

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“RESISTENCIA INSULÍNICA Y PERFIL LIPÍDICO DE RATAS
OBESAS ALIMENTADAS CON SUPLEMENTO DE ÁCIDO
LINOLEICO CONJUGADO (CLA)”**

Presentada por:

JEAN FRANCO RUÍZ VARGAS

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICION**

Lima - Perú

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN

**“RESISTENCIA INSULÍNICA Y PERFIL LIPÍDICO DE RATAS
OBESAS ALIMENTADAS CON SUPLEMENTO DE ÁCIDO
LINOLEICO CONJUGADO (CLA)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICION**

Presentada por:

JEAN FRANCO RUÍZ VARGAS

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Mg. Sc. Víctor Hidalgo Lozano
PRESIDENTE

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
ASESORA

Ph. D. Carlos Vílchez Perales
MIEMBRO

Ing. Mg. Sc. Alejandrina Sotelo Méndez
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis señores padres Gloria Maura Vargas Herrera y Esteban Ruiz Torre, por su enorme esfuerzo para darme educación y su ejemplo de superación que inculcaron en mí.

AGRADECIMIENTOS

- Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) por haber financiado esta investigación por medio del Convenio de Subvención No. 183-2015-FONDECYT-PERÚ.
- A mi asesora de tesis la Dra. María Elena Villanueva Espinoza, por sus acertados comentarios y sugerencias en pos de esta investigación.
- Al Dr. Mario Cueva Távara por su ayuda en el ensayo de ELISA para la determinación de insulina en suero.
- A la Ing. Mg. Sc. Alejandrina Sotelo Méndez y a la Ing. Mg. Sc. Gabriela Chire Fajardo por su importante colaboración en la primera etapa de la investigación.
- Al Sr. Mauro Ayala Espinoza, responsable del bioterio de la Universidad Nacional Agraria la Molina, por su paciencia y apoyo constante durante todo el periodo de la investigación.
- A todo el personal de oficinas y laboratorios de la maestría en Nutrición de la Universidad Agraria la Molina por todas las facilidades y la buena disposición a ayudarme, en especial a la Sra. Amelia Chingay.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
2.1.	Ácido linoleico conjugado (CLA).....	1
2.1.1.	Definición.....	1
2.1.2.	Beneficios.....	3
2.1.3.	Efectos secundarios	4
2.2.	Síndrome Metabólico	4
2.3.	Resistencia a la insulina	6
2.4.	Métodos de diagnóstico de la resistencia a la insulina	6
2.4.1.	Índice de resistencia insulínica HOMA (<i>Homeostasis Model Assessment</i>)	6
2.5.	Método de cuantificación de la insulina.....	7
III.	MATERIALES Y METODOS	8
3.1.	Lugar de ejecución	8
3.2.	Animales	8
3.3.	Materiales, equipos y reactivos	8
3.4.	Metodología	8
3.4.1.	Formulación y elaboración de la dieta	8
3.4.2.	Tratamientos.....	9
3.4.3.	Etapas de la fase experimental	10
3.4.4.	Ensayos biológicos	10
3.4.5.	Análisis estadístico.....	12
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
4.1.	Medidas morfológicas	13
4.2.	Consumo de alimentos y evolución del peso corporal	13
4.3.	Indicadores bioquímicos	16
V.	CONCLUSIONES	20
VI.	RECOMENDACIONES	21
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
VIII.	ANEXOS.....	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición nutricional de la dieta	9
Cuadro 2: Indicadores somáticos antes y después de la etapa de engorde	13
Cuadro 3: Consumo diario y peso corporal mensual durante la etapa de engorde y suplementación	13
Cuadro 4: Indicadores bioquímicos al final de la etapa de suplementación del grupo control y el grupo tratamiento.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelo de Determinación de Homeostasis (HOMA-IR)	7
Figura 2: Etapas de la fase experimental	10
Figura 3: Formula del Índice de Lee	10
Figura 4: Consumo diario durante la etapa de engorde y suplementación	13
Figura 5: Incremento del peso corporal durante la etapa de engorde y suplementación	14
Figura 6: Consumo por peso corporal durante la etapa de engorde y suplementación	15
Figura 7: Concentración de glucosa al final de la etapa de suplementación	16
Figura 8: Valores de Insulina al final de la etapa de suplementación	17
Figura 9: Índice de resistencia a la insulina al final de la etapa de suplementación	18
Figura 10: Concentración de colesterol total al final de la etapa de suplementación	19
Figura 11: Concentración de Colesterol HDL al final de la etapa de suplementación	20
Figura 12: Concentración de triglicéridos al final de la etapa de suplementación	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Consumo diario mensual	26
Anexo 2: Estadísticas descriptivas del consumo diario mensual	27
Anexo 3: Peso corporal mensual	27
Anexo 4: Estadísticas descriptivas del peso corporal mensual.....	28
Anexo 5: Consumo por peso corporal diario.....	28
Anexo 6: Estadísticas descriptivas del consumo por peso corporal diario.....	29
Anexo 7: Indicadores somáticos antes y después de la etapa de engorde	29
Anexo 8: Estadísticas descriptivas de los indicadores somáticos	30
Anexo 9: Indicadores bioquímicos en suero después de la etapa de suplementación.....	30
Anexo 10: Estadísticas descriptivas de los indicadores bioquímicos.....	31
Anexo 11: Análisis de Varianzas	31
Anexo 12: Análisis proximal del alimento balanceado para ratas.....	34
Anexo 13: Resultados de análisis bioquímicos	35
Anexo 14: Especificaciones del Kit de Insulina de rata para Insulina	36
Anexo 15: Especificaciones del suplemento de Ácido linoleico conjugado (CLA)	37
Anexo 16: Disposición de jaulas de las ratas en el ambiente de laboratorio.....	38
Anexo 17: Disposición de bebederos y comederos en las jaulas de las ratas.....	38
Anexo 18: Alimento balanceado de la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM..	39
Anexo 19: Manteca Vegetal utilizada para preparar la comida obesogénica.....	39
Anexo 20: Recolección de sangre por punción cardiaca.....	40
Anexo 21: Obtención del suero sanguíneo luego de la centrifugación	40
Anexo 22: Preparación de las muestras para el lector de ELISA	41
Anexo 23: Curva de calibración de la absorbancia versus la concentración conocida	41

RESUMEN

El consumo de ácido linoleico conjugado (CLA) se ha asociado con la disminución de los indicadores lipídicos en sangre y la pérdida de peso en modelos animales, sin embargo no hay mucha información sobre el efecto de la glicemia y de la insulina. La resistencia a la insulina (RI) es uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de Diabetes Mellitus Tipo II. En este sentido este trabajo se encargó de evaluar el efecto de la suplementación con CLA sobre la RI, expresada como índice HOMA-IR en ratas obesas no diabéticas. Para esto se utilizaron 30 ratas macho Holtzman al inicio, los tres primeros meses fueron sometidas solo a una dieta alta en grasas hasta alcanzar un índice de Lee mayor a 0.3, indicador de obesidad en ratas. Después se dividieron en dos tratamientos, el T1 fue el control y en el T2 fueron suplementadas con 2% de CLA por adicción a la ración diaria (0.02ml/g ración diaria) al grupo tratamiento (15 ratas) que fueron asignadas aleatoriamente. Finalizado el experimento, se extrajo sangre mediante punción cardiaca. Finalmente se midió la concentración de insulina, la glucemia y el perfil lipídico a partir del suero centrifugado de la sangre. Los datos se sometieron a ANOVA bajo diseño completamente al azar y comparación de medias por Tuckey mediante el programa estadístico Minitab v.16.1.0. Se obtuvieron valores normales de HOMA-IR para los T1 y T2 respectivamente sin encontrarse diferencias significativas ($P > 0.05$). Sin embargo los niveles de triglicéridos disminuyeron significativamente ($P < 0.05$). En conclusión la suplementación de ratas obesas con CLA reduce el nivel de triglicéridos séricos sin alterar la sensibilidad a la insulina.

Palabras clave: resistencia a la insulina, Diabetes Mellitus tipo II, HOMA-IR, ácido linoleico conjugado, triglicéridos.

ABSTRACT

Conjugated linoleic acid (CLA) consumption has been associated with the decrease in blood lipid indicators and weight loss in animal models, however there is not much information on the effect of glycemia and insulin. Insulin resistance (IR) is one of the most important risk factors for the development of Type II Diabetes Mellitus. In this sense, this work was done for evaluating the effect of CLA supplementation on IR, expressed as HOMA-IR index in obese non-diabetic rats. For this, 30 male Holtzman rats were used at the beginning, the first three months were subjected only to a high fat diet until they reached a Lee index greater than 0.3, an indicator of obesity in rats. After they were divided into two treatments, T1 was the control and in T2 they were supplemented with 2% CLA by addition to the daily ration (0.02ml / g daily ration) to the treatment group (15 rats) that were randomly assigned. After the experiment, blood was drawn by cardiac puncture. Finally, insulin concentration, blood glucose and lipid profile were measured from the centrifuged serum of the blood. The data were submitted to ANOVA under a completely randomized design and comparison of means by Tuckey using the statistical program Minitab v.16.1.0. Normal HOMA-IR values were obtained for T1 and T2 respectively without significant differences ($P > 0.05$). However, triglyceride levels decreased significantly ($P < 0.05$). In conclusion, CLA supplementation in obese rats reduces the level of serum triglycerides without altering insulin sensitivity.

Keywords: insulin resistance, type II Diabetes Mellitus HOMA-IR, conjugated linoleic acid, triglycerides.

I. INTRODUCCIÓN

La patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2 y todas sus comorbilidades del síndrome metabólico son precedidas por la obesidad y la resistencia a la insulina (RI). La RI es una alteración en respuesta a niveles altos de insulina en las células del hígado, páncreas, tejido adiposo y musculo esquelético (Bresciani-Salaroli et al. 2017), producto del consumo en exceso de alimentos como carbohidratos refinados, provocando a una secreción de insulina exagerada (Isken et al. 2009) y aumentando así la adiposidad, ya que la insulina es una potente señal de almacenamiento de la grasa (Erion and Corkey, 2017).

La grasa que se almacena fuera del tejido adiposo subcutáneo es llamada grasa ectópica, y contribuye de manera importante a la resistencia a la insulina y la inflamación asociada con la obesidad ya que el tejido adiposo es un tejido endocrino que secreta leptina y adiponectina además de otras adipocinas. Existen evidencias de una fuerte correlación entre la adiponectina y la sensibilidad a la insulina en ratones. Otros estudios apuntan que la adiponectina aumenta la oxidación de los lípidos y es antiinflamatoria (Smith and Kahn, 2016). Se sustenta que el posreceptor IRS-1 (Insulin receptor substrate) del receptor de insulina se bloquea debido a ácidos grasos saturados y trans de la dieta, disminuyendo así la codificación genética del receptor de glucosa (Glut-4) provocando la resistencia a la insulina (Pisabarro, 2006), aunque no todos los ácidos grasos trans tendrían el mismo efecto. Los ácidos grasos trans encontrados en productos originados en rumiantes, como el ácido vaccénico (Ac. oleico trans-11) y ácido ruménico (CLA cis-9 trans -11) poseen propiedades anticarcinogénicas y antiaterogénicas (Arias et al. 2016).

El ácido linoleico conjugado (CLA) agrupa a una gran cantidad de isómeros, siendo los más abundantes el CLA cis-9, trans-11 y CLA trans-10, cis-12 (Bhattacharya et al. 2006). La mezcla de estos isómeros disminuye la grasa corporal y aumenta la masa magra (Park et al. 1999); sin embargo podría haber efectos secundarios como esteatosis hepática en modelos animales (Clement et al. 2002). En base a todo lo mencionado se planteó como objetivo evaluar el efecto del uso de CLA sobre la resistencia a la insulina y el perfil lipídico en ratas obesas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Ácido linoleico conjugado (CLA)

2.1.1. Definición

El CLA se forma en el tracto gastrointestinal de animales rumiantes gracias a bacterias que convierten el ácido linoleico en diferentes isoformas de ácido linoleico conjugado por medio de biohidrogenación incompleta, produciendo un enlace simple entre uno o ambos de los dos enlaces dobles. Por lo tanto, las formas naturales de CLA se pueden encontrar en productos alimenticios de rumiantes, como leche, queso y carne, y presentes principalmente como CLA cis-9 trans-11 (Kennedy et al. 2010). Algunos autores hacen referencia que la ingesta diaria de CLA en humanos varía entre 200 mg / día (Atkinson 1999) y 160 mg/día (Chin et al. 1992).

La cantidad de CLA que se puede encontrar en 100 g de grasa de leche es 0.5 g (Arias et al. 2016). El CLA cis-9 trans-11, el isómero más abundante, representa entre el 76.5% y 82.4% de la cantidad de CLA total, mientras el isómero CLA trans-10 cis-12 solo representa menos del 1% (Park, 2009).

Por otro lado las preparaciones comerciales de suplementos de CLA se sintetizan mediante isomerización alcalina de aceites vegetales con ácido linoleico (aceite de cártamo o aceite de girasol). Este tipo de procesamiento produce una mezcla de CLA que contiene aproximadamente el 40% del isómero cis-9, trans-11-CLA y 44% del isómero trans-10, cis-12-CLA. Las preparaciones comerciales también incluyen aproximadamente 4-10% de trans-9, trans-11-CLA y trans-10, trans-12-CLA, así como pequeñas cantidades de otros isómeros (Larsen et al. 2003). Conforme a Hartigh et al. (2017) los suplementos comerciales de CLA difieren significativamente en la proporción de CLA cis-9,trans-11 y CLA trans-10, cis-12 siendo aproximadamente 1:1 en comparación con los niveles encontrados en los alimentos aproximadamente 5:1. Como tal, los usuarios de suplementos de CLA ingieren significativamente más de CLA trans-10, cis-12 que los que se obtendrían de la dieta.

2.1.2. Beneficios

Los resultados han demostrado que los CLA tienen propiedades anti-adipogénicas, anti-cancerígenas, anti-aterogénicas, anti-diabetogénicas y anti-inflamatorias. Entre todos los isómeros CLA, los isómeros cis-9, trans-11-CLA y trans-10, cis-12-CLA tienen varias funciones fisiológicas estudiadas y presentan beneficios para la salud, individualmente o en asociación entre sí (Pariza et al. 2001).

Según Zhou et al (2008), el CLA es un modulador de PPAR γ , que mejora la grasa corporal, la bioquímica de lípidos en suero y mejora el perfil secretor del tejido adiposo, favoreciendo la liberación de adipocinas sensibilizantes a la insulina, como la adiponectina (Astapova et al. 2012). La adiponectina favorece la sensibilidad a la insulina gracias al aumento de la oxidación de los ácidos grasos y la inhibición de la producción de glucosa hepática, la disminución de la expresión de las enzimas gluconeogénicas hepáticas y el aumento del efecto hepático de la insulina. Además la adiponectina juegan un papel importante en la regulación de otras adipocinas proinflamatorias como son el TNF α y la IL-6 (Lihn et al. 2004).

La suplementación dietética trans-10, cis-12-CLA es extremadamente efectiva para reducir el contenido de grasa en varios modelos de roedores y cerdos. Se investigó el efecto de seis semanas de suplementación de ácido linoleico al 0,5%, cis-9, trans-11-CLA o trans-10, cis-12-CLA en hámsteres alimentados con una dieta aterogénica. Aunque no hubo diferencias en el peso corporal, la cantidad de grasa disminuyó significativamente en los hámster alimentados con trans-10, cis-12-CLA (Navarro et al. 2003).

Por el contrario, según Kim et al (2002), las ratas macho Wistar adultas alimentadas con dietas que contenían 1% trans-10, cis-12-CLA en combinación con actividad física moderada durante seis semanas no mostraron ningún efecto sobre el peso corporal. Se sugiere que los animales adultos no reproducen resultados observados en los animales en crecimiento. Además, los ratones son más sensibles al CLA que las ratas en la pérdida de grasa corporal. Se concluyó que el efecto del CLA en la pérdida de grasa corporal variaba en diferentes especies de la siguiente manera: ratones > hámster > ratas.

Aunque el efecto del CLA trans-10, cis-12 sobre la disminución de la grasa corporal también se ha reportado en humanos, la mayoría de los estudios clínicos no han reflejado los hallazgos obtenidos en modelos animales. En un estudio de un grupo de personas, se les administraron de 2.2 a 4.2 g/día de trans-10, cis-12-CLA y cis-9, trans-11-CLA en

proporciones iguales por cuatro semanas. Los resultados mostraron una cierta reducción de la proporción de grasa corporal especialmente grasa abdominal por trans-10, cis-12-CLA . Cabe señalar que la pérdida de grasa corporal fue de 40% a 50% mayor en ratones que en humanos, sin embargo los ratones fueron alimentados con cinco veces más CLA que las personas (Riserus et al. 2004).

2.1.3. Efectos secundarios

Las ratas hembras alimentadas con una dieta enriquecida en trans-10, cis-12-CLA (1.9 g/día) durante cuatro semanas dieron como resultado una disminución en la masa de tejido adiposo blanco peri-uterino, pero acompañado por un aumento de volumen del hígado, con características típicas de un hígado graso: color pálido y acumulación de lípidos intracelulares. Además la hiperinsulinemia producida por trans-10, cis-12-CLA puede desencadenar esteatosis hepática (Clement et al. 2002).

Sin embargo en ensayos clínicos que estudiaban la bioseguridad del CLA en humanos durante tres meses con dosis entre 1.4 g/día y 4.2 g/día no se encontraron efectos secundarios. En otros ensayos con dosis más altas de 14.6 g/día CLA cis-9, trans-11 y 4.7 g/día CLA trans-10, cis-12 (casi tres veces superiores a la dosis normal de CLA) no se encontró ningún efecto importante con relación al hígado durante tres semanas. Por lo tanto es poco probable que las dosis de hasta 3g/día ingeridas como suplemento de CLA afecten la función del hígado al menos durante un período corto (Salas-Salvado et al. 2006).

2.2. Síndrome Metabólico

El síndrome metabólico es un conjunto de enfermedades simultáneas causadas por la combinación de factores genéticos y estilo de vida. La presencia de este síndrome se relaciona con la diabetes, la enfermedad coronaria y la enfermedad cerebrovascular (Haffner et al. 1992). Por otro lado se define al síndrome metabólico en una persona como tener obesidad abdominal, tener elevados niveles de triglicéridos plasmáticos, bajas concentraciones plasmáticas de colesterol HDL, hipertensión arterial o hiperglicemias en ayunas (IDF, 2005).

La dieta hipercalórica es la responsable de la acumulación de grasa, lo que trae consigo una alta concentración de grasa en los adipocitos desencadenando una respuesta inmune por agentes inflamatorios. Además de esto existe un sobre consumo de ácidos grasos saturados

e insaturados omega-6 en nuestra dieta gracias a los productos procesados como panes, galletas, biscochos, frituras e inclusive en comidas caseras (Pisabarro, 2006).

Como sabemos la deficiencia de ácidos grasos omega-3 y el exceso de los ácidos grasos omega-6 produce agentes pro-inflamatorios exagerando el mecanismo de defensa, convirtiéndose en una inflamación crónica, causando muchos problemas de salud incluidos problemas cardiovasculares y artritis. Todo esto sumado con la falta de actividad física moderada hace que las personas reflejen sobrepeso y obesidad cuando ya existe inflamación crónica (Pisabarro, 2006).

La grasa visceral está fuertemente asociada con la resistencia a la insulina, el exceso de grasa abdominal subcutánea también conlleva una asociación significativa con la resistencia a la insulina. En ese sentido la obesidad de la parte inferior del cuerpo se correlaciona menos con la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico que la obesidad de la parte superior del cuerpo. Ya que una característica de esta última es la liberación de ácidos grasos no esterificados del tejido adiposo contribuyendo a la formación de grasa ectópica en el músculo y en el hígado, y esto a su vez predispone a la resistencia a la insulina y la dislipidemia (Browning et al. 2004).

En un estudio realizado a hombres y mujeres adultos de más de 20 años de edad en Perú donde se tomó en cuenta a Lima metropolitana, resto de costa, sierra urbana, sierra rural y selva, se encontró que hay una mayor prevalencia de obesidad abdominal (65.6 %). Siendo las mujeres las más afectadas con un 81% mientras los hombres solo con un 48.5%. Otros componentes del síndrome metabólico fueron C-HDL disminuido 54.2%, hipertrigliceridemia 30%, hipertensión arterial 19.1% e hiperglicemia 8%. Específicamente se evidenció que en Lima metropolitana (28.8%), el resto de la costa (26.2%) y la selva (26%) presentaron los niveles más altos de prevalencia de síndrome metabólico, mientras que la sierra urbana (21.9%) y rural (18.7%) tuvieron menor prevalencia. Además se concluyó que la prevalencia del síndrome metabólico en la población aumenta con la edad y disminuye a medida que se acentúa la pobreza (Cárdenas et al. 2009).

2.3. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina (RI) se define como la disminución de la capacidad de la insulina para operar correctamente en el transporte y metabolismo de la glucosa. En la actualidad se considera a la RI como un rasgo común de numerosas enfermedades metabólicas, como la diabetes mellitus tipo II, la obesidad, la hipertensión arterial, las dislipemias o la enfermedad cardiovascular (Serrano et al. 2002).

Existe gran evidencia en cuanto a que la grasa saturada favorece el sobrepeso y la RI, además de sus comorbilidades (diabetes, riesgo vascular y estado inflamatorio). Se dice que estimulan el sobreconsumo disminuyendo la acción de la leptina (control de saciedad), impulsando de esta forma la liberación de vías orexigénicas (estimuladoras de apetito) y lipogénicas. Cabe mencionar que estas características se confieren a los ácidos grasos saturados de cadena larga. Además, son los pacientes con sobrepeso los que son más susceptibles a presentar RI por parte de los ácidos grasos saturados de su dieta, siendo éstos los predominantes en las estructuras de los triglicéridos plasmáticos (Pisabarro 2006).

Sin embargo estudios han demostrado también mejoras en la sensibilidad a la insulina con poco o ningún cambio en las concentraciones de lípidos intracelulares. Los atletas por ejemplo tienen concentraciones extremadamente altas de lípidos musculares, pero también son bastante sensibles a la insulina. Esto parece indicar que no es la cantidad de triglicéridos intracelulares, sino más bien el equilibrio entre la disponibilidad de ácidos grasos, su captación y oxidación (rotación de lípidos) (Phillips et al. 1996).

2.4. Métodos de diagnóstico de la resistencia a la insulina

2.4.1. Índice de resistencia insulínica HOMA (*Homeostasis Model Assessment*)

El modelo matemático, *homeostasis model assessment* u HOMA (Figura 1) permite realizar estimaciones de resistencia insulínica y función de las células beta mediante las concentraciones de la glucosa y la insulina plasmáticas en ayunas. Este método explora las características homeostáticas de un sistema metabólico para inferir el grado de sensibilidad insulínica compatible con esas características. En los últimos años, este método ha sido utilizado en varios estudios clínicos y epidemiológicos, utilizando en todos ellos individuos sanos para establecer rangos de normalidad (Acosta et al. 2002).

Según Obregon et al. (2004), el modelo de determinación de homeostasis HOMA (homeostasis model assessment), es un modelo basado en datos fisiológicos obtenidos de experimentos y formulaciones matemáticas que describen las relaciones entre la glucosa y la insulina en ayunas. Este modelo ha sido comparado y validado con la prueba de tolerancia a la insulina, entre sus ventajas se encuentra la simple aplicación, el bajo costo y sin ser invasivo.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulina } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glucosa (mmol/l)}}{22.5}$$

Figura 1: Modelo de Determinación de Homeostasis (HOMA-IR)

Los valores de HOMA para la población sana estudiada, van de 0,94 hasta 2,52, mientras que en la población diabética estos valores van de 2,91 hasta 12,86 (Obregon et al. 2004).

2.5. Método de cuantificación de la insulina

2.5.1. Prueba de ELISA para insulina en ratas

El sistema ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas proporciona una determinación cuantitativa directa *in vitro* de la insulina de rata en plasma y suero. La tecnología utiliza dos anticuerpos monoclonales de alta afinidad en un sistema de ensayo inmunométrico. Este ensayo se basa en un procedimiento de dos pasos. En el primer paso, los patrones y las muestras se incuban en pocillos recubiertos con estreptavidina (proteína afin a la biotina) y un anticuerpo monoclonal marcado con biotina (anticuerpo de captura). Durante un período de incubación de una hora con agitación continua, se forma el complejo anticuerpo-antígeno y se inmoviliza en la superficie reactiva de los pocillos. Después de la incubación, los pocillos se lavan repetidamente. En la segunda etapa se agrega el anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa (anticuerpo señal). Se une a un epítipo (determinante antigénico) de la molécula de insulina diferente del reconocido por el cuerpo de captura, formando anticuerpo-antígeno-anticuerpo, también denominado "sándwich". Después del período de incubación de una hora con agitación continua, la mezcla de reacción se lava repetidamente. Después de la adición de un sustrato de peróxido de tetrametilbenzidina (TMB), por último la señal se mide en un fotómetro ELISA (Demeditec, 2014).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Evaluación Biológica (Bioterio) de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

3.2. Animales

En el experimento se usaron 30 ratas Holtzman machos de tres meses de edad, las cuales comenzaron con un peso corporal promedio de 241.54 ± 28.04 g, adquiridas al bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la Facultad de Zootecnia en la Universidad Nacional Agraria La Molina. Las ratas se alojaron en jaulas individuales en condiciones normales a una temperatura y humedad controlada ($26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $75 \pm 3\%$), con un ciclo de luz / oscuridad de 12 horas según las normas éticas de la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio (INS, 2008) sobre estudios con animales de laboratorio.

3.3. Instalaciones, equipos y reactivos

Entre los materiales que se usaron fueron una batería para animales de experimentación con 30 jaulas individuales, 30 comederos, 30 bebederos y la mezcla de manteca vegetal con alimento para roedores de la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM para la elaboración de una dieta hipercalórica, además se usó para el grupo de tratamiento el suplemento CLA de la marca Sundown Naturals®, en presentación de píldoras de gel de 1000 mg de concentración (50% CLA cis-9 trans-11 y 50% trans-10 cis-12) del cual se suministraron 0.5 ml de CLA (0.02ml/g ración diaria) (Anexo 14).

3.4. Metodología

3.4.1. Formulación y elaboración de la dieta

La elaboración de la dieta fue realizada en el Bioterio de la Facultad de Zootecnia UNALM, en base al alimento balanceado para roedores (85% de la dieta total) adquirido a la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM con adición de manteca vegetal

(15% de la dieta total) de la marca Tropical®, adquirida en el mercado local. Los ingredientes mencionados fueron mezclados a mano hasta obtener una dieta obesogénica, este porcentaje se estimó en función a lo reportado por Harrold et al. (2000), que indujo a la obesidad en ratas con dietas conteniendo grasa al 13 por ciento de la energía total en una dieta de alta energía (Harrold et al., 2000) (Cuadro 1, Anexo 11).

Cuadro 1: Composición nutricional de la dieta

Tipo de nutrientes	Alimento Balanceado	Manteca Vegetal	Dieta Obesogénica (85% AB + 15% MV)
Energía metabolizable (Mcal/kg)	2.60	9	3.56
Humedad (%)	10.48	0.1	8.92
Carbohidratos (%)	60.22	0	51.19
Grasa total (%)	3.16	99.5	17.61
Proteína (%)	18.32	0	15.57
Fibra (%)	2.71	0	2.30
Ceniza (%)	5.11	0.4	4.40

3.4.2. Tratamientos

Todos los animales recibieron una dieta hipercalórica rica en grasa con el fin de inducir a la obesidad, terminada la etapa de engorde los animales fueron seleccionados al azar y asignados aleatoriamente a uno de los dos tratamientos.

- T1: Dieta obesogénica (25 g)
- T2: Dieta obesogénica (25 g) + administración de suplemento CLA (0.5 ml/día)

La suplementación con CLA representó el 2% de la dieta total (0.02 ml/g ración diaria) por un mes. Se administraron raciones diarias de 25 gramos, es decir se suministraron 0.5 ml de CLA al día por cada unidad experimental. Este porcentaje se estimó en función a lo reportado por Sanders et al. (2004), que suministró una dosis de 1.5g/Kg de peso corporal en ratas equivalente aproximadamente a 0.5 g y 0.6 g de CLA al día por cada unidad experimental.

3.4.3. Etapas de la fase experimental

a. Etapa de engorde

En esta etapa las unidades experimentales fueron sometidas a la dieta obesogénica (Tabla 1) por tres meses desde el mes 0 hasta el mes 3. Cabe precisar que el primer mes se indujo a las ratas con una ración diaria de 30 gramos. Para el segundo mes se realizó una restricción del alimento con lo que la ración diaria cambio a 20 gramos para homogenizar el consumo de alimento y finalmente el tercer mes se suministró una ración diaria de 25 gramos.

b. Etapa de suplementación

En esta etapa las unidades experimentales asignadas al segundo tratamiento siguieron siendo sometidas a la dieta obesogénica, pero con una suplementación de 2% de CLA por un mes (del mes 3 hasta el mes 4) (Figura 2). En este cuarto y último mes se siguió administrando la ración diaria de 25 gramos.

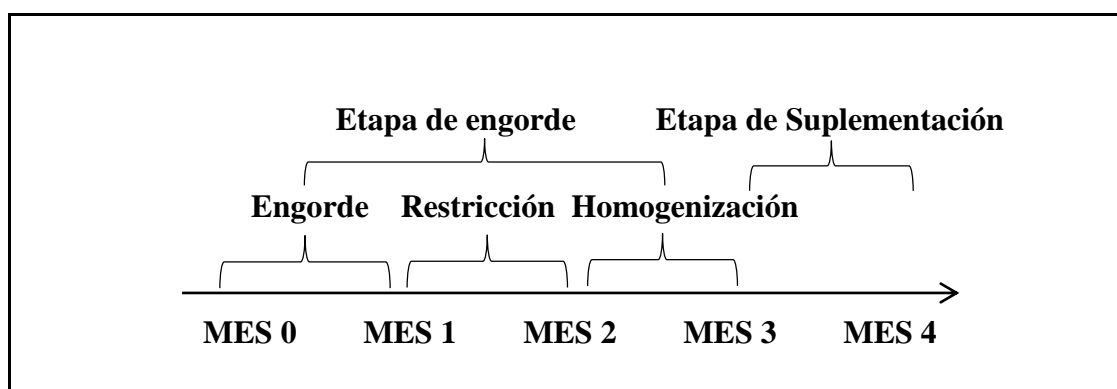


Figura 2: Etapas de la fase experimental

3.4.4. Ensayos biológicos

a. Indicadores somáticos

La medida de longitud naso-anal (LNA) y el pesado se realizaron finalizado el periodo de engorde del animal para cada unidad experimental en la etapa de ayuno a primeras horas de la mañana. De esta forma se calculó el índice de Lee (Figura 3).

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)}}}{\text{LNA (cm)}}$$

Figura 3: Formula del Índice de Lee

Según Bernandis y Patterson (1968), con un valor menor o igual a 0.300 es considerada una rata normal y con un valor mayor a 0.300 es considerada con obesidad.

b. Indicadores bioquímicos

Después de un ayuno de 8 horas a primeras horas de la mañana, se anestesiaron los animales con pentobarbital diluido en agua en relación 1:1 que se les suministró a dosis de 1 ml/kg. Las muestras de sangre se recolectaron por punción cardiaca con jeringa desechable; se extrajo un máximo de 5 ml de sangre en tubos con activador de coagulación. Se obtuvo el suero por centrifugación (3000 RPM por 15 min) después de 20 minutos de reposo de la muestra de sangre sin sufrir movimientos bruscos para evitar su hemolización. El suero obtenido se mantuvo a una temperatura de -20 °C por dos semanas hasta su evaluación.

- Determinación de insulina

Las concentraciones de insulina se determinaron por ensayo de microelisa usando un procedimiento estandarizado que se basa en el kit de insulina para rata marca Invitrogen™ de la empresa Thermo Fisher Scientific y un espectrofotómetro para Microplacas Epoch™ del Laboratorio de Micología y Biotecnología de la Universidad Agraria la Molina.

- Determinación de glucosa y perfil lipídico

Para la determinación de estos indicadores, mediante métodos enzimáticos y colorimétricos, se enviaron las muestras restantes de suero congeladas a -20°C al *Laboratorio De La Sante* ubicado en el distrito de San Isidro en Lima- Perú.

3.4.5. Análisis estadístico

Los datos de somatometría y perfil bioquímico fueron analizados mediante ANOVA, utilizando el modelo lineal generalizado para diseño completamente al azar, se realizó la prueba de Tuckey para la comparación de medias mediante el paquete estadístico Minitab v.16.1.0. y los valores de $p \leq 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable respuesta

μ = Media general

τ_i = Efecto del tratamiento ($i = 1$)

ε_{ijk} = Efecto del error experimental

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Medidas morfológicas

En el experimento se usaron 30 ratas machos de la cepa Holtzman de tres meses de edad, las cuales comenzaron con un peso corporal promedio de 241.5 ± 28.0 g con un índice de Lee promedio igual a 0.298 ± 0.009 , a las que se indujo a una dieta hipercalórica logrando un peso corporal promedio de 456.0 ± 40.9 g con un índice de Lee promedio igual a 0.308 ± 0.007 , lo cual demostró un estado de obesidad (Cuadro 2), los datos se muestran en el Anexos 7 y 8.

Cuadro 2: Indicadores somáticos antes y después de la etapa de engorde

Variables	MES 0	MES 3
Longitud Hocico- Ano(cm)	20.8 ± 0.14	24.9 ± 0.09
Peso (g)	242.2 ± 5.3	456.0 ± 7.6
Índice Lee	0.298 ± 0.0018	0.308 ± 0.0015

Los valores representan el promedio \pm SEM de 29 ratas en la etapa de engorde.

4.2. Consumo de alimentos y evolución del peso corporal

El consumo diario y el peso corporal a lo largo de toda la fase de engorde y suplementación evolucionaron de forma normal (Cuadro 3, Figuras 4 y 5), los datos se muestran en el Anexos 1, 2, 3 y 4.

Cuadro 3: Consumo diario y peso corporal mensual durante la etapa de engorde y suplementación

Tiempo	Consumo diario (g)	Peso corporal (g)	Consumo por peso (mg/g)
MES 0	23.4 ± 0.7	297.9 ± 5.0	79.2 ± 2.0
MES 1	22.8 ± 0.5	377.1 ± 4.9	61.1 ± 0.9
MES 2	19.6 ± 0.2	414.3 ± 5.3	47.7 ± 0.5
MES 3	19.8 ± 0.5	443.8 ± 6.9	44.7 ± 1.1
MES 4	21.6 ± 0.4	464.5 ± 7.5	46.5 ± 0.7

Los valores representan el promedio \pm SEM de 29 ratas en la etapa de engorde.

4.2.1. Consumo de alimento

En este estudio, las ratas alimentadas con alto contenido en grasa, tuvieron consumo promedio por encima de 140 gramos/semana (20g/día) y por debajo de 175 gramos/semana (25 g/día) a lo largo de todo la experimentación excepto después del periodo de restricción calórica en el mes 2 y comenzando la etapa de suplementación en el mes 3 con 137 gramos/semana (19.7 g/día) y 138.6 gramos/semana (19.8 g/día) respectivamente y no hubieron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el consumo promedio del grupo control y del grupo de tratamiento en la etapa de suplementación (Figura 4, Anexos 1, 2 y 11).

En otro estudio, los animales tratados con una dieta alta en grasas y baja en carbohidratos mostraron un menor consumo de alimentos que los animales de control. Alrededor de 100 gramos/semana con respecto a 140 gramos/semana que consumió el grupo control (Lipinski et al. 2017).

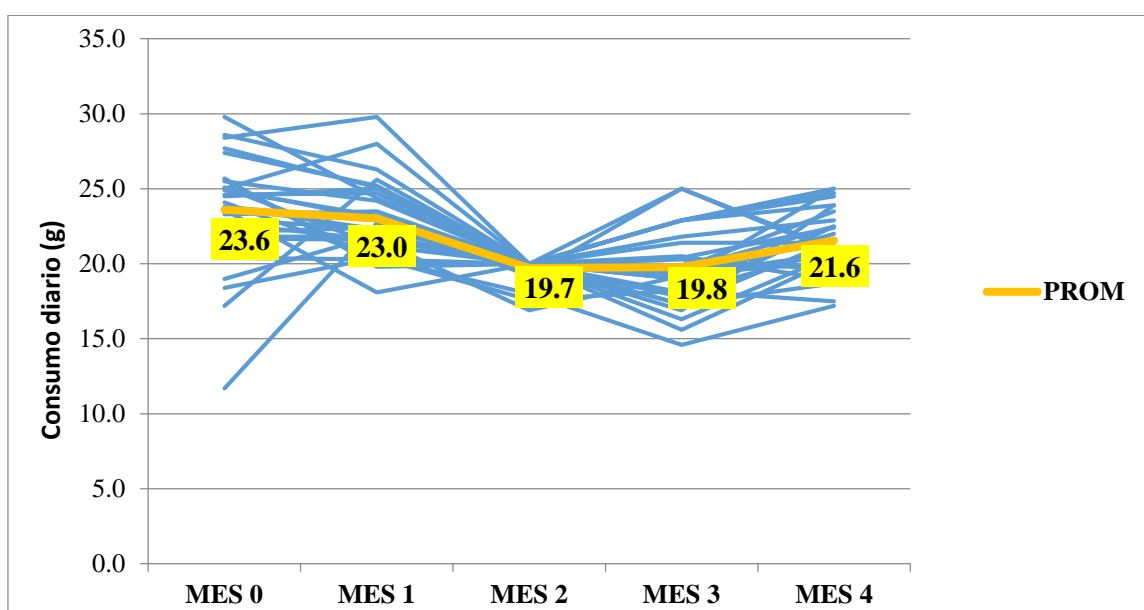


Figura 4: Consumo diario durante la etapa de engorde y suplementación

En este estudio el consumo promedio de la dieta obesogénica al inicio fue de 23.6g (84.0 Kcal/día) y al final de los cuatro meses fue de 21.6 g/día (76.9 Kcal/día) considerando que el aporte calórico fue de 3560 Kcal/Kg (Cuadro 1). En otro estudio con ratas Sprague-Dawley macho de tres meses de edad, después de tres meses de suministrarles una dieta alta en grasa (45% grasa) y alta en azúcar (5% de sacarosa añadida al agua potable) se tuvo como resultados de consumo diario del grupo control 59.8 Kcal/día respecto al grupo con dieta alta en grasa y azúcar que fue de 549.7 Kcal/día (Amor et al. 2019).

4.2.2. Evolución del peso corporal

Para este estudio las ratas terminaron con un peso promedio de 464.5 ± 42.9 g en el séptimo mes de edad después de cuatro meses de alimentación con dieta alta en grasas (44.7% de calorías provenientes de la grasa) y no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el peso corporal promedio del grupo control y del grupo de tratamiento (Figura 5, Anexos 3, 4 y 11).

En otra investigación con ratas Sprague-Dawley macho de dos meses de edad y un peso 160 ± 10 g y terminaron con 516.2 ± 46.3 g a los ocho meses de edad bajo una dieta alta en grasas (40% de calorías provenientes de la grasa) (Yu et al. 2016).

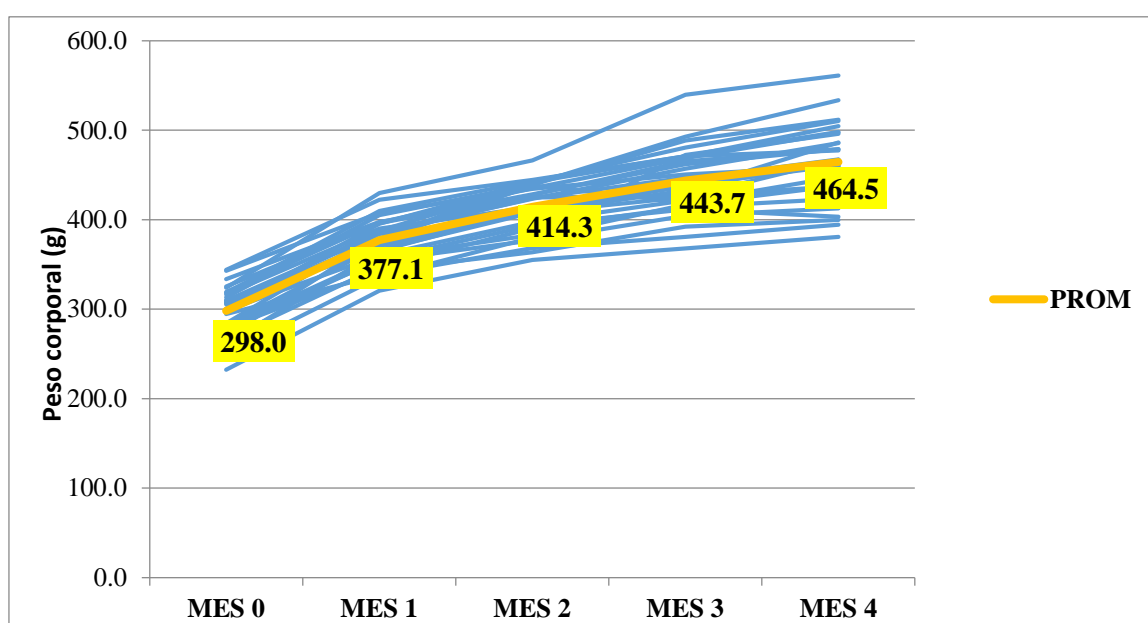


Figura 5: Incremento del peso corporal durante la etapa de engorde y suplementación

En este estudio, las ratas no realizaron ejercicio alguno y terminaron con un peso promedio de 464.5 ± 42.9 g después de cuatro meses de alimentación con dieta alta en grasas. Por otro lado, de acuerdo a Mirand et al. (2004), en un estudio en ratas macho Wistar adultas alimentadas con dietas que contenían 1% trans-10, cis-12-CLA en combinación con actividad física moderada durante seis semanas no se observó ningún efecto sobre la composición corporal o el peso corporal y según Amor et al. (2019), los resultados de peso corporal que el grupo control presentó al final de los tres meses de tratamiento fueron un peso promedio de 435 gramos a diferencia del grupo con dieta alta en grasa y azúcar que fue de 500 gramos.

4.2.3. Consumo de alimento por peso corporal

El consumo por peso corporal promedio al inicio fue superior pero con mayor dispersión en el mes 0 (79.2 ± 2.0 mg/g) sin embargo al terminar el periodo de restricción se pudo homogenizar el consumo por peso corporal promedio en el mes 2 (47.7 ± 0.5 mg/g). Así como también el consumo por peso corporal promedio al finalizar la suplementación en el mes 4 fue de 46.5 ± 0.7 mg/g, pero no hubieron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el consumo por peso corporal promedio del grupo control y del grupo de tratamiento en la etapa de suplementación (Figura 6, Anexos 5, 6 y 11).

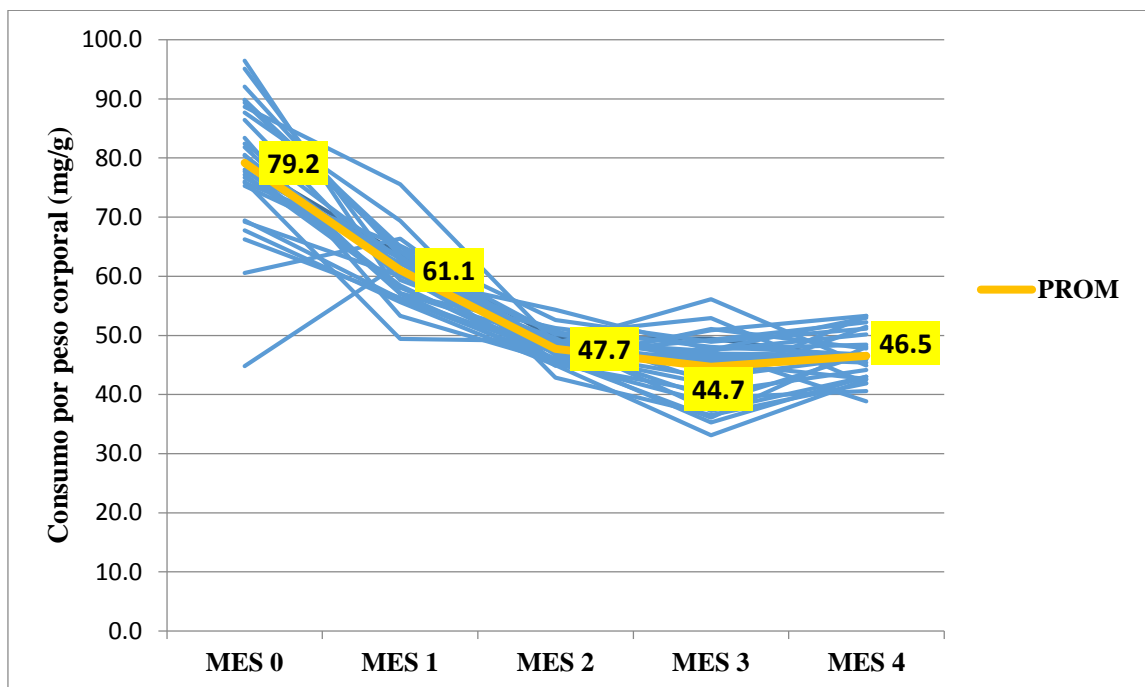


Figura 6: Consumo por peso corporal diario durante la etapa de engorde y suplementación

4.3. Indicadores bioquímicos

Los indicadores bioquímicos que resultaron al final de la suplementación fueron los siguientes (Cuadro 4, Figuras 7, 8, 9, 10 y 11), los datos se muestran en el Anexos 9, 10, 11 y 13.

Cuadro 4: Indicadores bioquímicos al final de la etapa de suplementación del grupo control y el grupo tratamiento

Indicadores	Grupo Control	Grupo Tratamiento
Glucosa (mg/dl)	123.6 ± 3.9 ^a	128.8 ± 5.3 ^a
Insulina (μIU/ml)	6.2 ± 1.4 ^a	5.3 ± 1.3 ^a
HOMA	1.91 ± 0.45 ^a	1.60 ± 0.32 ^a
Colesterol Total (mg/dl)	85.8 ± 2.3 ^a	77.6 ± 4.3 ^a
HDL (mg/dl)	48.7 ± 2.4 ^a	41.4 ± 2.9 ^a
Triglicéridos (mg/dl)	103.3 ± 4.5 ^b	85.3 ± 5.9 ^a

Los valores representan el promedio ± SEM de 11 ratas de grupo control y 9 ratas de grupo tratamiento.

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

4.3.1. Glucosa

En este estudio, no hubieron diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a los valores de glucosa entre el grupo control obesogénico y el grupo en tratamiento (figura 7).

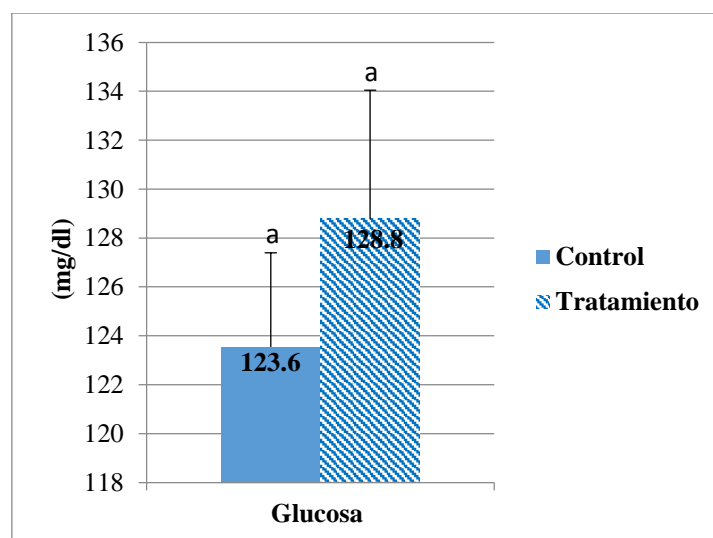


Figura 7: Concentración de glucosa al final de la etapa de suplementación

Se presentó valores comparables a lo encontrado por Bernuy (2018) de 131.4 ± 6.3 mg/dl para la dieta obesogénica. Por otro lado, acorde con Lipinski et al. (2017), en un estudio con ratas Wistar de tres meses de edad con un peso promedio de 190 gramos y después de cuatro meses de darles una dieta alta en grasa y baja en carbohidratos, cuyas fuentes de alimentos fueron a base de alimento estándar marca comercial Nuvilar® y manteca de cerdo (44.6% grasa, 39.1% de carbohidratos y 16% de proteínas) obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) de glucosa de 170.1 ± 20.3 mg/dl en el grupo con dieta alta en grasa y 145.2 ± 8.6 mg/dl en el grupo control (9.3% grasa, 68% de carbohidratos y 22.7% de proteínas).

4.3.2. Insulina

En este estudio los valores de insulina resultantes en el grupo control y tratamiento no tuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) con una dieta basada en 17.6% grasa, 51.2% de carbohidratos y 15.6% de proteínas (Figura 8). Acorde con Lipinski et al. (2017), en un estudio con ratas Wistar de tres meses de edad con un peso promedio de 190 gramos y después de cuatro meses de darles una dieta alta en grasa y baja en carbohidratos, cuyas fuentes de alimentos fueron a base de alimento estándar marca comercial Nuvilar® y manteca de cerdo (44.6% grasa, 39.1% de carbohidratos y 16% de proteínas) en el que obtuvieron resultados no significativos, 12.4 μ IU/ml de insulina en el grupo con la dieta alta en grasa y 7.4 μ IU/ml en el grupo control (9.3% grasa, 68% de carbohidratos y 22.7% de proteínas).

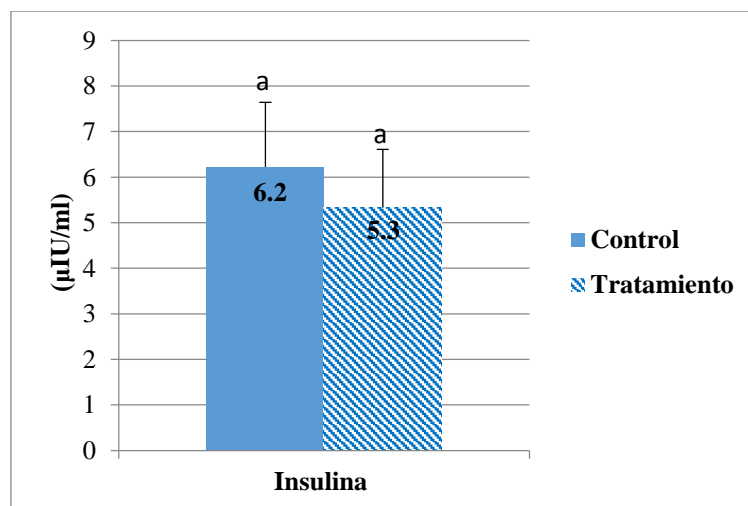


Figura 8: Valores de Insulina al final de la etapa de suplementación

4.3.3. HOMA-IR

En los valores de HOMA-IR calculados entre el grupo control y tratamiento no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Figura 9). De acuerdo a Lipinski et al. (2017), reportaron resultados significativos de HOMA-IR de 5.19 ± 1.1 ($p < 0.05$) en el grupo con dieta alta en grasa (44.6% grasa, 39.1% de carbohidratos y 16% de proteínas) y 2.68 ± 0.5 en el grupo control (9.3% grasa, 68% de carbohidratos y 22.7% de proteínas).

La concentración de grasa (44.6%) en la dieta alta en grasa de Lipinski et al. (2017) fue más del doble de la dieta utilizado para este estudio (17.6%). De este estudio los valores de HOMA-IR resultantes fueron muy diferentes. Por otro lado, la dieta hipercalórica presentó mayor porcentaje, de grasa en comparación con la dieta control (9.3%) de Lipinski et al. (2017), sin embargo los niveles de HOMA-IR encontrados fueron cercanos.

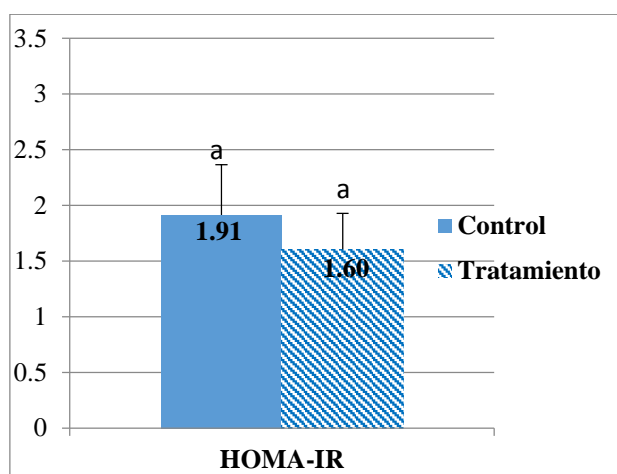


Figura 9: Índice de resistencia a la insulina al final de la etapa de suplementación

4.3.4. Colesterol Total

En este estudio los valores de colesterol total resultantes en el grupo control y tratamiento no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) con una dieta basada en 17.6% grasa, 51.2% de carbohidratos y 15.6% de proteínas (Figura 10). Según Matos et al (2005), en un estudio con ratas hembras después de ocho semanas de la suplementación de una dieta control (72.9% de maicena, 12% de caseína y 8% de aceite de soja), la concentración de colesterol total fue de 92.8 ± 8.3 mg/dl.

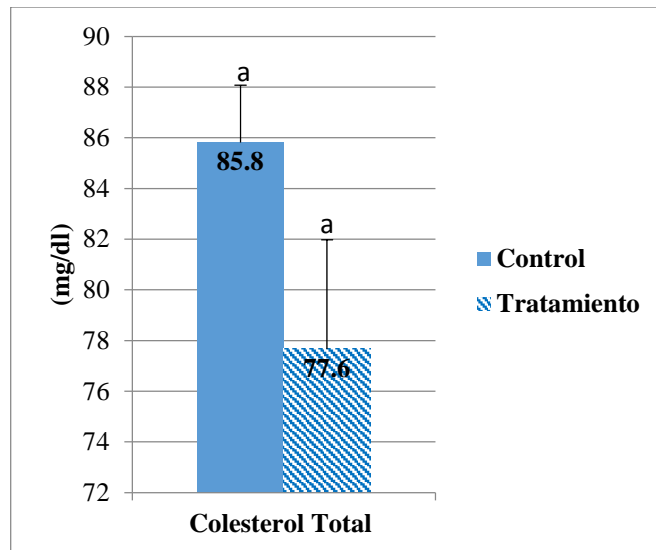


Figura 10: Concentración de colesterol total al final de la etapa de suplementación

4.3.5. Colesterol HDL

En este estudio los valores de colesterol HDL resultantes en el grupo control y tratamiento no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Figura 11). De la investigación de Hidalgo (2018), se encontró 39.3 ± 1.4 mg/dl de colesterol HDL séricos encontrados en ratas alimentada por dos meses con dieta obesogénica con adicción de 15% de manteca vegetal igual que en este estudio. Por otro lado como menciona Bernuy (2018), los resultados de colesterol HDL séricos encontrados en ratas alimentadas por 59 días con dieta obesogénica (4.6% de manteca vegetal y 66.3% almidón) fueron de 40.3 ± 2.9 mg/dl, no muy diferentes a lo reportado por Matos et al (2005), en un estudio con ratas hembras después de ocho semanas de la suplementación de una dieta control (72.9% de maicena, 12% de caseína y 8% de aceite de soja) en el que obtuvo una concentración de colesterol HDL de 39.0 ± 3.8 mg/dl.

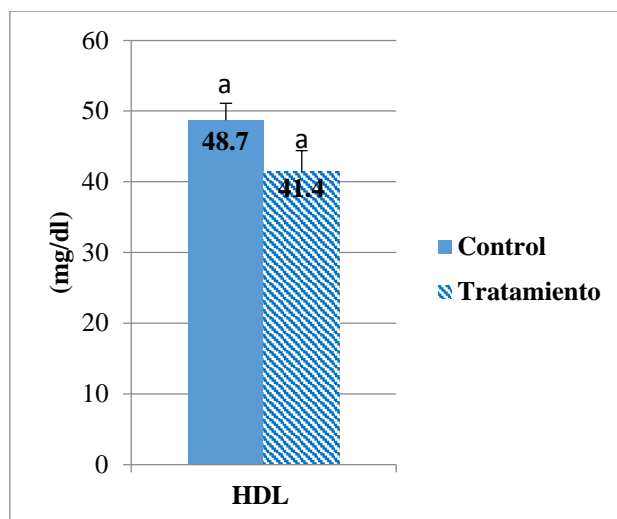


Figura 11: Concentración de Colesterol HDL al final de la etapa de suplementación

4.3.6. Triglicéridos

En este estudio se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en cuanto a los valores de triglicéridos entre el grupo control obesogénico y el grupo en tratamiento (figura 12). El grupo control presentó valores comparables a lo encontrado por Bernuy (2018) de 106.2 ± 37.3 mg/dl para la dieta obesogénica. Adicional según Matos et al (2005), en un estudio con ratas hembras después de ocho semanas de la suplementación de una dieta control (72.9% de maicena, 12% de caseína y 8% de aceite de soja) se obtuvo una concentración de triglicéridos de 93.9 ± 37.7 mg/dl.

Por otro lado los valores de triglicéridos de Lipinski et al. (2017) para el grupo con dieta alta en grasa fueron 114.7 ± 30.5 mg/dl y para el control fueron 103.6 ± 27.7 mg/dl. Este último valor más se asemeja a los resultados del control (Figura12). Lo cual nos hace suponer que la dieta hipercalórica usada tuvo el mismo efecto en los niveles de triglicéridos que la dieta control de Lipinski et al. (2017).

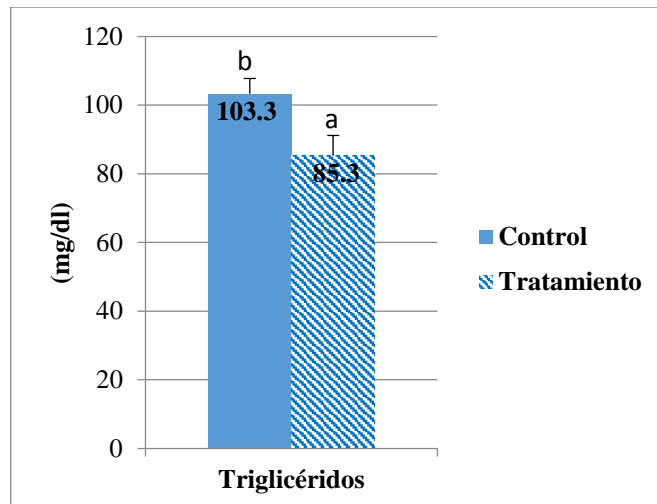


Figura 12: Concentración de triglicéridos al final de la etapa de suplementación

Estos resultados obtenidos son de mucha importancia para esta investigación pues nos da luces del beneficio del CLA sobre cantidades altas de triglicéridos propia del síndrome metabólico. Como menciona Franssen et al (2008), los aumentos moderados de los niveles de triglicéridos contribuyen a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, mientras que la hipertrigliceridemia grave se asocia con un mayor riesgo de pancreatitis.

Parece ser que se necesitarían dietas con 40% de grasa en ratas como los valores usados por Lipinski et al. (2017) para lograr obtener resistencia a la insulina y de esa forma conocer el verdadero efecto del CLA sobre ella. Sin embargo con el tratamiento con CLA se pudo encontrar un efecto beneficioso, reduciendo los niveles de triglicéridos hasta 85.3 ± 5.9 mg/dl.

Una de las explicaciones más sólidas es que el CLA haya actuado como un modulador de los PPAR- γ que podría contribuir a la mejora de la sensibilidad a la insulina. Debido a que el CLA mejora la reducción de grasa corporal y la bioquímica de lípidos en suero (Zhou et al. 2008).

Lo que no está claro si esta acción pertenece a una acción en conjunto o individual del PPAR- α y PPAR- γ , ya que según lo explican Sixto y Echeverría (2019), el PPAR- α estimula la expresión de la lipoproteína lipasa y las enzimas lipolíticas acelerando el metabolismo de los lípidos; y por otro lado menciona que el PPAR- γ también tiene un rol fundamental en el metabolismo de los lípidos, además de la sensibilidad a la insulina, gracias a su efecto sobre la expresión de la adiponectina.

De la misma forma afirma Astapova et al. (2012), en relación de la activación de PPAR- γ y la producción del aumento de la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético y el hígado, así también sobre la mejora del perfil secretor del tejido adiposo, favoreciendo la liberación de adipocinas sensibilizantes a la insulina, como la adiponectina.

Es posible que la adiponectina adicionalmente de sus propiedades antiinflamatorias, puede estimular directamente la expresión de la lipoprotein lipasa. Por lo tanto podría dar como resultado cambios antiaterogénicos en el perfil lipídico (Von-Eynatten et al., 2004). Así también como menciona Franssen et al. (2008), la enzima lipoproteína lipasa desempeña un papel esencial en el metabolismo de los triglicéridos al encontrarse en la luz de los capilares sanguíneos logrando hidrolizar los triglicéridos de las lipoproteínas. También afirma que las disminuciones leves en la actividad de esta enzima contribuyen al fenotipo aterogénico hipertriglicéridémico en la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico.

V. CONCLUSIONES

1. La resistencia a la insulina, expresada por el índice HOMA-IR, no fue afectada significativamente ($p>0.05$) por la suplementación de ácido linoleico conjugado (CLA).
2. Los triglicéridos fueron reducidos significativamente ($p<0.05$) con la suplementación de CLA.
3. Los niveles de glucosa, colesterol total y colesterol-HDL no fueron afectados significativamente ($p>0.05$) con la suplementación de CLA.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar mayores niveles de grasa en la dieta hipercalórica para obtener valores de resistencia a la insulina (HOMA-IR) fuera del rango normal y conocer cómo influye la suplementación con ácido linoleico conjugado (CLA).
- Realizar una cuantificación génica de PPAR- α , PPAR- γ y la enzima lipoproteína lipasa empleando el método del PCR (reacción en cadena de la polimerasa) bajo la influencia del CLA.
- Hacer un estudio comparativo con una suplementación de ácido linoleico conjugado de fuente natural procedente de productos lácteos concentrados como la mantequilla de leche.
- Incrementar el tiempo de la suplementación de CLA y probar en otros modelos de animales.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, A., Escalona, M., Maiz, A., Pollak, F. y Leighton, F. 2002. Determinación del índice de resistencia insulínica mediante HOMA en una población de la Región Metropolitana de Chile. *Revista médica de Chile* Vol 130 N°11 Noviembre. Santiago de Chile, Chile.
- Amor, S., González-Hedström D., Martín-Carro B., Inarejos-García A. M., Almodóvar P., Prodanov M., García-Villalón A. L. and Granado García M. 2019. Beneficial Effects of an Aged Black Garlic Extract in the Metabolic and Vascular Alterations Induced by a High Fat/Sucrose Diet in Male Rats. *Rev. Nutrients* 11, 153.
- Arias, R., Keim J. P., Velásquez, A. y Vargas-Bello-Pérez, E. 2016 ¿Son los ácidos grasos de la carne y la leche bovina nocivos para la salud de las personas? *Rev Chil Nutr* Vol. 43, N°4, 2016.
- Ashwell, M. S., Ceddia, R. P., House, R. L., Cassady, J. P., Eisen, E. J. and Eling, T. E. 2010. Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid alters hepatic gene expression in a polygenic obese line of mice displaying hepatic lipodosis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*.
- Astapova, O. and Leff, T. 2012. Adiponectin and PPAR γ : Cooperative and Interdependent Actions of Two Key Regulators of Metabolism. *Vitamins and Hormones*, Volume 90. ScienceDirect Journal.
- Atkinson, R. L., 1999. *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research Volume I*. Chapter 27. Conjugated linoleic acid for altering body composition and treating obesity. Departments of Medicine and Nutritional Sciences, University of Wisconsin. Madison. AOCS Press (American Oil Chemists' Society).
- Bernardis, L. L. and Patterson, B. D. 1968. Correlation between Lee Index and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*.

- Bernuy, N. D. 2018. Influencia del Consumo de Tres Variedades de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Tejido Adiposo e Histomorfometría Intestinal en Ratas Obesas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Escuela de Posgrado. Doctorado en Nutrición. Pg40.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J. and Fernandes, G. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. December.
- Bresciani-Salaroli, L., Cattafesta, M., Bisi-Molina, M. C., Zandonade E. and Souza-Bissoli N. 2017. Insulin resistance and associated factors: a cross-sectional study of bank employees. *Journal Clinics*.
- Browning, J. D., Szczepaniak, L. S., Dobbins, R., Nuremberg, P., Horton, J. D., Cohen, J. C., Grundy, S. M. and Hobbs, H. 2004. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*.
- Cárdenas, H., Sanchez, J., Roldán, L. y Mendoza, F. 2009. Prevalencia del Síndrome Metabólico en Personas a partir de 20 años de edad. Perú, 2005. *Revista Española de Salud Pública*.
- Chin, S. F., Storkson, J. M., Ha, Y. L. and Pariza, M. W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- Clement, L., Poirier, H., Niot, I., Bocher, V., Guerre-Millo, M. and Krief, S. 2002. Dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *The Journal of Lipid Research*. September.
- Demeditec. 2014. Insulin rat ELISA. The Insulin rat ELISA system provides direct quantitative in vitro determination of rat insulin in plasma and serum. User's Manual. Product Information. Kiel, Germany.
- Erion, K. A. and Corkey, B. E. 2017. Hyperinsulinemia: a Cause of Obesity? *Current Obesity Reports*. Springer Journey.
- Franssen, R., Visser, M. E., Kuivenhoven, J. A., Kastelein, J. J. P., Dallinga-Thie, G. M., Stroes, E. S. G. 2008. Role of lipoprotein lipase in triglyceride metabolism: potential therapeutic target. *Future Lipidology*. 3:4, 385-397.

- Halade, G. V., Rahman, M. M. and Fernandes, G. 2009. Effect of CLA isomers and their mixture on aging C57Bl/6J mice. *European Journal of Nutrition*.
- Haffner, S. M., Valdez, R. A., Hazuda, H. P., Mitchell, B. D., Morales, P. A. and Stern, M. P. 1992. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (síndrome X). *Diabetes*.
- Harrold, J., Williams, G., Widdowson, P. 2000. Early leptin response to a palatable diet predicts dietary obesity in rats: key role of melanocortin-4 receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus. *J. Neurochem*, 74: 1224-1228.
- Hartigh, D., Wang, S.; Goodspeed, L., Wietecha, T., Houston, B., Omer, M., Ogimoto, K., Subramanian, S., Gowda, G.A., O'Brien, K.D., et al. 2017. Metabolically distinct weight loss by 10,12 CLA and caloric restriction highlight the importance of subcutaneous white adipose tissue for glucose homeostasis in mice.
- Hidalgo L. L. 2018. Aceite de Linaza como Fuente de Ácidos Grasos Poliinsaturados Sobre Expresión del Gen PPAR α y Perfil Lipídico en Ratas Obesas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Escuela de Posgrado. Maestría en Nutrición. Pg19.
- House, R. L., Cassady, J. P., Eisen, E. J., McIntosh, M. K. and Odle, J. 2005. Conjugated linoleic acid evokes de-lipidation through the regulation of genes controlling lipid metabolism in adipose and liver tissue. *Obesity Reviews*.
- IDF (International Diabetes Federation). 2005. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. *Revista Panamericana de Salud Pública*.
- INS (Instituto Nacional de Salud). 2008. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. Ministerio de Salud. Lima, Perú.
- Isken, F., Weickert, M. O., Tschop, M. H., Nogueiras, R., Mohlig M. and Abdelrahman, A. 2009. Metabolic effects of diets differing in glycaemic index depend on age and endogenous glucosedependent insulinotropic polypeptide in mice. *Diabetologia*.
- Kennedy, A., Martinez, K., Schmidt, S., Mandrup, S., LaPoint, K. and McIntosh. M. 2010. Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*.

- Kim, M. R., Park, Y., Albright, K. J. and Pariza, M. W. 2002. Differential responses of hamsters and rats fed high-fat or low-fat diets supplemented with conjugated linoleic acid. *Nutrition Research*.
- Larsen, T. M., Toubro, S. and Astru, A. 2003. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. *The Journal of Lipid Research*. December.
- Lihn, A. S., Pedersen, S. B. and Richelsen B. 2004. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *The International Association for the Study of Obesity. Obesity reviews*.
- Lipinski, L. C., Kmetiuk, L. B., Mathias, P. C. F., Malta A., Favero G. M., Ribeiro T. A., Toledo A., Montemor Netto M. R. and Rodrigues M. R. S. 2017. Oral Insulin Improves Metabolic Parameters in High Fat Diet Fed Rats. *An Acad Bras Cienc*.
- Matos S. L., De Paula H., Pedrosa M. L., Dos Santos R. C., De Oliveira E. L., Alves D. and Silva M. E. 2005. Dietary Models for Inducing Hypercholesterolemia in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology. An international Journal*. Pg 206
- Mirand, P. P., Arnal-Bagnard, M. A., Mosoni, L., Faulconnier, Y., Chardigny, J. M., Chilliard, Y. 2004. Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid isomers do not modify body composition in adult sedentary or exercised rats. *J Nutr*.
- Navarro, V., Zabala, A., Macarulla, M. T., Fernandez-Quintela, A., Rodriguez, V. M. and Simon, E. 2003. Effects of conjugated linoleic acid on body fat accumulation and serum lipids in hamsters fed an atherogenic diet. *Journal of Physiology and Biochemistry*. September.
- Obregon, O., Castro, J. y Lares, M. 2004. Evaluación y comparación de la sensibilidad insulínica por dos modelos matemáticos: homeostasis model assessment (HOMA) y quantitative insulin-sensitivity check index (QUICKI). *Revista de la Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Volumen 27 enero. Caracas, Venezuela*.
- Pariza, M. W., Park, Y. and Cook, M. E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*. July.

- Park, Y. W. 2009. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. First edition, editorial Wiley-BlackWell. Department of Food Science and Technology. University of Georgia Athens.
- Park, Y. and Pariza, M. W. 2001. The effects of dietary conjugated nonadecadienoic acid on body composition in mice. *Biochimica et Biophysica Acta*. October.
- Park, Y., Storkson, J. M., Albright, K. J., Liu, W. and Pariza, M. W. 1999. Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*. March.
- Phillips, S. M., Green, H. J., Tarnopolsky, M. A., Heigenhauser, G. J. and Grant, S. M. 1996. Progressive effect of endurance training on metabolic adaptations in working skeletal muscle. *American Journal of Physiology*.
- Pisabarro, R. 2006. Nutrigenética y nutrigenómica: la revolución sanitaria del nuevo milenio. Implicancias clínicas en síndrome metabólico y diabetes tipo 2. *Revista Médica del Uruguay*.
- Reaven, G. 2004. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*.
- Riserus, U., Smedman, A., Basu, S. and Vessby, B. 2004. Metabolic effects of conjugated linoleic acid in humans: the Swedish experience. *The American Journal of Clinical Nutrition*. June
- Salas-Salvado, J., Marquez-Sandoval, F. and Bullo, M. 2006. Conjugated linoleic acid intake in humans: a systematic review focusing on its effect on body composition, glucose, and lipid metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Sanders S. R, Teachey M. K, Ptock A, Kraemer K, Hasselwander O, Henriksen E. J. 2004. Effects of specific conjugated linoleic acid isomers on growth characteristics in obese Zucker rats. *Lipids*.
- Serrano, M., Ascaso, J. F., Blázquez, E., Cabezas, J., Carmena, R., Escobar, F., Fernández-Real, J. M., Gabriel, R., Gomis de Barberá, R., Grande, C., Herrera, J. L., Pallardo, L. F., Potau, N., Ricart, W., Rovira, A. y Zorzano, A. 2002. Resistencia a la insulina y su

implicación en múltiples factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2. Sociedad Española de Diabetes. Medicina Clínica. Barcelona, España.

Sixto R. and Echeverría F. 2019. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): Structure, Mechanisms of Action and Role in Health and Disease, Chapter: Bioactive Compounds as PPARs Ligands: Potential Health Effects, pp.269-287.

Viswanadha, S., McGilliard, M. L. and Herbein, J. H. 2006. Desaturation Indices in Liver, Muscle, and Bone of Growing Male and Female Mice Fed trans-10,cis-12 Conjugated Linoleic Acid. *Lipids*.

Von-Eynatten, M., Schneider, J., Humpert, P., Rudofsky, G., Schmidt, N., Barosch, P. , Hamann, A., Morcos, M., Kreuzer, J., Bierhaus, A., Nawroth, P., Dugi, K. 2004. Decreased Plasma Lipoprotein Lipase in Hypoadiponectinemia. An association independent of systemic inflammation and insulin resistance. *Pathophysiology Complications. Diabetes Care*. Vol 27. N12. December.

Yu, J., Zheng, J., Liu, X. F., Feng, Z. L., Zhang, X. P., Cao, L. L. and Zhou, Z. P. 2016. Exercise improved lipid metabolism and insulin sensitivity in rats fed a high-fat diet by regulating glucose transporter 4 (GLUT4) and musclin expression. *Braz J Med Biol Res*.

Zhou, X. R., Sun, C. H., Liu, J. R. and Zhao, D. 2008. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR γ gene expression in adipose tissue of obese rat, and improves insulin resistance. *ScienceDirect Journal*.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Consumo diario mensual

Ratas	Consumo Diario promedio (g)				
	MES 0	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4
1	18.4	20.4	17.6	18.2	17.5
2	24.9	23.2	20.0	16.9	23.9
3	23.8	22.3	20.0	20.3	19.6
4	23.3	23.5	20.0	15.6	20.3
5	21.7	21.6	20.0	21.8	22.9
6	27.4	25.2	20.0	19.0	25.0
7	17.2	25.6	20.0	19.6	22.5
8	11.7	22.7	20.0	25.0	21.0
9	25.0	23.0	19.2	25.0	20.8
10	22.1	22.4	20.0	17.8	22.5
12	25.1	21.2	20.0	19.9	21.6
13	22.7	21.6	16.9	19.2	20.7
14	24.1	20.4	18.0	14.6	17.2
15	27.7	25.1	20.0	22.9	24.7
16	25.6	20.1	20.0	21.4	21.4
17	22.9	22.4	20.0	19.3	20.1
18	23.6	18.1	20.0	20.5	18.9
19	29.8	24.4	20.0	22.9	23.9
20	25.5	24.2	20.0	22.9	25.0
21	24.5	25.0	20.0	16.3	20.6
22	25.0	28.0	20.0	19.9	21.6
23	23.8	22.9	20.0	22.9	24.5
24	19.0	21.9	20.0	20.4	22.4
25	20.4	20.3	20.0	18.1	20.9
26	28.4	29.8	20.0	19.7	23.5
27	25.7	19.8	20.0	19.9	19.8
28	28.6	26.3	20.0	19.0	22.0
29	21.8	21.8	20.0	17.3	21.5
30	24.6	24.7	20.0	17.3	18.7

*Las filas sombreadas son las unidades experimentales en tratamiento

Anexo 2: Estadísticas descriptivas del consumo diario mensual

Estadísticas descriptivas: MES 0, MES 1, MES 2, MES 3, MES 4

Variable	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
MES 0	29	23.597	0.694	3.738	11.700	29.800
MES 1	29	23.031	0.475	2.558	18.100	29.800
MES 2	29	19.714	0.147	0.794	16.900	20.000
MES 3	29	19.779	0.483	2.601	14.600	25.000
MES 4	29	21.552	0.394	2.119	17.200	25.000

Anexo 3: Peso corporal mensual

Ratas	Peso Corporal (g)				
	MES 0	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4
1	232.2	320.6	355.0	367.8	380.6
2	319.1	397.0	435.0	468.6	497.5
3	308.4	383.9	424.1	447.1	459.9
4	343.8	422.4	444.6	470.8	477.2
5	269.5	378.8	442.0	470.5	504.6
6	305.3	387.5	439.4	492.6	533.5
7	284.0	385.7	423.3	457.0	485.5
8	261.2	364.9	411.0	445.3	467.4
9	279.8	358.1	382.9	472.3	495.8
10	333.7	397.5	424.8	426.6	437.3
12	306.7	371.1	407.9	425.0	467.1
13	282.5	354.2	376.8	404.2	412.5
14	278.8	343.6	363.6	392.2	399.6
15	300.8	395.6	442.3	480.4	510.2
16	306.9	377.0	438.5	418.9	448.1
17	298.5	360.2	397.7	421.5	437.7
18	310.3	366.4	408.1	432.8	486.3
19	313.3	405.0	439.1	488.3	511.8
20	309.4	385.2	427.5	465.2	478.9
21	325.4	396.3	428.5	462.1	478.9
22	281.9	370.6	411.1	436.9	462.5
23	342.7	407.7	434.4	450.4	459.6
24	250.5	336.2	380.2	416.9	438.1
25	294.6	338.2	368.2	380.6	394.4
26	323.8	429.6	466.4	539.5	561.1
27	266.5	347.0	390.4	414.0	423.3
28	318.3	409.9	443.5	470.9	498.1
29	276.6	355.7	393.7	411.7	403.2
30	316.4	390.1	414.2	438.6	460.5

*Las filas sombreadas corresponden a las unidades experimentales en tratamiento

Anexo 4: Estadísticas descriptivas del peso corporal mensual

Estadísticas descriptivas: MES 0, MES 1, MES 2, MES 3, MES 4

Variable	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
MES 0	29	297.96	5.02	27.01	232.20	343.80
MES 1	29	377.10	4.96	26.70	320.60	429.60
MES 2	29	414.28	5.26	28.35	355.00	466.40
MES 3	29	443.75	6.85	36.88	367.80	539.50
MES 4	29	464.52	7.97	42.91	380.60	561.10

Anexo 5: Consumo por peso corporal diario

Ratas	Consumo por peso Corporal (mg/g)				
	MES 0	MES 1	MES 2	MES 3	MES 4
1	79.2	63.6	49.6	49.5	46.0
2	78.0	58.4	46.0	36.1	48.0
3	77.2	58.1	47.2	45.4	42.6
4	67.8	55.6	45.0	33.1	42.5
5	80.5	57.0	45.2	46.3	45.4
6	89.7	65.0	45.5	38.6	46.9
7	60.6	66.4	47.2	42.9	46.3
8	44.8	62.2	48.7	56.1	44.9
9	89.3	64.2	50.1	52.9	42.0
10	66.2	56.4	47.1	41.7	51.5
12	81.8	57.1	49.0	46.8	46.2
13	80.4	61.0	44.9	47.5	50.2
14	86.4	59.4	49.5	37.2	43.0
15	92.1	63.4	45.2	47.7	48.4
16	83.4	53.3	45.6	51.1	47.8
17	76.7	62.2	50.3	45.8	45.9
18	76.1	49.4	49.0	47.4	38.9
19	95.1	60.2	45.5	46.9	46.7
20	82.4	62.8	46.8	49.2	52.2
21	75.3	63.1	46.7	35.3	43.0
22	88.7	75.6	48.6	45.5	46.7
23	69.4	56.2	46.0	50.8	53.3
24	75.8	65.1	52.6	48.9	51.1
25	69.2	60.0	54.3	47.6	53.0
26	87.7	69.4	42.9	36.5	41.9
27	96.4	57.1	51.2	48.1	46.8
28	89.9	64.2	45.1	40.3	44.2
29	78.8	61.3	50.8	42.0	53.3
30	77.7	63.3	48.3	39.4	40.6

*Las filas sombreadas corresponden a las unidades experimentales en tratamiento

Anexo 6: Estadísticas descriptivas del consumo por peso corporal diario

Estadísticas descriptivas: MES 0, MES 1, MES 2, MES 3, MES 4

Variable	N	Media	Error estándar de la media	Desv. Est.	Mínimo	Máximo
MES 0	29	79.20	2.04	10.97	44.79	96.44
MES 1	29	61.072	0.946	5.093	49.400	75.553
MES 2	29	47.725	0.490	2.639	42.882	54.318
MES 3	29	44.72	1.06	5.73	33.14	56.14
MES 4	29	46.529	0.732	3.940	38.865	53.323

Anexo 7: Indicadores somáticos antes y después de la etapa de engorde

Ratas	MES 0			MES 3		
	LHA i (cm)	Peso i (g)	IL i	LHA f (cm)	Peso f (g)	I.L f
1	21.0	204.6	0.281	24.5	375.1	0.294
2	22.0	266.2	0.292	25.5	487.8	0.309
3	21.0	246.6	0.299	25.5	459.4	0.303
4	22.0	293.2	0.302	25.5	478.6	0.307
5	21.0	199.0	0.278	25.0	492.5	0.316
6	20.0	260.6	0.319	25.0	522.4	0.322
7	20.0	180.0	0.282	25.0	476.3	0.312
8	20.5	230.2	0.299	25.5	460.6	0.303
9	20.0	220.1	0.302	24.5	489.2	0.322
10	22.5	279.8	0.291	24.5	433.5	0.309
12	21.5	257.4	0.296	25.0	455.3	0.308
13	20.5	225.0	0.297	24.5	413.1	0.304
14	21.0	220.3	0.288	24.5	398.4	0.300
15	20.0	239.4	0.310	25.5	501.8	0.312
16	20.5	236.6	0.302	25.5	440.2	0.298
17	21.5	259.5	0.297	24.5	435.3	0.309
18	21.0	261.3	0.304	24.5	467.3	0.317
19	20.5	229.5	0.299	25.5	404.5	0.290
20	21.5	260.7	0.297	25.5	474.8	0.306
21	21.5	262.0	0.298	25.5	472.0	0.305
22	20.0	212.3	0.298	25.0	457.6	0.308
23	22.0	299.7	0.304	25.0	455.3	0.308
24	20.5	213.6	0.292	24.0	438.0	0.316
25	21.5	260.2	0.297	23.5	384.8	0.310
26	20.0	265.9	0.322	25.5	557.4	0.323
27	20.0	213.7	0.299	25.0	419.0	0.299
28	20.0	251.9	0.316	25.0	496.6	0.317
29	20.5	225.5	0.297	24.5	422.2	0.306
30	20.5	248.0	0.306	24.5	454.9	0.314

Anexo 8: Estadísticas descriptivas de los indicadores somáticos

Estadísticas descriptivas: LHA (cm), Peso (g), IL

Variable	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
LHA i (cm)	29	20.845	0.138	0.745	20.000	22.500
Peso i (g)	29	242.17	5.26	28.32	180.00	299.70
IL i	29	0.29876	0.00187	0.01006	0.27800	0.32200
LHA f (cm)	29	24.931	0.0984	0.530	23.500	25.500
Peso f (g)	29	456.00	7.61	40.98	375.10	557.40
I.L f	29	0.30852	0.00150	0.00807	0.29000	0.32300

Anexo 9: Indicadores bioquímicos en suero después de la etapa de suplementación

Ratas	Insulina (μU/ml)	Glucosa (mg/dl)	HOMA	Triglicéridos (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Colesterol total (mg/dl)
1	-0.47	130	-0.15	119	48	84
2	0.64	132	0.21	105	45	89
3	2.86	139	0.98	85	41	82
4	3.69	133	1.21	90	59	78
5	3.14	146	1.13	79	59	88
6	9.53	150	3.53	88	56	83
7	10.08	132	3.29	110	33	65
8	12.58	122	3.79	90	48	91
9	-0.75	129	-0.24	106	61	96
10	1.75	111	0.48	95	62	84
12	-0.75	131	-0.24	93	43	76
13	5.92	108	1.58	98	38	76
14	5.36	111	1.47	71	41	76
15	3.69	146	1.33	70	37	66
16	11.19	124	3.43	114	39	78
17	2.58	133	0.85	110	31	62
18	13.42	123	4.07	132	45	102
19	5.36	105	1.39	90	53	86
20	3.42	128	1.08	117	45	86
21	-0.47	113	-0.13	86	55	75
22	-0.47	47	-0.05	101	47	76
23	-2.14	133	-0.70	71	50	82
24	-1.31	114	-0.37	46	42	76
25	13.42	98	3.25	59	37	73
26	2.86	128	0.90	90	51	102
27	0.92	123	0.28	117	46	91
28	3.97	126	1.24	94	43	85
29	-1.31	87	-0.28	40	31	62
30	-4.08	108	-1.09	97	42	86

*Las filas sombreadas corresponden a las unidades experimentales en tratamiento

Anexo 10: Estadísticas descriptivas de los indicadores bioquímicos

Estadísticas descriptivas: Glucosa, Insulina, HOMA, Triglicérido, HDL, ...

Variable	Tratam	N	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
Glucosa	1	11	123.55	3.85	12.75	105.00	150.00
	2	9	128.78	5.27	15.80	98.00	146.00
Insulina	1	11	6.22	1.42	4.71	0.64	13.42
	2	9	5.33	1.28	3.83	2.58	13.42
HOMA	1	11	1.914	0.450	1.493	0.210	4.070
	2	9	1.604	0.322	0.965	0.850	3.290
Triglicéridos	1	11	103.27	4.45	14.76	88.00	132.00
	2	9	85.33	5.88	17.64	59.00	110.00
HDL	1	11	48.73	2.36	7.82	38.00	62.00
	2	9	41.44	2.94	8.82	31.00	59.00
Colesterol total	1	11	85.82	2.25	7.45	76.00	102.00
	2	9	77.67	4.31	12.93	62.00	102.00

Anexo 11: Análisis de Varianzas

Consumo de alimento en el MES 3 (antes de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	0.39	0.39	0.06	0.814
Error	27	189.03	7.00		
Total	28	189.43			

S = 2.646 R-cuad. = 0.21% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	14	19.900	A
2	15	19.667	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Consumo de alimento en el MES 4 (después de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	3.99	3.99	0.88	0.355
Error	27	121.78	4.51		
Total	28	125.77			

S = 2.124 R-cuad. = 3.17% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	14	21.936	A
2	15	21.193	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Peso corporal en el MES 3 (antes de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	33	33	0.02	0.879
Error	27	38061	1410		
Total	28	38094			

S = 37.55 R-cuad. = 0.09% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	14	444.86	A
2	15	442.72	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Peso corporal en el MES 4 (después de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	5	5	0.00	0.958
Error	27	51540	1909		
Total	28	51545			

S = 43.69 R-cuad. = 0.01% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
2	15	464.94	A
1(c)	14	464.08	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Consumo por peso corporal en el MES 3 (antes de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Trat	1	0.6	0.6	0.02	0.897
Error	27	919.0	34.0		
Total	28	919.6			

S = 5.834 R-cuad. = 0.06% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Trat	N	Media	Agrupación
1	14	44.864	A
2	15	44.581	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Consumo por peso corporal el MES 4 (después de la suplementación)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Trat	1	20.4	20.4	1.33	0.260
Error	27	414.3	15.3		
Total	28	434.7			

S = 3.917 R-cuad. = 4.68% R-cuad.(ajustado) = 1.15%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Trat	N	Media	Agrupación
1	14	47.396	A
2	15	45.719	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Glucosa

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	136	136	0.67	0.423
Error	18	3624	201		
Total	19	3760			

S = 14.19 R-cuad. = 3.60% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
2	9	128.78	A
1(c)	11	123.55	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Insulina

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	3.9	3.9	0.21	0.653
Error	18	339.3	18.9		
Total	19	343.3			

S = 4.342 R-cuad. = 1.15% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	11	6.220	A
2	9	5.329	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

HOMA

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	0.47	0.47	0.29	0.599
Error	18	29.74	1.65		
Total	19	30.21			

S = 1.285 R-cuad. = 1.57% R-cuad.(ajustado) = 0.00%
Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	11	1.914	A
2	9	1.604	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Triglicéridos

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	1593	1593	6.15	0.023
Error	18	4666	259		
Total	19	6259			

S = 16.10 R-cuad. = 25.45% R-cuad.(ajustado) = 21.31%
Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	11	103.27	A
2	9	85.33	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

HDL

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	262.5	262.5	3.83	0.066
Error	18	1234.4	68.6		
Total	19	1697.2			

S = 8.281 R-cuad. = 17.54% R-cuad.(ajustado) = 12.96%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
--------	---	-------	------------

1(c)	11	48.727	A
2	9	41.444	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Colesterol total

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratam	1	329	329	3.13	0.094
Error	18	1894	105		
Total	19	2223			

S = 10.26 R-cuad. = 14.80% R-cuad.(ajustado) = 10.07%
 Agrupar información utilizando el método de Tukey

Tratam	N	Media	Agrupación
1(c)	11	85.82	A
2	9	77.67	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 12: Análisis proximal del alimento balanceado para ratas



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA - DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE NUTRICIÓN
LABORATORIO DE EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE ALIMENTOS

“Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional”

INFORME DE ENSAYO LENA N° 0101/2019

CLIENTE : JEAN FRANCO RUIZ VARGAS
NOMBRE DEL PRODUCTO : Alimento balanceado para roedores
(Denominación responsabilidad del cliente)
MUESTRA : PROPORCIONADA POR EL CLIENTE
FECHA DE RECEPCIÓN : 02-01-2019
FECHA DE ANÁLISIS : Del 02/01/19 al 07/01/19
CANTIDAD DE MUESTRA : 722 gramos
PRESENTACION : Muestra en bolsa de polietileno
IDENTIFICACION : AQ19-0101

RESULTADOS DE ANÁLISIS QUÍMICO

ANÁLISIS	Resultados
a.- HUMEDAD,%	10.48
b.- PROTEÍNA TOTAL (N x 6.25), %	18.32
c.- GRASA, %	3.16
d.- FIBRA CRUDA, %	2.71
e.- CENIZA,%	5.11
f.- ELN ¹ ,%	60.22

ELN¹ = EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

Métodos utilizados:

- a.- AOAC (2005), 950.46
- b.- AOAC (2005), 984.13
- c.- AOAC (2005), 2003.05
- d.- AOAC (2005), 962.09
- e.- AOAC (2005), 942.05

La Molina, 07 de Enero del 2019

Dr. ~~Carlos~~ Gómez Bravo
Jefe del Laboratorio de Evaluación
Nutricional de Alimentos



Av. La Molina s/n Lima 12. E-mail: lena@lamolina.edu.pe
Teléfonos: 614-7800 Anexo: 266 / Directo 348-0830

Anexo 13: Resultados de análisis bioquímicos

DE LA SANTÉ
Laboratorio Clínico

"Su Diagnóstico en Manos Expertas"

ORDEN : 01110205

FECHA ORDEN: 11/01/2019 06:42:45 p.m.

PACIENTE : 001

SEXO : MASCULINO

EMPRESA : UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

EDAD :

MÉDICO :

Examen	Resultado	Unidad	Referencia
INMUNOBIOQUIMICA			

Ratas	Glucosa (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Colesterol total (mg/dl)
1	130	119	48	84
2	132	105	45	89
3	139	85	41	82
4	133	90	59	78
5	146	79	59	88
6	150	88	56	83
7	132	110	33	65
8	122	90	48	91
9	129	106	61	96
10	111	95	62	84
12	131	93	43	76
13	108	98	38	76
14	111	71	41	76
15	146	70	37	66
16	124	114	39	78
17	133	110	31	62
18	123	132	45	102
19	105	90	53	86
20	128	117	45	86
21	113	86	55	75
22	47	101	47	76
23	133	71	50	82
24	114	46	42	76
25	98	59	37	73
26	128	90	51	102
27	123	117	46	91
28	126	94	43	85
29	87	40	31	62
30	108	97	42	86

Dra. Judith Guerra Figueroa
MEDICO PATOLOGO CLINICO
LABORATORIO DE LA SANTE
CMP 38516 RNE 19624

* Resultados fuera de los rangos referenciales

Sede San Isidro
Salud Ocupacional
T.719-5101 Anexo 215 / C.958 470 960

Sede Central La Molina
Av. Flora Tristán Sur 478
T.348-6087/ 655-1064 / C. 940 212 547

INSTRUCTIONS



Rat Insulin ELISA Kit

ERINS

Number	Description
ERINS	Rat Insulin ELISA Kit, sufficient reagents for 96 determinations

Kit Contents	Size
Anti-Rat Insulin Precoated 96-well Strip Plate	1 each
Lyophilized Recombinant Rat Insulin Standard	2 vials
20X Wash Buffer	25mL
Biotinylated Antibody Reagent	2 vials
Streptavidin-HRP Reagent	200uL
TMB Substrate	12mL
Stop Solution, contains 0.2M sulfuric acid	8mL
Assay Diluent C	30mL
Assay Diluent B, 5X concentrated buffer	15mL
Adhesive Plate Sealer	2

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

Storage: May be stored for up to 6 months at 2° to 8°C from the date of shipment. Opened microplate wells or reagents may be store for up to 1 month at 2° to 8°C. Return unused wells to the pouch containing desiccant pack, reseal along entire edge. Reconstituted standard can be stored at -80°C for up to 1 week.

Note: the kit can be used within one year if the whole kit is stored at -20°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

Table of Contents

Introduction.....1
 Procedure Summary.....2
 Additional Materials Required.....2
 Precautions.....3
 Sample Preparation.....3
 Reagent Preparation.....4
 Assay Procedure.....5
 Performance Characteristics.....6
 Data Templates.....8

Introduction

The Thermo Scientific™ Pierce™ Rat Insulin ELISA Kit is an enzyme-linked immunosorbent assay for measuring rat insulin in serum, plasma, and cell culture media.

Anexo 15: Especificaciones del suplemento de Ácido linoleico conjugado (CLA)

SMART FACTS

- No Preservatives
- Helps Support Dieting Goals*
- Contains Myoleptin™ Material Specially Designed With 50:50 Ratio Of Active Ingredients For Dieting Goals*

*These statements have not been evaluated by the Food and Drug Administration. This product is not intended to diagnose, treat, cure or prevent any disease.

KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN. STORE AT ROOM TEMPERATURE AND AVOID EXCESSIVE HEAT. TAMPER RESISTANT: DO NOT USE IF SEAL UNDER CAP IS BROKEN OR MISSING.

Questions? Call toll free 1-888-VITAHELP (848-2435) or visit us at www.sundownnaturals.com

★ **Made In The USA** with select ingredients from around the world

Manufactured by REXALL SUNDOWN, INC.
Boca Raton, FL 33487 USA

Prod. No. 52529 01B B31640
Label No. 92416 ©2016



SUNDOWN NATURALS®

MAXIMUM STRENGTH CLA 1500MG

Helps Support a Healthy
Body Composition*

90 Softgels / Dietary Supplement

100%
FREE OF



NO DAIRY/
LACTOSE



NO ARTIFICIAL
FLAVORS



GMO
NON-GMO



Certified
GF
Gluten-Free

DIRECTIONS: FOR ADULTS, TAKE TWO (2) SOFTGELS DAILY, PREFERABLY WITH A MEAL. It is important to check with your health care practitioner before beginning any diet and exercise program. As a reminder, discuss the supplements and medications you take with your health care providers. Use as part of a reduced-calorie diet and daily exercise program.

Supplement Facts

Serving Size 2 Softgels
Servings Per Container 45

Amount Per Serving	%Daily Value
Calories	30
Calories from Fat	25
Total Fat	3 g 5%**
Protein	<1 g 1%**
Myoleptin™ CLA (from Safflower Oil)	3,000 mg (3 g) ***
Contains 78-84% Conjugated Linoleic Acid (CLA)	
2,340 mg - 2,520 mg	

**Percent Daily Values are based on a 2,000 calorie diet.
***Daily Value not established.

Other Ingredients: Gelatin, Vegetable Glycerin, Natural Caramel Color.
Non-GMO, No Gluten, No Wheat, No Milk, No Lactose, No Artificial Flavor, No Artificial Sweetener, No Preservatives, No Sugar, No Soy, No Starch, No Yeast, No Fish, Sodium Free.

WARNING: Not intended for use by pregnant or nursing women. If you are taking any medications or have any medical condition, consult your doctor before use. Discontinue use and consult your doctor if any adverse reactions occur. Not intended for use by persons under the age of 18.

Anexo 16: Disposición de jaulas de las ratas en el ambiente de laboratorio



Anexo 17: Disposición de bebederos y comederos en las jaulas de las ratas



Anexo 18: Alimento balanceado de la Planta de Alimentos Balanceados de la UNALM



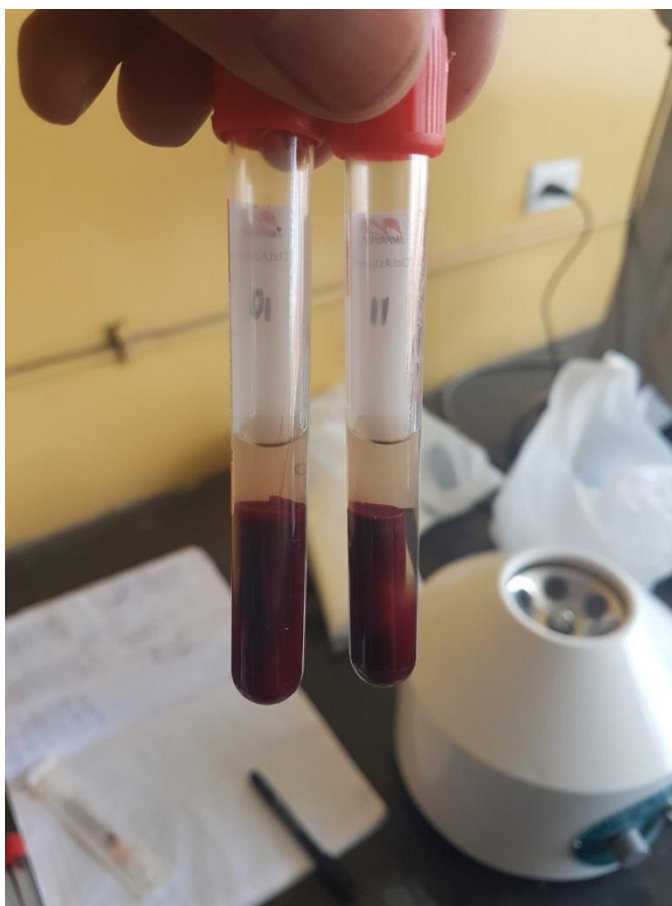
Anexo 19: Manteca Vegetal utilizada para preparar la comida obesogénica



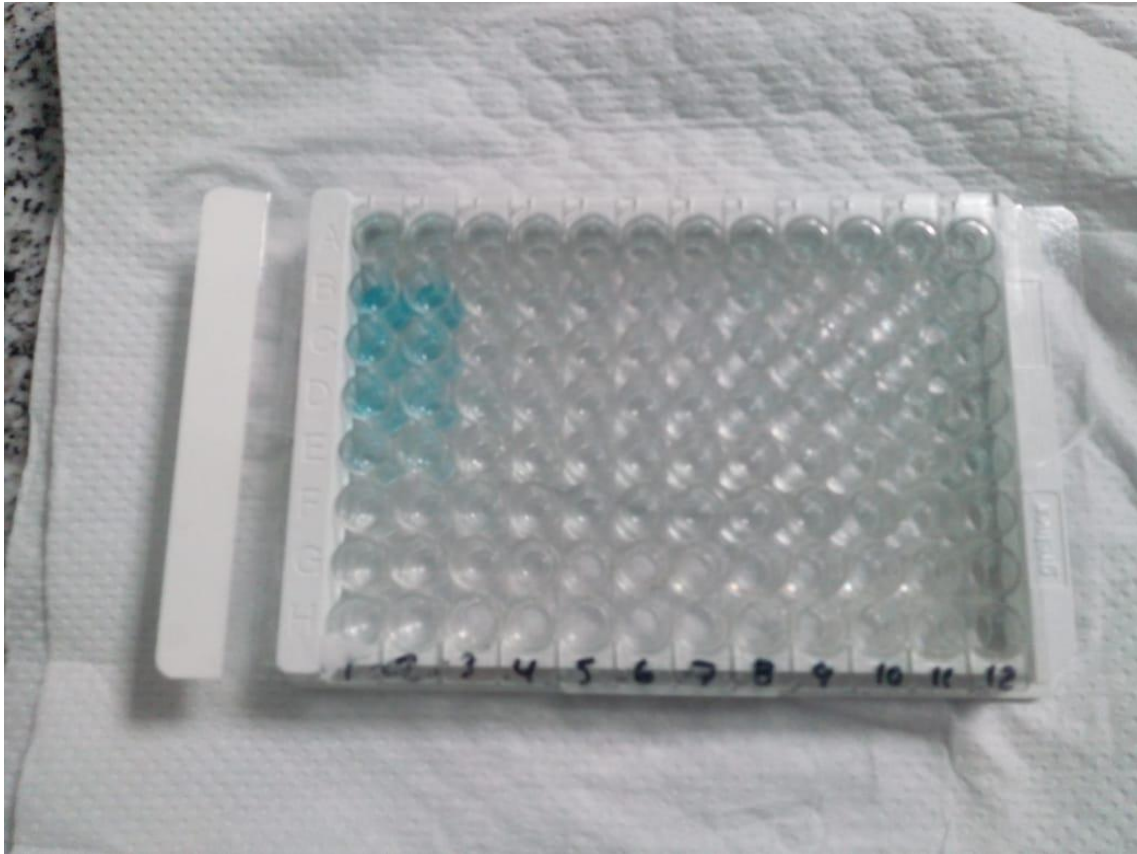
Anexo 20: Recolección de sangre por punción cardiaca



Anexo 21: Obtención del suero sanguíneo luego de la centrifugación



Anexo 22: Preparación de las muestras para el lector de ELISA



Anexo 23: Curva de calibración de la absorbancia versus la concentración conocida

