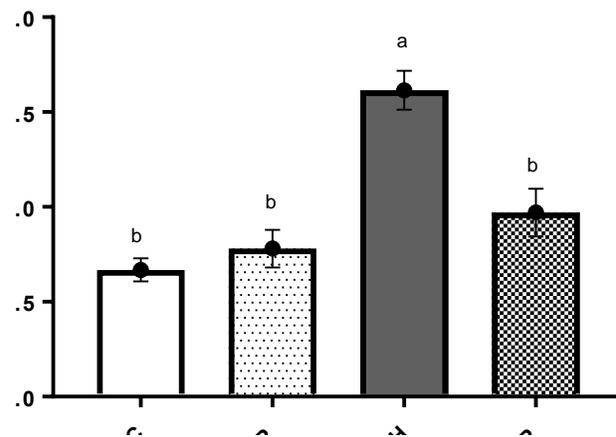
A continuación, se presenta la gráfica de la ganancia de peso para los cuatro grupos de alimentación. Los resultados revelan una tendencia a disminuir el peso corporal con la adición del ácido graso *trans*-palmitoléico sin presentar diferencias significativas. En la gráfica 5 se observa la ganancia de peso para los animales que se alimentaron con una dieta alta en lípidos y los grupos controles; como se esperaba.



Gráfica 5. Ganancia de peso durante 11 semanas de alimentación (N=40)  
Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y los grupos con alto contenido en grasa. ( $p < 0.05$ )

## Peso del tejido adiposo.

Al evaluar el peso del tejido adiposo epididimal, se observó que los grupos controles no presentaron ninguna diferencia. Sin embargo, el grupo HTP presentó una disminución en el peso del tejido adiposo respecto al grupo H, demostrando que el consumo de TP previene la acumulación de tejido adiposo epididimal como indicador de adiposidad (Gráfica 6). En la figura 4 se puede observar las diferencias ya mencionadas.



Gráfica 6. Peso de tejido adiposo epididimal después de las 11 semanas de alimentación (N=40)  
Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre C, CTP, HTP y H. (  $p < 0.05$  )



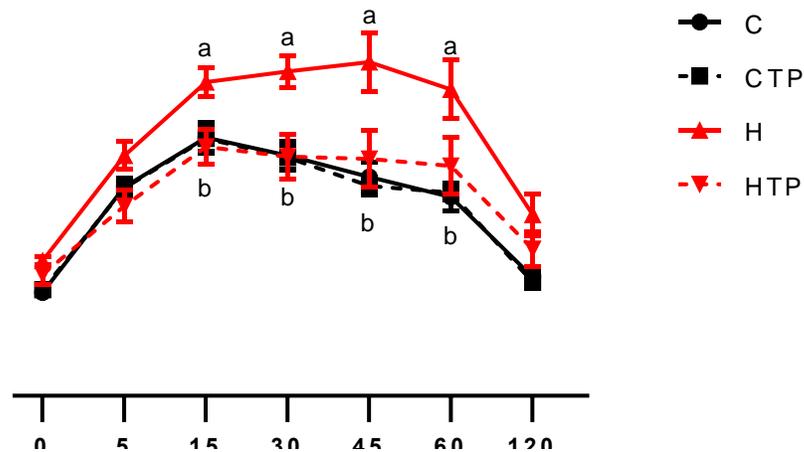
Figura 4. Tejido adiposo de grupos: Control, Control + TP, High fat y High fat + TP

## Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal.

La siguiente gráfica representa la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal la cual permite evaluar si el TP tuvo un efecto sobre la homeostasis a la glucosa. Se observa que la concentración de glucosa en el grupo HTP fue menor a través del tiempo respecto al grupo H en los minutos 15, 30, 45 y 60 min.

Cabe señalar que la curva de HTP presenta un comportamiento similar a los grupos controles, lo cual indica que el TP no solo disminuye la concentración de glucosa en la sangre, sino que lo hace hasta niveles de concentraciones normales.

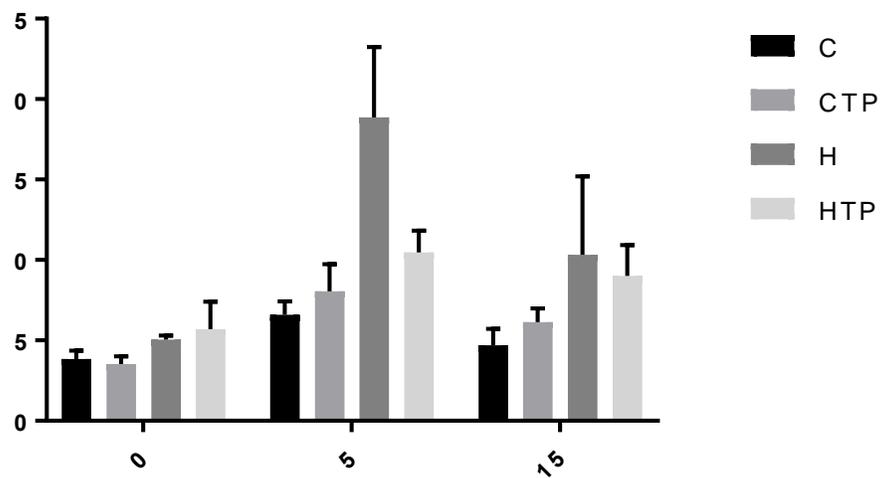
Lo anterior sugiere que la disminución en la concentración de glucosa en la sangre se debe a un aumento en la secreción de insulina o una mayor sensibilidad de esta hormona.



Gráfica 7. Concentración de glucosa en sangre después de la administración de una dosis de glucosa intraperitoneal. Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo H y HTP. (N=40)

### Medición de la concentración de insulina.

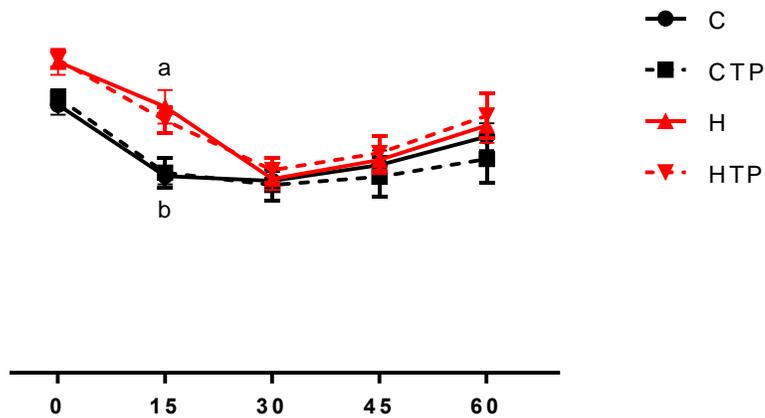
Para conocer si aumentó la secreción de insulina, se realizó la prueba ELISA. La siguiente gráfica presenta la concentración de insulina en los sueros obtenidos en los minutos 0, 5 y 15 en el ipGTT. Se observa que el tratamiento HTP no presentó efectos sobre el aumento de la concentración de insulina. Con base en lo anterior, se puede descartar que la causa de la disminución de la concentración de la glucosa en el ipGTT sea por un aumento en la insulina.



Gráfica 8. Concentración sérica de insulina (ng/mL) estimada por la administración de glucosa vía intraperitoneal a los minutos 0,5, 15 min posteriores a la administración. (N=40)

## Prueba de tolerancia a la insulina.

Con la finalidad de evaluar sí el cambio en la tolerancia a la glucosa se debe a una mayor sensibilidad de la insulina, se realizó la prueba de tolerancia a la insulina. A continuación, se presenta la Gráfica 9, la cual presenta el cambio de concentración de glucosa después de administrar una dosis de insulina. Se puede observar que solo existe diferencia entre los grupos C y H, pero no existen diferencia por adición de TP, lo que sugiere que la adición de TP presenta cambios en la homeóstasis a la glucosa, pero estos no se deben a una mayor secreción de insulina ni a una mayor sensibilidad de esta.



Gráfica 9. Concentración de glucosa a través del tiempo después de una administración de insulina. Las letras distintas designan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos controles y los grupos con alto contenido en grasa (N=40).

## **9. Resumen de los resultados**

- La adición de TP no indujo cambios en el consumo de alimento a través del tiempo.
- El TP no alteró el consumo de energía en el período de alimentación; las diferencias se deben al consumo de energía por los grupos que recibieron alimento con alto contenido en grasa.
- El TP no generó cambios en el peso corporal en los animales a lo largo de las semanas de experimentación.
- El TP promovió la disminución de la adiposidad.
- El TP aumentó la tolerancia intraperitoneal de la glucosa.
- La sensibilidad a la insulina no se vio afectada con la adición de TP.
- La incorporación de TP a las dietas no promovió una mayor concentración de insulina en suero.

## 10. Discusión

México se ha posicionado entre los primeros países con mayor prevalencia de obesidad y alteraciones relacionadas a la enfermedad; particularmente resulta importante profundizar en el estudio de distintos tratamientos para la prevención de la diabetes tipo 2.

Los modelos murinos han sido ampliamente utilizados para el estudio de la obesidad, diabetes y sus implicaciones. Este tipo de modelos representa una gran ventaja sobre otros, ya que como bien se mencionó, muchos de los procesos bioquímicos son similares a los de los seres humanos (69). La simulación de estos procesos ayuda a conocer e identificar los mecanismos por los cuales acontece una enfermedad, además de proponer tratamientos alternativos.

En primera instancia se evaluó el consumo de alimento en los cuatro grupos de alimentación a través del tiempo. Lo anterior se muestra en la Gráfica 1, en la que se observa que no se presentaron diferencias significativas entre los grupos ni con la adición de TP a la dieta. Esto demuestra que el TP no modifica el consumo de alimento.

En la Gráfica 2 se observa el consumo acumulado de alimento durante las semanas de alimentación. Se observa que no hay diferencias significativas, lo cual confirma que la adición de *trans*-palmitoléico no generó un cambio en los ratones al consumir las dietas.

Sin embargo, al evaluar el consumo de energía durante el experimento, se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y los grupos que fueron alimentados con dietas con un alto contenido en grasa. Esto se debe a que las grasas proporcionan mayor cantidad de energía por gramo, lo que se reflejó en los resultados mostrados en la Gráfica 3. Este comportamiento también se observó al evaluar el consumo de energía acumulada, donde solo se encontraron diferencias entre grupos controles y los grupos HF. Por tanto, la adición TP no influyó sobre la energía consumida.

En relación al peso corporal, los resultados obtenidos a través de las semanas de alimentación se presentan en la Gráfica 5, en donde se observan los cambios en el peso corporal de los cuatro grupos a lo largo del tiempo. Sólo se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y los grupos con una dieta alta en grasa. Sólo se presenta una tendencia no significativa a disminuir el peso corporal en el grupo HP en comparación al H. Esta tendencia puede sugerir

que la implementación del ácido graso *trans*-palmitoléico puede ser útil para disminuir el peso corporal en animales obesos.

Con los resultados hasta aquí presentados, se puede indicar que las diferencias mencionadas sólo se deben a la obesidad inducida y no por la adición del TP. Aunque la tendencia a disminuir el peso corporal resulta prometedora, es necesario repetir las condiciones para confirmar esta tendencia. Sin embargo, lo anterior no significa que no existan otros parámetros que cambien independiente del peso. Por ello, se procedió a evaluar el peso del tejido adiposo epididimal.

En la Gráfica 6 se presenta el peso del tejido adiposo epididimal de los cuatro grupos al final de las 11 semanas; se observa una diferencia significativa entre el grupo H y el HTP. Por lo anterior, la adición del ácido graso *trans*-palmitoléico provoca una disminución en el tejido adiposo epididimal. Estas diferencias de adiposidad también se pueden observar en la Figura 4, en la que es evidente que el grupo adicionado con TP presenta una menor cantidad de tejido adiposo que el grupo H.

Estos resultados pueden compararse con lo encontrado en el estudio clínico de Mozzafarian (56), en el que se asoció significativamente al TP con una menor adiposidad manifestado por un menor índice de masa corporal y de circunferencia de la cintura. El mecanismo responsable de lo anterior no se ha descrito, sin embargo, puede ser un objetivo de estudio posteriormente.

Por todo lo anterior, se puede sugerir que la adición del TP en la dieta previene la acumulación de tejido adiposo en un modelo murino. Los resultados presentados hasta este punto resultan controversiales, debido a que la adición de TP tiene efectos favorables sobre la adiposidad, muestra una tendencia a disminuir el peso corporal, aunque no presenta un efecto sobre el consumo de alimento y energía.

Con la finalidad de evaluar si el TP produce cambios en la tolerancia a la glucosa y por tanto, tenga un impacto sobre la sensibilidad a la insulina, se realizaron pruebas más específicas para tal fin.

Por lo tanto, se eligió realizar la prueba de GTT por la vía intraperitoneal, debido a que esta vía muestra la respuesta únicamente de la insulina (18). El ipGTT se realizó después de las 11 semanas de experimentación.

Los resultados obtenidos en el ipGTT se muestran en la Gráfica 7 en la que se observa que el grupo HTP disminuyó significativamente la concentración de glucosa en la sangre respecto al grupo H. Estas diferencias se presentan en los minutos 15, 30, 45 y 60. Además, es importante mencionar que el grupo HTP no sólo disminuyó la concentración de glucosa respecto al grupo H sino que, ésta disminución llegó a los niveles de los grupos controles.

Con este resultado se puede decir que la adición de TP provoca cambios en la homeostasis a la glucosa y, por tanto, probablemente tenga un efecto sobre la sensibilidad a la insulina.

Con base en el resultado anterior, lo que concernió a investigar es, ¿a qué se debe el cambio de concentración de glucosa? Lo anterior se puede deber, en primera instancia a una mayor secreción de insulina o bien, a un aumento en la sensibilidad de la insulina.

Para confirmar la primera propuesta, se realizó la prueba ELISA para la detección y cuantificación de la insulina. Durante el ipGTT se obtuvieron las muestras en los minutos 0, 5 y 15 min, para llevar a cabo esta prueba. De acuerdo con la gráfica 8, se observa que el tratamiento con HTP no provocó una mayor concentración de insulina a ningún tiempo del experimento. En la gráfica también se puede observar que al minuto 0, la concentración de insulina del grupo HTP es ligeramente mayor que la del grupo H. Sin embargo, esto no es significativo y se sugiere que se realicen repeticiones a las mismas condiciones para confirmar los resultados obtenidos.

La segunda propuesta es que el cambio de concentración de glucosa se deba a un aumento en la sensibilidad de la insulina. Para conocer sí existe una mayor acción de la insulina se realizó la prueba de tolerancia a la insulina.

Con base a los resultados obtenidos en la Gráfica 9, se puede observar que sólo existen diferencias en la concentración de glucosa por obesidad, sin observarse diferencias significativas con la adición de TP. Los grupos obesos presentaron menor sensibilidad a la insulina, lo cual confirma que el modelo se llevó a cabo correctamente, debido a que la obesidad si indujo resistencia a la insulina.

Los resultados anteriores revelan una respuesta sistémica de la acción de la insulina, por lo cual convendría evaluar la acción individual de los tejidos insulino dependientes para así vislumbrar si este cambio proviene de los órganos blanco.

De acuerdo con lo obtenido en el presente trabajo, se pueden corroborar las suposiciones sobre la adición de TP. Mozzafarian et al (56) sugirieron que el palmitoleato proveniente de fuentes externas puede mejorar la resistencia a la insulina periférica, proponiendo que el TP fue el responsable de esta mejoría. Aunque en el presente trabajo los resultados relacionados con la sensibilidad a la insulina y el consumo de TP no fueron significativos, es necesario contar con alternativas para evaluar este parámetro. Por ejemplo, para evaluar la sensibilidad a la insulina se puede realizar un HOMA, que permite realizar estimaciones de resistencia insulínica y función de las células beta mediante las concentraciones de la glucosa y la insulina plasmáticas en ayunas

Por otra parte, es importante recordar que hasta donde se tiene conocimiento, no se cuenta con evidencias experimentales en modelos murinos que hayan evaluado el efecto del TP sobre la homeostasis a la glucosa. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo pueden plantear la posibilidad de tener mejorías en el metabolismo de la glucosa con el palmitoleato, tal como lo expuso Cao (48) en su investigación y posteriormente, se puedan confirmar que estas mejorías están directamente relacionadas con la isoforma *trans*.

El presente trabajo representa una de las primeras evidencias de que el ácido graso *trans*-palmitoléico provoca cambios sobre la homeostasis a la glucosa en un modelo murino. Los resultados obtenidos también pueden ayudar para decidir si continuar con las pruebas realizadas o bien elegir otras pruebas más específicas como es la pinza hiperinsulinémica-euglucémica que es considerada el estándar de oro para evaluar la acción de la insulina *in vivo* (69).

## **11.Conclusiones**

La adición del ácido graso *trans*-palmitoléico mostró una tendencia a disminuir el peso corporal de los animales alimentados además disminuyó el peso del tejido adiposo epididimal. El TP mejoró la tolerancia intraperitoneal a la glucosa. Por lo anterior, se sugiere que el TP puede tener un efecto sobre la sensibilidad a la insulina.

## 12. Perspectivas

- Realizar estudios histológicos para conocer y comprender los cambios en los tejidos; principalmente tejido adiposo, que ocurrieron durante el experimento.
- Realizar una réplica de las pruebas realizadas con las mismas condiciones de experimentación para confirmar el modelo.
- Evaluar la tolerancia a la glucosa por la vía intravenosa.
- Utilizar otras técnicas como un HOMA y/o la pinza hiperinsulinémica-euglucémica para determinar la relación insulina-glucosa.
- Evaluar el comportamiento de los intermediarios de la señalización de la insulina con la adición de TP.

### 13. Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. (2019). *Obesidad*. Recuperado de <https://www.who.int/topics/obesity/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. (2018). *Obesidad y sobrepeso*. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
3. Bryce-Moncloa, A., Alegría-Valdivia, E., San Martín, M. (2017). Obesidad y riesgo de enfermedad cardiovascular. *Scielo Perú*. 78(2), 202-203, doi: 10.15381/anales.v78i2.13218
4. Sereno-Trabaldo, S., Rubino, F., Prieto-Aldape, R., Ocampo-Chavarría, A., Cummings, D., Zuñiga-Guajardo, S., González-Ojeda, A. (2016). Primer consenso transdisciplinario en México sobre cirugía metabólica para el tratamiento de la diabetes tipo 2. *Cirujano General*. 38 (3), 129-130. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cirgen/cg-2016/cg163c.pdf>
5. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 Informe Final de Resultados. Recuperado de: [http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/12/ensanut\\_mc\\_2016-310oct.pdf](http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/12/ensanut_mc_2016-310oct.pdf)
6. Organización Mundial de la Salud. (2019). *Diabetes*. Recuperado de <https://www.who.int/topics/obesity/es/>
7. Organización Mundial de la Salud. (2019). *Diabetes, ¿Qué es la diabetes?* Recuperado de <https://www.who.int/topics/obesity/es/>
8. Bowe, J., Franklin, Z., Hauge-Evans, A., King, A. (2014). Assessing glucose homeostasis in rodent models. *Science Guideline*. 222 (3), G13-G24. Recuperado de: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/222/3/G13.xml>
9. Aronoff, S. (2004). Glucose Metabolism and Regulation: Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes Spectrum*. 17 (3), 183-188. Recuperado de: [http://spectrum.diabetesjournals.org/content/17/3/183?utm\\_source=TrendMD&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=Diabetes\\_Spectr\\_TrendMD\\_1](http://spectrum.diabetesjournals.org/content/17/3/183?utm_source=TrendMD&utm_medium=cpc&utm_campaign=Diabetes_Spectr_TrendMD_1)
10. Orci L. (1985). The insulin factory: a tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line. *Diabetologia*. 28 (8), 528-546.
11. Gerich JE, Schneider V, Dippe SE, Langlois M, Noacco C, Karam J, Forsham P. (1974). Characterization of the glucagon response to hypoglycemia in man. *J Clin Endocrinol Metab* 28, 77 –82.

12. Carrasco,F., Galgani,J., Reyes, M. (2013).Síndrome de resistencia a la insulina. estudio y manejoInsulin resistance syndrome: diagnosis and management. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 24 (5).827-837, doi: 10.1016/S0716-8640(13)70230-X
13. Olivares,J., Arellano, A. Bases Moleculares de las acciones de la insulina. *REB*. 27 (1). 9-18  
Recuperado de:  
[http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2008/01/f\\_Articulo2.pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2008/01/f_Articulo2.pdf)
14. Abbas A., Lichtman, A., Pober, J., (1994). *Cellular and molecular immunology*. 2da edición, editorial W.B. Saunders Company.
15. Carpentier J., Puceaud, J. (1994). *Molecular and cellular biology of insulin-receptor internalization*. Ann NY Acad Sci.
16. Sun, X., Pons, S., Wang, L., Zhang, Y., Yenush, L., Burks, D., Myers, M., Glasheen, E., Copciand, N., Jenkins, N. (1997). *The IRS-2 gene on murine chromosome 8 encodes a unique signalling adapter for insulin and cytokine action*. *Mol Endocrinol* .11.251-262
17. Benavides,F., Guenet, L. (2000). Modelos murinos de enfermedades humanas. *Medicina*. 61(2). 215-228.  
Recuperado de:  
[https://www.researchgate.net/publication/242408225\\_MODELOS\\_MURINOS\\_DE\\_ENFERMEDADES\\_HUMANAS](https://www.researchgate.net/publication/242408225_MODELOS_MURINOS_DE_ENFERMEDADES_HUMANAS)
18. Ayala,J., Samuel,V., Morton,G., Obici, S., Croniger, C., Shulman, G., Wasserman, D., McGuinness,O. (2010). Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Disease Models & Mechanisms*. 3. doi: 10.1242/dmm.006239  
Recuperado de: <http://dmm.biologists.org/content/dmm/3/9-10/525.full.pdf>
19. Andrikopoulos,S., Blair, A., Deluca, N., Fam,B., Proietto, J. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 295 (6). E1323-1330. doi: 10.1152/ajpendo.90617.2008.  
Recuperado de: <https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.90617.2008>
20. Figueroa-García,M. Rivera-Valencia,M., Sosa-Durán,E., Saavedra-Molina,F. (2016). Perfil glicémico durante el ayuno en ratas macho-wistar con diabetes tipo 2. *Rev Hosp Juan Mex*, 83 (1 y 2), 23-30.
21. Chatzigergiou,A., Halapas, A., Kalafataki,K., Kamper,E. (2009). The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. *In vivo*.2. 245-258.  
Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19414410>
22. Mekada,K., Abe,K., Murakami,A., Nakamura, S., Nakata,H., Moriswaki, K. Obata, Y., Yoshiki, A. (2009).Genetic Differences among C57BL/6 Substrains. *J stage*. 58 (2). 141-149.  
Recuperado de: [https://www.istage.ist.go.jp/article/expanim/58/2/58\\_2\\_141/article](https://www.istage.ist.go.jp/article/expanim/58/2/58_2_141/article)

23. Bailey, C., Flatt, P. (1982). Hormonal control of glucose homeostasis during development and ageing in mice. *Metabolism Clinical and experimental*. 31 (3). 238-246.  
Recuperado de: [https://www.metabolismjournal.com/article/0026-0495\(82\)90059-2/pdf](https://www.metabolismjournal.com/article/0026-0495(82)90059-2/pdf)
24. Grundleger, M., Godbole, V. and Thenen, S. (1980). Age-dependent development of insulin resistance of soleus muscle in genetically obese (ob/ob) mice. *Am. J. Physiol.* 239. E363-E371.
25. Tiraby, C., Tavernier, G., Capel, F., Mairal, A., Crampes, F., Rami, J., Pujol, C., Boutin, J. A. and Langin, D. (2007). Resistance to high-fat-diet-induced obesity and sexual dimorphism in the metabolic responses of transgenic mice with moderate uncoupling protein 3 overexpression in glycolytic skeletal muscles. *Diabetologia*. 50. 2190-2199
26. Shi, H., Strader, A. D., Sorrell, J. E., Chambers, J. B., Woods, S. C. and Seeley, R. J. (2008). Sexually different actions of leptin in proopiomelanocortin neurons to regulate glucose homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 294. E630-E639
27. Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A. and Feinglos, M. N. (1988). Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*. 37. 1163-1167.
28. Burcelin, R., Crivelli, V., Dacosta, A., Roy-Tirelli, A. and Thorens, B. (2002). Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282. E834-E842.
29. Heikkinen, S., Argmann, C. A., Champy, M. F. and Auwerx, J. (2007). Evaluation of glucose homeostasis. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* Chapter 29, Unit 29B 23.
30. Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H. and Quon, M. J. (2008). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 294, E15-E26.
31. McGuinness, O. P., Ayala, J. E., Laughlin, M. R. and Wasserman, D. H. (2009). NIH experiment in centralized mouse phenotyping: the Vanderbilt experience and recommendations for evaluating glucose homeostasis in the mouse. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297, E849-E855.
32. National Health and Nutrition Examination Survey. (2007). Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) Procedures Manual. Recuperado de:  
[https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_07\\_08/manual\\_ogtt.pdf](https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_ogtt.pdf)
33. Burgos, A. (2012). Rol de las incretinas. *Rev. Hosp Clin Univ Chile*. 23. 213-216  
Recuperado de:  
[https://www.redclinica.cl/Portals/0/Users/014/14/14/Publicaciones/Revista/rol\\_incretinas.pdf](https://www.redclinica.cl/Portals/0/Users/014/14/14/Publicaciones/Revista/rol_incretinas.pdf)
34. Osorio, I., Salceda, R. (2012). Control hormonal de la homeostásis energética: de la célula al cerebro. *Educación Bioquímica*. 3 (2), 41-48  
Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/490/49023248002.pdf>

35. Cresto, J., Lavine, R., Buchly, M., Penhos, J., Bhatena, S. and Recant, L. (1977). Half life of injected 125I-insulin in control and ob/ob mice. *Acta Physiol. Lat. Am.* 27:7-15.
36. McAuley, K., Williams, S., Mann, J., Walker, R., Lewis-Barned, N., Temple, L., Duncan, A. (2001). Diagnosing Insulin Resistance in the General Population. *Care Diabetes*. 24 (3). 460-464. Recuperado de: <http://care.diabetesjournals.org/content/24/3/460.long>
37. Illingworth DR, Schmidt EB. (1993). The influence of dietary n-3 fatty acids on plasma lipids and lipoproteins. *Ann N Y Acad Sci*, 676. 60-69.
38. Temme EH, Mensink RP, Hornstra G. (1996). Comparison of the effects of diets enriched in lauric, palmitic, or oleic acids on serum lipids and lipoproteins in healthy women and men. *Am J Clin Nutr*, 63(6), 897-903.
39. Ellis BA, Poynten A, Lowy AJ, Furler SM, Chisholm DJ, Kraegen EW, Cooney GJ. (2000). Long chain acyl-CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rat and human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 279(3), E554-60.
40. Turinsky J, O'Sullivan DM, Bayly BP. (1990). 1,2-Diacylglycerol and ceramide levels in insulin resistant tissues of the rat in vivo. *J Biol Chem*, 265(28), 16880-5.
41. Idris I, Gray S, Donnelly R. (2001). Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes. *Diabetologia*, 44(6), 659-73.
42. Hernandez-Rodas, M., Morales, J., Valenzuela, B., Morales, G., Valenzuela, A. (2016). Beneficios de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3 en la enfermedad por hígado graso no alcohólico. *Rev. chi. nutr*, 43 (2), 196-201. Recuperado de: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182016000200013](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182016000200013)
43. Ros E. (2003). Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*, 78(3 Suppl), 617S-25S.
44. Kris-Etherton PM. AHA Science Advisory. (1999). Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American Heart Association. Nutrition Committee. *Circulation*, 100(11), 1253-8.
45. Garg A. (1998). High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 67(3 Suppl), 577S-82S.
46. Gillingham LG, Harris-Janz S, Jones PJ. (2011). Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids*, 46(3), 209-28. doi: 10.1007/s11745-010-3524-y
47. Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB. (2013). Trans fatty acids and cardiovascular health: research completed? *Eur J Clin Nutr*, 67, 541-7.
48. Cao H, Gerhold K, Mayers JR, Wiest MM, Watkins SM, Hotamisligil GS. (2008) Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell*, 134, 933-44.

49. Mozaffarian D, de Oliveira Otto MC, Lemaitre RN, Fretts AM, Hotamisligil G, Tsai MY, Siscovick DS, Nettleton JA. (2013). Trans-Palmitoleic acid, other dairy fat biomarkers, and incident diabetes: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr*,97:854–61.
50. Mozaffarian D. (2006). Trans fatty acids—effects on systemic inflammation and endothelial function. *Atheroscler Suppl* ,7:29–32
51. Ntambi JM, Miyazaki M.(2004). Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog Lipid Res*,43,91–104.
52. Jaudszus A, Kramer R, Pfeuffer M, Roth A, Jahreis G, Kuhnt K.(2014). Trans-Palmitoleic acid arises endogenously from dietary vaccenic acid. *Am J Clin Nutr*,99,431–435.
53. Fatima T, Snyder CL, Schroeder WR, Cram D, Datla R, Wishart D, Weselake RJ, Krishna P. (2012). Fatty acid composition of developing seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berry and the transcriptome of the mature seed. *PLoS One*,7,e34099.
54. Maguire LS, O'Sullivan SM, Galvin K, O'Connor TP, O'Brien NM. (2004). Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. *Int J Food Sci Nutr*,55,171–8.
55. Micha R, King IB, Lemaitre RN, Rimm EB, Sacks F, Song X, Siscovick DS, Mozaffarian D. (2010). Food sources of individual plasma phospholipid trans fatty acid isomers: the Cardiovascular Health Study. *Am J Clin Nutr*,91,883–93.
56. Mozaffarian D, Cao H, King IB, Lemaitre RN, Song X, Siscovick DS, Hotamisligil GS. (2010). Trans-palmitoleic acid, metabolic risk factors, and new-onset diabetes in U.S. adults: a cohort study. *Ann Intern Med*,153,790–799.
57. Postic C, Girard J. (2008) Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*, 118(3),829–838. 63
58. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. (2010). The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 7(5),251–264. 64
59. Micha R, King IB, Lemaitre RN, Rimm EB, Sacks F, Song X, et al. (2010). Food sources of individual plasma phospholipid trans fatty acid isomers: the Cardiovascular Health Study. *Am J Clin Nutr*.,91(4),883–893. 66
60. Elwood PC, Givens DI, Beswick AD, Fehily AM, Pickering JE, Gallacher J.(2008). The survival advantage of milk and dairy consumption: an overview of evidence from cohort studies of vascular diseases, diabetes and cancer. *J Am Coll Nutr* ;27(6),723S–734S. 67
61. Tremblay A, Gilbert JA. (2009). Milk products, insulin resistance syndrome and type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr*. 28 Suppl 1,91S–102S.
- 62.. Montes,R. Las técnicas de unión para medir hormonas. (1995) *Rev Biomed*. 6 (1). 33-46  
Recuperado de: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb95616.pdf>

63. Roca,P., Oliver,J. Rodríguez,A. (2003). *Bioquímica, técnicas y métodos*. Recuperado de:  
<http://www.ehu.eus/biofisica/juanma/mbb/pdf/bqym.pdf>
64. <https://www.alpco.com/pdfs/80/80-INSMS-E01.pdf>

## 14.ANEXOS

Anexo 1. Composición química de las dietas Control, Control + TP, Hight Fat y Hight fat TP

	Control	Control + TP	Hight Fat	Hight Fat + TP
Proteína	19.2	19	24	24
Hidratos de carbono	67.3	67	41	41
Grasa	4.3	4.3	24	23
<b>Ingredientes</b>				
Caseína	200	200	200	200
L-Cisteína	3	3	3	3
Maícena	452.2	452.2	72.8	72.8
Maltodextrina 10	75	75	100	100
Sucrosa	172.8	172.8	172.8	172.8
Celulosa BW200	50	50	50	50
Aceite de soya	25	25	25	25
Manteca de cerdo	20	20	0	0
Aceite de palma	0	0	177.5	174.92
Ácido trans-palmitoléico	0	3.165	0	2.58
Mix mineral S10026*	13	13	13	13
Fosfato dicálcico	13	13	13	13
Carbonato de calcio	5.5	5.5	5.5	5.5
Citrato de potasio	16.5	16.5	16.5	16.5
Mezcla de vitaminas	10	10	10	10
Bitartrato de colina	2	2	2	2
FD&C Amarillo 5	0.04	0	0	0.025
FD&C Rojo 40	0.01	0.05	0	0
FD&C Azul 1	0	0	0.05	0.025