



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 SOBRE LA
INFLAMACIÓN DÉRMICA EN RATAS WISTAR

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

CELINA FUENTES HOYOS

Asesores:

Dr. Carlos Gutiérrez Olvera

Dra. Lilia Gutiérrez Olvera



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016



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.

DEDICATORIA

A mi abuela, que me cuida desde donde quiera que esté y a mi madre,
por estar a mi lado incondicionalmente, apoyarme en todo lo que hago,
ser mi mejor amiga y mi mejor asistente.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por todo el apoyo brindado a lo largo de este largo camino, a Manuel por ayudar a mi formación como médico, a mis abuelos Irma y José Luis por haber estado al pendiente de mí y ayudarme cuando lo necesite, a mi asesor Carlos Gutiérrez Olvera por sus conocimientos, su guía, la ayuda, paciencia y confianza brindados y a mi asesora Lilia Gutiérrez Olvera por sus conocimientos y tiempo prestado. A mi universidad que me dio mi profesión.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	
Antecedentes	3
Justificación	25
Objetivos	26
Hipótesis	27
MATERIAL Y METODOS	28
RESULTADOS	39
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	59
REFERENCIAS	62

RESUMEN

FUENTES HOYOS CELINA. Efecto de los ácidos grasos omega 3 sobre la inflamación dérmica en ratas Wistar. (Bajo la dirección del Dr. Carlos Gutiérrez Olvera y la Dra. Lilia Gutiérrez Olvera).

El objetivo de este trabajo fue determinar si los ácidos grasos omega 3 tienen efecto antiinflamatorio sobre la piel inflamada de ratas Wistar después de 12 días de tratamiento. Se utilizaron 36 ratas Wistar a las que previamente se les causo inflamación de la piel mediante la aplicación de oleorresina de *Capsicum* durante 3 días. A partir del cuarto día se dividieron en cuatro grupos para la administración del tratamiento y se continuo aplicando la oleorresina de *Capsicum*: el grupo 1 al que se le administró por vía oral aceite puro de orbital de atún como fuente de ácidos grasos omega 3 a 100 mg/kg, el grupo 2 al que se le administró por vía oral aceite puro de orbital de atún a 200 mg/kg, el grupo 3 al que se administró por vía oral fosfato sódico de prednisolona a 1,5 mg/kg (con el objetivo de comparar la acción de los omega 3 con un antiinflamatorio de uso común en medicina veterinaria) y el grupo 4 que fue el control al que se le administro 0,4 ml de agua potable. La duración del tratamiento para todos los grupos fue de 12 días. Durante todos los días del experimento se midió el grosor de la piel de los individuos con un vernier y al final se eligió un individuo de cada grupo para realizar estudios histopatológicos de la piel con fines demostrativos. Se concluye que los ácidos grasos omega 3 tuvieron

acción antiinflamatoria a lo largo de 12 días de tratamiento, aunque su potencial de acción es menor que el de la prednisolona en este tiempo.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La piel es el órgano más extenso del organismo y debido a que es el principal medio de comunicación entre el medio externo e interno debe de adaptarse funcional y estructuralmente para llevar a cabo actividades vitales que logran el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo. Tiene funciones de protección y aislamiento, regulación de la temperatura, presión sanguínea y equilibrio hídrico, percepción sensorial, metabólica (nutrición, síntesis de vitamina D y melanina) e inmunológica participando en procesos inmunes, inflamatorios y de reparación.

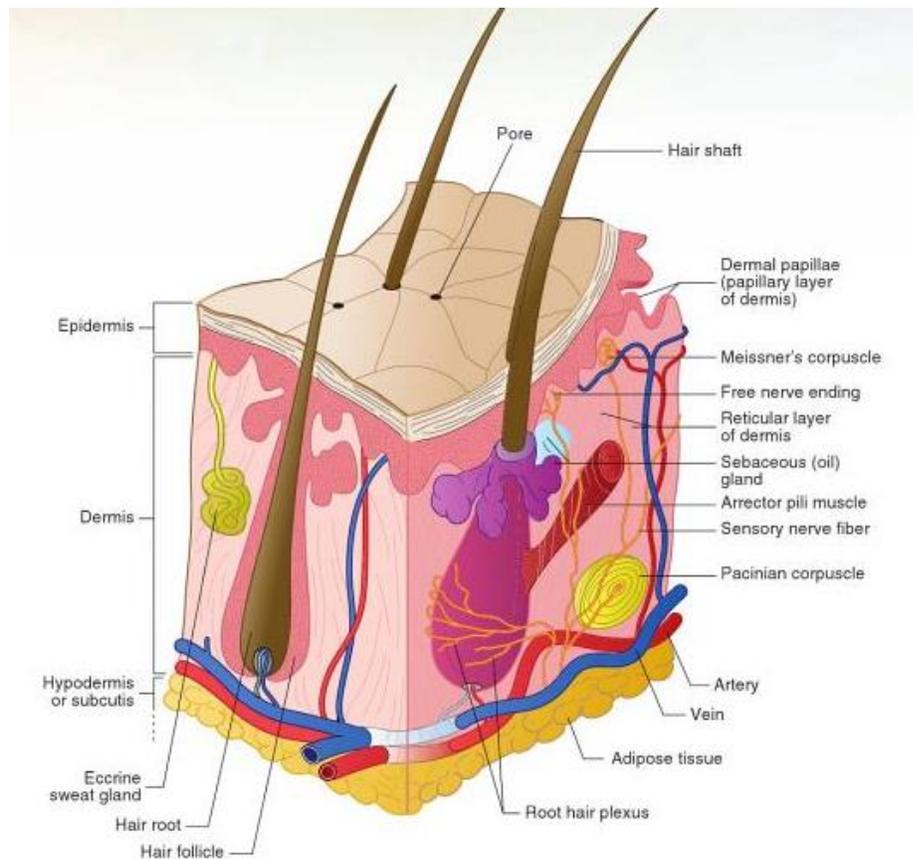


Figura 1. La estructura de la Piel. (Cochran, 2012)

La epidermis es un epitelio de revestimiento escamoso estratificado con queratina compuesto por varios estratos de células, siendo los queratocitos los más numerosos (alrededor de 85%), además de células de Langerhans (aproximadamente un 5-8%), melanocitos (cerca de 5%) y células de Merkel (alrededor de un 3-5%). No cuenta con irrigación sanguínea propia si no que se nutre a través de la dermis.

Está formada por 5 estratos de células, de la profundidad a la superficie de la epidermis se encuentra:

-Estrato basal o germinativo. Constituido por una única fila de células madre epiteliales sustentadas en la membrana basal, determinadas células conservan su capacidad mitótica y otras se diferencian y emigran hacia el estrato espinoso. En cada uno de los estratos superiores hay diferentes estados de diferenciación de estas células.

-Estrato espinoso. Está compuesto por varias capas de células de espesor con múltiples prolongaciones citoplasmáticas, conforme las células ascienden a capas más superficiales del estrato aumentan de tamaño y se van aplanando.

-Estrato granular. Consta de 2-3 capas de células aplanadas con un citoplasma con gránulos de queratohialina, sustancia precursora de la queratina, así como contenido lipídico que confiere la impermeabilidad propia de la epidermis que evita la pérdida de agua y la desecación del organismo.

-Estrato lúcido. Se encuentra únicamente en la epidermis de la piel gruesa y son capas de células planas carentes de núcleos y de la mayoría de los organelos. Es una zona de transición entre el estrato granular y el estrato corneo.

-Estrato córneo. Es el estrato más superficial y está compuesto por células anucleadas y filamentos de queratina que sufren descamación constante confiriendo una barrera de protección contra el medio ambiente. Puede tener de 2- 3 capas en la piel fina y hasta 50 capas en la piel gruesa.

Los queratocitos son células epiteliales que tienen funciones de soporte estructural, ya que sintetizan la queratina, así como, de inmunidad, ya que tienen la capacidad de procesar antígenos para elaborar citocinas (IL-1, IL-3, prostaglandinas, leucotrienos, interferón) y así modular la respuesta inmune.

Las células de Langerhans se encuentran en el estrato basal o sobre él, entre sus funciones están: presentar antígenos para que sean procesados por linfocitos T, inducción de linfocitos T citotóxicos, así como actividad fagocítica.

Los melanocitos son células dendríticas que se encargan de la producción de melanina, esta, absorbe los rayos ultravioleta y participa en la eliminación de los radicales libres. Los melanocitos también colaboran en la respuesta inflamatoria produciendo citocinas.

Por último, las células de Merkel son células intraepiteliales localizadas en el estrato basal o debajo de él, presentes en el epitelio del pelo y en la vaina externa de la raíz de los pelos táctiles, cumplen con funciones de mecanorrecepción, ya que están asociadas a terminaciones nerviosas sensoriales, también regulan la proliferación

de los queratocitos y en el control del ciclo del pelo; son más numerosas en el plano rostral del cerdo o en el plano nasal de los carnívoros ((Dyce, *et al.* 2012, Kahn, *et al.* 2007, Bacha W y Bacha L, 2012, Eurell y Frapier, 2006).

En el borde basal de la epidermis se encuentra la membrana basal o unión dermoepidérmica, que tienen funciones estabilizantes, de barrera y de filtración.

La dermis es el tejido conectivo subyacente de la epidermis y es el elemento estructural de la piel más abundante. Está integrada por fibras dérmicas de colágena (son las más abundantes), reticulares y de elastina, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios, sustancia fundamental y células. Varía en su grosor dependiendo del área corporal y entre especies.

Está constituida por dos estratos, la más superficial se denomina zona papilar y la más profundo zona reticular.

- Zona Papilar. Es un estrato delgado de tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo I y tipo III y algunas fibras elásticas. Contiene una red de capilares subepiteliales y fibras nerviosas.
- Zona Reticular. Formada por tejido conjuntivo denso con fibras elásticas más gruesas y en mayor cantidad.

Las células que se encuentran en la dermis de manera habitual son los fibroblastos, células dentríticas, mastocitos y algunos melanocitos. Los eosinófilos, neutrófilos, linfocitos e histiocitos se pueden observar en concentraciones bajas en la piel normal. Los fibroblastos se encuentran en toda la dermis y se encargan de producir las fibras de colágeno, reticulares y elásticas, así como los glucosaminoglicanos

que son los componentes de la matriz proteica extracelular o sustancia fundamental que cumple roles estabilizantes y homeostáticos. Los mastocitos se pueden encontrar en toda la dermis, pero más comúnmente asociados al plexo vascular o a los anexos de la epidermis, contienen abundantes gránulos de histamina y heparina siendo importantes mediadores en reacciones de hipersensibilidad inmediatas. Las células dentríticas son presentadoras de antígenos y se les encuentra en el espacio perivascular de los vasos superficiales dérmicos (Paterson, 2009, Cochran, 2012, Trigo, *et al.* 2011).

Los anexos epidérmicos son: pelo, folículo piloso, glándulas y faneras (uñas, pezuñas, plumas, escamas, cuernos).

El pelo es un atributo exclusivo de los mamíferos y son estructuras epiteliales flexibles queratinizadas que recubren la mayor parte de la superficie cutánea, en roedores, está ausente alrededor de la boca y nariz, en la superficie plantar de las patas, las orejas y la cola. Tiene funciones de protección, aislamiento, barrera física, repelente de agua y en algunos casos como camuflaje, el folículo piloso es el encargado de su producción y de su crecimiento que se da mediante un ciclo que se ve regulado por factores ambientales, hormonales, nutricionales, estado de salud y genéticos. Las fases de este ciclo son:

-Anagen: El folículo piloso se activa para producir el pelo y crece.

-Catagen: Durante esta fase el folículo piloso se retrae y el pelo deja de crecer.

-Telogen: Es la etapa de descanso, el pelo es retenido un tiempo por el folículo y después se cae.

Los pelos se dividen en tres principales tipos:

-Primarios o de protección. Tienen un diámetro mayor, presentan cutícula, corteza y médula.

-Secundarios o accesorios. Con un diámetro menor y carecen de médula.

-Táctiles o vibrisas. Son grandes y gruesos y actúan como receptores táctiles. Su localización varía según la especie. En la rata se ubican en el labio superior, el hocico, por debajo del parpado, detrás de las orejas y en la parte caudal de los miembros torácicos.

Todos los tipos de pelo crecen de los folículos pilosos posicionados oblicuamente en la piel en un ángulo de 30° a 60° en relación a la epidermis. El folículo piloso tiene tres segmentos: el infundíbulo, el istmo y el segmento inferior. Hay diferentes folículos pilosos:

- a) Primarios. Pueden extenderse hasta la hipodermis y están asociados a un músculo piloerector, una glándula sudorípara y una glándula sebácea y albergan pelos primarios.
- b) Secundarios. Están confinados a la dermis y pueden presentar una glándula sebácea asociada y albergan pelos secundarios.
- c) Simples. Contienen un solo pelo a través de la abertura folicular.
- d) Compuestos: Son grupos de varios folículos localizados en la dermis a nivel de las glándulas sebáceas que se unen y emergen hacia el orificio folicular externo.

- e) Sensitivos o táctiles. Son folículos simples muy grandes que están especializados para recoger sensaciones táctiles, presentan numerosos fascículos nerviosos que atraviesan la vaina externa y se ramifican en la vaina dérmica interna.

Las glándulas de la piel se clasifican de acuerdo a los productos que secretan: en sebáceas o sudoríparas.

-Glándulas sebáceas: son glándulas simples alveolares que se encuentran asociadas al folículo piloso, existen pocas regiones donde no lo están como el conducto auditivo externo, ano, prepucio y vulva, están envueltas por la membrana basal y por la dermis, y constan de acinos que drenan su secreción, el sebo, por un conducto revestido por epitelio escamoso estratificado de forma holocrina. El sebo tiene funciones de protección contra microorganismos, evitar excesiva pérdida de agua, comunicación y marcaje de territorio.

-Glándulas sudoríparas: pueden ser de 2 tipos merocrino y apocrino, las últimas son las más desarrolladas en los mamíferos.

Apocrinas. Su estructura varía considerablemente según la especie, se localizan en la mayor parte de la piel y no existen de manera constante en todos los mamíferos en determinada región corporal. La porción secretora está constituida por células epiteliales cuboidales y una capa de células mioepiteliales, mientras que la porción ductal carece de células mioepiteliales y se abre en el folículo piloso. Secretan sudor, que, en los animales domésticos, tiene funciones de comunicación entre individuos.

Merocrinas. Se encuentran en regiones especiales de la piel de algunas especies animales, están implicadas en el transporte de líquido y producen sudor acuoso.

Existen estructuras especiales de la piel como el oído interno, párpados, orificios nasales, escroto y sacos anales, así como glándulas especializadas, uñas, cuernos, pezuñas y almohadillas digitales. Estas pueden estar presentes o no, o variar entre los mamíferos domésticos (Eurell y Frappier, 2006, Paterson, 2006).

La hipodermis o tejido celular subcutáneo en general no se considera un componente de la piel, pero tiene una relación estrecha y continua con la dermis y sus anexos por lo que es parte del sistema tegumentario y se conforma principalmente por tejido adiposo y en menor cantidad tejido conectivo. La cantidad de tejido adiposo varía en las diferentes áreas del cuerpo y cumple con funciones de protección, aislamiento, reserva energética y metabolismo de esteroides.

La irrigación sanguínea de la piel está dada por las arterias cutáneas y mixtas, que forman tres plexos (superficial, medio y profundo) que irrigan todas las estructuras anexas de la dermis y a la epidermis que es avascular. Además, las anastomosis arteriovenosas permiten el paso de la sangre por los capilares y cumplen con la función de termorregulación. La piel es una superficie que contiene muchos receptores sensoriales que captan sensaciones de frío, calor, dolor, presión y prurito. Estas fibras nerviosas cutáneas están relacionadas con los cojinetes, glándulas sebáceas, folículos pilosos y músculos piloerectores y las señales captadas son enviadas al sistema nervioso central por medio de termorreceptores, mecanorreceptores y nociceptores que permiten al organismo responder a los

cambios que ocurren tanto en el medio externo como en el interno (Ackerman LJ. 2008, Miller, *et al.* 2013).

Debido a que la piel es el órgano más grande y se encuentra siempre en contacto con el exterior y los diversos factores ambientales, es susceptible de sufrir daño por agentes externos o patógenos (traumatismos, quemaduras, virus, bacterias, parásitos), así como; su condición es un reflejo del medio interno que puede sugerir si el paciente está cursando alguna enfermedad sistémica (enfermedades inmunomediadas, endocrinas, neoplásicas, alérgicas, etc...).

Como consecuencia al daño provocado, la piel actúa mediante la activación de mecanismos protectores que derivan en el desarrollo de una reacción inflamatoria. Esta reacción tiene como propósito destruir al agente causal y sus derivados, si no es posible la eliminación, buscan limitar sus acciones encapsulándolo y reparando o reemplazando el tejido dañado.

El tipo de células inflamatorias presentes y su localización nos ayudan a determinar el tiempo de la lesión y sugerir el patógeno involucrado. En procesos agudos encontramos abundantes leucocitos polimorfonucleares y algunos macrófagos, a diferencia de los crónicos, en los que predominan células mononucleares principalmente linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. Por otro lado, el tipo de infiltrado también depende del agente etiológico involucrado, los neutrófilos predominan en lesiones ocasionadas por bacterias, hongos o cuerpos extraños, en procesos inflamatorios virales predominan los linfocitos, aunque también puede haber células plasmáticas, los eosinófilos predominan en inflamaciones causadas por parásitos (Buen de Arguero, 2001, Castellanos, *et al.* 2005).

El proceso inflamatorio inicia ante la respuesta a una agresión de cualquier etiología y está constituida por eventos vasculares y celulares que intentan reparar y limitar una lesión producida. En primer lugar, ocurre la liberación de mediadores químicos preformados y de nueva formación que provocarán alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos para favorecer la llegada de moléculas y células al foco inflamatorio. Los eventos fundamentales del proceso inflamatorio incluyen vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, activación y adhesión celular y reparación del tejido que producen los signos cardinales de la inflamación: rubor, dolor, calor, tumor.

Los mediadores inflamatorios preformados de origen celular son:

→ Aminas vasoactivas: como la histamina y la serotonina. La histamina es la principal y se encuentra almacenada en las células cebadas, basófilos y plaquetas. Su liberación es resultado de una lesión, interacción de antígenos con anticuerpos IGE, productos liberados de leucocitos, células endoteliales y plaquetas, calor, frío, sustancia P o factores C3a ó C5a del complemento. Promueven vasodilatación e incremento de la permeabilidad microvascular, liberación de $\text{PGF2}\alpha$, quimiotaxis para eosinófilos y activación de linfocitos B y T. La serotonina se encuentra en las plaquetas y en el sistema nervioso provocando aumento de la permeabilidad, contracción del músculo liso y dolor debido a que estimula terminaciones nerviosas.

Entre los mediadores químicos de nueva formación tenemos:

⇒ Metabolitos del ácido araquidónico. Son compuestos sintetizados por fosfolípidos derivados de la membrana celular pertenecientes al grupo de los eicosanoides, se forman por la activación de la fosfolipasa A2 ante el daño provocado a las células y en respuesta a otros mediadores liberados por acción de dos sistemas enzimáticos; vía ciclooxigenasa o vía lipooxigenasa, dependiendo del tipo celular y la disponibilidad de la enzima.

- ◆ Prostaglandinas: Son transformadas por la vía ciclooxigenasa y se nombran con la serie 2: PGE₂, PGD₂, PGI₂ y PGF_{2α}. Producen vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, promueven la coagulación y provocan algesia.

- ◆ Leucotrienos: Formados bajo la acción de la lipooxigenasa, están contenidos en algunos tipos de leucocitos. Incrementan la permeabilidad vascular con una acción más poderosa que la de la histamina y son quimiotácticos. Son llamados de la serie 4 (LTB₄).

- ◆ Tromboxanos: transformado por la enzima ciclooxigenasa a TXA₂. Promueven la aglutinación de plaquetas y tienen acción vasoconstrictora para lograr una homeostasis vascular con el efecto de la PGI₂ que se produce en el endotelio.

⇒ Factor activador de plaquetas. Es un mediador que se encuentra dentro de las células endoteliales, plaquetas, basófilos, neutrófilos y mastocitos que durante el proceso inflamatorio se secreta en bajas concentraciones causando vasodilatación.

⇒Citosinas. Son proteínas producidas por diferentes tipos de células que tienen acción regulatoria de la respuesta inflamatoria. Entre las citosinas proinflamatorias destacan la IL-8, IL-1 e IL-6 que efectúan acciones de quimiotaxis y activación de otras células y el TNF que actúa sinérgicamente durante el proceso inflamatorio con la IL-8.

⇒Óxido nítrico. Originado a partir de la L-arginina, también posee acción vasodilatadora, relajante de musculo liso y reductora de la agregación plaquetaria. Se produce en macrófagos, células endoteliales y neuronas (Theoharides, *et al.* 2007, Trigo, *et al.* 2014, Kindt, *et al.* 2007).

Otras moléculas que intervienen en este proceso son los neuropéptidos, importantes en el inicio y la propagación de la reacción inflamatoria.

Entre los mediadores de origen plasmático se encuentran:

⇒Cininas. Son proteínas presentes en el plasma sanguíneo que una vez que se activan por el Factor de Hageman, provocan vasodilatación, aumento de la permeabilidad por vía de la histamina, contracción del músculo liso, activación del complemento y adherencia de leucocitos.

⇒Sistema de Complemento. Se trata de proteínas plasmáticas que interaccionan para colaborar en la inmunidad innata y adquirida, activándose unas a otras mediante tres vías y con funciones de quimiotaxis, vasodilatación y opsonización dentro del proceso inflamatorio.

⇒Coagulación. Aumenta la producción de los factores de coagulación para que la superficie endotelial sea protrombogénica.

A la par de la liberación de estos mediadores se da la fase celular donde ocurre la infiltración leucocitaria para continuar con la respuesta inflamatoria. En una etapa aguda, las células predominantes son los neutrófilos, en etapa crónica encontraremos monocitos que se diferenciarán en macrófagos y se dirigirán al sitio de inflamación (Brooks H. 2010, Medzhitov 2010, Barnes 2011).

Estas acciones se mantienen hasta lograr resolver la infección o completar el proceso de reparación y cicatrización para restablecer la homeostasis por lo que hay una disminución de los mediadores proinflamatorios y liberación de antagonistas endógenos.

Si no se logra eliminar el agente causante, la intensidad o la reincidencia de la agresión causando una inflamación prolongada de semanas o meses, la cronicidad provocará persistencia en la producción de los mediadores, presencia de distintas células inflamatorias y coexistirá con daño tisular e intentos del organismo de reparación. En caso de no controlarse la inflamación en lesiones graves, puede llegar a causar pérdida de la función del órgano(s) afectado(s), debido a que se pierde la capacidad de equilibrio entre la respuesta inflamatoria y la antiinflamatoria, amplificando la liberación no controlada de mediadores inflamatorios provocando daño endotelial, obstrucción de la microcirculación por fibrina, plaquetas y células polimorfonucleares, mala distribución del flujo sanguíneo, bajo aporte de oxígeno, pérdida del tono vascular y edema. (García de Lorenzo, *et al.* 2000, Medzhitov, 2010).

Existen diversas opciones terapéuticas para disminuir o mitigar los efectos del proceso inflamatorio en problemas dérmicos, dentro de la medicina veterinaria se

encuentran los antiinflamatorios esteroidales o corticosteroides, que son los más utilizados, y con menor frecuencia los no esteroidales (AINES) (Miller, *et al.* 2013).

Los corticosteroides son de los fármacos más ampliamente utilizados en medicina veterinaria por los diversos efectos que producen y resultan beneficiosos en numerosas patologías clínicas. Tienen actividad en diferentes procesos pero su uso se destaca por sus efectos antiinflamatorios y sobre el sistema inmunitario, los efectos biológicos que tienen dependerán del tipo y la dosis que se utilice. Su acción se ejerce en todos los órganos y sistemas por lo que presentan múltiples efectos secundarios, que pueden llegar a ser graves (como úlceras estomacales, diabetes, atrofia muscular e hiperadrenocorticismos), si se utilizan por tiempo prolongados y a dosis altas (Maddison, *et al.* 2004, Bonagura y Twetd, 2009).

Los corticosteroides son un tipo de hormonas denominadas esteroides que se producen de forma natural en las glándulas suprarrenales, su producción está regulada por otra hormona sintetizada en la hipófisis denominada hormona adrenocorticotropa o ACTH, la cual, a su vez, está regulada por otra hormona segregada en el hipotálamo, denominada hormona liberadora de corticotropina o CRH, dando lugar de esta forma al eje funcional conocido como eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales.

Los corticoides sintéticos se consiguen realizando modificaciones parciales en la estructura química de los corticoides naturales.

Tienen acción sobre las células mediante dos mecanismos de acción: genómicos y no genómicos.

El primero se lleva a cabo promoviendo la transcripción de determinados genes; a través de la unión a receptores de membrana permitiendo su ingreso a la célula y produciendo un cambio en el núcleo en donde interactúan con genes específicos para modular la transcripción de proteínas lo que provoca un incremento o disminución de estas.

El segundo es de efecto rápido e inicia en la membrana o en el citoplasma por la interacción de receptores que producen segundos mensajeros o cambios en el funcionamiento celular (Rhen y Cidlowsky, 2005, Serra, *et al.* 2012).

Entre sus efectos antiinflamatorios y sobre el sistema inmune se encuentran:

- ★ Impiden la síntesis de prostaglandina, leucotrienos y enzimas proinflamatorias debido a que inhiben a la fosfolipasa A2, con lo cual disminuye la liberación de ácido araquidónico bloqueando su producción por las vías ciclooxigenasa y lipooxigenasa.

- ★ Inhiben la producción y secreción de citosinas proinflamatorias como IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IFN y por interferencia directa en las cascadas y mecanismos genómicos.

- ★ Alteran la opsonización de antígenos, bloqueando la comunicación entre células e impidiendo la adhesión y migración de células a través del endotelio vascular.

- ★ Disminuyen la producción de inmunoglobulinas y alteran la circulación de complejos inmunes.

★ Alteran la expresión de proteínas de la superficie celular y de la presentación de antígenos por el monocito, así como supresión del crecimiento y la diferenciación de linfocitos T y B.

★ Impiden la acumulación de macrófagos y neutrófilos en focos inflamatorios (Serra, *et al.* 2012, Schoepe, *et al.* 2006, Sumano, *et al.* 2006).

Entre los efectos en otros órganos se encuentran:

☆ Aumento de la gluconeogénesis hepática por inhibición de la acción de la insulina.

☆ Estimula la lipólisis del tejido adiposo incrementando la concentración plasmática de colesterol.

☆ Inducen la destrucción de proteínas, dando lugar a disminución de la masa muscular.

☆ En la piel producen atrofia, debilitamiento y retraso en la cicatrización por disminución en la síntesis de colágeno.

☆ Incrementan la pérdida de calcio y de fósforo del hueso; reducen la absorción de calcio en el intestino y aumentan su eliminación renal lo que favorece a la presentación de osteoporosis.

☆ Sobre el hipotálamo-hipófisis-suprarrenales dependiendo de la dosis, duración del tratamiento y vía de administración, inhiben en mayor o menor cantidad la secreción de ACTH por la hipófisis, lo que puede ocasionar la atrofia de la corteza suprarrenal.

Debido a estos múltiples efectos son las únicas drogas activas en todas las etapas del proceso inflamatorio lo que las convierte en la opción más eficaz, sin embargo, estos mismos efectos hacen peligroso su uso por tiempos prolongados y en ciertos pacientes que se encuentran comprometidos por enfermedades.

Existe diferencias en el potencial de acción entre los distintos glucocorticoides sin embargo todos provocan el mismo efecto con distinta potencia, latencia y duración y son activos por cualquier vía de administración. Los más utilizados para afecciones dermatológicas vía sistémica incluyen la prednisona, prednisolona y dexametasona. Por otro lado también vía tópica se emplean la hidrocortisona y betametasona, estos últimos presentan menos efectos adversos sistémicos pero siguen teniendo limitaciones en su uso a largo plazo por provocar atrofia de la piel debido a los efectos antiproliferativos que tienen sobre los fibroblastos, disminuyen el tamaño de los queratocitos y provocan inhibición del colágeno y síntesis de mucopolisacaridos lo que conduce a la pérdida de soporte dérmico (Behrend y Kemppainen, 1997, Sumano, *et al.* 2006).

Otra de las opciones farmacológicas que pueden ser usadas para mitigar la inflamación son los AINES. Estos tienen acción analgésica y antipirética, todos ellos inhiben la acción de la enzima ciclooxigenasa, que es el paso previo de la vía de síntesis de prostanoïdes (PG2). En medicina veterinaria, son regularmente usados para tratar dolor postquirúrgico, para el tratamiento de problemas músculo-esqueléticos, así como para disminuir la hipertermia. Existen dos isoenzimas de las ciclooxigenasas: la ciclooxigenasa 1 (COX-1) y la ciclooxigenasa 2 (COX-2). Aunque ambas tienen similar afinidad por el ácido araquidónico y son homólogas

en 60%, tienen diferente afinidad por el sustrato y se encuentran en distintos lugares dentro de la célula. Por tanto, el sitio de unión, distribución, regulación y expresión son diferentes, así como su activación que se da por distintos estímulos. La COX 1 tiene funciones en la síntesis de prostanoïdes con actividad regulatoria de la protección gastrointestinal, la homeostasis vascular, función plaquetaria y hemodinámica renal y se expresa constitutivamente, es decir, que está presente casi en todos los tejidos a diferencia de la COX 2 que se manifiesta en algunas células bajo el efecto inductor de ciertos estímulos como los mediadores químicos de la inflamación y regulan la producción de prostanoïdes que participan en la inflamación y en otros procesos no inflamatorios (Lizárraga, *et al.* 2002, Loza E. 2011).

Las prostaglandinas son críticas para mantener la fisiología gastrointestinal normal así como para la mantención del flujo plasmático renal, tasa de filtración glomerular y el transporte tubular, razón por la cual los AINES pueden causar problemas gastrointestinales y nefrotoxicidad principalmente (Hardman, *et al.* 2003).

Algunos AINES como el ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, diclofenaco y naproxeno inhiben ambos tipos de enzimas, pero existen otros que tienen una inhibición selectiva por la COX 2 como meloxicam, carprofeno, firocoxib o cimicoxib, por lo tanto, estos proveen efectos benéficos antiinflamatorios y analgésicos sin la toxicidad asociada a los convencionales. En medicina veterinaria su uso se ve limitado ya que muchos de los AINES se consideran tóxicos en algunas especies animales de compañía, aunque los de inhibición selectiva han resultado útiles y con menor presentación de toxicidad, sin embargo, se deben utilizar con precaución y

previa evaluación del paciente para considerar los riesgos y beneficios debido a que no se deben de administrar simultáneamente con glucocorticoides, ni con moléculas que muestren acción con el flujo renal o cualquier otra sustancia activa que presente alto grado de unión a proteínas ya que se pueden presentar los efectos tóxicos (Maddison, *et al.* 2004).

Actualmente existen otras herramientas terapéuticas llamadas nutraceuticos, y se refieren a sustancias que se hallan como componentes naturales de los alimentos o pueden adicionarse a ellos y se encuentran de forma biológicamente activa que administrados en dosis superior a la existente en esos alimentos proveen un efecto favorable sobre la salud. Se presentan en una matriz no alimenticia y se diferencian de los medicamentos en que tienen un origen biológico natural (Pérez, 2006). Uno de los más utilizados e investigados últimamente por sus efectos benéficos en múltiples enfermedades de origen inflamatorio y de otra índole son los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (Gogus y Smith, 2010).

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son ácidos grasos de cadena larga que tienen dos o más dobles enlaces y no pueden ser sintetizados por el organismo, por lo que son denominados esenciales y se tienen que proveer en la dieta. Constituyen una parte importante de las membranas celulares e influyen en su fluidez y el comportamiento de sus receptores. Los AGPI se clasifican en omega 3 (n-3) y omega 6 (n-6) basados en la localización del primer enlace respecto al carbono del grupo metilo. El ácido linoleico (LA) es el precursor de los AGPI de la serie n-6 y sus principales derivados son el ácido α -linoleico (GNLA) y el ácido araquidónico (AA). Por otro lado, el ácido α -linolénico (ALA) es el precursor de los AGPI de la

serie n-3 y entre sus derivados más importantes se encuentran el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (Schmitz y Ecker, 2008).

Los AGPI tienen funciones regulatorias en la respuesta inflamatoria mediante la producción de los mediadores inflamatorios denominados eicosanoides. El ácido graso predominante que se incorpora a los fosfolípidos de las membranas celulares es el AA, por ello es el precursor más importante de los eicosanoides, esto se debe principalmente a la relación de n-6:n-3 que es proporcionada en la dieta (Mesa, *et al.* 2006).

Los AGPI n-3 y n-6 se encuentran almacenados de forma esterificada en los fosfolípidos de las membranas celulares o en los cuerpos lipídicos unidos a moléculas de glicerol en el núcleo y a los fosfolípidos polares de la superficie citosólica en donde pueden ser movilizados y re-hidrolizados por la fosfolipasa A₂. Debido a que los mamíferos no pueden sintetizar LA y ALA requieren de ser metabolizados para convertirse en compuestos más fisiológicamente activos por medio de reacciones de desaturación y elongación para convertirse en AA y EPA respectivamente para ser metabolizados una vez más vía ciclooxigenasa (COX) o lipooxigenasa(LOX) a eicosanoides (Schmitz y Ecker, 2008, Wall, *et al.* 2010).

Los mediadores derivados de estos eicosanoides presentan efectos opuestos. Estos productos modulan la intensidad y duración de las respuestas durante el proceso inflamatorio, dependiendo de la naturaleza del estímulo, las células presentes, las concentraciones generadas y la sensibilidad del tejido blanco.

Los eicosanoides derivados a partir de AA tienen efectos proinflamatorios y por metabolismo vía COX tenemos las prostaglandinas de la serie 2 (PGD₂, PGE₂,

PGF₂ y PGI₂) que producen incremento en la permeabilidad vascular, vasodilatación, dolor e incrementan la producción de IL-6, entre otros. Los tromboxanos de la serie 2 (TXA₂ y TXB₂) que provocan aumento de la permeabilidad, edema y agregación plaquetaria. Por la vía LOX se metabolizan leucotrienos de la serie 4 (LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, y LTE₄) que también incrementan la permeabilidad vascular, aumentan el flujo sanguíneo, son poderosos agentes quimiotácticos para leucocitos, inducen la liberación de enzimas lisosomales así como de especies reactivas de oxígeno e incrementan la producción de TNF, IL-1 e IL-6.

EPA y DHA de igual manera actúan como sustrato vía COX y LOX para dar lugar a una diferente familia de eicosanoides como prostaglandinas y tromboxanos de la serie 3 (PGD₃, PGE₃, PGF₃ y PGI₃, TXA₃, TXB₃), leucotrienos de la serie 5 (LTA₅, LTB₅, LTC₅, LTD₅, y LTE₅) y resolvinas (RVE1 y RVD). Todas estas moléculas poseen una acción menos inflamatoria, por ejemplo, las PGD₃ tienen menor potencia inductora para la producción de IL-6 por macrófagos, los LTB₅ tienen entre 10-100 veces menos potencial quimiotáctico, los tromboxanos de la serie 3 disminuyen la acción plaquetaria y son antitrombóticos. Por otro lado, las resolvinas reducen la inflamación suprimiendo la activación de receptores nucleares como NFB (Factor nuclear kappa B), disminuyendo la expresión de moléculas de adhesión y por tanto bloqueando la síntesis de quimiocinas y citosinas como IL-1, IL-8 y TNF- α .

El papel de AGPI n-6 y n-3 en la regulación y respuesta del proceso inflamatorio sugiere que el balance de estos es importante para determinar el desarrollo y la severidad de la inflamación en ciertas enfermedades.

La conversión de AA tanto como de ALA es compartida por las mismas series de enzimas por lo que existe una competencia entre ellos para ser metabolizadas, lo que tendrá como resultado que el exceso de cualquiera de los AGPI ocasione la disminución para la conversión del otro y por tanto la acción de los eicosanoides dentro del proceso inflamatorio (Schmitz y Ecker, 2008, Manzur, *et al.* 2006, Calder, 2006, Gogus y Smith, 2010).

Es por esto que los AGPI n-3 actúan de manera directa (por conversión del AA como sustrato e inhibiendo su metabolismo para la producción de eicosanoides) y de manera indirecta (alterando la expresión de genes con potencial inflamatorio a través de efectos sobre la activación de factores de transcripción) en la disminución del proceso inflamatorio y por tanto se consideran nutraceúticos con potencial antiinflamatorio (Calder, 2006).

Los AGPI de la serie n-3 se encuentran en alta proporción en aceites de pescado de agua fría y en menor cantidad en algunas fuentes vegetales como semillas de linaza, colza, canola o chía entre otros; hallándose predominantemente EPA. Por otro lado, las fuentes principales de LA son aceites de cereales, maíz, girasol o grasa de origen animal (Manzur, *et al.* 2006).

Justificación

Basándonos en lo ya descrito, se justifica la búsqueda y evaluación de productos que ayuden a disminuir la inflamación cutánea independientemente de la causa, para lo cual se propone la suplementación con ácidos grasos omega 3 a partir de aceite de orbital de atún en ratas Wistar a las que se les inducirá un proceso inflamatorio cutáneo mediante la administración tópica de oleorresina de *Capsicum* (capsaicina). Debido a que los problemas dermatológicos son comunes en los animales se busca tener una alternativa eficaz para minimizar los efectos inflamatorios sin el uso de los fármacos anteriormente mencionados utilizados con la misma finalidad. Algunos de los problemas dermatológicos que se presentan con mayor incidencia suelen tener un curso crónico o complicarse con procesos bacterianos o fúngicos lo que requiere de la administración continua de medicamentos antiinflamatorios; sin embargo, estos tienen importantes efectos secundarios a largo plazo limitando su uso en pacientes geriatras o que cursan con enfermedades concomitantes.

El propósito de este estudio fue obtener resultados concretos mediante las mediciones del grosor de la piel para demostrar que este nutriente puede ser utilizado como herramienta terapéutica en dermatosis inflamatorias con un mínimo de efectos adversos en su administración como los medicamentos ya mencionados utilizados con el mismo propósito.

Objetivos

1. Evaluar la efectividad de los ácidos grasos omega 3 como antiinflamatorios dérmicos con 12 días de tratamiento.
2. Valorar el grado de inflamación de la piel de todos los individuos mediante la medición del grosor de la piel.
3. Comparar la acción antiinflamatoria en piel de los ácidos grasos omega 3 contra la de un corticosteroide.
4. Comparar el efecto antiinflamatorio de los AGPI n-3 a dosis diferentes.

Hipótesis

Los animales tratados con omega 3 vía oral durante 12 días tendrán una recuperación satisfactoria a la inflamación inducida mediante la oleorresina de *Capsicum*, al igual que los tratados con un medicamento antiinflamatorio esterooidal y se observará la diferencia de ambos en comparación con animales a los que les administrará un placebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Unidad de Constatación de Productos Químico-Biológicos y Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo las condiciones específicas de las ratas Wistar.

Se trabajó con 36 ratas Wistar (*R. Norvegicus*) holoxénicos o convencionales de estado fisiológico similar en un rango de edad de 24 semanas +/- 3 días y un rango de peso de 0.280 a 0.350 kg obtenidas en este mismo lugar, 32 hembras y 4 machos que se distribuyeron equitativamente en cada grupo. La duración del experimento fue de 16 días.

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos de nueve unidades experimentales por tratamiento. Se alojaron en jaulas de polipropileno con rejas de acero inoxidable con una dimensión de 48 x 37,5 x 21.1 cm y un área de piso de 1500 cm² en grupos de cinco y cuatro individuos con material de cama de viruta granulada y bebederos de 500 ml para cada jaula (NOM-062-ZOO-1999).

Se asignó un sistema de marcaje para tener identificado a cada individuo durante todo el experimento. Se alimentaron con dieta a base de pellets para roedores de laboratorio marca Labdiet®, proporcionándose *ad libitum* al igual que el agua (Hubrecht y Kirkwood, 2010, Suckow *et al.* 2006).

Para lograr la inflamación de la piel se utilizó oleorresina de *Capsicum* (capsaicina). Se eligió esta oleorresina, debido que a pesar de ser un agente irritante se ha comprobado en diversos estudios y ensayos clínicos que tiene acción analgésica e incluso se utiliza en medicina humana para tratar enfermedades que causan dolor neuropático, osteoartritis, síndrome post mastectomía y algunas aplicaciones más. El mecanismo de acción de la capsaicina se debe a que interacciona con el receptor vaniloide VR1 presente en las fibras sensoriales del tipo C. La activación de este receptor excita las neuronas de tipo C e inhibe la biosíntesis y el transporte axonal de la sustancia P que es un mediador de los impulsos nociceptivos que incrementan la transmisión de los estímulos dolorosos desde la periferia hasta el SNC. La capsaicina tópica produce desensibilización reversible de las terminaciones sensitivas de las fibras C aferentes. Debido a esta acción es que tiene efecto analgésico y que la sensación de quemazón secundaria a su uso es momentánea y disminuye con la aplicación repetida de ésta (Reyes *et al.* 2011, Vidal *et al.* 2004).

La oleorresina de *Capsicum* se elaboró en las instalaciones del Laboratorio de Investigación del departamento de Fisiología y Farmacología de la FMVZ utilizando el método de extracción hidroalcohólica con etanol y evaporación al rotovapor como se describe a continuación:

1. Se obtuvo chile habanero en un mercado local de la Ciudad de México, seleccionado bajo criterios de maduración y color del fruto en función de la cantidad de capsinoides que contienen (Restrepo M, *et al.* 2007).
2. Se les retiró el pedúnculo y se pesaron, obteniendo dos kg.

3. Se licuaron con 2 litros de alcohol etílico del 68.5 al 71.5% (Figura 2).



Figura 2. A) Selección del chile habanero. B) Pesaje del chile habanero. C) Licuado del chile habanero con alcohol etílico para la elaboración de la oleorresina de *Capsicum*.

4. Se colocó la mezcla en un matraz y se mantuvo en un agitador de placa durante 6 horas y se dejó reposar 12 horas (Figura 3).



Figura 3. Mezcla a partir de chile habanero y alcohol etílico en agitador de placa

5. La mezcla chile-etanol se filtró primero con dos tamizadores de pruebas físicas de 500 y 1410 de abertura en micrómetros (0.055 y 0.0197 pulgadas respectivamente). La mezcla obtenida se colocó en tubos de ensaye para meter a una centrifuga (a 5000 rpm) durante 5 minutos y por último se pasó por papel filtro obteniendo el extracto del chile con etanol (Figura 4).

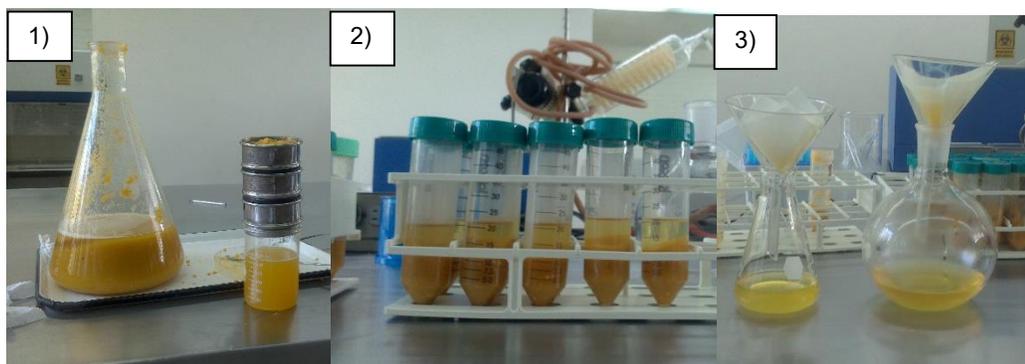


Figura 4. Procedimiento de filtración para la obtención de la oleorresina de *Capsicum*.

6. Este filtrado se colocó en un rotovapor para la evaporación del etanol obteniendo la oleorresina de *Capsicum* (Figura 5).



Figura 5. Evaporación del etanol de la mezcla en rotovapor.

Una vez obtenida la oleorresina se preparó una solución de esta con alcohol etílico a una concentración de 2%, que fue con la que se trabajó a lo largo del experimento.

Para el manejo de los individuos durante el experimento se tuvo que utilizar un método de sujeción diferente a los sugeridos por la literatura debido al área en la que se trabajó y a que no se utilizaron cepos. Tomamos a la rata con ambas manos; con los dedos índice y pulgar de la mano derecha se sujetó la zona sub-axilar de la rata de forma que la palma de la mano cubría la cabeza sin permitir que esta la volteara y con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda se tomó la zona inguinal estirando sus extremidades y recargando ligeramente al animal sobre la mesa.

Se rasuró el dorso de las ratas desde la región escapular a la lumbar con una maquina con navaja del #40, posteriormente se volvió a rasurar la misma área con un rastrillo común. Ambos procedimientos se realizaron con extremo cuidado con la finalidad de no lesionar la piel. Sobre el dorso, debajo de la zona escapular del animal, se definió una zona de 1 cm de ancho por 1.5 cm de largo, se marcó con un plumón quirúrgico con el propósito de fijar el área que se midió con el vernier para obtener el grosor de la piel. Se determinó realizarlo en esta área debido a que presenta un menor contenido de grasa que la piel abdominal (O'malley 2005) los animales no alcanzan a tocarse ni a lamerse en esta zona, lo que asegura la completa absorción de la oleorresina y evitó que se lesionaran debido a la purgencia de la oleorresina (Figura 6).

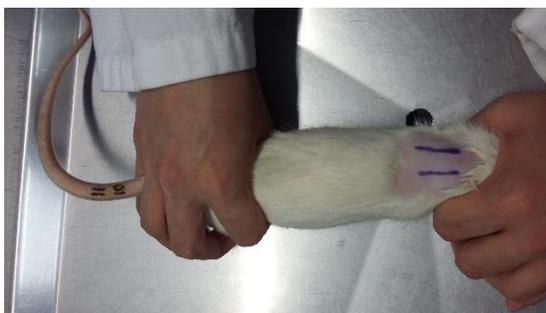


Figura 6. Sujeción de los individuos para definir la zona de medición de la piel y aplicación de la oleorresina de *Capsicum*.

Se tomaron las mediciones iniciales de la piel intacta de todos los individuos con un vernier colocándolo sobre el área que se delimito con el plumón quirúrgico (Newton *et al.* 1984) y de esta misma manera se obtuvieron las medidas todos los días hasta

el final del experimento antes de la aplicación de la oleorresina de *Capsicum* (Cuadro 1).

Este procedimiento se realizó todos los días por la misma persona para reducir el error del manejo y percepción de los datos arrojados por el vernier (Figura 7)

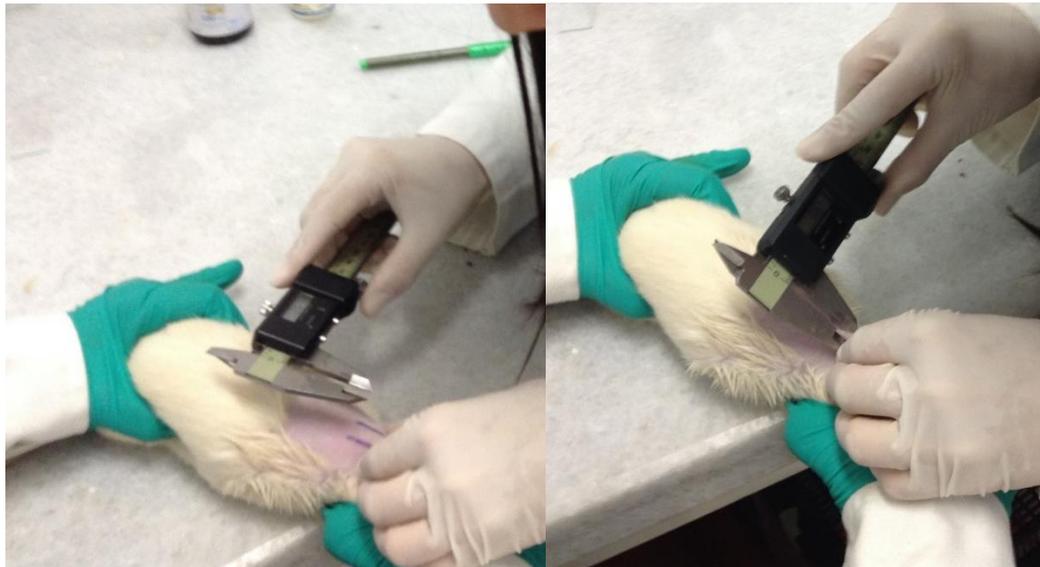


Figura 7. Medición de la piel de los individuos con el vernier

Se administró de forma cutánea en la parte craneal de la superficie marcada mediante una jeringa de insulina un volumen de 0.1 ml de la oleorresina de *Capsicum*. Para asegurar la absorción de toda la sustancia, se utilizó una técnica similar a la de un frotis sanguíneo; un portaobjetos esmerilado de 1 cm de ancho, se puso en contacto con la gota, que, por capilaridad, se extendió y se deslizó varias veces (Figura 8).

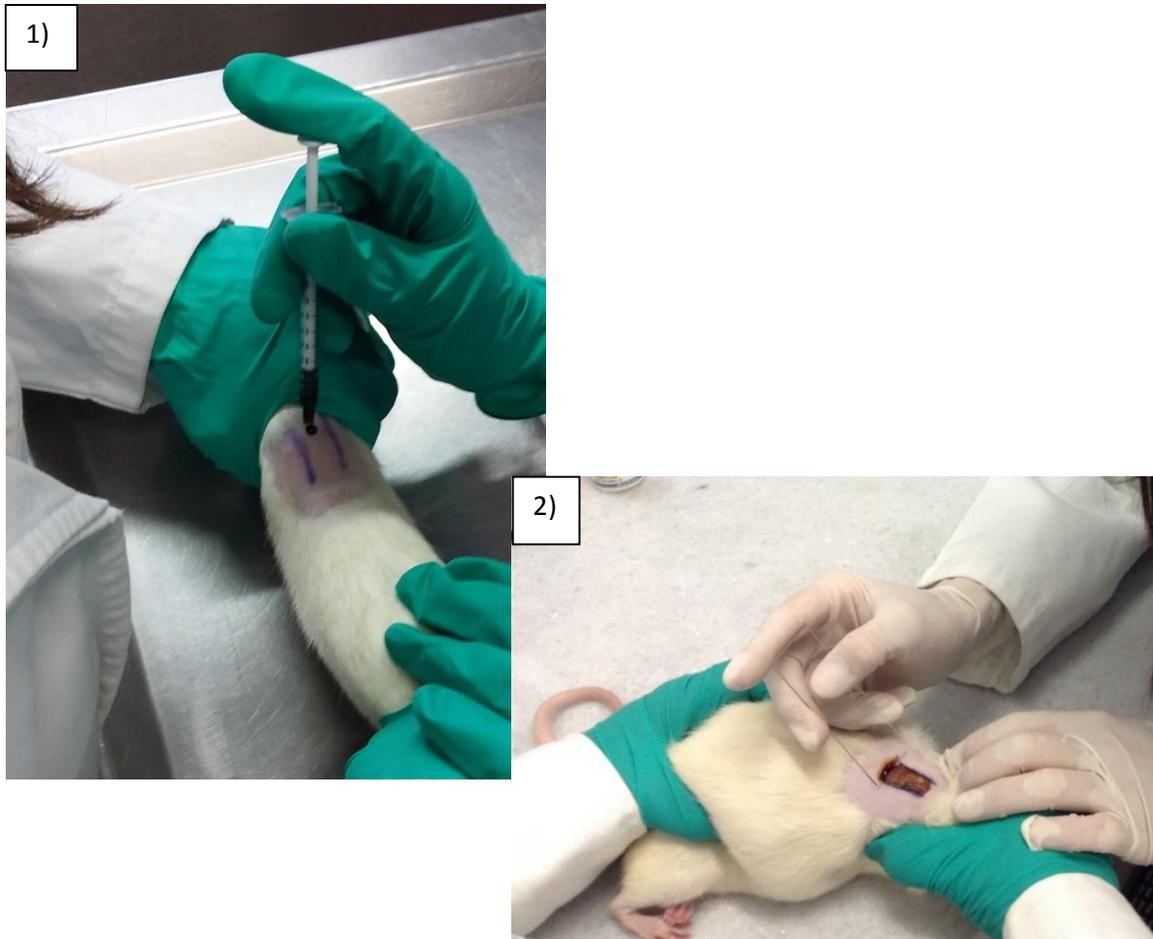


Figura 8. Aplicación de la oleorresina de *Capsicum* en la piel de los individuos.

Este procedimiento se repitió cada 24 horas durante 15 días. Los primeros tres días se midió el grosor de la piel y se aplicó la oleorresina de *Capsicum*, a partir del cuarto día además se le administró a cada grupo una vez al día vía oral un tratamiento diferente, mediante una jeringa de insulina con el teflón de un catéter intravenoso del #20 (en lugar de una sonda esofágica (Suckow *et al.* 2006)) el cual se describe a continuación:

Grupo 1 (Individuos O-1 a O-9)

Solución de aceite puro de orbital de atún Omegamex® con una proporción de 40% de omega 3 (30% de DHA, 7% de EPA y 3% de otros omega 3) en 100 g a una dosis de 100 mg/kg (Raederstorff y Moser 1992, Sarsilmaz, *et al.* 2003) durante 12 días.

Grupo 2 (Individuos OI-1 al OI-9)

Solución de aceite puro de orbital de atún Omegamex® con una proporción de 40% de omega 3 (30% de DHA, 7% de EPA y 3% de otros omega 3) en 100 g a una dosis de 200 mg/kg (Raederstorff y Moser 1992, Sarsilmaz, *et al.* 2003) durante 12 días.

Grupo 3 (Individuos P-1 a P-9)

Solución de fosfato sódico de prednisolona Fisopred® con una concentración de 1mg/ml a dosis de 1.5 mg/kg (Carpenter 2013, Quesenberry y Carpenter 2012, Plumb, 2010) durante 12 días.

Grupo 4 (Individuos C-1 a C-9)

Es el grupo control, se administró un placebo, que en este caso fue agua potable de garrafón, 0.4 ml a todos los individuos durante 12 días.

El método de sujeción para la administración de los fármacos fue tomando a la rata con la mano alrededor del tórax y usando el dedo índice y pulgar para controlar la mandíbula, pasando el teflón del catéter en el espacio entre los

dientes incisivos y premolares sobre la lengua hacia el esófago (Figura 9) (Suckow *et al.* 2006)



Figura 9. Administración oral de los medicamentos

En algunas ratas fue necesario volver a rasurar la piel en varias ocasiones a lo largo del experimento para garantizar la absorción de la oleorresina de *Capsicum*.

Al final del experimento los animales fueron sacrificados conforme a la NOM-062-ZOO-1999 por el método de dióxido de carbono. Se seleccionaron cuatro individuos al azar para realizar estudios histopatológicos del perímetro de la piel en donde se estuvo aplicando la oleorresina, con el objeto de tener una muestra demostrativa de las lesiones de la piel de un individuo de cada grupo.

Los datos fueron examinados en base a un modelo estadístico de un factor con cuatro niveles, con mediciones en el tiempo y bajo el análisis MANOVA utilizando el programa JMPG.

Cuadro1. Mediciones de la piel (mm) de los individuos al inicio del experimento.

IDENTIFICACIÓN	TRATAMIENTO	INDIVIDUO	MED. INICIAL
O-1	1	1	0.94
O-2	1	2	0.94
O-3	1	3	1.04
O-4	1	4	1.16
O-5	1	5	0.97
O-6	1	6	1.04
O-7	1	7	1.02
O-8 ♂	1	8	0.9
O-9	1	9	1.02
OI-1	2	1	1.04
OI-2	2	2	0.92
OI-3	2	3	1.08
OI-4	2	4	0.95
OI-5	2	5	0.94
OI-6	2	6	0.96
OI-7	2	7	0.88
OI-8	2	8	0.97
OI-9 ♂	2	9	0.8
P-1	3	1	0.95
P-2	3	2	1.08
P-3	3	3	0.9
P-4	3	4	1.21
P-5	3	5	0.89
P-6	3	6	1.04
P-7	3	7	1.01
P-8 ♂	3	8	0.9
P-9	3	9	0.98
C-1	4	1	1.02
C-2	4	2	1.04
C-3	4	3	1.02
C-4	4	4	1.13
C-5	4	5	1
C-6	4	6	0.9
C-7	4	7	0.98
C-8 ♂	4	8	0.88
C-9	4	9	0.92

RESULTADOS

En la Figura 10 y el cuadro 3 se muestran las medias contra tiempo y tratamiento. Se determinó que existió diferencia significativa ($p < 0.05$) en la interacción tiempo-tratamiento entre todos los tratamientos. Se puede observar que la inflamación en los grupos 1, 2 y 3 fue disminuyendo a través del tiempo, mientras que en el grupo 4 (control) se mantuvo. El grupo 3 (prednisona) presentó la mayor reducción de la inflamación, mientras que el grupo 4 fue el que permaneció con los niveles más elevados, ambos a través del tiempo. No existió diferencia estadística entre los dos grupos tratados con omega 3. A pesar de que el estímulo inductor del daño no se retiró hasta el final del experimento, en los 3 tratamientos observamos la disminución de la inflamación a diferencia del grupo control. En ninguno de los grupos se logró volver a los parámetros iniciales de la medición de la piel.

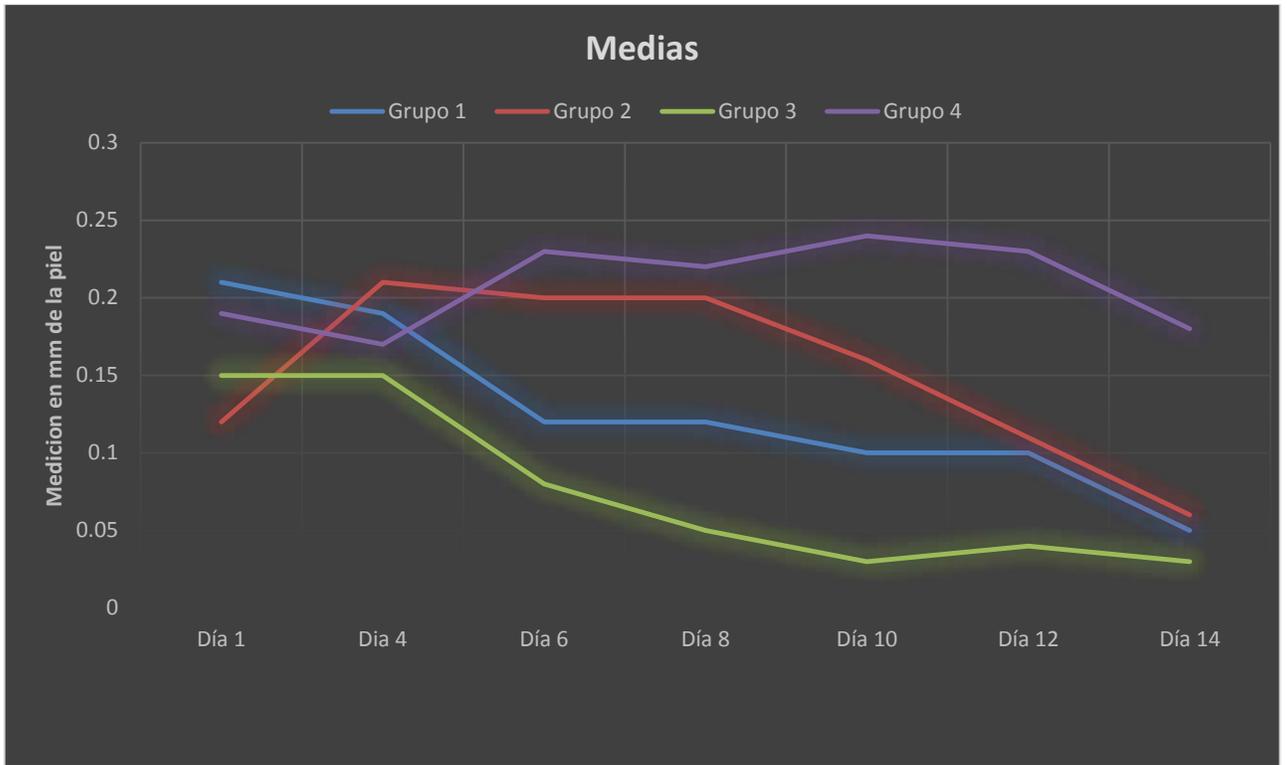


Figura 10. Grafica del comportamiento del promedio de los grupos en mm de las mediciones de piel a través del tiempo.

Cuadro 2. Medias de las mediciones de la piel en mm de los individuos de cada grupo por intervalos de días.

TRATAMIENTO	DÍA 1	DÍA 4*	DÍA 6	DÍA 8	DÍA 10	DÍA 12	DÍA 14
1	0.21	0.19	0.12	0.12	0.10	0.10	0.05
2	0.12	0.21	0.20	0.20	0.16	0.11	0.06
3	0.15	0.15	0.08	0.05	0.03	0.04	0.03
4	0.19	0.17	0.23	0.22	0.24	0.23	0.18
*24 horas después de comenzar los tratamientos							

Los resultados de los estudios histopatológicos fueron los siguientes:

-Rata Grupo control

Diagnóstico: Hiperqueratosis paraqueratósica leve difusa con costras serocelulares multifocales y pústulas intraepidérmicas, multifocales discretas.

Acantosis irregular moderada difusa.

Espongiosis multifocal leve.

Dermatitis linfoplasmocítica e histiocítica moderada multifocal. (Figuras 11 y 12).

-Rata n-3 dosis baja

Diagnóstico: Hiperqueratosis ortoqueratósica leve difusa. Dermatitis linfoplasmocítica leve multifocal (Figura 13).

-Rata n-3 dosis alta

Diagnóstico: Piel sin alteraciones histológicas (Figura 14).

-Rata Prednisolona

Diagnóstico: Piel sin alteraciones histológicas (Figura 15).

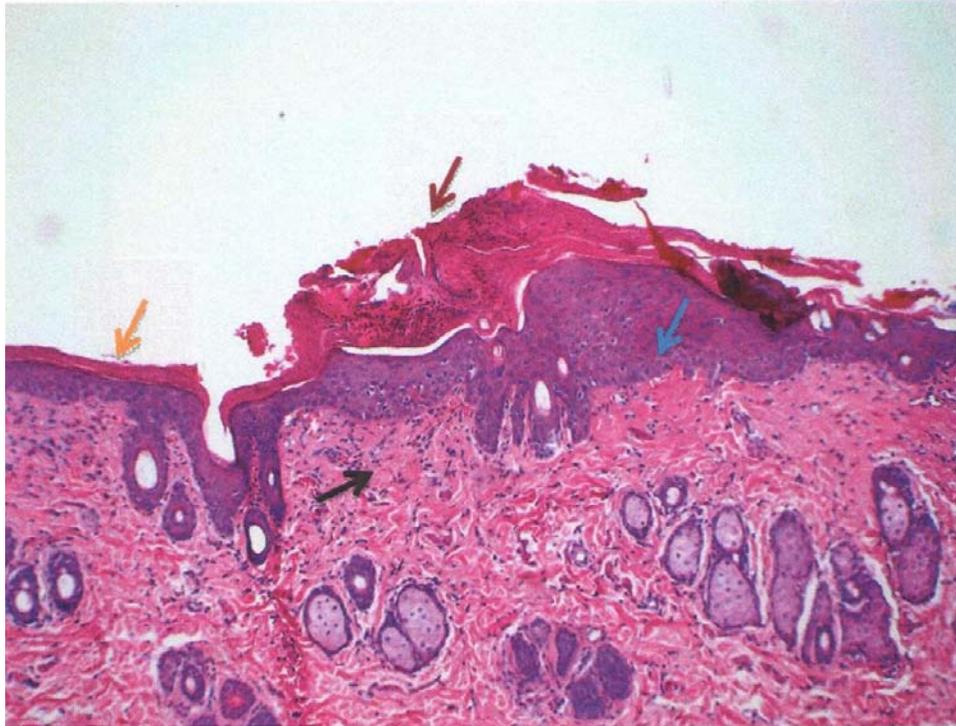


Figura 11. Fotomicrograffas de piel de un individuo del grupo control en aumento 10X teñida con Hematoxilina-Eosina. Se aprecia marcada hiperqueratosis paraqueratósica (flecha amarilla) y presencia de costra sero-celular (flecha marrón) moderado engrosamiento de la epidermis -acantosis- (flecha azul) y moderado infiltrado inflamatorio en unión dermo-epidérmica y hacia dermis superficial (flecha negra).

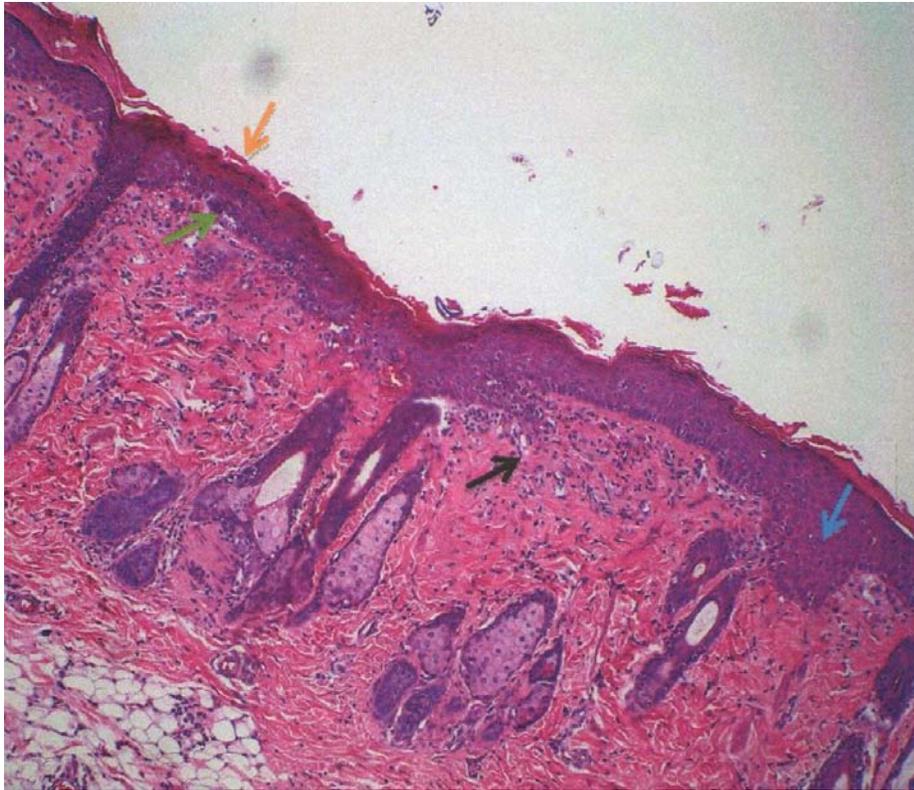


Figura 12. Fotomicrografía de piel de un individuo del grupo control en aumento 10X teñida con Hematoxilina-Eosina. Se aprecia moderada hiperqueratosis paraqueratósica (flecha amarilla), moderado engrosamiento de la epidermis con presencia de clavav intradérmicas –acantosis- (flecha azul), se aprecia disociación de las células de la capa basal –espongiosis- (flecha verde) y moderado infiltrado inflamatorio linfo-plasmocítico en unión dermo-epidérmica y hacia dermis superficial (flecha negra).

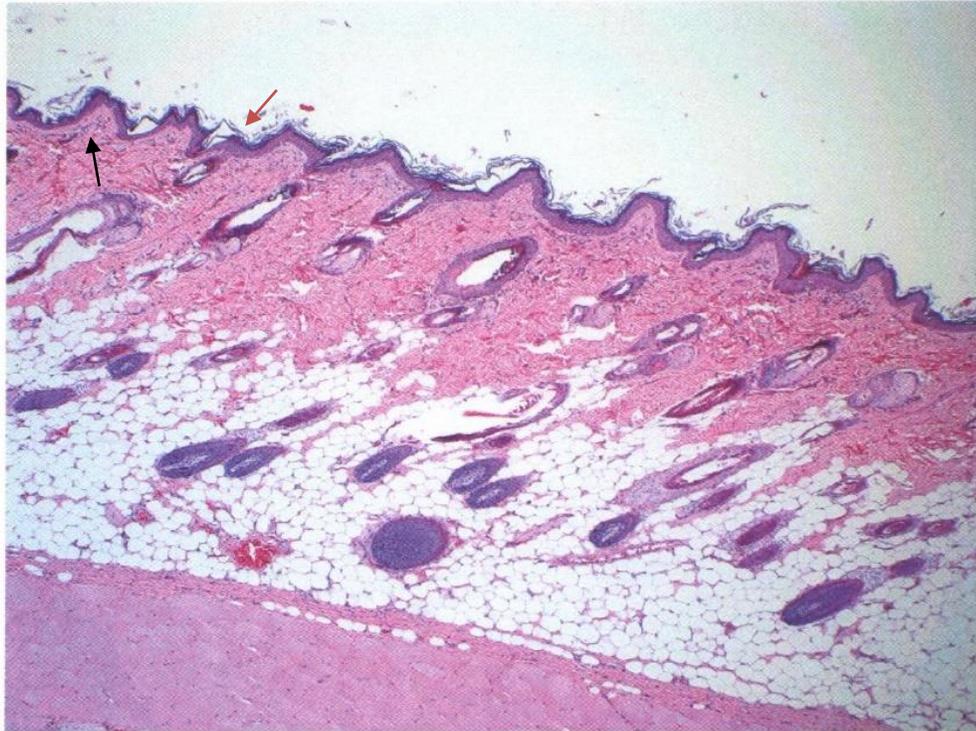


Figura 13. Fotomicrografía de piel de un individuo del grupo Omega a dosis baja en aumento 10X teñida con Hematoxilina-Eosina. Se aprecia moderada hiperqueratosis ortoqueratósica (flecha marrón) y ligero infiltrado inflamatorio en dermis superficial (flecha negra).

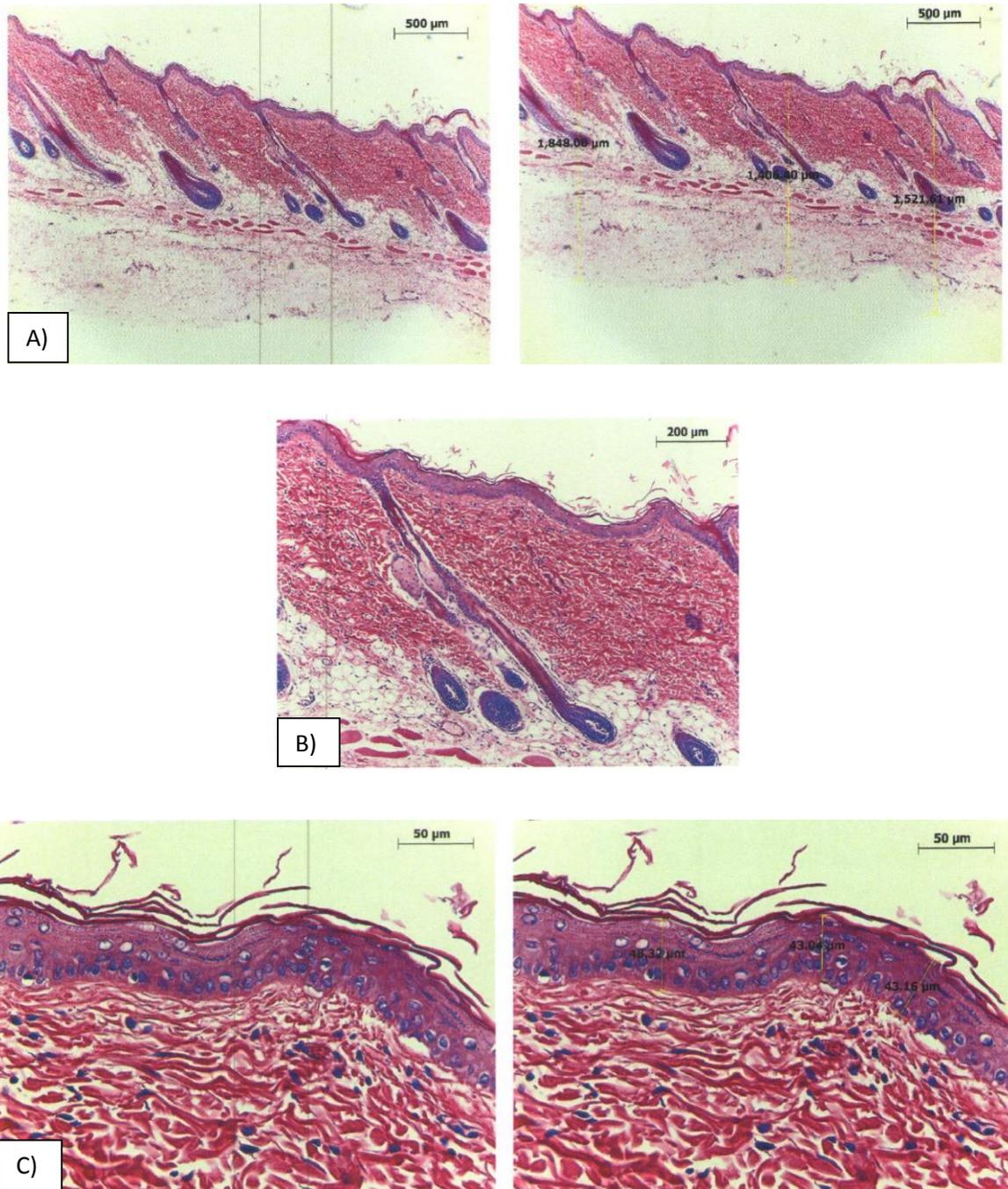


Figura 14. Fotomicrografías de piel de un individuo del grupo Omega 3 a dosis alta en aumento 4X (A), 10X (B) y 40X (C), teñida con Hematoxilina-Eosina. Piel sin cambios histológicos.

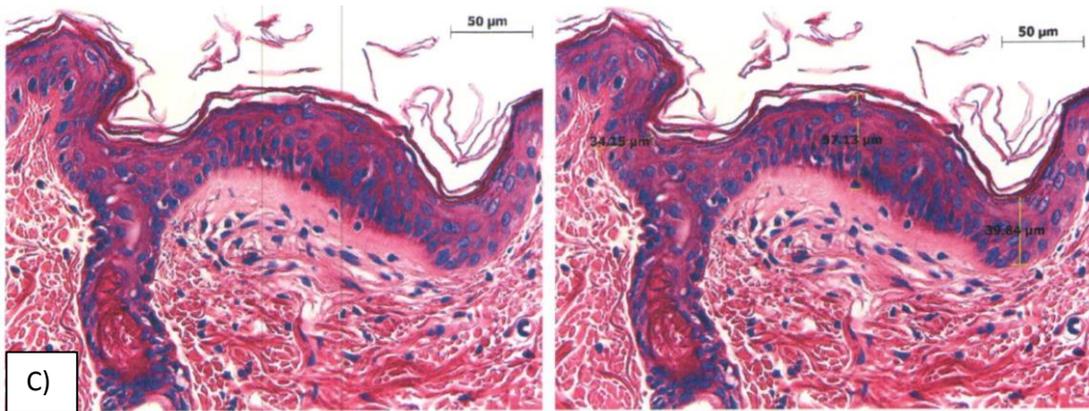
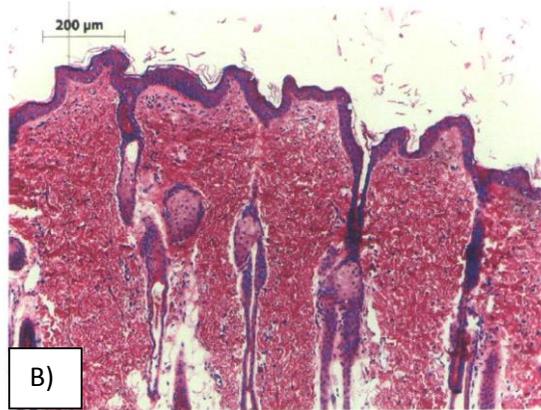
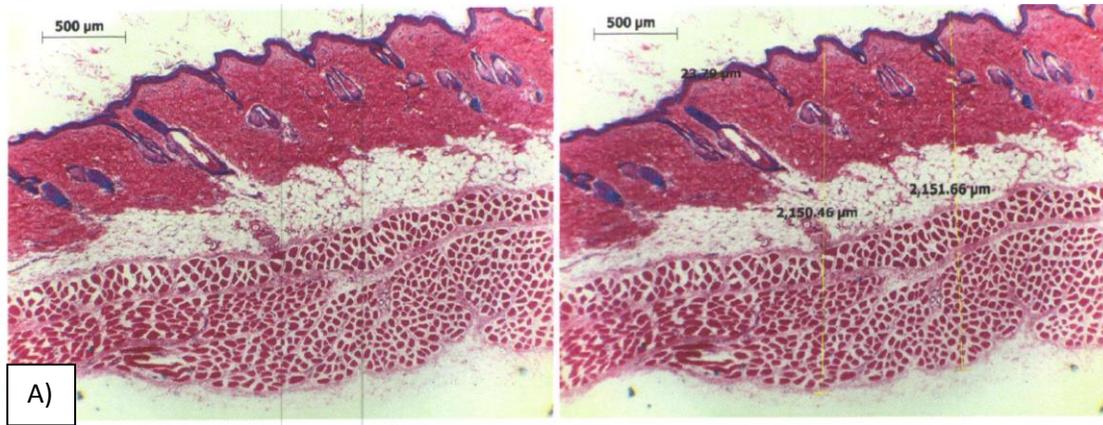


Figura 15. Fotomicrografías de piel de un individuo del grupo Prednisolona en aumento 4X (A), 10X (B) y 40X (C) teñida con Hematoxilina-Eosina. Piel sin cambios histológicos.

DISCUSIÓN

Como se observó en los resultados, el grupo que mostró menor grado de inflamación al término del experimento fue el tratado con prednisolona, esto se debe a los dos mecanismos de acción que presentan los corticosteroides tanto de acción rápida como de acción lenta, que logran controlar el proceso inflamatorio casi de manera total gracias a la inhibición o transcripción de determinados genes que impiden la acción de mediadores proinflamatorios y estimulan la acción de los antiinflamatorios con efecto secundario sobre las poblaciones de células que intervienen en estos procesos (Serra *et al.* 2012, Rhen y Cidlowsky 2005). La prednisolona es un corticosteroide que tiene hasta cinco veces más efecto antiinflamatorio partiendo como base a la hidrocortisona y con baja actividad mineralocorticoide por lo que es uno de los fármacos de elección en problemas inflamatorios cutáneos (Plumb, 2010, Sumano, *et al.* 2006).

Los grupos tratados con n-3 demostraron también una considerable disminución de la inflamación, aunque aún menor que la prednisolona. Este efecto se puede explicar debido a que los ácidos grasos poliinsaturados han demostrado tener efectos moduladores de la respuesta inflamatoria en estudios realizados en ratas, ratones, humanos y perros y los mecanismos propuestos incluyen el cambio en la producción de eicosanoides, así como el aumento en la función de la barrera epidérmica (Mueller, *et al.* 2005).

Este efecto antiinflamatorio se demuestra en diversos estudios donde miden las concentraciones sanguíneas y en piel de los derivados de los AGPI n-6 y n-3 así como de algunas citosinas importantes en el proceso inflamatorio.

En gatos alimentados con dietas suplementadas con aceite de pescado se encontraron cantidades más bajas de ácido linoleico y α -linoleico y en consecuencia una cantidad menor de AGPI n-6 y por lo tanto un aumento total de AGPI n-3 en la semana seis comparados con una dieta suplementada con aceite de linaza y un grupo control. Como es esperado las proporciones n-6:n-3 fueron más elevadas en el grupo control y en la dieta con aceite de linaza que en la dieta con aceite de pescado. La concentración de ácidos grasos en la piel fue similar a la del plasma con la disminución de LA comparado con el grupo control (Park, *et al.* 2011).

En perros atópicos alimentados a base de una dieta con altas cantidades de DHA y EPA con una proporción de n-6:n-3 menor, se evidenció una disminución de las concentraciones en suero de PGE₂, principal metabolito del AA, lo que se puede traducir en una reducción de la inflamación (Nesbitt, *et al.* 2003).

Perros sanos alimentados con una dieta enriquecida con aceite de pescado con 1.75 gr/kg de EPA y 2.2 gr/kg de DHA que dan una proporción de 3.4:1 de n-6-n-3 se asoció a una baja significativa en las concentraciones plasmáticas de PGE₂, así como de una menor actividad de IL-1 e IL-6 (Casey, *et al.* 2008).

En ratones se investigó el efecto de la suplementación de una dieta rica en AGPI n-3 con una fuente de aceite de pescado en un modelo experimental de alergia alimentaria; en los resultados encontraron una disminución significativa de IgG e

IgE, así como la disminución del edema y la infiltración de eosinófilos en los animales suplementados comparados con el grupo control, lo que demuestra que presentan una respuesta alérgica mucho menos severa (Goncalves de Matos, *et al.* 2011).

A pesar de que en el presente estudio no se realizó ninguna de estas mediciones en suero o piel, se logró evidenciar mediante la evaluación del grosor de la piel la disminución de la inflamación, lo que se puede interpretar con los estudios anteriores. Como se observó, la caída más dramática de la inflamación fue en el último y único intervalo de tiempo en el que encontramos la diferencia significativa, esto puede estar justificado debido a de que se menciona que una respuesta positiva a la suplementación de los AGPI se observará como mínimo hasta las dos semanas, aunque en general pueden aparecer entre 6 y 8 semanas (Case, *et al.* 2011).

Por ejemplo, un estudio donde se determinó el efecto de la suplementación con ácidos grasos omega 3 a diferentes dosis en dietas para perros con prurito señalan que existen evidencias de mejora clínica hasta el día 21 de tratamiento, lo que sugiere que es necesario más tiempo para apreciar los efectos benéficos (Nesbitt, *et al.* 2003).

En un trabajo realizado con ratones se obtuvieron resultados de los efectos antiinflamatorios después de 21 días de suplementación (Goncalves de Matos, *et al.* 2011).

Sin embargo, los efectos van a variar de acuerdo al modelo experimental por las distintas tasas de metabolismo, la condición clínica de los individuos, el diseño de la alimentación y el manejo de la suplementación (Miller, *et al*, 2013 y Goncalves de Matos, *et al*. 2011).

A lo largo del tiempo que se han estudiado los efectos antiinflamatorios de n-3 ha existido un gran debate entre si es la proporción de los AGPI n-6 en relación con los n-3 en la dieta o una dosis total del ácido graso es más relevante para modular la inflamación (Miller, *et al*. 2013).

Existen algunos estudios que sustentan que el promedio de n-6:n-3 en la dieta tanto como la dosis total de n-3 son importantes para lograr alteraciones en el plasma y las membranas de las células y así observar los efectos clínicos potenciales. (Nesbitt, *et.al* 2003) Hall y Picton obtienen resultados que sugieren que la dosis absoluta de n-3 es más importante que el promedio, aunque los resultados pueden llegar a ser variables debido a de la cantidad de DHA y EPA que tenga la fuente de n-3 (Hall, *et al*. 2006).

Se menciona que el promedio ideal en la dieta en animales de n-6:n-3 va de 5:1 a 10:1 (Case *et al*. 2011, Hand *et al*. 2010). En esta investigación se manejó la suplementación de la fuente de n-3 separado de la dieta. La dieta que se administró a los animales de este experimento está formulada para animales de laboratorio durante el ciclo completo de vida y según el análisis de nutrientes tiene aproximadamente una proporción de n-6:n-3 de 3.5-1 y se suplementó con una fuente de n-3 a partir de aceite puro de orbital de acuerdo al grupo al que pertenecían una dosis total en mg por individuo.

Se piensa que debido a la competencia que existe por el mismo sistema enzimático entre n-3 y n-6, el hecho de manejar ambas variantes resultó en el cambio de los AGPI disponibles en las células y por tanto se utilizaron los autacoides a partir de n-3 q tienen mucho menor potencial inflamatorio (Schmitz y Ecker, 2007).

Entonces, en este estudio en el que se logró efecto antiinflamatorio a los 12 días de tratamiento se puede explicar debido a la combinación de varios factores; por una parte, se eligió un modelo experimental que por un corto tiempo de vida y metabolismo acelerado permite observar los cambios o respuestas deseadas en un periodo de tiempo más corto (Suckow, *et al.* 2006).

Se manejó un promedio adecuado en la dieta dentro de los rangos mencionados, así como la suplementación en mg dentro de la dosis comúnmente utilizada en los que ya se han observado resultados en ratas, por lo que probablemente se alcanzaron a modificar las cantidades de n-3 en la piel y en plasma que lograron efecto antiinflamatorio. Además, la fuente de n-3 que se utilizó fue a partir de aceite de pescado, que contiene concentraciones más altas de estos, a comparación de aceites de semillas o vegetales, y se mantuvo en refrigeración durante todo el experimento cuidando que no se perdieran sus propiedades.

Cuando se manejan dietas que ya vienen suplementadas con el promedio de n-6:n-3 se puede alterar el efecto real debido a un mal manejo del alimento, ya que puede perder el valor de sus nutrientes debido al paso del tiempo, a las condiciones climáticas o a que se no se encuentren en una forma biológicamente disponible (Bonagura, 2009).

Por otro lado, con los resultados obtenidos en el estudio histopatológico se puede comprobar el efecto de los AGPI n-3 en uno de los individuos manejados con la dosis alta ya que no se evidenciaron cambios histológicos. Sin embargo, el sujeto del grupo de n-3 a dosis baja mostró un ligero engrosamiento generalizado del estrato corneo con queratocitos sin núcleo y con discretos agregados de linfocitos y células plasmáticas en la dermis, así como un adelgazamiento de la epidermis por disminución en sus estratos, lo que indica que curso con una dermatitis perivascular con cambios epidérmicos y no se resolvió por completo la inflamación.

Sin embargo, en cuanto a los dos individuos del grupo control se pudo apreciar una reacción inflamatoria más fuerte con lesiones de un proceso irritativo crónico (acantosis, espongirosis, pústulas, vesículas y úlceras) así como infiltrados celulares en dermis e hipodermis y adelgazamiento de la epidermis. El infiltrado inflamatorio en estos individuos es mixto (representado principalmente por linfocitos, plasmocitos y neutrófilos) e involucra todas las capas de la piel. Las lesiones observadas son asociadas al proceso irritativo provocado por los capsinoides y en la literatura son compatibles con las ocasionadas por problemas de dermatitis por contacto o irritativa, así como por reacciones de hipersensibilidad (Castellanos e Iregui, 2006, Castellanos, *et al.* 2014).

Si se comparan los resultados de las medias de los individuos con el histopatológico evidenciamos que hay efecto positivo a ambas dosis, ya que con las mediciones en mm de los individuos se observó una mayor disminución de la inflamación en las ratas del grupo a dosis baja y en los resultados de histopatología tuvimos la resolución completa en el individuo manejado con la dosis alta y una resolución

parcial en el de dosis baja. La dosis en la que se han demostrado los efectos benéficos de los omega 3 varía de acuerdo al sujeto de la experimentación y al problema para el que se usen.

En humanos, se han demostrado, a parte de su eficacia antiinflamatoria, otros efectos benéficos de estos en problemas cardíacos, renales, dermatológicos, neurodegenerativos y siquiátricos entre otros (Wall, *et al.* 2010, Lenox y Bauer, 2013).

La dosis se utiliza en un rango amplio que depende de la especie, en el presente estudio realizado en ratas se utilizó a 100 y 200 mg respectivamente para cada grupo, cuando en esta especie la literatura menciona que se utiliza en un rango de 100-400 mg/kg (Raederstorff y Moser 1992, Sarsilmaz, *et al.* 2003).

En perros en la mayoría de los estudios en donde se ha comprobado su efecto y en la literatura se manejan en un rango de 80-250 mg/kg (Lenox y Bauer, 2013. Miller, *et al.* 2013, Nesbitt, *et al.* 2003) y la National Research Council menciona que se puede utilizar de manera segura hasta 370 mg/kg; en gatos aún no existe suficientes datos publicados sobre un rango exacto, pero se utilizan y recomiendan en esta misma dosis (Lenox y Bauer, 2013).

En estudios realizados en humanos también se ha definido un rango de consumo seguro de AGPI n-3 en el que han comprobado los efectos benéficos de la suplementación sin aparición de efectos adversos. Se recomienda que se ingieran 1g/día de DHA y EPA ya sea solo alguno o la combinación de ambos, pero se

menciona que estudios donde se han utilizado a 5g/día no se han observado efectos secundarios (EFSA, 2012, FAO/WHO, 2008).

En este estudio se tomó la dosis más baja y una media para observar si la dosis utilizada implicaba una diferencia en los efectos y no se utilizó la más alta para evidenciar si había efecto sin incurrir al máximo del rango mencionado.

Por otro lado, aún se estudian los efectos adversos que pueden provocar el uso de los AGPI n-3. Se han realizado algunos estudios para determinar los potenciales efectos secundarios que se pueden presentar por la suplementación de AGPI n-3 y suelen ser dosis dependientes y en dosificaciones altas, entre los más comunes se presentan diarreas o heces pastosas, aliento con olor a pescado y aumento de peso. Se describen otros como alteración en la función plaquetaria (sin embargo en pacientes sanos o que no se encuentran bajo terapia con otros fármacos antiplaquetarios no se ha logrado demostrar), oxidación de lípidos y producción de radicales libres (lo que se logra contrarrestar adicionando vitamina E, muchos suplementos la incluyen en su fórmula), potencial exposición a toxinas del medio ambiente (principalmente metales pesados y depende del producto utilizado; lo cual puede comprobarse con estándares de calidad o contactando al proveedor) e hiperglucemia y sensibilización a la insulina (aún existe controversia, pero hay estudios en donde la utilizan para controlar los niveles de glucosa en humanos, en gatos no se ha comprobado que causen hiperglucemia y deben de ser utilizados con precaución en pacientes que reciben insulina). Se considera que su ingesta representa más beneficios en los pacientes que riesgo de padecer estos efectos (Lenox and Bauer 2013, Wortinger y Burns 2015).

En medicina veterinaria y específicamente en la clínica de pequeñas especies las enfermedades dermatológicas representan un porcentaje alto de los problemas por los que llega una mascota a consulta. Los problemas de piel tienen una gran importancia debido a que es el órgano más grande y visible del cuerpo el cual representa un elemento importante para juzgar el estado de salud de un individuo, ya que la piel se daña por enfermedades en las que sus alteraciones principales tienen un carácter general y repercuten a nivel cutáneo y por enfermedades propias de la piel cuyas lesiones pueden ser primarias o secundarias. Otro aspecto importante que se tiene que considerar es que la piel tiene un rango limitado de respuesta a las agresiones, lo que hace complicado diferenciar las patologías por presentar aspectos clínicos similares así como tomar en cuenta que el prurito cutáneo o comezón (sensación de picor ardor o escozor que se produce en la piel debido a la estimulación o irritación de las terminaciones nerviosas de la epidermis en diversas enfermedades cutáneas) en la mayoría de los casos complica aún más una lesión en la piel.

La inflamación es una de las principales consecuencias de las enfermedades cutáneas y se presenta con el objetivo de eliminar las sustancias nocivas o los microorganismos y restablecer la homeostasis cutánea. Se presenta en dermatosis de origen microbiano o parasitario y de otro origen (inmunomediado), sin olvidar que estas últimas pueden estar complicadas con una infección microbiana secundaria, Por todo lo mencionado anteriormente el diagnóstico de estos problemas, así como su recuperación suelen ser lentos, por lo que el uso de los antiinflamatorios se

vuelve una herramienta importante durante el proceso diagnóstico y de resolución de cualquier patología.

Los clínicos intentan suprimir la inflamación principalmente mediante el uso de glucocorticoides y otros fármacos inmunomoduladores para tratar las enfermedades cutáneas. Los glucocorticoides sistémicos son altamente eficaces para estos casos siendo el fármaco de elección, sin embargo, se conoce muy bien la presentación de efectos secundarios agudos o crónicos tras su administración, así como la limitante de su uso en pacientes inmunodeprimidos, con enfermedades infecciosas o con otras enfermedades en la que están contraindicados como diabetes, pancreatitis, problemas renales, entre otras o simplemente ante dueños que no quieran utilizarlos. Por esta razón múltiples estudios han analizado otras opciones terapéuticas. Por otro lado, a diferencia de los corticosteroides, los AGPI n-3 son considerados un nutraceutico y no interrumpen la síntesis de las moléculas responsables del proceso inflamatorio, solo las modifica, por lo que podemos utilizarlos con una incidencia mínima de efectos adversos, así como en pacientes gerontes (Miller, *et al.* 2013, Bonagura 2009, Foster y Foil 2013, Patel, 2010).

El efecto antiinflamatorio de los AGPI n-3 se explica porque existe una inhibición competitiva por los sistemas enzimáticos ciclooxigenasa y lipooxigenasa con los AGPI n-6 que son precursores principales de analitos con acción inflamatoria, así como los efectos de sus subproductos metabólicos que implican el cambio de la síntesis y actividad de prostaglandinas y leucotrienos, ya que estos son importantes para promover o inhibir la inflamación.

En medicina veterinaria se ha determinado por medio de varios estudios que los ácidos grasos se requieren en una proporción que va de 5:1 a 10:1 para lograr el mantenimiento de una piel y pelo saludable, así como para modular el proceso inflamatorio y ejercer acción antiinflamatoria. Existen dietas de prescripción veterinarias disponibles en el mercado en los que adicionan los AGPI, principalmente n-6 y n-3 y que manejan proporciones dentro de este promedio que fueron formuladas para pacientes con problemas dermatológicos y degenerativos articulares. Por otro lado, también están disponibles como suplementos de uso veterinario en presentación de emulsiones, capsulas, tabletas masticables y polvos (Case, *et al.* 2011, Hand, *et al.* 2010.).

La controversia de su eficacia antiinflamatoria continua, debido a los diferentes resultados que han presentado variedad de estudios a lo largo ya de un tiempo que se comenzó a investigar y en muchos de ellos mencionan que se requiere de varias semanas de suplementación, sin embargo, hay que contemplar varios factores que pueden ser determinantes para observar resultados positivos. Se ha demostrado que existen diferencias de edad y raza en el metabolismo de los ácidos grasos, así como que pueden resultar ineficaces en casos de mala digestión, mala absorción o metabolismo anormal de ácidos grasos por enfermedad pancreática o hepática crónica (Miller, *et al.* 2013). Tampoco se ha logrado determinar que resulta más eficaz, si controlar la relación de n-3:n-6 en la dieta o la dosis absoluta de la fuente de n-3 (Miller, *et al.* 2013, Nesbitt, *et al.* 2003, Hall, *et al.* 2006). Otra cosa que se debe de tomar en cuenta es la calidad de los alimentos y suplementos que se

utilizan, ya que si se mantuvieron mal conservados (almacenamiento y temperatura) o no contienen los antioxidantes adecuados no se logran los efectos positivos.

CONCLUSIONES

En últimas décadas los ácidos grasos omega 3 han demostrado tener múltiples efectos benéficos en el organismo, por ello la suplementación de estos es considerada una herramienta terapéutica que se ha continuado estudiando con el fin de determinar su eficacia. Entre estos, se encuentra su efecto antiinflamatorio, por lo que se usan como parte del tratamiento en problemas de artritis, así como en enfermedades dermatológicas. Estos ácidos grasos participan directamente en la modulación de la respuesta inmune, disminuyendo la inflamación y el daño generado por esta. Comúnmente se utilizan conjuntamente con otros fármacos en la mayoría de los problemas dermatológicos, sin embargo, en este estudio se logró demostrar que pueden ser una opción eficaz con buen efecto antiinflamatorio aun usándolos sin otros medicamentos que son empleados en este tipo de padecimientos.

La mayoría de los estudios realizados en animales, contempla que se observan efectos en mínimo 3 semanas, en el presente estudio realizado en ratas se demostró que utilizados a una dosis de 100 a 200 mg/kg aunados a una dieta con un promedio n-6:n-3 de 3.5:1 logran efecto antiinflamatorio en piel irritada a lo largo de 12 días de tratamiento. Esto se debe a que manejamos un promedio bajo de n-3:n-6 en la dieta más la suplementación, lo que conlleva a una modificación más rápida por el efecto competitivo de producir eicosanoides con efecto antiinflamatorio. Es de vital importancia tomar en cuenta todos los factores que

pueden llegar a afectar la eficacia de los ácidos grasos omega 3, para que al momento de utilizarlos se obtenga su máximo potencial antiinflamatorio.

El efecto que se presentó en los individuos tratados con n-3 es aún menor al demostrado por la prednisolona y no hubo diferencia significativa entre las dosis de n-3 que se manejaron, lo que indica que utilizados dentro del rango establecido tienen la misma acción antiinflamatoria.

Lo que se sugiere con este trabajo, es que se maneje una dieta dentro de las proporciones ideales de n-3:n-6 en pacientes propensos a padecer problemas dermatológicos y al presentar manifestaciones clínicas se adicione una suplementación de la fuente de omega 3, debido a que si se utiliza únicamente la dieta se incrementa el tiempo en que se esperan resultados positivos durante un proceso agudo y si únicamente se utiliza un suplemento y no se toma en cuenta la dieta es muy probable que no logremos el efecto deseado debido a que la mayoría de las dietas comerciales utilizan ingredientes que aportan mayor cantidad de omega 6 (como cereales como primer ingrediente o subproductos de pollo o carne de res o cerdo) por lo que es posible que ni siquiera logremos alcanzar las proporciones adecuadas.

Los AGPI n-3 demostraron en este estudio tener una acción antiinflamatoria eficaz para el tratamiento de la inflamación cutánea, por lo que deben considerarse en la terapéutica de este problema. Es importante recordar que los AGPI n-3 son un nutraceutico, por lo que no podemos únicamente tomar en cuenta la dosis total que se administra como en el caso de un medicamento, es vital tomar en cuenta el tipo de alimentación que reciben los pacientes para lograr observar los efectos

terapéuticos deseados. Si no son utilizados como única terapia antiinflamatoria en padecimientos agudos ayudan a reducir significativamente la dosis o frecuencia de otros fármacos antiinflamatorios que se administren. Se podrían realizar estudios adicionales en perros y gatos con problemas dermatológicos en donde se implemente la metodología utilizada en este estudio controlando tanto la dieta como la dosis total para respaldar que los resultados pueden ser observados también en estas especies de interés en la que los problemas dermatológicos son relativamente comunes en la práctica diaria.

REFERENCIAS

1. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJ. Textbook of veterinary anatomy. 4th ed. Mexico DF: Manual Moderno, 2012.
2. Kahn CM, Line S. Manual Merck de veterinaria. 6^{ta} ed. Barcelona: MMV Merck and Co Inc., 2007.
3. Bacha WJ, Bacha LM. Color atlas of veterinary histology. 3rd ed. Philadelphia: Willey-Blackwell, 2012.
4. Eurell JA y Frappier BL. Dellmann's textbook of Veterinary histology. 6^{ta} ed. Philadelphia: Blackwell, 2006.
5. Paterson Sue. Manual de enfermedades de la piel en perros y gatos. Segunda edición. Buenos Aires: Inter-Médica, 2009.
6. Cochran PI. Veterinary anatomy and physiology: a clinical laboratory manual. 2nd ed. New York: Delmar Cengage learning, 2011.
7. Trigo FJ. Patología sistémica veterinaria. 5^{ta} ed. México: McGraw-Hill, 2011.
8. Paterson S. Skin diseases of exotic pets. 1st ed. Oxford: Blackwell Science, 2006.
9. Ackerman LJ. Atlas de Dermatología en pequeños animales. 1^{ra} ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2008.
10. Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7th ed. Missouri: Elsevier Mosby, 2013.
11. Buen de Arguero N. Citología diagnóstica veterinaria. 1^{ra} ed. México DF: Manual Moderno, 2001.

12. Castellanos GC, Rodríguez G, Iregui CA. Estructura normal de la piel del perro. *Revista de Medicina Veterinaria*. 2005; 10: 109-122.
13. Theoharides TC, Kempuraj D, Tagen M, Conti P, Kalogeromitros D. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation. *Immunological Reviews*. 2007; 217: 65–78.
14. Trigo FJ, Valero G. *Patología general veterinaria*. 5^{ta} ed. México: UNAM Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2014.
15. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Inmunología de Kuby*. 6^{ta} ed. México: Mc Graw Hill, 2007.
16. Brooks H. *General pathology for veterinary nurses*. 1st ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
17. Medzhitov R. Inflammation 2010: The new adventures of an old flame. *Cell*. 2010; 140: 771-746.
18. Barnes PJ. Pathophysiology of allergic inflammation. *Immunological reviews*. 2011; 242: 31-50.
19. García de Lorenzo A, López J, Sánchez M. Respuesta inflamatoria sistémica: Fisiopatología y mediadores. *Medicina intensiva*. 2000; 24: 353-360.
20. Maddison JE, Page SW, Church D. *Farmacología clínica en pequeños animales*. Buenos Aires: Intermédica, 2004.
21. Bonagura D, Twedt DC. *Kirk's current veterinary therapy XIV*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2009.
22. Rhen T, Cidlowsky JA. Antiinflammatory action of Glucocorticoids: New Mechanisms of Old Drugs. *The New England Journal of Medicine*. 2005; 353: 1711-1723.

23. Serra HA, Roganovich JM, Rizzo LFL. Glucocorticoides: Paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Medicina*. 2012; 72: 158-170.
24. Schoepe S, Schacke H, May E, Asadullah K. Glucocorticoid Therapy-induced skin atrophy. *Experimental Dermatology*. 2006; 15: 406-420.
25. Sumano LH, Ocampo L, Gutiérrez L. *Farmacología Veterinaria*. 3^{ra} ed. Mexico: Mc Graw Hill Interamericana, 2006.
26. Behrend EN, Kemppainen RJ. Glucocorticoid Therapy: Pharmacology, Indications and Complications. *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice*. 1997;22:187-213.
27. Lizarraga I, Sumano H, Castillo F. Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2: Usos potenciales en perros. *Vet. Mex*. 2002; 33: 284- 307.
28. Loza E. AINES en la práctica clínica: Lo que hay que saber. *Int Ter Sist Nac Salud*. 2011; 35: 88-95.
29. Hardman JG, Limbird LE, Goodman A. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 10^{ma} ed. México: Mc Graw Hill, 2003.
30. Pérez H. Nutraceuticos: Componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA*. 2006; XL:3 20-28.
31. Gogus U, Smith C. n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *Internacional Journal of Food Science and Technology*. 2010; 45: 417-436.
32. Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*. 2008; 47: 147-155.

33. Wall R, Ross PR, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Reviews*. 2010; 68: 280-289.
34. Mesa MD, Aguilera CM, Gil A. Importancia de los lípidos en el tratamiento nutricional de las patologías de base inflamatoria. *Nutr. Hosp.* 2006; 21: 30-46.
35. Manzur F, Suárez A, Moneriz C. Efectos y controversias de los ácidos grasos omega 3. *Revista Colombiana de Cardiología*. 2006; 13: 180-184.
36. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *American J Clin Nutr.* 2006; 83: 1505S-19S.
37. Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. *The laboratory Rat*. American College of Laboratory Animal Medicine. 2nd ed. Florida: Elsevier, 2006.
38. Hubrecht RC, Kirkwood J. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. 8th ed. West Sussex: Blackwell, 2010.
39. Reyes ML, Gonzalez EG, Vázquez E. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules*. 2011; 16: 1253-1270.
40. Vidal MA, Calderon E, Roman E, Perez F, Torres LM. Capsaicina tópica en el tratamiento del dolor neuropático. *Rev. Soc. Esp. Dolor*. 2004; 11: 306-318.
41. Restrepo M, Llanos N, Fonseca CR. Composición de oleorresinas de dos variedades de ají picante (habanero y tabasco) obtenidas mediante lixiviación con solventes orgánicos. *Revista Lasallista de Investigación*. 2007; 4: 14-19.
42. O'malley B. *Anatomía y fisiología clínica de animales exóticos*. 1^{ra} ed. España: Servet-Elsevier, 2005.

43. Newton JA, Whitaker J, Sohail S, Young MM, Harding SM, Black MM. A comparison of pulsed ultrasound, radiography and micrometer screw gauge in the measurement of skin thickness. *Curr Med Res Opin.* 1984; 9: 113-118.
44. Raederstorff D, Moser U. Influence of an increased intake of linoleic acid on the incorporation of dietary (n-3) fatty acids in phospholipids and on prostanoid synthesis in rat tissues. *BBA Lipids and Lipid Metabolism.* 1992; 1165: 194-200.
45. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H, Kus I, Ozen OA, Ozyurt B, Sogut S, Akyol O. Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2003; 69: 253-259.
46. Carpenter JW. *Exotic Animal Formulary.* 4th ed. St. Louis Missouri; Elsevier, 2013.
47. Quesenberry KE, Carpenter JW. *Ferrets, rabbits and rodents: clinical medicine and surgery.* 3th ed. St. Louis Missouri: Elsevier, 2012.
48. Plumb DC. *Manual de Farmacología Veterinaria.* 6^{ta} ed. Buenos Aires: Intermédica, 2010.
49. Mueller RS, Fettman MJ, Richardson K, Hansen RA, Miller A, *et al.* Plasma and skin concentrations of polyunsaturated fatty acids before and after supplementation with n-3 fatty acids in dogs with atopic dermatitis. *AJVR* 2005; 66: 868-873.
50. Park HJ, Park JS, Hayek MG, Reinhart GA, Chew BP. Dietary fish oil and flaxseed oil suppress inflammation and immunity in cats. *Veterinary immunology and immunopathology.* 2011; 141: 301-306.

51. Nesbitt GH, Freeman LM, Hannah SS. Effect of n-3 fatty acid ratio and dose on clinical manifestations, plasma fatty acids and inflammatory mediators in dogs with pruritus. *Veterinary Dermatology*. 2003; 14: 67-74.
52. Casey JL, Horohov DW, Bauer JE, Hosgood G, Mauldin GE. Effects of dietary supplementation with fish oil on in vivo production of inflammatory mediators in clinically normal dogs. *AJVR*. 2008; 69: 486-493.
53. Goncalves O, Amaral SS, Marques PE, Alves D, Moreira D, Matos AV, *et al.* Dietary supplementation with omega-3-PUFA-rich fish oil reduces signs of food allergy in ovalbumin-sensitized mice. *Clinical and Developmental Immunology*. 2011; 2012: 1-9.
54. Hall JA, Picton RA, Skinner MM, Jewel DE, Wander RC. The (n-3) fatty acid dose, independent of the (n-6) to (n-3) fatty acid ratio, affects the plasma fatty acid profile of normal dogs. *The Journal of nutrition*. 2006; 136: 2338-2344.
55. Case L, Carey D, Hirakawa D. *Canine and Feline Nutrition. A resource for companion animal professionals*. 3rd ed. Missouri: Mosby/Elsevier, 2011.
56. Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P, Novotny BJ. *Small Animal Clinical Nutrition*. 5th ed. Hill's Institute, 2010.
57. Bonagura JD. *Kirk's Current Veterinary therapy XIV*. St. Louis Missouri: Elsevier-Saunders, 2009.
58. Castellanos IC, Iregui CA. Patrones histológicos de las enfermedades inflamatorias de la piel (parte II). *Revista de Medicina Veterinaria*. 2006; 11: 85-95.

59. Castellanos I, Prada G, Rodríguez G, Santos R. Estudio Microscópico de dermatopatías en equinos de la sabana de Bogotá, Colombia. Rev. Med. Vet. 2014; 27: 11-20.
60. Lenox CE, Bauer JE. Potential adverse effects of Omega 3 fatty acids in dogs and cats. J Vet Inter Med. 2013; 27: 217-226.
61. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). EFSA Journal: 2012; 10: 1-48.
62. FAO/WHO. Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids, in Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. Nov. 10-14, 2008: Geneva.
63. Wortinger A, Burns K. Nutrition and disease management for veterinary technicians and nurses. 2nd ed. Iowa USA: Willey-Blackwell, 2015.
64. Foster A, Foil C. Manual de dermatología en pequeños animales y exóticos. 1^{ra} ed. Barcelona. Ediciones S: 2013.
65. Patel A. Dermatología en pequeños animales. 1^{ra} ed. Barcelona: Elsevier, 2010.