



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**“Análisis de diferentes dosis de ácidos grasos omega 3
(alfa-linolénico) en fantasmas de eritrocitos de ratas
inducidas a diabetes tipo 2”**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O P
R E S E N T A**

Uriel Adrián Vicenteño Monroy

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Ricardo Mejía Zepeda



Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 4 de la Unidad de Biomedicina de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM bajo la tutoría de Dr. Ricardo Mejía Zepeda y la asesoría de la Dra. María del Consuelo Figueroa García.

Para la realización de este proyecto se obtuvieron recursos del Programa de Apoyo de Investigación a Innovación Tecnológica PAPIIT IN216314 y IN215917 a RMZ- Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A mis sinodales por ayudarme a mejorar mi trabajo.

Dedicatoria

A mi familia y amigos.

A la Dra. Consuelo Figueroa por su apoyo, su paciencia y sus enseñanzas. Muchas gracias Dra. Figueroa es una gran investigadora.

Al Dr. Ricardo Mejía Zepeda por permitirme trabajar en su laboratorio, por apoyarme, por su paciencia y dedicación para mi aprendizaje. Y sobre todo por enseñarme este maravilloso camino que es la ciencia.

“Si yo he visto más allá, es porque logré pararme sobre hombros de gigantes”

Isaac Newton

Índice

I Abreviaturas	
II Índice de tablas y figuras	
1.- Resumen1	1
2.- Introducción y antecedentes	3
▪ 2.1 Generalidades de la diabetes	5
▪ 2.2 Tipos de diabetes	6
▪ 2.3 Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	7
▪ 2.4 Diagnóstico de la diabetes	8
▪ 2.5 Justificación	10
▪ 2.6 Hipótesis	10
3.- Objetivos	10
▪ 3.1 Objetivo general	10
▪ 3.2 Objetivos particulares	11
4.- Material y Métodos	12
▪ 4.1 Animales de experimentación	12
▪ 4.2 Inducción de diabetes tipo 2 a ratas Wistar macho	13
▪ 4.3 Tratamiento con: ácidos grasos omega 3	13
▪ 4.4 Determinación de parámetros fisiológicos	14
▪ 4.5 Obtención de las muestras de sangre	14
▪ 4.6 Lineamientos de bioética	15
▪ 4.7 Obtención de los fantasmas de eritrocitos	15
▪ 4.8 Transesterificación de ácidos grasos	15
▪ 4.9 Análisis por cromatografía de gases	16
▪ 4.10 Análisis estadístico	16
5.- Resultados	17
▪ 5.1 Efecto de los ácidos grasos omega 3 sobre el peso de las ratas	17
▪ 5.2 Glicemias antes de empezar los tratamientos	21
▪ 5.3 Efecto de los ácidos grasos omega 3 en la glicemia de rata diabéticas	22

▪ 5.4 Efecto de los ácidos grasos omega 3 en los triglicéridos	26
▪ 5.5 Efecto de los ácidos grasos omega 3 en colesterol	30
▪ 5.6 Efecto de los ácidos grasos omega 3 en el control de la glicemia (curvas de tolerancia a la glucosa) (CTG)	31
▪ 5.7 Efecto de los ácidos grasos omega 3 en la composición de ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos	37
6.- Discusión	44
7.- Conclusiones	54
8.- Perspectivas	55
9.- Referencias bibliográficas	56

Abreviaturas

AGPIs: Ácidos grasos poliinsaturados.

ADA: Asociación Americana de Diabetes (por sus siglas en inglés)

DM1: Diabetes Mellitus tipo 1.

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2.

Control ω 3-0: Grupo control, sin suplemento de ácidos grasos omega 3

Control ω 3-1: Grupo control suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 1 día a la semana.

Control ω 3-3: Grupo control suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 3 días a la semana.

Control ω 3-7: Grupo control suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 7 días a la semana.

CTG: Curva de tolerancia a la glucosa

HDL: Lipoproteína de alta densidad (por sus siglas en inglés)

I/S: Cociente de ácidos grasos insaturados (I) sobre saturados (S)

LDL: Lipoproteína de baja densidad (por sus siglas en inglés)

STZ: Estreptozotocina.

STZ ω 3-0: Grupo diabético sin suplemento de ácidos grasos omega 3.

STZ ω 3-1: Grupo diabético suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 1 día a la semana.

STZ ω 3-3: Grupo diabético suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 3 días a la semana.

STZ ω 3-7: Grupo diabético suplementado con ácidos grasos omega 3 durante 7 días a la semana.

ω -3: ácidos grasos omega 3

OMS: Organización Mundial de la Salud

NOM: Norma Oficial Mexicana

Índice de Tablas y Figuras

Tablas

Tabla 1. Esquema del diseño experimental	14
Tabla 2. Composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos en ratas diabéticas (STZ) de 3 meses de edad.	38
Tabla 3. Composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas de 3 meses de edad, inducidas a diabetes (STZ) y con los diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos omega 3.	39
Tabla 4. Composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas control de 3 meses de edad con los diferentes esquemas de dosificación con ácidos grasos omega 3.	40
Tabla 5. Composición de los ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos en ratas controles (CN) y ratas diabéticas (STZ) de 6 meses de edad.	41
Tabla 6. Composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas de 6 meses de edad, inducidas a diabetes (STZ), y con suministro de ácidos grasos omega 3 bajo los diferentes esquemas de dosificación.	42
Tabla 7. Composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas control de 6 meses de edad y con los diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos omega 3.	43

Figuras

Figura 1. Diseño experimental: factorial con bloques, completamente aleatorizado.	13
Figura 2. Curva de crecimiento de ratas Wistar normoglicémicas (Grupo Control) e inducidas a diabetes tipo 2 (STZ).	18
Figura 3. Comparación de la velocidad de crecimiento de ratas control contra ratas diabéticas con los diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos.	20
Figura 4. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar inducidas a diabetes tipo 2(STZ) y su control antes del tratamiento (1 mes de edad).	21
Figura 5. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar normoglicémicas (grupos control) e inducidas a diabetes (grupos STZ) y tratadas con ácidos grasos omega 3.	23

- Figura 6. Efecto del esquema de dosificación de ácidos grasos omega 3, sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas Wistar. 25
- Figura 7. Efecto de diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos omega 3 sobre la concentración de triglicéridos en sangre de ratas Wistar. 27
- Figura 8. Comparación del efecto del esquema de administración de ácidos grasos omega 3 sobre los triglicéridos sanguíneos. 29
- Figura 9. Concentración de colesterol en sangre de ratas Wistar control e inducidas a diabetes (STZ). 30
- Figura 10. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) sin suplemento de ácidos grasos omega 3. 32
- Figura 11. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) de 1 día a la semana (ω3-1). 33
- Figura 12. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) de 3 días a la semana (ω3-3). 34
- Figura 13. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) de 7 días a la semana (ω3-7). 35
- Figura 14. Curvas de tolerancia a la glucosa de ratas control e inducidas a diabetes, tratadas con ácidos grasos omega 3 por diferentes días a la semana (0, 1, 3 ó 7 días a la semana). 35
- Figura 15. CTG de ratas control con suministro de ácidos grasos en diferentes esquemas de dosificación; de izquierda a derecha por 0, 1, 3 ó 7 días a la semana. 36

1. Resumen

Dentro de los productos “milagro” utilizados en la industria farmacéutica y alimentaria se encuentran los ácidos grasos insaturados omega 3 (ω 3), a los cuales se les han atribuido bondades desde el punto de vista terapéutico hasta el nutricional, y se han usado como coadyuvantes para el tratamiento de diversas patologías de origen metabólico. Dentro de este grupo de enfermedades se encuentra la diabetes, que es un padecimiento resultado de defectos en la secreción de insulina producido por numerosos factores y engloba un conjunto de alteraciones metabólicas caracterizadas por un estado crónico de hiperglicemia y cambios en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es causada por múltiples factores, como resistencia a la acción de la insulina y/o una inadecuada respuesta compensatoria del páncreas o la combinación de estas dos situaciones. El principal tratamiento para el control de la diabetes y sus complicaciones, han sido desde el siglo pasado, el uso de hipoglicemiantes e insulina; sin embargo, estos tratamientos no permiten alcanzar en todos los casos un adecuado control de la glicemia. Los ω 3 han sido empleados en el tratamiento de padecimientos de origen metabólico pero se tiene poca evidencia de la utilización de estos a mediano y largo plazo. Es por ello que el presente estudio pretende analizar los cambios bioquímicos en sangre y la composición de ácidos grasos en las membranas, derivados de la administración de ω 3 en individuos sanos e hiperglicémicos.

Se indujo la diabetes en las ratas por medio de una inyección intraperitoneal de estreptozotocina a los dos días de edad (STZ) 125 mg/Kg en amortiguador de citratos a pH de 4.5 al grupo STZ o diabético. Al grupo control se le inyectó únicamente amortiguador de citratos. Los ω 3 fueron suplementados a dosis de 125 mg/kg de peso, vía oral, iniciando el tratamiento a los 30 días de edad. El esquema de dosificación fue de 1, 3 ó 7 días por semana, con una *n* promedio de 4 animales por tratamiento. Este esquema se utilizó en ambos grupos (control y diabético).. La duración de los tratamientos fue de 1, 3 y 6 meses. Los parámetros bioquímicos que se midieron fueron: glucosa sanguínea semanalmente; colesterol y triglicéridos sanguíneos mensualmente, así como las Curvas de tolerancia a la glucosa (CTG). Para investigar el efecto de los tratamientos

sobre membranas biológicas, la composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos se analizó por cromatografía de gases tanto en ratas normoglicémicas como en diabéticas, ambas suplementadas con $\omega 3$.

En este trabajo de investigación se encontró que el suministro de $\omega 3$ a las ratas diabéticas, puede tener efectos positivos sobre varios de los parámetros aquí medidos, por ejemplo, disminuyó la glicemia, ayudó a controlar el peso y la concentración de triglicéridos, y mejoró la CTG. Sin embargo, en sujetos normales, dichos ácidos grasos pueden tener efectos no deseados, como tendencia al sobrepeso, aumento de triglicéridos e intolerancia a la glucosa. La ingesta de los $\omega 3$ influyó en la composición de ácidos grasos de las membranas de los eritrocitos y consecuentemente en el índice de fluidez.

2. Introducción.

En las últimas décadas ha surgido un interés por el uso de productos “milagro”, para el tratamiento de diversas patologías que afectan al humano; entre ellas las enfermedades de origen metabólico, las cuales son un grupo de padecimientos que se caracterizan por un desorden en los procesos bioquímicos de las células y que tienen diversas consecuencias en la salud de los pacientes. Dentro de este grupo de enfermedades se encuentran la obesidad, el síndrome metabólico, las dislipidemias y la diabetes; enfermedades crónico-degenerativas que tienen un origen genético y/o ambiental y una elevada tasa de incidencia y prevalencia. Estos padecimientos son consecuencia del incremento en el consumo de carbohidratos y lípidos; factores de riesgo para el desarrollo y/o progresión de las mismas y que sumado a la conducta sedentaria repercuten en la salud (Romero, 2007).

Dentro de los productos milagro utilizados en la industria farmacéutica y alimentaria se encuentran los ácidos grasos insaturados omega 3, 6 y 9, a los cuales se les han atribuido bondades desde el punto de vista terapéutico hasta el nutricio. Pero hablar de los ácidos grasos poliinsaturados es abordar un mundo de mitos y realidades; desde el punto de vista terapéutico, nutricio y hasta el mágico, en el que se les ha colocado. Se sabe desde 1929 que estas moléculas lipídicas son indispensables para el buen funcionamiento de las células, además de su importancia en el estado fisicoquímico de sus membranas. Hace no más de una década se ha relacionado su consumo con el bienestar y la salud, debido a las bondades que se le atribuyen, así como a la regulación hormonal del páncreas y tiroides, su efecto en la síntesis de insulina, además de sus efectos en el bienestar de las membranas celulares (Romero-Márquez, 2011; y Hevia, 2016).

Las enfermedades metabólicas o “epidemia del siglo XXI” son un grupo de patologías asociadas a la nutrición, estilos de vida y condición socio-económica y, representan el principal problema de salud pública en México. Existen esfuerzos a

nivel nacional para promover estilos de vida saludables; sin embargo aún no se han logrado establecer estrategias idóneas que disminuyan este problema, porque además, son afecciones consideradas como complejas al presentarse con múltiples sintomatologías, lo que las hace más difíciles de tratar. Estas enfermedades se caracterizan por un desorden en los procesos bioquímicos de las células y tienen diversas consecuencias en la salud de los pacientes (Aznar, 2016).

Dentro de este grupo de enfermedades se encuentran la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes. Esta última es un síndrome heterogéneo que incluye numerosas entidades clínicas etiopatogénicamente distintas (ADA; 2012), de tipo crónico-degenerativo con una elevada tasa de incidencia y prevalencia, que se caracteriza por el incremento en la concentración de la glucosa sanguínea. La historia natural de la diabetes es compleja, involucra factores tanto genéticos como ambientales (dietas hipercalóricas, la obesidad, el sedentarismo, la edad y bajo peso al nacer), sin embargo; existen tres alteraciones constantes en el desarrollo y progresión de este padecimiento: resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos (músculo, tejido adiposo y especialmente hígado); secreción alterada de la insulina en respuesta al estímulo de glucosa y aumento en la producción de glucosa hepática (FID, 2015). La resistencia periférica a la insulina se presenta como una fase preclínica (en estadio de tolerancia alterada a la glucosa), además de un incremento moderado de la concentración de glucosa en sangre y altas concentraciones de colesterol y triglicéridos (Bell *et al.*, 2008; DGE, 2008).

De acuerdo a estudios poblacionales realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) cerca de 1,5 millones de muertes se atribuyen directamente a la diabetes cada año, lo grave es que entre el 40 y 50% de la población diabética no sabe que la padece (Aguilar *et al.*, 2002, 2005). México ocupa el primer lugar por prevalencia de DM 2 en América Latina y el décimo lugar en el mundo y, se estima que para el 2030 tenga el séptimo puesto (DGE, 2008 y ENAPCSOD, 2013). La diabetes es un fenómeno creciente y la dinámica de incidencia y prevalencia en México ha cambiado de una enfermedad poco frecuente en los años 50's para convertirse en el principal problema de salud a partir del año 2000 (ADA, 2011, Aguilar *et al.*, 1999, 2002, 2005, 2006). De

acuerdo a la Federación Mexicana de Diabetes el número estimado de personas con la enfermedad en el 2012 se encontraba entre los 6.5 y los 10 millones, es decir el 10.7% de la población de entre 20 y 69 años y de todos ellos, 2 millones de personas no habían sido diagnosticadas debido a que en etapas tempranas es una afección asintomática. Para el 2016 esta cifra se incrementó al 14%, y se cree que entre el 30 y 55% de las personas desconocen que padecen la enfermedad, con lo que la progresión y daño de la misma, con graves consecuencias, incrementa el número de individuos que a corto o mediano plazo entrará al grupo de las personas con alguna discapacidad. El aumento del número de casos, el elevado porcentaje de pacientes que desarrollan complicaciones tardías y el costo del tratamiento, hacen insuficientes los esfuerzos para controlarla. De acuerdo a un estudio elaborado por el Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSS), la diabetes es la principal causa de muerte en las mujeres y la segunda en los hombres, con un índice del 12% (Forbes, 2015).

La elevada tasa de prevalencia e incidencia de alteraciones del metabolismo que preceden a la enfermedad (resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa y síndrome metabólico); así como el envejecimiento de la población, predice que el número de casos aumentará en las siguientes décadas (Aguilar *et al*; 2002, 2005). La Secretaría de Salud reporta que en las dos últimas décadas la población de pacientes obesos y diabéticos aumentó siete veces con un estimado de 4.5 millones. La diabetes es un fenómeno taxativo en la calidad de vida del paciente, además de ser la causa más frecuente de ceguera, amputaciones no traumáticas, uremia e incapacidad prematura (Secretaría de Salud, 2007).

2.1 Generalidades de la diabetes mellitus (DM)

La diabetes es un padecimiento producido por numerosos factores genéticos y ambientales que frecuentemente actúan juntos, y engloba un conjunto de alteraciones metabólicas caracterizadas por un estado crónico de hiperglicemia y cambios en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como resultado de defectos en la secreción de la insulina, una resistencia a la acción de la misma o ambas. Este síndrome

es de curso crónico-degenerativo, multisistémico y presenta una elevada tasa de prevalencia e incidencia (Maureen *et al.*, 2003; Bennett, 2003).

La insulina y el glucagón son las hormonas que regulan de manera directa la glicemia. Para que la glucosa difunda al interior de las células requiere de la acción de la insulina sobre sus receptores en la superficie de las células blanco. Esta hormona participa en un gran número de procesos metabólicos, como la regulación de intermediarios del metabolismo, control del transporte de iones a través de la membrana celular, la síntesis de proteínas, la transcripción de genes y la proliferación celular. Sin embargo, su principal papel es el de regular el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, incrementar la captura de glucosa en músculo y tejido adiposo e inhibir la producción de glucosa hepática. En el hepatocito la insulina disminuye la expresión de algunos genes clave que codifican para las enzimas responsables de la gluconeogénesis. Existen numerosos factores que pueden conducir al desarrollo de resistencia a insulina al interferir con los mecanismos de acción de esta hormona (Voet y Voet, 2008).

2.2 Tipos de diabetes mellitus (DM)

A lo largo de la historia la diabetes se ha clasificado en cuatro categorías: diabetes mellitus tipo 1 (DM1) producida por un daño de tipo auto inmune a las células beta del páncreas lo que ocasiona una deficiencia absoluta en la síntesis de insulina; DM2 causada por múltiples factores, como resistencia a la acción de la insulina y/o una inadecuada respuesta compensatoria del páncreas o la combinación de estas dos situaciones; diabetes mellitus gestacional (DMG), que se presenta durante el embarazo por alteración del metabolismo intermedio de la madre derivado de la acción de las hormonas de origen placentario, diabetes mellitus idiopática (transitoria), asociada a episodios de estrés. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en el mundo hay más de 250 millones de personas con diabetes, de las cuales el 90% de los pacientes son diagnosticados como tipo 2 y es probable que esta cifra aumente a más del doble en 2030 (Bennett, 2003; Beck-Nielsen, 2003; Islas, 2003; Castro, 2008).

2.3 diabetes mellitus tipo 2

La DM 2 es una de las enfermedades con mayor índice de prevalencia debido a que si bien los pacientes presentan complicaciones derivadas de la enfermedad con un tratamiento oportuno tienen una mejor y mayor tasa de sobre vida, lo que hace que con la elevada tasa de incidencia el número de casos de esta patología incremente aún más. Por otro lado una de las principales complicaciones en la prevención y control de este padecimiento que es una enfermedad insidiosa y frecuentemente es diagnosticada varios años después de su inicio (5 a 12 años), debido que en las primeras etapas es casi asintomática (Pratley, 2003). En los primeros estadios de la enfermedad la hiperglicemia en combinación con diversos factores predisponentes (mala alimentación, inactividad física, alcohol, cigarrillo, obesidad, dislipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial), promueven el inicio y progresión de complicaciones micro y macro vasculares. Se ha observado que al momento del diagnóstico la enfermedad cardiovascular y la neuropatía se encuentran en aproximadamente el 10% de los casos y la retinopatía y nefropatía entre el 15% y 20% (Fernández, 2006).

La historia natural de la diabetes es compleja, involucra factores tanto genéticos como ambientales (dietas hipercalóricas, la obesidad, el sedentarismo, la edad y bajo peso al nacer). Sin embargo existen tres alteraciones constantes en el desarrollo y progresión de este padecimiento: resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos (músculo, tejido adiposo y especialmente hígado); secreción alterada de la insulina en respuesta al estímulo de glucosa y aumento en la producción de glucosa hepática (Lillioja, 1998). La resistencia periférica a la insulina se presenta como una fase preclínica (en estadio de tolerancia alterada a la glucosa), además de una elevación moderada de la concentración de glucosa en sangre y elevadas concentraciones de colesterol y triglicéridos (Saad, 1991; Pratley, 2003).

2.4 Diagnóstico de diabetes

Los criterios para la valoración y el diagnóstico de la diabetes establecidos tanto por la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) y la OMS son: a) la presencia de síntomas clásicos (polidipsia, polifagia, poliuria y pérdida de peso), con el hallazgo casual, sin considerar el tiempo pasado desde la última comida, de una concentración de glucosa en sangre (glicemia) por arriba de 200 mg/dL (11.1 mmol/L); b) glicemia en ayuno superior a 126 mg/dl (7 mmol/L) y c) concentraciones de glucosa por encima de 200 mg/dL (11.1 mmol/L) en un análisis de 2 h posterior a una sobrecarga oral de glucosa de 75 g (prueba realizado según los criterios de la OMS). El hallazgo aislado de cualquiera de estos criterios no es suficiente para establecer el diagnóstico (ADA, 2005, 2011). Otros parámetros que concuerdan con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos durante el desarrollo de la diabetes son: concentraciones sanguíneas alteradas de colesterol, triglicéridos y hemoglobina glicosilada (Islas, 2003).

Los principales tratamientos para el control de la diabetes y sus complicaciones, han sido desde el siglo pasado, el uso de hipoglicemiantes e insulina, sin embargo; estos tratamientos no permiten alcanzar en todos los casos un adecuado control de la glicemia (Montanya *et al.*, 2007), por lo que en el presente siglo este síndrome se ha convertido en un problema de salud pública y pese a los avances en el conocimiento de su fisiopatología y tratamiento, los esfuerzos por disminuir la tasa de incidencia y prevalencia de este padecimiento han dado pocos resultados debido al inadecuado manejo del tratamiento y control glicémico por parte de los pacientes. Se calcula que sólo un 30% de los pacientes diabéticos presentan una disminución en el progreso de la enfermedad (ya que el tratamiento implica un cambio radical en el estilo de vida) por lo que es necesario explorar nuevas alternativas que ayuden a controlar la glicemia y prevenir el desarrollo de patologías secundaria que disminuyan la calidad y tiempo de vida de estos pacientes. En la actualidad existe diferentes líneas de investigación explorando nuevas alternativas en el tratamiento de este padecimiento, entre ellas encontramos el uso de nuevos fármacos y las técnicas quirúrgicas destinados a favorecer la síntesis y liberación de insulina.

La necesidad de los pacientes por acceder a una mejor calidad de vida los ha llevado a experimentar con el uso de la medicina alternativa en la que se incluye los alimentos funcionales y los suplementos y/o complementos alimentarios, que van desde el uso de vitaminas, aminoácidos hasta moléculas lipídicas como los ácidos grasos poliinsaturados (Hevian, 2016).

Estudios epidemiológicos y nutricionales indican que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs) (ω 3) de cadena larga, producen cambios asociados a efectos benéficos para la salud (Carrero *et al.*, 2005). Se ha observado que la suplementación de los ω 3 en la dieta a ratas diabéticas mejora los parámetros fisiológicos, que se ven afectados en el desarrollo y progresión de las enfermedades metabólicas, como son: la concentración de glucosa sanguínea, la presión arterial y las dislipidemias (aumento de triglicéridos y colesterol) (Orozco-Tapia 2008; Pérez Hernández, 2008, 2011), pero a la fecha se desconoce su mecanismo de acción. Asimismo, se ha observado que durante el desarrollo y la progresión de la diabetes y la hipertensión el uso de los ω 3 genera cambios importantes en la fluidez de las membranas celulares, tales como los fantasmas de eritrocitos, microsomas de hígado y riñón (Pérez Hernández *et al.*, 2010), lo que pudiera explicar el efecto benéfico asociado.

2.5 Justificación

Los ω 3 han sido empleados en las últimas décadas no sólo como suplementos alimentarios; sino también como fármacos en el tratamiento de padecimientos de origen metabólico como son: la diabetes mellitus tipo 2, la hiperlipidemia, el síndrome metabólico, la hipertensión entre otras. Sin embargo, se tiene poca evidencia de cuáles son los resultados de su a mediano y largo plazo, sus mecanismos de acción, la farmacocinética y los efectos que tienen tanto en la función celular como en la salud de los individuos. Es por ello que el presente estudio pretende dilucidar los cambios bioquímicos en sangre y la composición de ácidos grasos en las membranas derivados de la administración de estos ácidos grasos en individuos sanos e hiperglicémicos.

2.6 Hipótesis

La administración de ω 3 en diferentes esquemas de dosificación (0, 1, 3 ó 7 días/semana), modificará la glicemia, colesterol, triglicéridos, CTG y la composición de ácidos grasos de eritrocitos de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y ratas normoglicémicas (controles).

3. Objetivo general

Evaluar el comportamiento de parámetros bioquímicos en sangre y en fantasmas de eritrocitos, por efecto de distintos esquemas de administración de ácidos grasos ω -3 en ratas inducidas a DM2 con STZ.

3.1 Objetivos particulares

- ✓ Estudiar el efecto de los diferentes tratamientos de $\omega 3$ sobre la glicemia de ratas diabéticas y controles.
- ✓ Cuantificar si en este modelo de diabetes, se altera la concentración de colesterol, con y sin suplemento de los $\omega 3$.
- ✓ Observar el efecto de los $\omega 3$ sobre la concentración de triglicéridos sanguíneos, en ratas inducidas a DM2.
- ✓ Determinar el grado de avance de la diabetes mediante Curvas de Tolerancia a la glucosa.
- ✓ Analiza la composición de ácidos grasos en fantasmas de eritrocitos de ratas con DM2.
- ✓ Examinar la correlación existente entre los diferentes parámetros.

4. Material y métodos

Los reactivos y solventes utilizados en este trabajo fueron grado reactivo y se adquirieron de J.T Baker, Merck y Sigma. Los reactivos para la cromatografía de gases fueron grado HPLC de la marca J.T Baker. Los estándares de los metil ésteres se adquirieron de Sigma-Aldrich con una pureza mínima del 98%.

4.1 Animales de experimentación.

Se utilizaron 10 ratas Wistar, hembra, de 4 meses de edad, con un peso promedio de 250 g, albergadas en el bioterio de la FES Iztacala, en forma individual en jaulas de polisulfonato con sistema de microaislamiento, con alimento (Labdiet 5012 Pet-Food©) y agua *ad libitum* y fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad a 22 °C.

Se realizó frotis vaginal a los animales para diagnosticar el estro, aquellas que resultaron positivas cohabitaron con machos sanos de la misma estirpe toda la noche para su apareo. Durante la mañana se realizó diagnóstico de apareo mediante frotis vaginal. La hembras positivas a apareo se albergaron de forma individual, a los 12 días post-coito se confirmó la gestación mediante palpación abdominal (gravidez de los cuernos uterinos), aquellas que no fueron positivas a gestación fueron puestas nuevamente con el macho. Las hembras positivas a gestación fueron mantenidas en forma individual y monitoreadas hasta el parto, momento en el cual se seleccionaron los machos formando pares por camada para obtener un animal control y un tratado de la misma madre. Las hembras fueron eliminadas de las camadas. Los animales de cada grupo fueron elegidos en un sistema completamente aleatorizado para formar dos grupos de 45 individuos cada uno.

4.2 Inducción de diabetes tipo 2 a ratas Wistar macho

Entre las 48 a 72 h de edad, se indujo a DM 2 a uno de los grupos (45 animales) mediante la administración de 125 mg de STZ/kg de peso corporal en 50 μ L de amortiguador de citratos a pH de 4.5, vía intraperitoneal (grupo STZ), al otro grupo de 45 animales se le administró 50 μ L de amortiguador (Control). Los animales se mantuvieron con la madre hasta el destete (cuatro semanas de edad) y posteriormente se albergaron en grupos de 4 animales, en cajas de polisulfonato.

Criterios de inclusión: para el grupo STZ, animales con glicemias mayores a 120 mg/dL; y para el grupo control, menores a 110 mg/dL.

4.3 Tratamiento: con ω 3.

Los ácidos ω 3 fueron suplementados a dosis de 125 mg/kg de peso, vía oral, iniciando el tratamiento a los 30 días de edad. El esquema que se utilizó fue 1, 3 y 7 días por semana, con una *n* de 4 animales por tratamiento. Este esquema se utilizó en ambos grupos (Control y STZ). La duración de los tratamientos fue de 2 y 5 meses.

Ratas Wistar-Macho

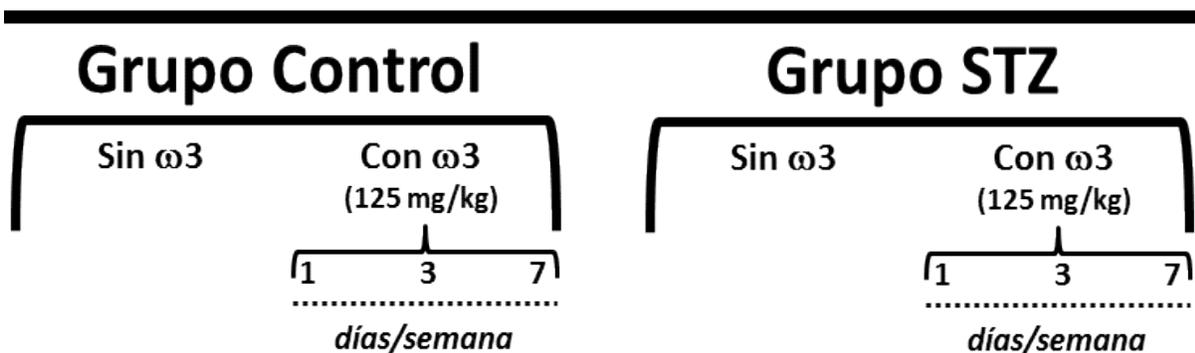


Figura 1. Diseño experimental: Factorial con bloques, completamente aleatorizado: Factorial: 2(Grupos: control vs STZ) X 4(Tratamientos [ω 3/días/semana]: 0 vs 1 vs 3 vs 7) X 3(Tiempos [meses]: 1 vs 3 vs 6).

Tratamiento <i>w3 125 mg/kg</i> <i>(días/semana)</i>	Grupo Control			Grupo STZ		
	Edad (meses)			Edad (meses)		
	1	3	5	1	3	5
0	CN0-1	CN0-3	CN0-5	STZ0-1	STZ0-3	STZ0-5
1	CN ω 3(1,1)	CN ω 3(1,3)	CN ω 3(1,5)	STZ ω 3(1,1)	STZ ω 3(1,3)	STZ ω 3(1,5)
3	CN ω 3(3,1)	CN ω 3(3,3)	CN ω 3(3,5)	STZ ω 3(3,1)	STZ ω 3(3,3)	STZ ω 3(3,5)
7	CN ω 3(7,1)	CN ω 3(7,3)	CN ω 3(7,5)	STZ ω 3(7,1)	STZ ω 3(7,3)	STZ ω 3(7,5)

Tabla 1. Esquema del diseño experimental de ratas wistar-macho inducidas a diabetes tipo 2 (STZ [125 mg/kg]) y su grupo control, tratadas con (ω 3 [125 mg/kg]) en tres distintos esquemas (1, 3 ó 7 [días/semana]).

4.4 Determinación de parámetros fisiológicos.

La glucosa, el colesterol y los triglicéridos fueron cuantificados con un equipo **Accutrend®** de Roche. La curva de tolerancia a la glucosa se realizó mediante la administración oral (con sonda esofágica) de 3 g de dextrosa/kg de peso en 3 mL de agua; previa medición de la concentración basal de glucosa sanguínea. Posterior a la administración de la dextrosa, se realizaron mediciones de las concentraciones de glucosa sanguínea, cada 30 min, hasta 240 min. Las mediciones de peso y glucosa, se realizaron semanalmente y la CTG, colesterol y triglicéridos una vez al mes. Para la realización de las pruebas se mantuvo a los animales en ayuno durante 8 h.

4.5 Obtención de las muestras de sangre.

Concluido el periodo experimental los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/Kg de peso), por vía intraperitoneal. Para la obtención de las muestras de sangre se realizó punción cardiaca, y las muestras se colectaron en tubos Vacutainer® de 5 mL con y sin EDTA. Los tubos se agitaron suavemente para evitar la formación de coágulos.

4.6 Lineamientos de Bioética.

Para la realización de este estudio se siguieron las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM 062-ZOO-1999). Al término del mismo se realizó eutanasia los animales con sobredosis de pentobarbital sódico como lo recomienda la AVMA Guidelines on Euthanasia (2007).

4.7 Obtención de fantasmas de eritrocitos (Quinn *et al*, 2005).

1. La sangre fue transferida a tubos Falcon de 50 mL a los que se le adicionaron 20 mL de solución isotónica de fosfatos, y se centrifugó a 1500 g durante 10 min. en una centrífuga marca Sorvall ST 16R de Thermo Scientific con rotor F15-6x100.
2. Obtención del paquete celular: Después de la centrifugación se decantó el sobrenadante para obtener la pastilla. Se adicionaron 30 mL de solución hipotónica de fosfatos 5 mM y se centrifugó a 11500 g durante 10 min. El procedimiento se repitió el número de veces que fue necesario hasta que el sobrenadante fue transparente e incoloro.
3. Se obtuvo la pastilla (fantasmas de eritrocitos) y se resuspendió en amortiguador de fosfatos. Las muestras se almacenaron en tubos Eppendorf a una temperatura de 4 °C para posteriormente utilizarse.

4.8 Transesterificación de ácidos grasos

Se llevó a cabo por el método de Morrison y Smith (1964). Los fantasmas de eritrocitos obtenidos fueron resuspendidos en 1 mL de trifloruro de boro (BF₃) al 14% en metanol, se colocaron 300 µL de muestra en viales de 4 mL, se evaporaron los solventes con nitrógeno gaseoso. Se colocaron los viales en baño maría a ebullición, y se dejaron hervir durante 30 min. Al cabo de este tiempo se atemperaron y se agregaron 500 µL de hexano HPLC y 500 µL de agua bidestilada, se agitó fuertemente y se colectó la fracción

hexánica, la cual contiene los metil ésteres. Finalmente la muestra fue evaporada con nitrógeno gaseoso y se almacenó protegida de la luz a -20°C.

4.9 Análisis por cromatografía de gases.

Los metil ésteres de ácidos grasos fueron resuspendidos en 40 µL de hexano. Se inyectaron 3 µL en el cromatógrafo de gases Clarus 500 (Perkin Elmer), que cuenta con un detector de ionización de flama (FID), una columna capilar omegawax (Supelco) con una longitud de 30 m y un diámetro interno de 0.25 mm y un grosor de 0.25 µm y fue controlado por computadora. La flama se mantuvo encendida con una mezcla de hidrógeno y aire. Se utilizó como gas de arrastre nitrógeno de alta pureza, con un flujo de 14 mL/min. El programa utilizado está diseñado de la siguiente manera: Inicio a 180 °C/5 min, con una rampa de 5 °C/min hasta los 240 °C, este esquema se mantuvo por 18 min, para un tiempo total de 35 min. La identidad de los ácidos grasos se obtuvo por comparación de los tiempos de retención del metil éster estándar. Para obtener las porciones molares porcentuales se hizo una integración del área bajo la curva de cada uno de los picos detectados.

4.10 Análisis estadístico.

Se realizó el análisis de las medidas de tendencia central: promedio (\bar{x}) y desviación estándar (σ) de los datos obtenidos para ver su distribución. Así mismo se realizó prueba de Kolmogorov –Smirnov para probar normalidad de los datos. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza multivariado (MANOVA) con prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 0.95 ($p < 0.05$). Los valores de colesterol y triglicéridos se analizaron mediante la determinante de Cramer. Se realizó correlación de las variables de estudio concentración de glucosa, triglicérido y colesterol en sangre y composición de ácidos grasos en fantasmas de eritrocitos. Los resultados se presentaron como gráficos o tablas. Las pruebas estadísticas se corrieron el programa SigmaPlot-Scientific Data Analysis and Graphing versión 13 (2017).

5. Resultados

5.1 Efecto de los ácidos ω 3 sobre el peso de ratas normoglicémicas y DM2.

En la figura 2 se muestran las curvas de crecimiento de todos los grupos con los que se trabajó en esta tesis. Del lado izquierdo se observa el peso de los grupos normoglicémicos (control) con los diferentes esquemas de suplementación de los ω 3 (0, 1, 3 ó 7 días /semana) y del lado derecho se presenta el peso de los animales que fueron inducidos a diabetes mediante la inyección intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) con sus correspondientes esquemas de suplementación ω 3 (0, 1, 3 ó 7 días/semana). En general se puede observar que en las ratas control, a mayor frecuencia de administración de ω 3, mayor es su peso. Por ejemplo, a los 6 meses de edad las ratas sin suplementación de omega 3 (ω 3-0) pesaron 523 ± 15 g, las de 1 día a la semana (ω 3-1) 543 ± 23 g, las de 3 días a la semana (ω 3-3) 597 ± 45 g y las de 7 días a la semana (ω 3-7) 635 ± 117 . Si bien es cierto que no tienen diferencias estadísticas significativas debido a la dispersión de los datos, se muestra una clara tendencia a aumentar de peso (3.8, 14.1 y 21.4 %) de acuerdo al esquema de administración de ω 3, lo cual podría significar el preludeo del desarrollo de la obesidad.

Por otro lado se puede observar en la misma figura 2, que en las ratas tratadas con STZ no ocurre un fenómeno distinto al observado con las ratas control. Los grupos STZ (ω 3-0), STZ (ω 3-1) y STZ (ω 3-3) a los 6 meses de edad tienen un intervalo de peso de 409 a 438 g, que se encuentra entre 85 y 114 g por debajo de las ratas control sin ω 3 o dicho de otra forma, alrededor del 20% menos. Las ratas STZ con ω 3, 7 días a la semana (STZ ω 3-7), a los 6 meses de edad pesaron 507 ± 17 g, casi igual que las ratas control sin ω 3. Lo anterior parece indicar que la administración frecuente de ω 3 a ratas DM2, tiene un efecto positivo sobre el peso.

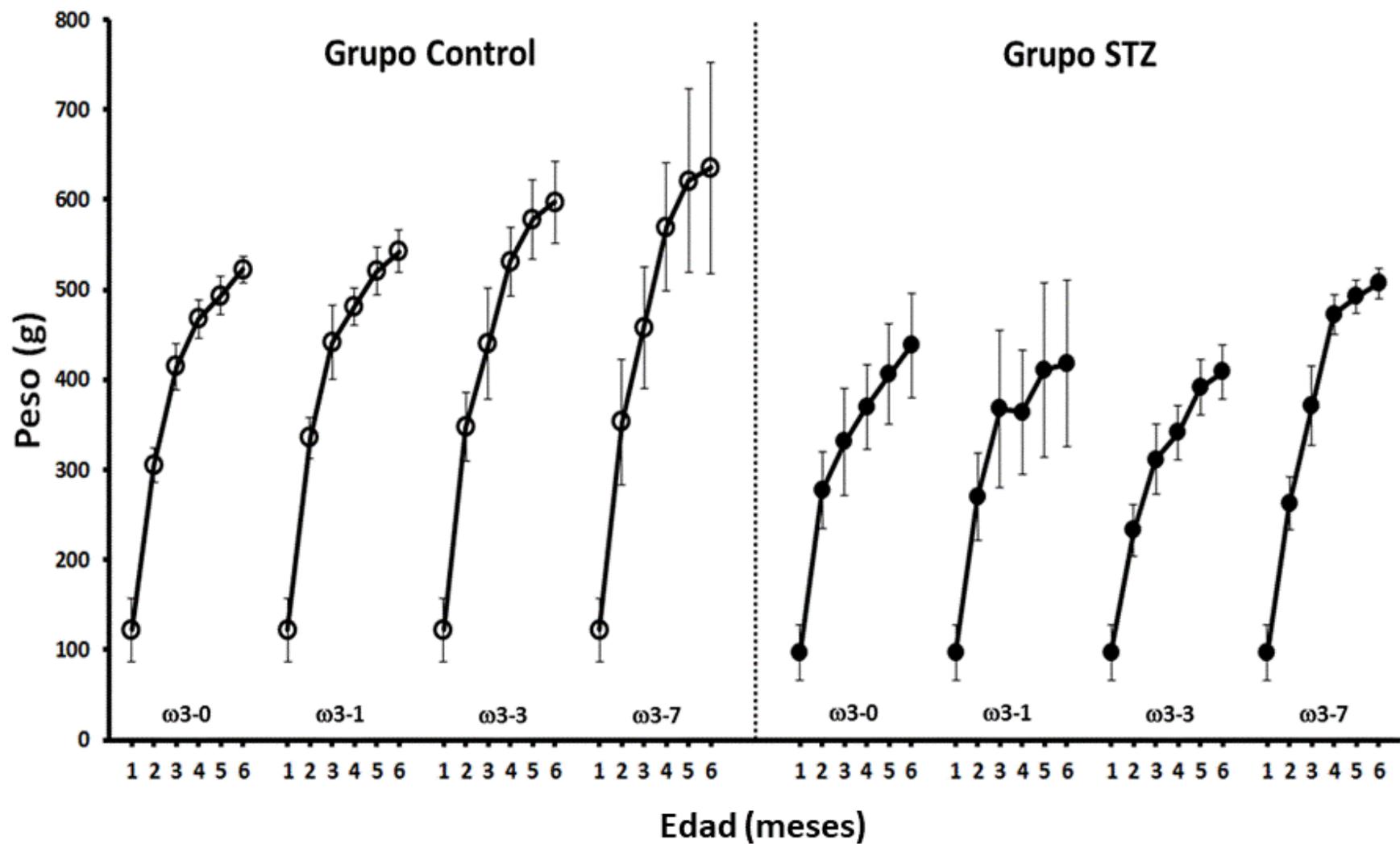


Figura 2. Curva de crecimiento de ratas Wistar normoglicémicas (Grupo Control) e inducidas a DM2 (Grupo STZ); ambos grupos fueron tratados con ω 3 (125 mg/kg) con diferentes esquemas de dosificación (0, 1, 3 ó 7 días/semana) a partir de un mes de edad. n = 5 a 1 mes y 6 meses; n = 4 de 2 a 3 meses.

De acuerdo a lo que se esperaba, en la figura 2 se puede apreciar que en general, las ratas inducidas a diabetes tienen un menor crecimiento. Para apreciar mejor este efecto, en la figura 3a se compara la ganancia de peso de las ratas control o normoglicémicas contra las inducidas a diabetes (sin suplemento de $\omega 3$). Se observa que en los meses iniciales, cuando la progresión de la diabetes no es significativa y las ratas aún son jóvenes, el crecimiento en ambos grupos es similar. Sin embargo, a partir del tercer mes de edad, los animales diabéticos ganan menos peso, fenómeno que se observa hasta los 6 meses de edad. Es importante señalar que a partir del tercer mes de edad, los animales diabéticos pesan entre 10 y 20% menos que las ratas control ($p < 0.05$).

En la figura 3b, se comparan la ganancia de peso de ratas control y diabéticas suplementadas con $\omega 3$ por 1 día a la semana ($\omega 3-1$). Es claro que las ratas inducidas a diabetes ganan menos peso que las ratas control en todas las edades, pero algo interesante es el hecho de que la desviación estándar de los datos de las ratas diabéticas es mucho mayor que el control. Esto significa que la administración de $\omega 3$ con una frecuencia de 1 día a la semana, no ayuda a controlar el peso generado por la diabetes, por lo que la diferencia estadística sólo es observada en algunos tiempos del muestreo ($p < 0.05$).

En la figura 3c se comparan las curvas de crecimiento de ratas (control y STZ) administradas por 3 días a la semana con $\omega 3$ ($\omega 3-3$). Aunque el peso de las ratas inducidas a diabetes con STZ es menor en todas las edades ($p < 0.05$), es interesante el hecho de que la desviación estándar de los datos disminuye en comparación con las $\omega 3-1$ diabéticas y por otro lado, la desviación estándar de los datos de las ratas control con el esquema de administración de 3 días a la semana de $\omega 3$, aumentó respecto a las ratas control con la administración de 1 día a la semana.

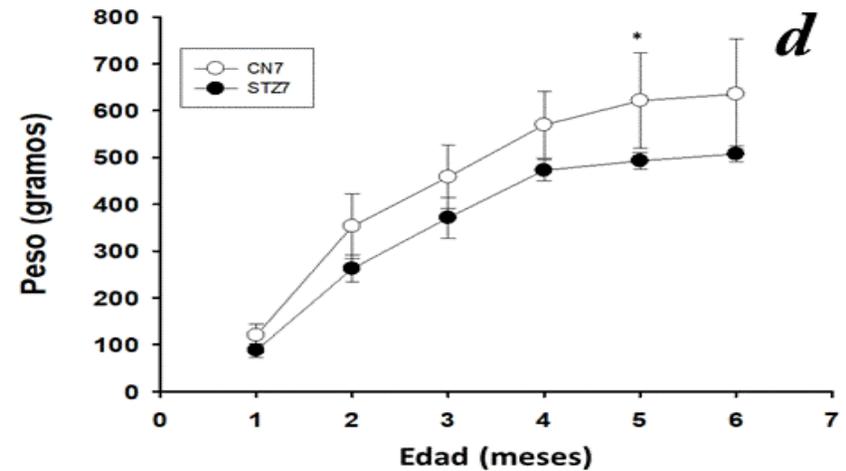
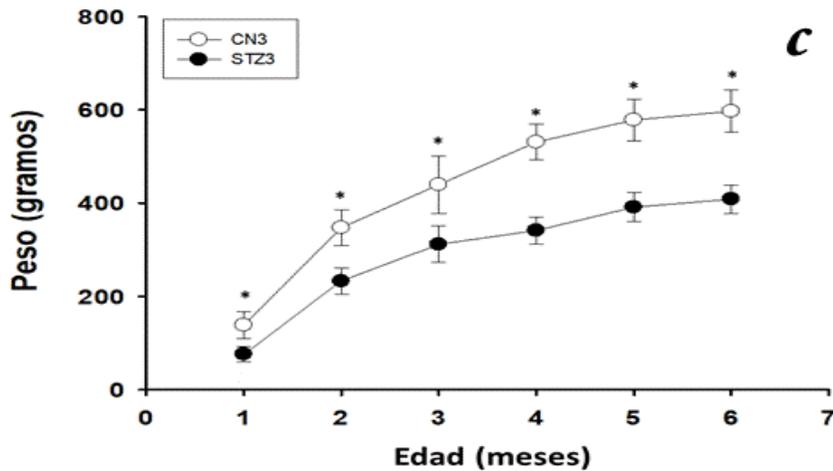
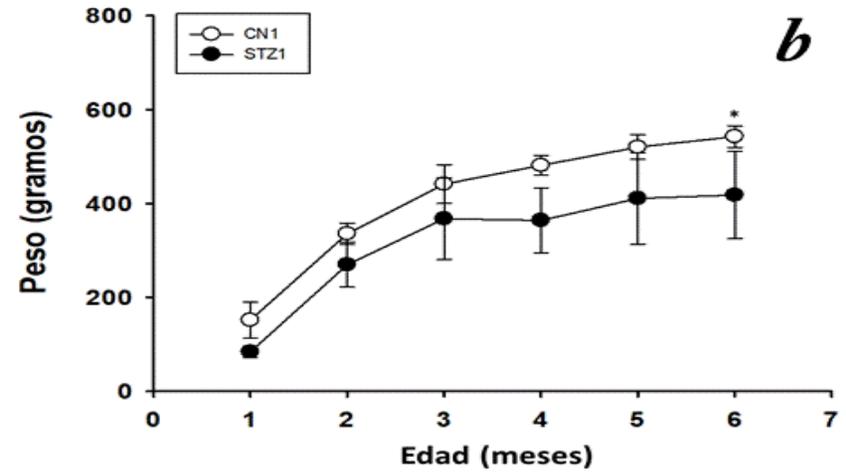
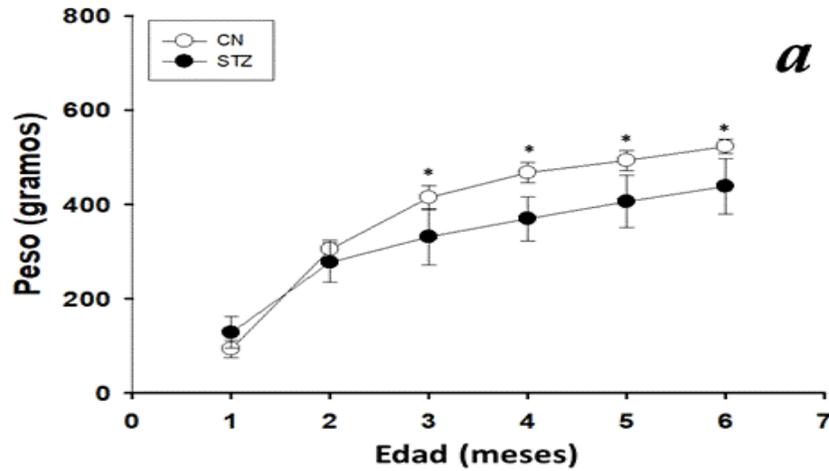


Figura 3. Comparación de la velocidad de crecimiento de ratas control contra ratas diabéticas con los diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos. a) Sin ácidos grasos omega-3 (ω 3-0); b) ácidos grasos omega-3 por 1 día a la semana (ω 3-1); c) ácidos grasos omega-3 por 3 días a la semana (ω 3-3); d) ácidos grasos omega-3 por 7 días a la semana (ω 3-7). * $p < 0.05$. $n = 6$

En la figura 3d se muestra el resultado de administrar $\omega 3$ por 7 días a la semana ($\omega 3-7$) a las ratas control y las diabéticas. Se muestra que al igual que en los casos anteriores, el peso de las ratas inducidas a diabetes sigue siendo más bajo que las ratas control, sin embargo ahora es evidente que la desviación estándar de los datos es mucho mayor en las ratas control, mientras que la desviación de las ratas inducidas a diabetes es más pequeña que en las ratas con menos días de suplementación de $\omega 3$. Al parecer, el suministro frecuente de $\omega 3$ regularizó el peso de las ratas diabéticas pero provocó una tendencia hacia la obesidad en las ratas control.

5.2 Glicemia antes de empezar los tratamientos con $\omega 3$

En la figura 4 se presenta la glicemia de las ratas, control e inducidas a diabetes, al mes de edad, antes del comienzo del tratamiento con los $\omega 3$. Es importante señalar que el promedio de la concentración de glucosa sanguínea de los animales del grupo control fue de 103.6 ± 11.3 mg/dL, 22% menor que en los animales inducidos a diabetes, que tenían un valor de 126.6 ± 21.2 mg/dL, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

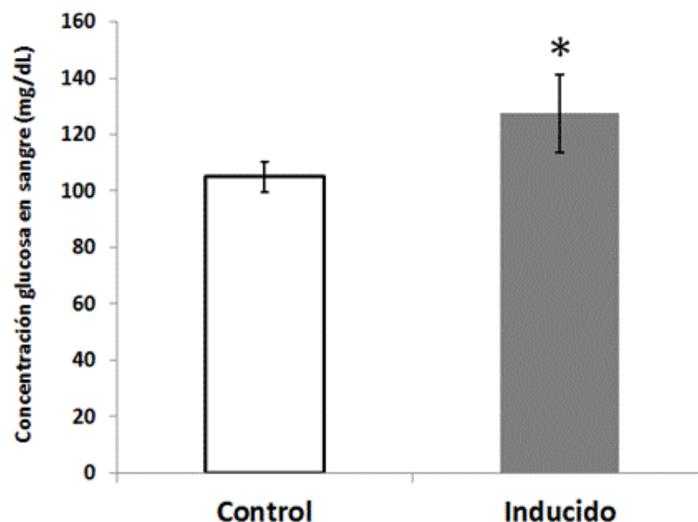


Figura 4. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar inducidas a diabetes tipo 2(STZ) y su control antes del tratamiento (1 mes de edad). $n = 5$ para Control y $n = 4$ para STZ $p < 0.05$.

5.3 Efecto de los ω 3 en la glicemia de ratas control y DM2.

En la figura 5 se puede observar que los animales del grupo control tienen concentraciones de glucosa en sangre entre 73.3 y 103.6 mg/dL, sin una alteración aparente de este parámetro a lo largo del estudio (5 meses de tratamiento). Sin embargo, en el grupo de animales DM2 la glicemia oscila de 95.9 mg/dL en los primeros meses de edad, hasta los 280 mg/dL en los últimos meses del tratamiento. En las ratas inducidas a diabetes (STZ ω 3-0, ω 3-1 y ω 3-3) la glicemia se mantiene en concentraciones cercanas a las normales durante los primeros 3 meses de tratamiento y posteriormente empieza a incrementar, indicando el desarrollo de la diabetes. También se puede observar en el grupo STZ ω 3-7 que hay un menor incremento de la glicemia que en los otros dos grupos, lo cual indica cierto efecto positivo por parte de los ω 3 en la regulación de la glicemia. En el grupo STZ ω 3-7 (con administración de ácidos grasos diariamente) es claro que la glicemia no aumentó como en los otros grupos y se mantuvo en concentraciones cercanas a las normales lo cual indica que se previno o controló el desarrollo de la hiperglicemia con la administración diaria de los ω 3 ($p < 0.05$). También se observó que la desviación estándar de los datos disminuyó considerablemente, indicando un mejor control de la glicemia en ese grupo.

En la figura 5 se puede apreciar que en los grupos control, los diferentes esquemas de administración de ω 3 no tuvieron efectos sobre la glicemia de las ratas. Sin embargo se debe aclarar dos cosas; primero, la escala no es la más apropiada para evaluar si hubo cambios en el grupo control y segundo, que el tiempo de ayuno para medir la glicemia en estas ratas fue de al menos 8 horas. Normalmente, se emplean en tiempos 2 a 4 horas de ayuno antes de realizar las mediciones de glucosa sanguínea, sin embargo en este trabajo decidimos prolongar dicho periodo de ayuno.

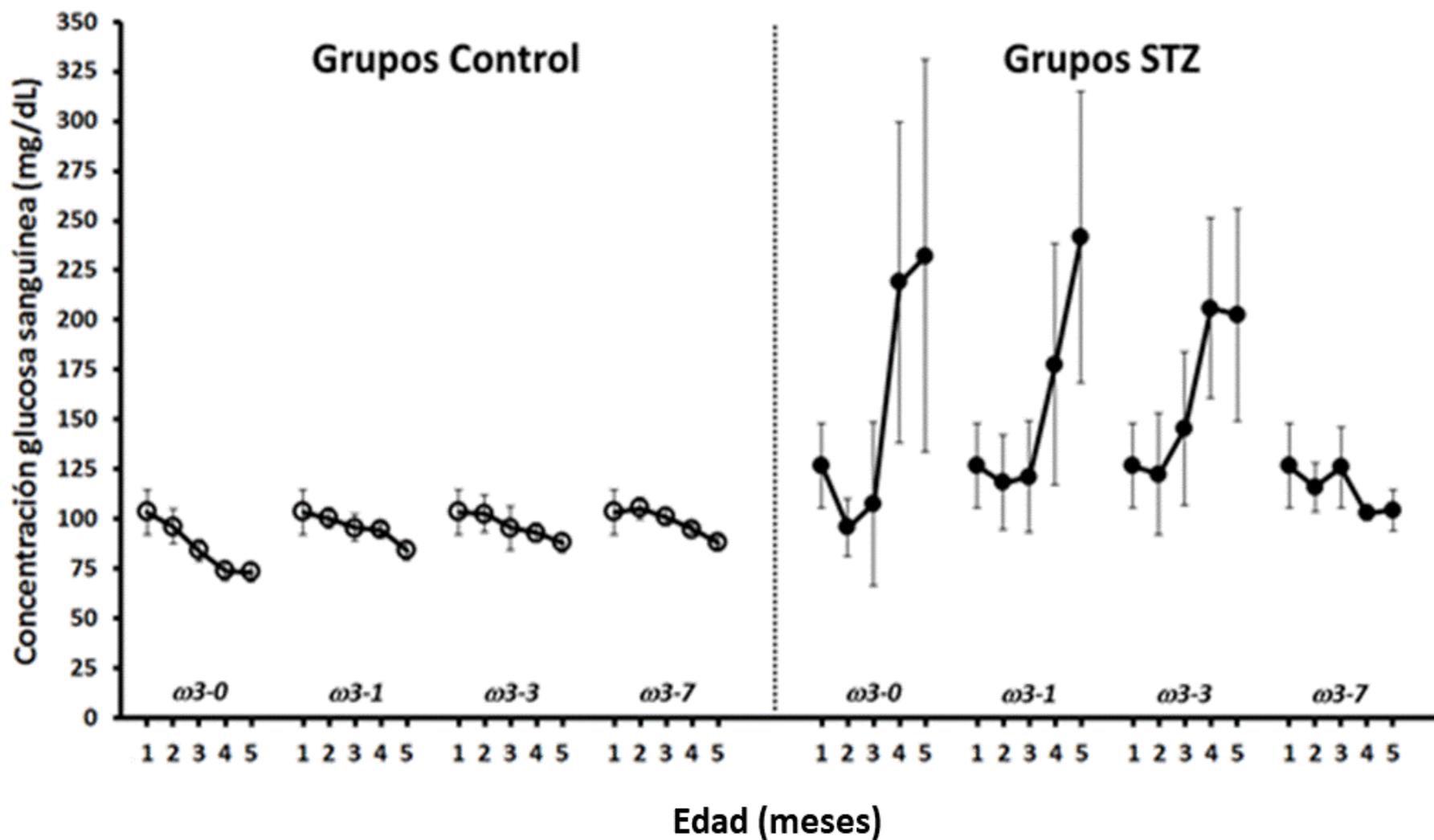


Figura 5. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar normoglicémicas (grupos control) e inducidas a diabetes (grupos STZ) y tratadas $\omega 3$ (125 mg/kg) en diferentes esquemas de dosificación (0, 1, 3 ó 7 días/semana).

En la figura 6 se presenta una comparación del efecto de cada uno de los esquemas de dosificación de ω 3 en ratas control y diabéticas. En la figura 6a se compara la glicemia de ratas control e inducidas a diabetes sin tratamiento de ω 3, en esta se observa claramente que en los primeros meses de edad (hasta el tercer mes), la glicemia en ambos grupos es similar. A partir del cuarto mes hay un aumento importante de la glicemia de las ratas inducidas a diabetes con STZ, esta hiperglicemia se mantiene alrededor de los 200 mg/dL, con grandes desviaciones estándar como se esperaba, indicando las que presentan en estos animales cuando se tiene control de la glicemia, similar a lo que sucede en los pacientes con DM2.

En la figura 6b se compara la glicemia de ratas, control e inducidas a diabetes, que recibieron ω 3 por 1 día a la semana. El perfil es similar al de las ratas que no recibieron suplemento, aunque el desarrollo de la hiperglicemia es un poco más paulatino y no tan abrupto. Las desviaciones estándar del grupo STZ fueron ligeramente menores que en las ratas sin ω 3. Los grupos que recibieron ω 3 por 3 días a la semana (Figura 6c) presentaron un perfil similar. Sin embargo, las ratas que recibieron ω 3 a diario (7 días a la semana) (Figura 6d), pese a que tienen glicemias ligeramente mayores que las ratas control, no existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Al parecer, los ω 3 administrados diariamente ayudaron a controlar la glicemia de las ratas inducidas a diabetes con STZ.

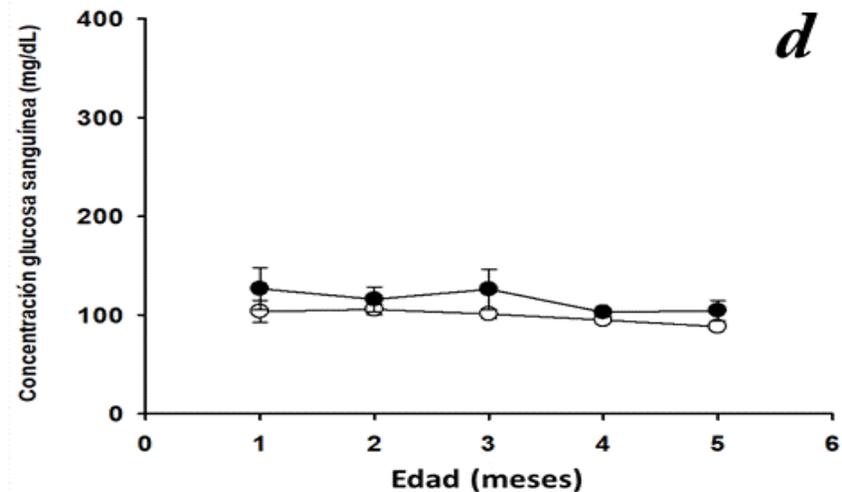
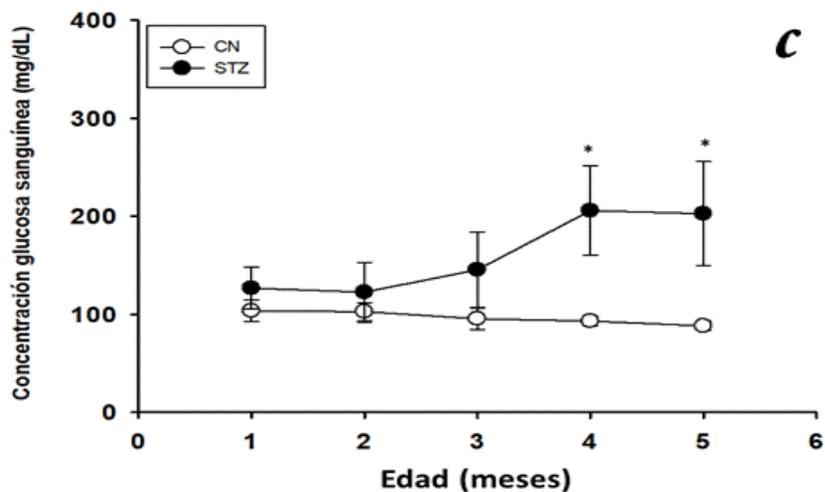
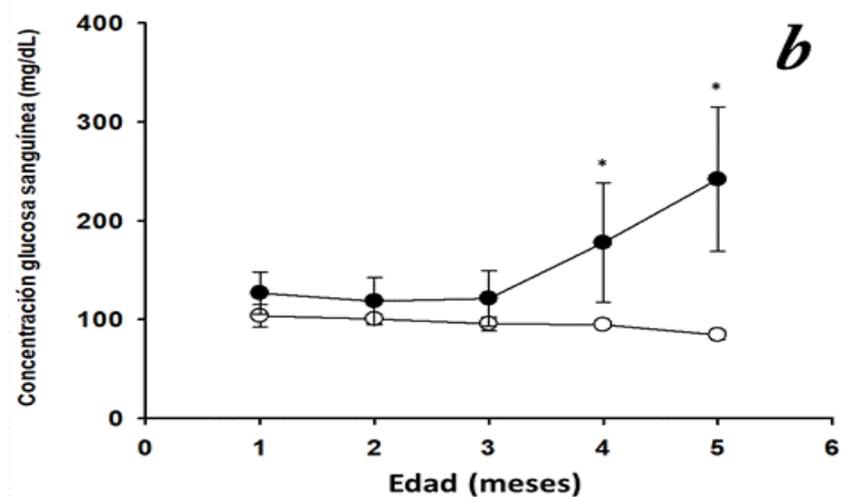
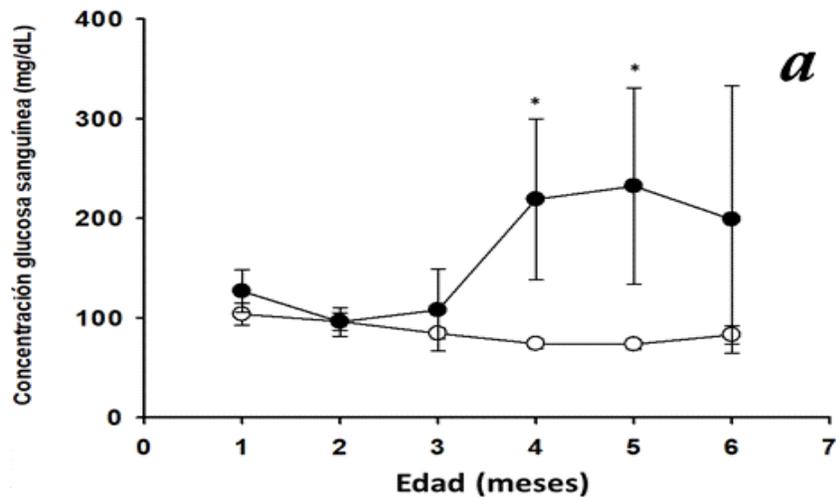


Figura 6. Efecto del esquema de dosificación de ω_3 , sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas wistar, controles (○) e inducidas a diabetes (●). a) sin suplemento (ω_3-0); b) 1 día a la semana (ω_3-1); c) 3 días a la semana (ω_3-3); d) 7 días a la semana (ω_3-7). * $p < 0.05$. $n = 6$

5.4 Efecto de los ω 3 en los triglicéridos de ratas control y DM2.

En la figura 7 se presenta el efecto de los diferentes esquemas de administración de ω 3 sobre la concentración de triglicéridos sanguíneos en ratas control y ratas inducidas a diabetes (grupos STZ). Se puede observar en los grupos STZ que con el desarrollo de la diabetes (grupo ω 3-0) hay una clara tendencia a incrementar la concentración de triglicéridos en sangre; sin embargo, la administración de ω 3 a los grupos inducidos a diabetes tiende a disminuir desde el esquema de 1 día a la semana (ω 3-1) y hasta la aplicación diaria, 7 días a la semana (ω 3-7). Sin embargo, en los grupos control, se observa el efecto contrario, es decir que la administración de ω 3 aumenta la concentración de triglicéridos sanguíneos en los diferentes esquemas de administración, desde el de 1 día a la semana hasta 7 días a la semana.

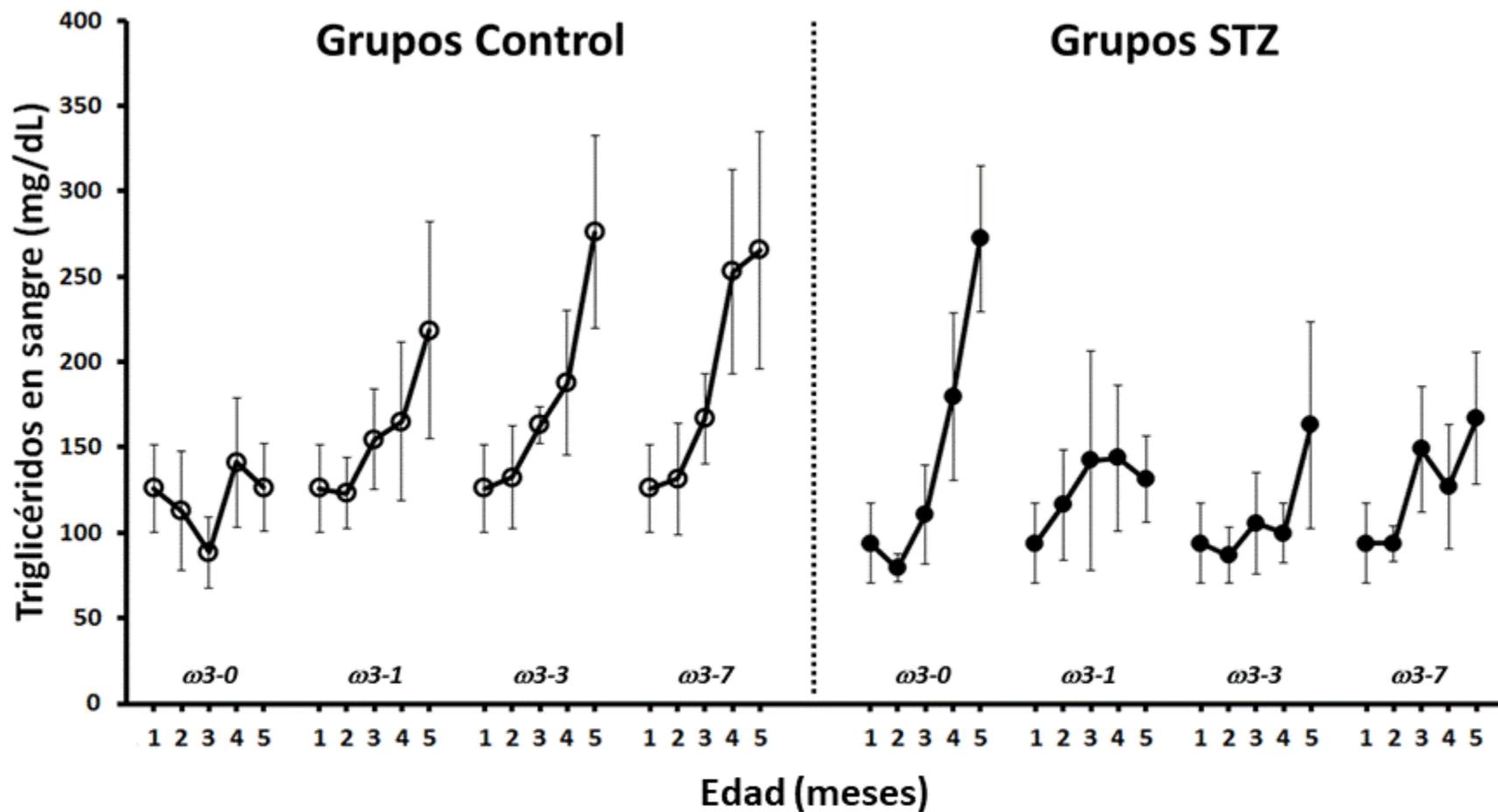


Figura 7. Efecto de diferentes esquemas de dosificación $\omega 3$ sobre la concentración de triglicéridos en sangre de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●). Las ratas se suplementaron con $\omega 3$ (125 mg/kg) por 0, 1, 3 ó 7 días a la semana.

Para un mejor análisis de los efectos encontrados de los $\omega 3$ sobre los grupos control y diabéticos, en la Figura 8 se comparan dichos grupos bajo el mismo esquema de dosificación. En la figura 8a (sin suplemento) se muestra que la progresión de la diabetes (grupos STZ) causa un incremento en los triglicéridos sanguíneos, este mismo efecto se puede observar si se analizan los datos respecto a la edad y se hacen aún mayores en individuos diabéticos. Es interesante observar en la figura 8a que los individuos diabéticos (círculos negros) la concentración de triglicéridos está por arriba de los controles (círculos blancos) la Figura 8a están por arriba de los blancos (control), sin embargo conforme se aumenta la frecuencia de administración de ácidos grasos, la dispersión de los datos es menor y la diferencia entre grupos también; por ejemplo con un día de administración a la semana (Figura 8b), los datos se encuentran muy cercanos unos a otros, lo que sugiere que los triglicéridos en diabéticos tiende a disminuir y en los controles a aumentar. Cuando se suministran los $\omega 3$ por 3 días a la semana (Figura 8c), los controles (círculos blancos) están por arriba de los (STZ) y ese mismo patrón se observa con la administración por 7 días a la semana (Figura 8d). En resumen, a los animales de los grupos tratados con STZ los $\omega 3$ les ayudó a regular la concentración de triglicéridos en sangre, pero en los grupos control causó incrementó.

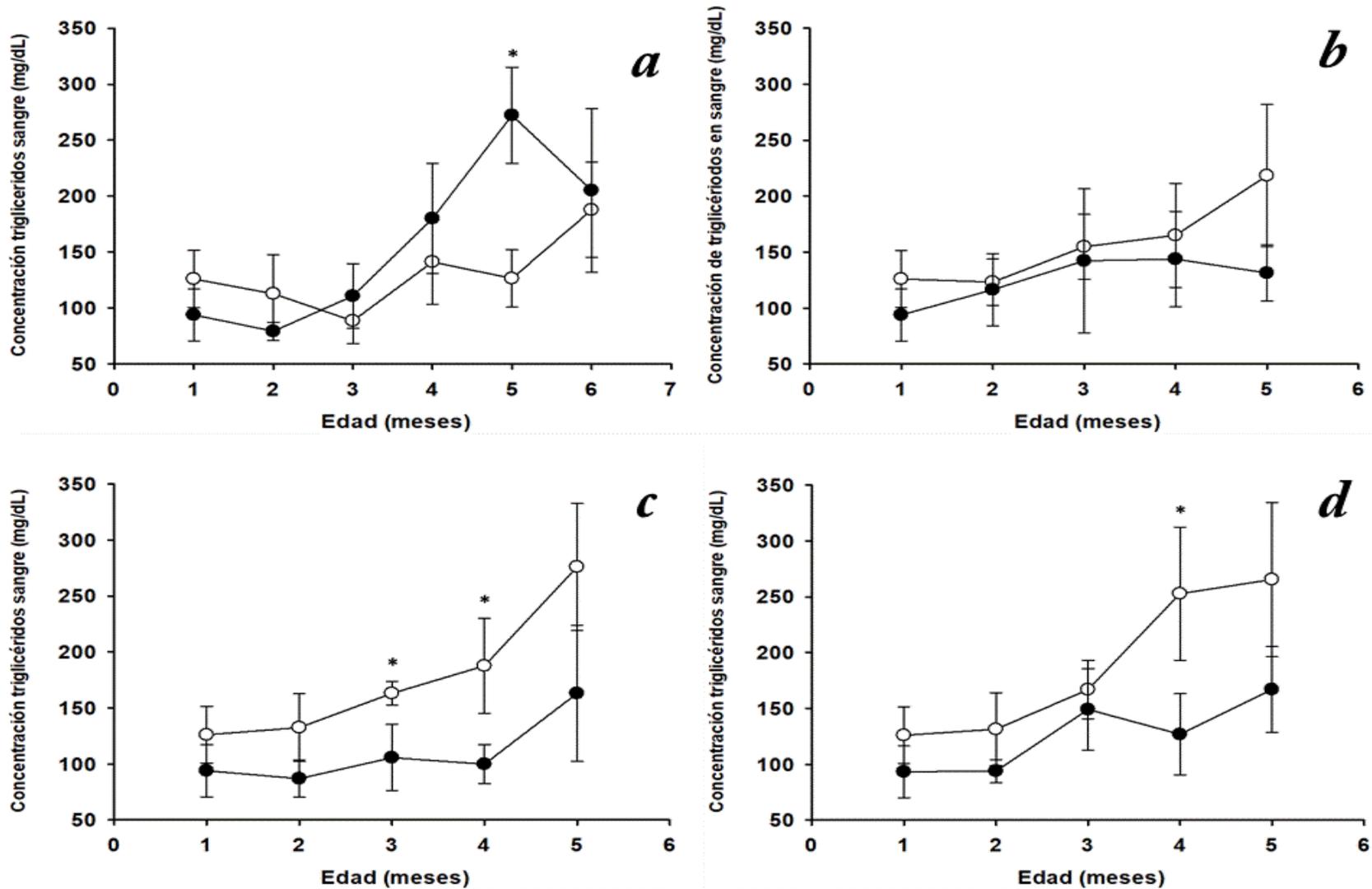


Figura 8. Comparación del efecto del esquema de administración de ω 3 sobre los triglicéridos sanguíneos en ratas control (○) y STZ (●). a) Sin suplemento de ácidos grasos omega 3; b) 1 día a la semana; c) 3 días a la semana; y d) 7 días a la semana. * $p < 0.05$. $n = 6$

5.5 Efecto de los $\omega 3$ en la concentración del colesterol de ratas control y DM2.

En la Figura 9 se presenta la concentración de colesterol en sangre en los animales control e inducidos a diabetes (STZ). En este caso se observa que en ambos grupos, tanto los normoglicémicos como los inducidos a diabetes (STZ), la concentración de colesterol se mantiene en promedio entre 135 y 170 mg/dL. En cuanto a los $\omega 3$ tampoco modificó este parámetro en ninguno de los grupos.

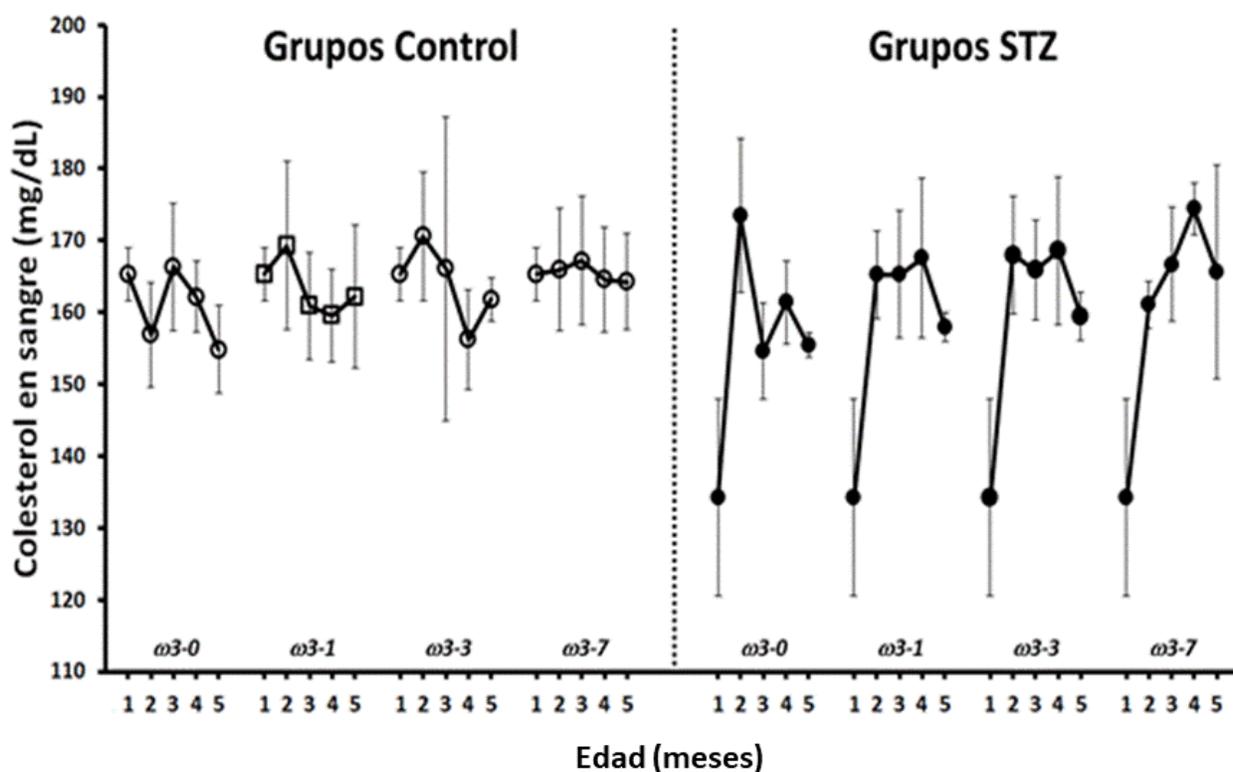


Figura 9. Concentración de colesterol en sangre de ratas Wistar control e inducidas a diabetes (STZ), tratadas con diferentes esquemas de dosificación de $\omega 3$ (0, 1, 3 ó 7 días a la semana).

5.6 Efecto de los ω 3 en el control de la glicemia (Curvas de Tolerancia a la Glucosa).

En la Figura 5 se mostró la concentración de glucosa en sangre de las ratas control e inducidas a diabetes, sometidas a los diferentes esquemas de dosificación de los ω 3. La forma de la gráfica de estos resultados genera la impresión de que los ω 3 ayuda a la regulación y mantenimiento de la glicemia en ratas diabéticas y que no se tienen efectos no deseados en los animales control, al menos en lo que se refiere a glicemia. En esta sección se analiza la capacidad que tienen los animales de controlar la glicemia. Así, en la Figura 10 se presentan las curvas de tolerancia a la glicemia (CTG) de las ratas control (círculos blancos) y diabéticas (círculos negros) a diferentes tiempos desde el inicio de los tratamientos. Es claro que a medida que pasa el tiempo, las ratas inducidas a diabetes con STZ, van perdiendo la capacidad de controlar la glucosa sanguínea cuando se les proporciona la dextrosa vía digestiva. Por otro lado, los grupos control parecen no tener alteración alguna, al menos a esa escala.

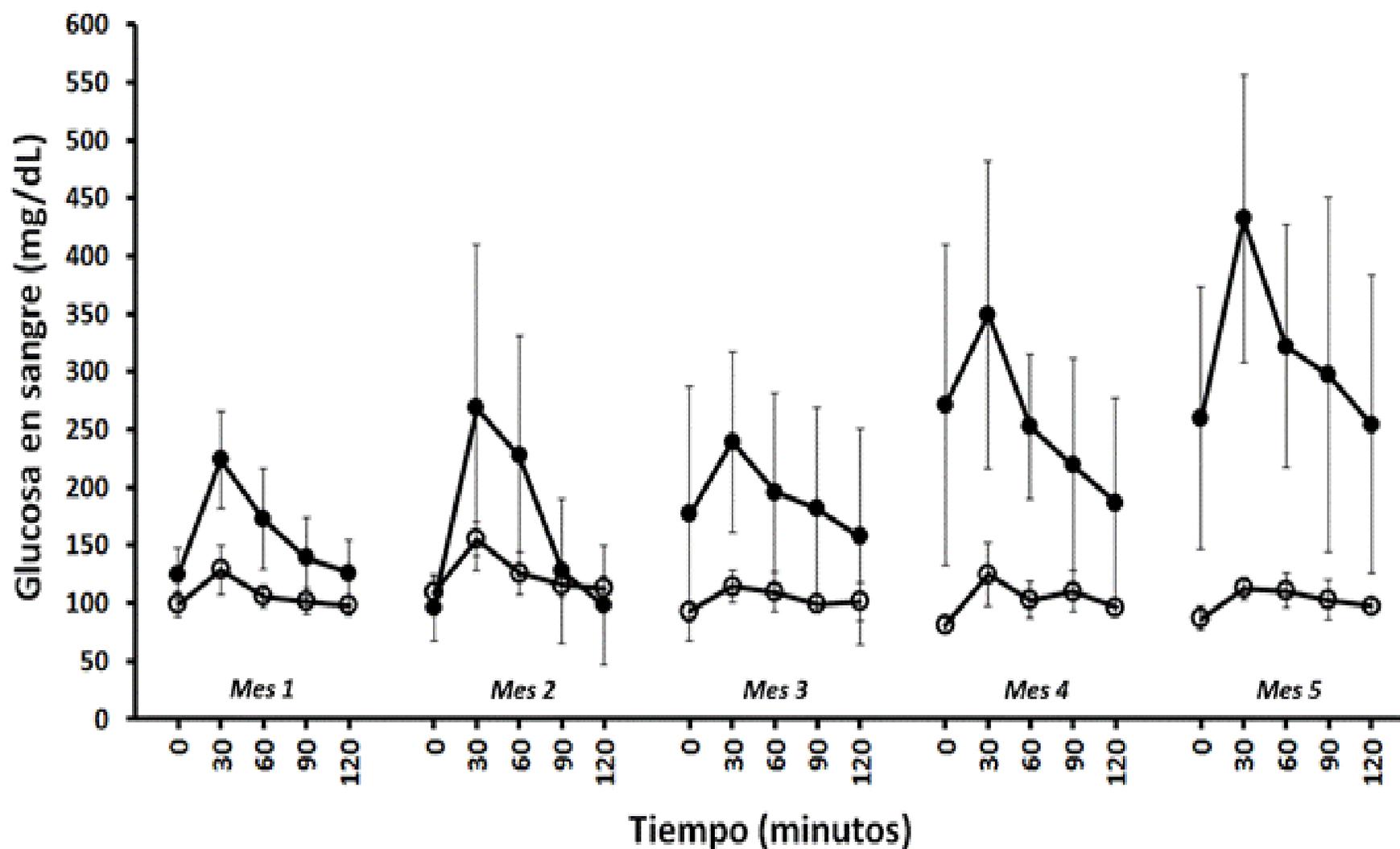


Figura 10. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) sin suplemento de $\omega 3$.

En la Figura 11 se observa que aunque en esencia se presenta el mismo patrón de la pérdida de regulación de la concentración de la glicemia que en la Figura 10, la magnitud de las diferencias entre el grupo control y el inducido a diabetes parece ser menor, lo que sugiere que la administración de $\omega 3$ por 1 día a la semana ($\omega 3-1$), parece contribuir a disminuir la magnitud de pérdida del control de la glicemia. Con el suministro de $\omega 3$ por 3 días a la semana ($\omega 3-3$) (Figura 12), se puede apreciar que la diferencia entre la CTG de los controles y las inducidas a diabetes es aún menor, y a los 5 meses de tratamiento, las ratas inducidas a diabetes son más parecidas al grupo control. Finalmente, la administración diaria de $\omega 3$ a las ratas inducidas con STZ, parece tener efectos benéficos sobre la glicemia al generar que las CTG sean casi iguales a las normales.

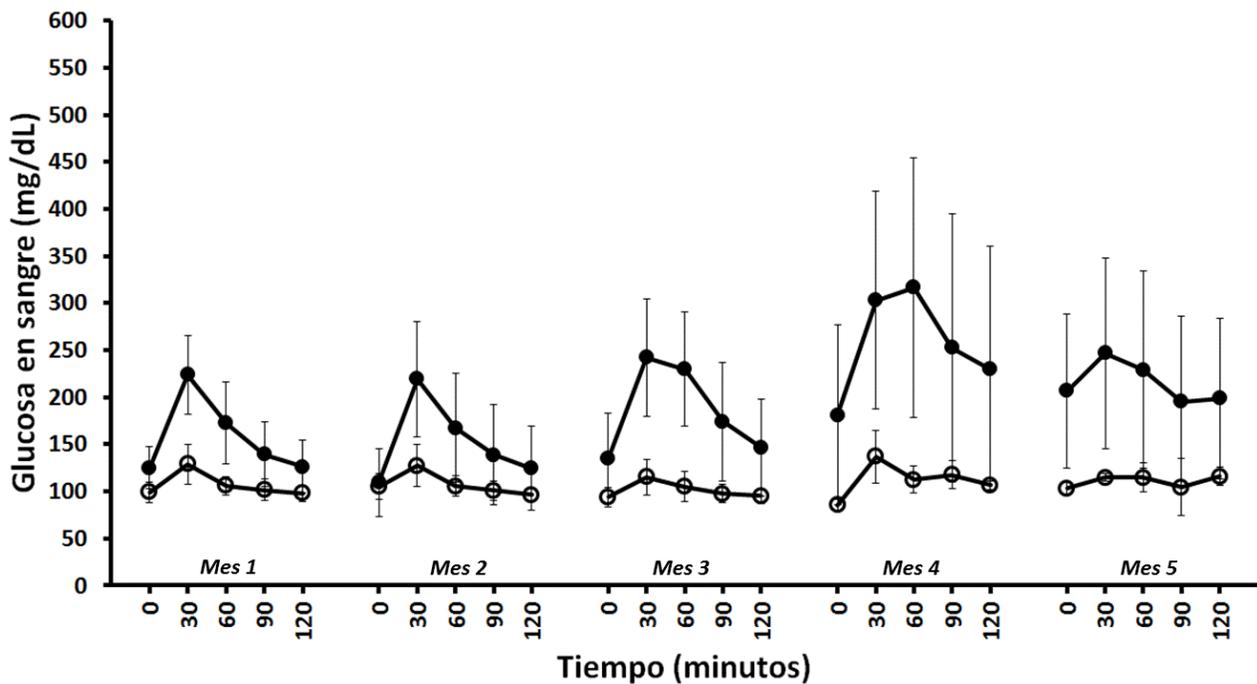


Figura 11. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) con tratamiento de $\omega 3$ por 1 día a la semana ($\omega 3-1$).

En la Figura 11 se observa que aunque el patrón de pérdida en la regulación de la glicemia que en la Figura 10a, disminuye la magnitud entre las diferencias de los grupos control y diabético, lo que sugiere que la administración de los ω 3 por 1 día a la semana, parece contribuir a disminuir la magnitud de pérdida de la regulación de la glicemia. Con la administración de ω 3 por 3 días a la semana (Figura 12), se puede apreciar que la diferencia entre la CTG del control y las inducidas a diabetes es aún menor, haciéndose más evidente este efecto a los 5 meses de tratamiento, donde las ratas inducidas a diabetes son más parecidas al grupo control. Finalmente, la administración diaria de los ω 3 a las ratas inducidas con STZ (Figura 13), parece tener efectos benéficos en la regulación de la glicemia, dichos efectos pueden apreciarse en las CTG las cuales son casi iguales a la de los animales normoglicémicos a los 4 y 5 meses de tratamiento.

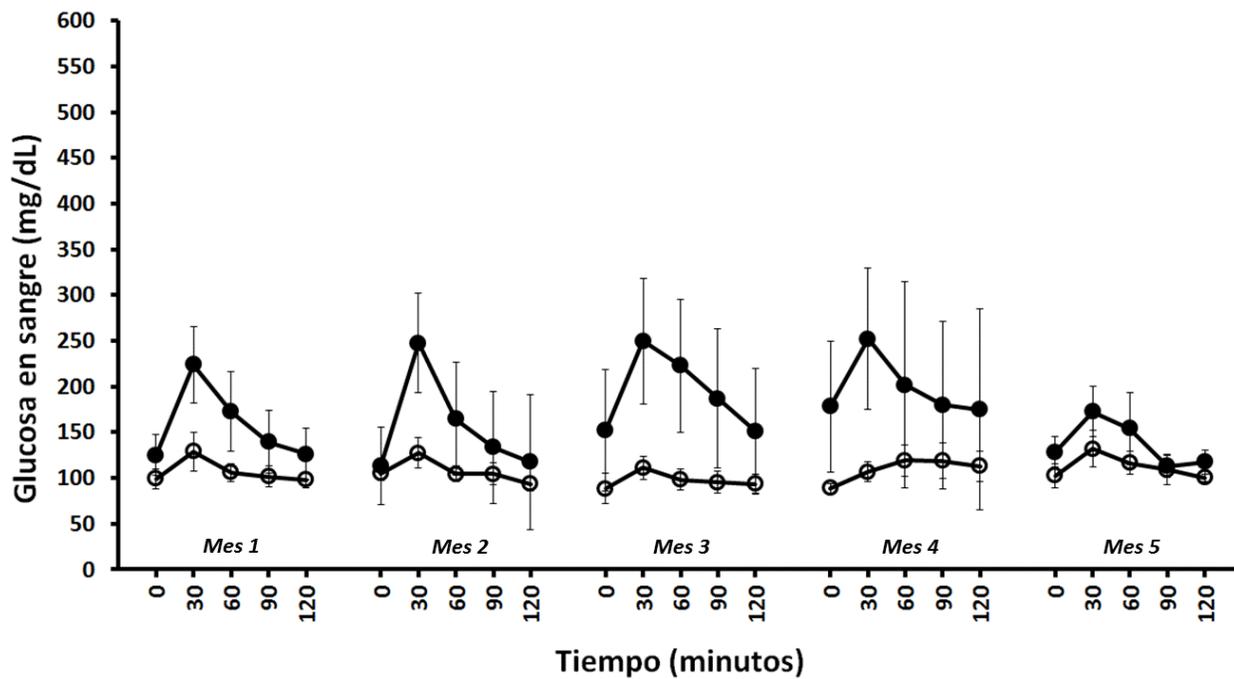


Figura 12. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) de 3 días a la semana (ω 3-3).

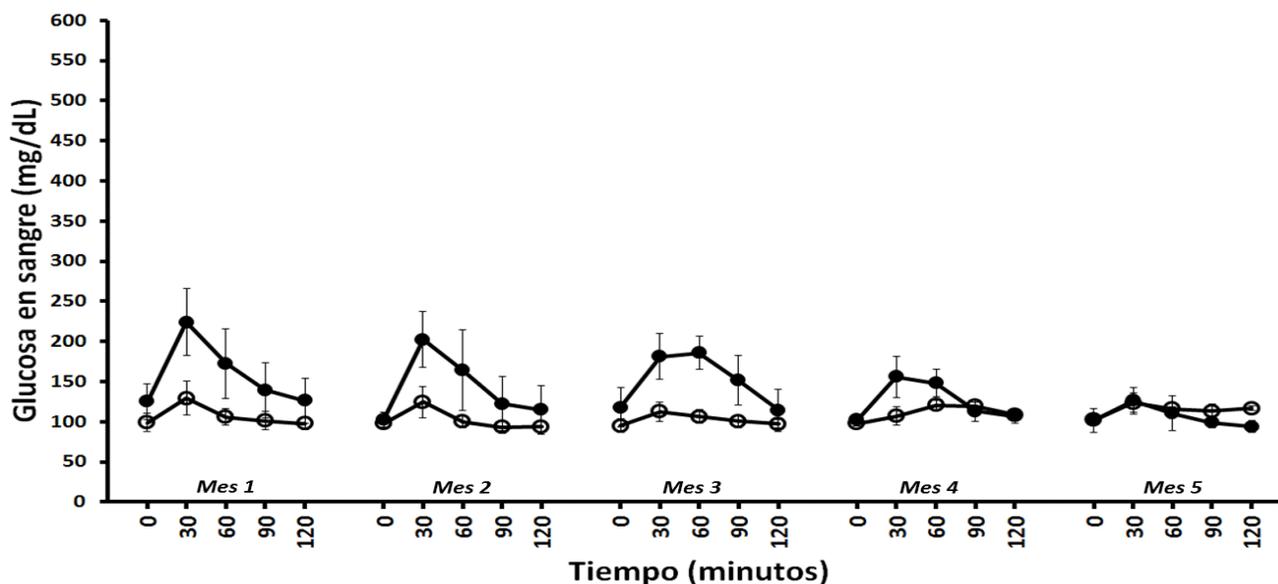


Figura 13. Comparación a diferentes tiempos de tratamiento (de 1 a 5 meses), de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar control (○) e inducidas a diabetes (●) de 7 días a la semana (ω 3-7).

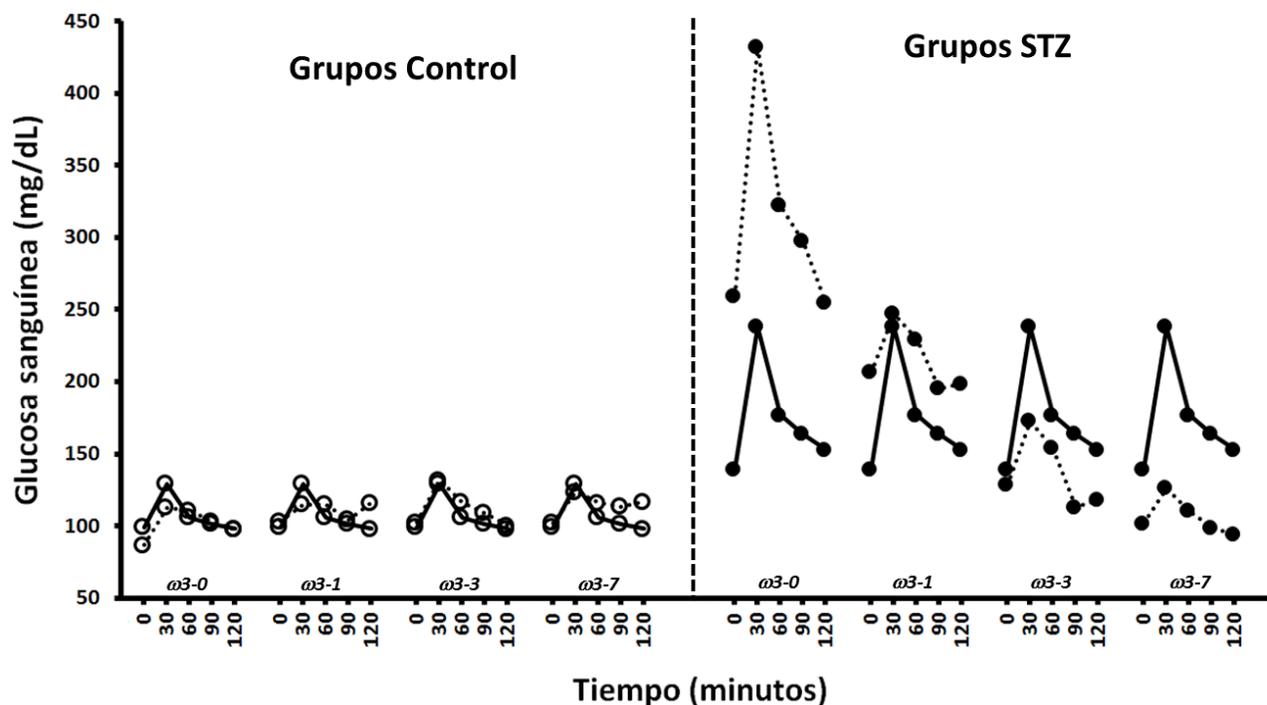


Figura 14. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas control (Izquierda) e inducidas a diabetes (derecha), tratadas con ω 3 por diferentes días a la semana (0, 1, 3 ó 7 días a la semana). Las líneas continuas son de CTG al mes de tratamiento y las líneas punteadas corresponden a CTG después de 5 meses de tratamiento.

Para analizar el efecto que tuvieron los diferentes esquemas de dosificación de $\omega 3$ a lo largo del tiempo, en la Figura 14 se presenta una comparación de las CTG de las ratas (control y STZ) a 1 y 5 meses de tratamiento. La línea continua corresponde a un mes de tratamiento y la punteada a 5 meses de tratamiento. En el caso de las ratas inducidas a diabetes (grupos STZ), las cuales al mes de edad ya tienen alterada la CTG, se puede observar que al término del estudio las que no recibieron tratamiento con $\omega 3$ ($\omega 3-0$), exhiben mayor área bajo la curva y la concentración de glucosa en sangre es mucho mayor que al inicio del tratamiento, indicando que existe una mayor pérdida del control de la regulación de la glicemia en este grupo de acuerdo a la progresión de la diabetes.

Para un mejor análisis del efecto de los $\omega 3$ sobre los grupos control, en la Figura 15 se muestran los resultados a una escala apropiada. Es evidente que entre mayor es la frecuencia de la administración de $\omega 3$ mayores son las alteraciones del patrón de la CTG. De hecho, con el suministro diario parece generarse un modelo de síndrome metabólico, efecto que discutiremos más adelante.

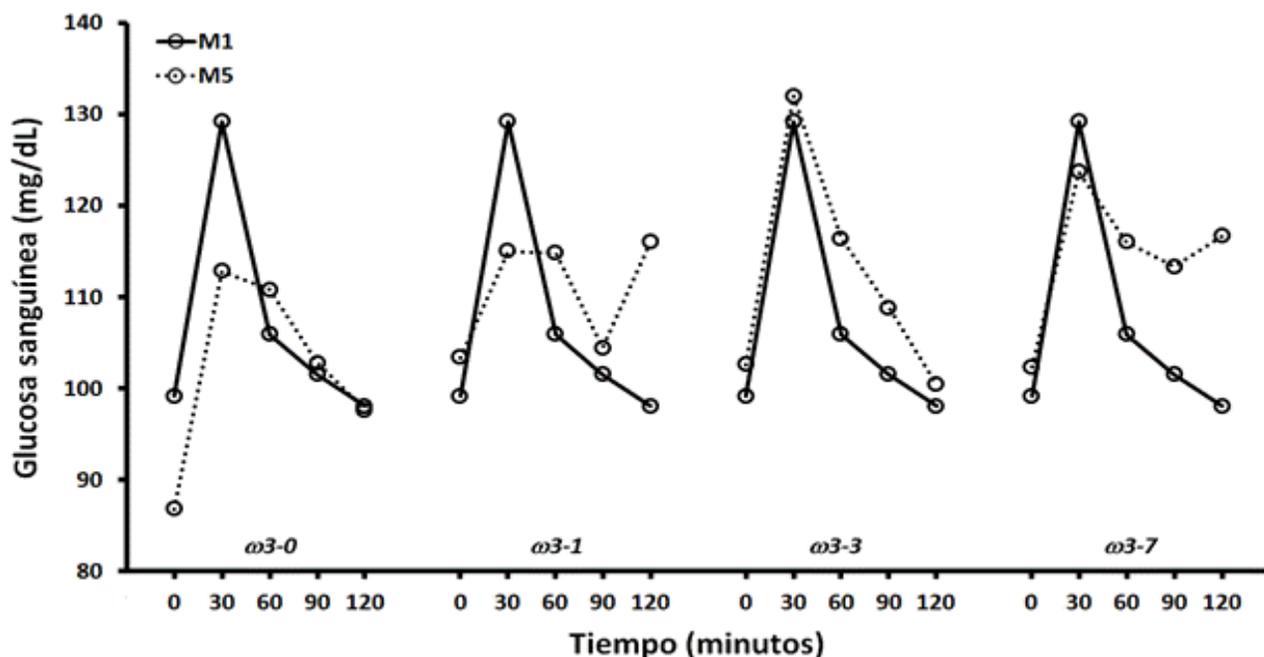


Figura 15. CTG de ratas control con suministro de $\omega 3$ en diferentes esquemas de dosificación; de izquierda a derecha por 0, 1, 3 ó 7 días a la semana.

5.7 Efecto de ω 3 en la composición de ácidos grasos de los Fantasma de eritrocitos

Con el objetivo de analizar el efecto que tuvo la hiperglicemia del modelo DM2 en ratas generado en este estudio sobre el metabolismo de lípidos, se consideró que el análisis de la composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos es factible debido a que la sangre un tejido de fácil acceso y sus membranas nos dan información de utilidad. Así, en la tabla 2 se presenta la composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de las ratas control y las inducidas a diabetes (con STZ), a los 3 meses de edad. Como se puede observar, existen cambios discretos en la mayoría de los ácidos grasos, sin embargo es claro que los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos (oleico, linoleico y linolénico), son respectivamente, 8, 13 y 5 veces menores en las ratas inducidas a diabetes que en las control. Asimismo, se puede observar que a pesar de la hiperglicemia ligera que se generó en este modelo, el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S), es menor en las ratas diabéticas, indicando una posible disminución de la fluidez membranal en los eritrocitos.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos (en mol%) de fantasmas de eritrocitos en ratas controles y ratas diabéticas (STZ) de 3 meses de edad.

Ácidos grasos	Control	STZ
Mirístico	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2
Miristoleico	0.6 ± 0.4	0.4 ± 0.4
Palmitico	45.2 ± 4.7	47.6 ± 4.6
Palmitoléico	9.0 ± 17.3	1.6 ± 2.3
Estearico	32.7 ± 4.1	24.9 ± 2.9
Oleico	10.4 ± 0.2	1.3 ± 0.2
Linoleico	1.3 ± 0.6	0.1 ± 0.1
Linolénico	1.0 ± 0.6	0.2 ± 0.1
Araquidíco	0.8 ± 1.5	0.6 ± 0.6
Araquidónico	1.7 ± 2.6	2.2 ± 0.1
EPA	0.8 ± 0.7	0.5 ± 0.1
DHA	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
NI	7.1 ± 5.6	20.6 ± 0.4
I/S	0.315	0.089

EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

En la tabla 3 se muestra la composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas control de 3 meses de edad en los diferentes esquemas de administración de los ácidos grasos ω 3. Se puede observar que los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos como son el oleico, linoleico y linolénico tienden a aumentar cuando se administran los ω 3 a un día por semana (ω -1) y a los 3 días por semana (ω -3) pero disminuye en el esquema de 7 días por semana (ω -7). Por otro lado, el ácido palmítico que es mayoritario, en general tiende a disminuir con el suplemento de ω 3.

En el caso de los dos ω 3 de cadena larga, EPA y DHA, la proporción de estas moléculas es mayor en los grupos que recibieron suplemento de ω 3 (en los esquemas de 1, 3 ó 7 días a la semana). El índice de insaturados sobre saturados aumentó en todos los casos en comparación con el grupo sin suplemento (ω 3-0), indicando el posible aumento en la fluidez membranal.

Tabla 3. Composición de ácidos grasos (en mol%) de fantasmas de eritrocitos de ratas control de 3 meses de edad con los diferentes esquemas de dosificación con ω 3.

CONTROL

Ácidos grasos	ω -3 (0 día)	ω -3 (1 día)	ω -3 (3 día)	ω -3 (7 día)
Mirístico	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Miristoleico	0.6 ± 0.4	1.0 ± 0.7	0.7 ± 0.6	0.6 ± 0.1
Palmitico	45.2 ± 4.7	39.7 ± 10	27.4 ± 2.1	34.4 ± 8.4
Palmitoléico	9.0 ± 17.3	2.0 ± 2.1	1.3 ± 0.5	5.2 ± 7.1
Estearico	32.7 ± 4.1	25.4 ± 7.4	20.4 ± 1.9	23 ± 3.6
Oleico	10.4 ± 0.2	14.6 ± 0.3	19.8 ± 2.6	14.3 ± 6.1
Linoleico	1.3 ± 0.6	3.8 ± 4.4	11.4 ± 2.0	8.4 ± 2.8
Linolénico	1.0 ± 0.6	2.0 ± 0.8	2.3 ± 0.4	1.6 ± 1.4
Araquídico	0.8 ± 1.5	0.4 ± 0.3	0.2 ± 0.0	1.0 ± 0.5
Araquidónico	1.7 ± 2.6	6.3 ± 7.4	15.7 ± 2.7	11.5 ± 9.4
EPA	0.8 ± 0.7	1.2 ± 0.9	1.9 ± 1.6	2.0 ± 3.1
DHA	0.2 ± 0.1	1.3 ± 1.1	2.9 ± 1.5	0.6 ± 0.4
NI	7.1 ± 5.6	3.6 ± 1.7	3.8 ± 2.1	3.4 ± 2.4
I/S	0.315	0.489	1.161	0.752

PA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

En la tabla 4 se puede ver el efecto de la administración de ω 3 con sus diferentes esquemas de dosificación, sobre la composición de ácidos grasos de fantasmas de eritrocitos de ratas inducidas DM2 a los 3 meses de edad. Es interesante ver que el porcentaje del ácido graso palmítico disminuye conforme aumenta la frecuencia de la dosificación de ω 3. También se puede observar el incremento de los ácidos grasos linoleico y linolénico con una mayor frecuencia de aplicación de los ω 3. EPA y DHA también parecen tener una tendencia a aumentar. El cociente I/S aumentó en todos los grupos que recibieron ω 3.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos (en mol%) de fantasmas de eritrocitos de ratas de 3 meses de edad, inducidas a diabetes (STZ) y con los diferentes esquemas de dosificación de ω 3.

STZ

Ácidos grasos	ω -3 (0 día)	ω -3 (1 día)	ω -3 (3 día)	ω -3 (7 día)
Mirístico	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.4	1.5 ± 0.5	0.8 ± 0.5
Miristoleico	0.4 ± 0.4	0.9 ± 0.5	0.8 ± 0.6	1.1 ± 1.0
Palmítico	47.6 ± 4.6	42.0 ± 5.5	43.9 ± 6.2	36 ± 2.1
Palmitoléico	1.6 ± 2.3	1.4 ± 0.4	6.6 ± 1.9	5.8 ± 1.9
Estearico	24.9 ± 2.9	24.1 ± 1.5	14.5 ± 6.5	16.3 ± 2.6
Oleico	1.3 ± 0.2	10.9 ± 6.0	6.8 ± 3.3	3.7 ± 1.0
Linoleico	0.1 ± 0.1	0.4 ± 1.9	8.9 ± 3.1	8.9 ± 0.2
Linolénico	0.2 ± 0.1	5.0 ± 0.6	4.8 ± 0.4	10.1 ± 2.3
Araqúidico	0.6 ± 0.6	0.8 ± 0.3	1.5 ± 0.1	ND
Araquidónico	2.2 ± 0.1	4.0 ± 3.5	5.3 ± 4.6	4.5 ± 2.3
EPA	0.5 ± 0.1	3.3 ± 2.2	3.2 ± 0.7	5.2 ± 1.4
DHA	0.3 ± 0.1	1.9 ± 1.0	0.6 ± 0.2	3.4 ± 0.6
NI	20.6 ± 0.4	ND	10.0 ± 6.0	4.8 ± 2.3
I/S	0.089	0.409	0.602	0.804

EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

En la tabla 5 se presenta la composición de ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos de los grupos control y diabéticos (STZ) a los 6 meses de edad (sin ω -3), se puede apreciar ácido palmítico es el más abundante en ambos grupos. Este fenómeno se repite en prácticamente todos los ácidos grasos, lo cual resulta desconcertante tomando en cuenta la diferencia en la glicemia de ambos grupos. Como consecuencia de la composición, el índice de insaturados sobre saturados es casi igual para ambos grupos.

Tabla 5. Composición de los ácidos grasos (en mol%) de los fantasmas de eritrocitos en ratas controles (CN) y ratas diabéticas (STZ) de 6 meses de edad.

Ácidos grasos	Control	STZ
Mirístico	1.0± 0.3	0.6± 0.2
Miristoleico	0.3± 0.1	0.3± 0.2
Palmítico	58.3± 8.8	58.7± 4.5
Palmitoléico	0.2± 0.1	0.7± 0.8
Esteárico	25.1± 7.3	24.1± 4.7
Oleico	2.9± 0.6	2.2± 0.2
Linoleico	0.6± 0.4	0.7± 0.3
Linolénico	2.8± 3.1	2.1± 0.1
Araquídico	0.9± 1.0	0.4± 0.4
Araquidónico	3.9± 0.5	4.5± 0.3
EPA	0.4± 0.0	0.9± 0.6
DHA	1.6± 0.7	1.3± 0.3
NI	3.3± 2.1	4.9± 2.0
I/S	0.148	0.151

EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado, NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

En la tabla 6 se muestra la composición de ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos del grupo diabético (STZ) en un esquema de los 0 a los 7 días por semana con $\omega 3$, donde se puede apreciar que el ácido graso más abundante es el palmítico el cual representa el 58 mol% en el grupo sin suplemento pero es menos abundante en los grupos que recibieron la suplementación de $\omega 3$. Esta disminución va de un 40 ($\omega 3$ -7) hasta un 53% ($\omega 3$ -3). Asimismo, el otro ácido graso de mayor abundancia es el esteárico, el cual se encuentra en un 50% menos en los grupos con suplemento de $\omega 3$. Paralelamente, los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos (oleico, linoleico y linolénico) en general tiene una mayor proporción en casi todos los grupos, excepto en el grupo con un esquema de administración de 7 días por semana ($\omega 3$ -7) donde el oleico extrañamente es menor que en los demás grupos. El ácido oleico es 2.9 veces más abundante en el tratamiento de 0 días por semana comparado con el de 1 día por semana

de ω 3 y concentración es mucho mayor en el tratamiento con 3 días por semana, sin embargo la abundancia de este es menor en el grupo de 7 días por semana. Los ácidos grasos linoleico y linolénico tienden a ser más abundantes. Es importante señalar que el ácido linolénico es 7.8 y 8.8 veces más abundante en los grupos STZ con tratamiento de ω 3 con respecto al grupo control sin suministro de ω 3.

El EPA y el DHA, los cuales pueden ser sintetizados a partir del ácido linolénico, siempre tienden a ser más abundantes (7 veces y 6.5 veces más respectivamente) siendo los únicos ácidos grasos insaturados que tuvieron dicho efecto de siempre aumentar.

Tabla 6. Composición de ácidos grasos (en mol%) de fantasmas de eritrocitos de ratas de 6 meses de edad, inducidas a diabetes (STZ), y con suministro de ω 3 bajo los diferentes esquemas de dosificación.

Ácidos grasos	STZ ω 3- 0 días	STZ ω 3- 1 días	STZ ω 3- 3 días	STZ ω 3- 7 días
Mirístico	0.6± 0.2	1.0± 0.1	ND	ND
Miristoleico	0.3± 0.2	0.4± 0.1	ND	ND
Palmitico	58.7± 4.5	33.8± 1.9	27.6± 7.4	35.2± 1.4
Palmitoléico	0.7± 0.8	3.0± 1.5	3.1± 0.7	1.7± 1.0
Estearico	24.1± 4.7	12.4± 1.8	11.0± 6.5	11.8± 0.9
Oleico	2.2± 0.2	6.4± 0.2	7.0± 1.7	1.0± 0.4
Linoleico	0.7± 0.3	9.2± 0.2	9.3± 2.9	8.4± 0.8
Linolénico	2.1± 0.1	16.4± 0.3	18.5± 0.3	18.3± 0.8
Araquídico	0.4± 0.4	0.4± 0.2	ND	ND
Araquidónico	4.5± 0.3	4.4± 0.3	5.5± 0.2	3.1± 0.5
EPA	0.9± 0.6	6.4± 0.3	8.5± 0.2	9.4± 0.3
DHA	1.3± 0.3	8.5± 0.3	9.5± 0.3	11.6± 0.3
NI	4.9± 2.0	ND	ND	ND
I/S	0.151	1.149	1.590	1.138

EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado, NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

En la tabla 7 se puede observar los ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos de las ratas control bajo el esquema de la administración de los 0 a los 7 días por semana de ácidos grasos ω 3 a los 6 meses de edad.

Podemos observar que el ácido palmítico tiende a ser menos abundante conforme va aumentando el consumo ω 3. Extrañamente, el ácido miristoleico tiene un comportamiento contrario, ya que aumenta conforme va aumentando el consumo de ω 3. El ácido esteárico también disminuye con el tratamiento de ω 3, dicha disminución va de un 24 a un 38%. Los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos tienen comportamientos heterogéneos, pero el EPA y el DHA, en todos los casos en donde se suministró ω 3, aumentaron de manera importante.

Tabla 7. Composición de ácidos grasos (en mol%) de fantasmas de eritrocitos de ratas control de 6 meses de edad y con los diferentes esquemas de dosificación de ω 3.

Ácidos grasos	Control ω 3- 0 días	Control ω 3- 1 días	Control ω 3- 3 días	Control ω 3- 7 días
Mirístico	1.0± 0.3	0.5± 0.2	1.1± 0.7	1.1± 0.6
Miristoleico	0.3± 0.1	1.7± 1.7	1.6± 1.4	8.4± 9.2
Palmítico	58.3± 8.8	54.1± 5.9	48.5± 9.2	31.5± 11.9
Palmitoléico	0.2± 0.1	3.2± 2.1	2.4± 2.5	7.5± 6.6
Esteárico	25.1± 7.3	18.8± 6.9	15.5± 0.3	19.1± 6.9
Oleico	2.9± 0.6	1.5± 0.6	3.6± 0.3	5.1± 4.4
Linoleico	0.6± 0.4	2.1± 0.2	2.5± 1.8	3.4± 3.2
Linolénico	2.8± 3.1	0.7± 0.3	3.9± 4.6	6.9± 3.5
Araquídico	0.9± 1.0	3.8± 3.9	1.2± 0.9	6.9± 3.5
Araquidónico	3.9± 0.5	3.4± 0.9	5.7± 3.3	1.9± 1.8
EPA	0.4± 0.0	3.0± 3.2	5.2± 0.5	5.4± 0.3
DHA	1.6± 0.7	2.4± 1.1	4.1± 0.5	6.9± 1.7
NI	3.3± 2.1	8.3± 3.9	7.9± 5.8	6.7± 4.2
I/S	0.148	0.233	0.437	0.775

EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico, ND: No Detectado, NI: no identificado

I/S: cociente de insaturados sobre saturados

6. Discusión

La relación entre la diabetes y los ω 3 es un tema que está llamando mucho la atención y derivado de ello, aumenta significativamente la publicación de artículos científicos relacionados con el tema. A mediados del año 2017, había más de 1500 artículos científicos en bases de datos del PubMed del NCBI relacionados con los ω 3 y la diabetes mellitus, de los cuales el 10.29% (157 artículos) se relacionan con los posibles mecanismos a través de los cuales estas moléculas regulan la concentración de glucosa sanguínea. Poco más de 30 artículos fueron de estudios en sus efectos con visión hacia la prevención y/o reducción de los procesos de inflamación. Menos de 10 están relacionados con los cambios en la fluidez de las membranas, 34 a la expresión de los genes del receptor de activación de proliferación peroxisomal (PPARs). Más de 200 a la síntesis de insulina y 3 a la regulación y síntesis de las hormonas tiroideas. Esta información refleja sólo una parte de los muchos efectos, blancos y procesos en los que pueden participar los ω 3 (PubMed. Gov NCBI/ US National Library of Medicine National Institutes of Health, consulted in 2017).

Por otro lado, también existe información derivada de otras fuentes, como “The Global Organization for EPA and DHA omega 3s” (<http://www.goedomega3.com/>) donde se encuentran más de 2500 estudios clínicos o la “expertomega3” (www.experomega3.com) que contiene 2600 referencias y 450 estudios básicos en el tema de los ω 3 y sus efectos en el desarrollo de la retina, así como el uso de dietas ricas en estos AGPI (ácidos grasos poliinsaturados) en el tratamiento y control de patologías de origen metabólico. Lo anterior quiere decir que las expectativas sobre los efectos benéficos potenciales de los ω 3, son muchas y de diferente índole, pero con predilección al combate de la diabetes.

Esta Tesis es parte de un proyecto en donde se quiere analizar el efecto que el desarrollo de la diabetes tiene sobre las membranas biológicas, así como sobre procesos que se lleven a cabo en membranas o a través de ellas. Simultáneamente, también nos interesa estudiar si los ω 3 tienen efecto en contra del desarrollo de la DM2 y conocer

alguno de sus posibles mecanismos de acción. En la primera parte del proyecto, se generó un modelo de DM2 con hiperglicemia ligera, simulando los primeros estadios en el desarrollo de la diabetes. Así, para validar estos experimentos el primer paso era demostrar que el modelo de diabetes que desarrollamos, realmente tenía hiperglicemia ligera en los primeros estadios y que posteriormente se desarrollaba una clara hiperglicemia con las características propias de dicha patología. En esta Tesis se muestran los resultados del desarrollo de este modelo de diabetes, así como el efecto del suplemento de ω 3 con diferentes esquemas de dosificación. Los esquemas de dosificación se aplicaron tratando de simular un consumo esporádico de los ω 3 (1 día a la semana), un consumo regular (3 días a la semana) y un consumo crónico (7 días a la semana). Dichos esquemas se aplicaron tanto a ratas inducidas a diabetes tipo 2 con STZ, como a ratas normoglicémicas. En el primer caso, en las ratas inducidas a diabetes, esto se realizó con la finalidad de probar el potencial de los ω 3 en contra del desarrollo de la DM. En el segundo caso, de las ratas normoglicémicas, el propósito es tratar de estudiar tanto su efecto en la prevención, como para saber si tienen efectos secundarios no deseados.

El modelo utilizado para la realización de este proyecto está basado en la destrucción química de las células beta del páncreas por medio de STZ. Esta origina hipoinsulinemia e hiperglicemia (Shepherd y Kahn, 2003). Así tenemos la certeza en el uso de un modelo de DM2 adecuado al presentarse estas alteraciones metabólicas desde muy temprana edad ya que se les inyectó la STZ a las 48 horas de nacidas, lo que causa al mes de edad una concentración de glucosa más alta que las control (ver figura 4). Este fenómeno también lo podemos observar en curvas de tolerancia a la glucosa (CTG), por ejemplo la que se muestra en la figura 10 la cual demuestra una concentración de glucosa en sangre mayor en el grupo diabético (STZ- ω 3-0) que en el grupo control (control ω 3-0) en los distintos tiempos de medición (de 0 a 120 minutos) a un mes de edad.

La insulina se asocia a la regulación de glucosa en sangre, sin embargo, las causas habituales de muerte de los enfermos diabéticos se deben a alteraciones del metabolismo de lípidos, tales como el colesterol y los triglicéridos, ya que es evidente que

la insulina influye en el metabolismo de los lípidos y de las proteínas casi tanto como el de los glúcidos, ya que la insulina fomenta la utilización de los carbohidratos con fines energéticos y reduce el uso de los lípidos. A la inversa, la falta de insulina favorece la utilización de los lípidos y la exclusión de la glucosa, salvo por el tejido encefálico (Guyton y Hall, 2011).

La alteración más común de los lípidos es la hipertrigliceridemia que, de manera habitual, cursa en forma conjunta con niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y con valores normales o discretamente elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Islas y Revilla, 2002). Además, la resistencia hepática a la insulina puede aumentar la secreción de lipoproteínas y también puede incrementarse el recambio de las partículas de lipoproteínas plasmáticas de muy baja densidad (VLDL) (Howard et al, 1987). De hecho las concentraciones de insulina en ayuno y después del consumo de una carga de glucosa guardan relación directa con valores séricos de triglicéridos y una relación inversa con las concentraciones séricas del colesterol de HDL (lipoproteínas de alta densidad en español). Dichos vínculos o asociaciones resultan de la intervención de otros sistemas de homeostasis que incluyen valores plasmáticos de ácidos grasos libres, la secreción de triglicéridos-lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y VLDL-colesterol por el hígado, deslipidación y extracción de lipoproteínas (Ferrinni, 2003). Por tal motivo en este trabajo se han analizado otros parámetros como triglicéridos y colesterol ya que la insulina no sólo afecta la regulación de glucosa. Este descontrol metabólico de lípidos lo podemos observar en la figura 7 en donde se presenta la concentración de triglicéridos en sangre de los grupos control y grupos STZ. Específicamente, en el grupo diabético sin tratamiento con ω 3 (STZ ω 3-0), es donde se demuestra que a mayor tiempo de vida, la concentración de triglicéridos aumenta. De hecho, es más del doble de la encontrada en el grupo control sin suplemento de ácidos ω 3 (control ω 3-0). Esta comparación se observa con mayor claridad en la figura 8a donde la concentración de triglicéridos en sangre es mayor en el grupo STZ que la del grupo control.

Con respecto al colesterol prácticamente no cambia (ver figura 9), lo cual puede significar que este modelo realmente representa una situación en la que se inicia el desarrollo de la diabetes, ya que de lo contrario, también estaría alterado el contenido de

colesterol, como se ha referido en varios trabajos elaborados en nuestro laboratorio. Valencia (2016) no encontró cambios significativos en el colesterol de ratas comparados con ratas con control sin suplementación medidas de 1 a 6 meses de edad. Por otro lado Orozco (2008) tampoco encontró cambios significativos en colesterol en ratas control y ratas STZ aunque una ligera tendencia a disminuir en grupos STZ con suplementos ω 3 pero sin diferencias estadísticas. Lo cual nos lleva a pensar que un modelo de diabetes ligera a una edad de 6 meses aún no existe cambios en el metabolismo de colesterol debido a que no ha sido tan agresiva dicha patología. Otra posible explicación por lo que no aumentó la concentración de colesterol en sangre a lo largo del tratamiento en las ratas inducidas a diabetes, es que el aumento de colesterol normalmente está asociado con el aumento de la insulina en sangre, es decir, por hiperinsulinemia (Ferrannini, 2003). En nuestro modelo, en realidad generamos hiperglicemia por deficiencia de insulina, lo que explicaría por qué no aumenta la concentración de colesterol sanguíneo.

La insulina ejerce efectos metabólicos en las proteínas principalmente el incremento de la síntesis de proteína en músculo, tejido adiposo, hígado y otros tejidos, así como la reducción de la tasa de degradación de proteína en músculo, así considerándola una hormona anabólica. Una de las rutas metabólicas que tiene mayor importancia cuando ocurre un descontrol de la glucosa es la gluconeogénesis ya que es importante para mantener la glucemia conforme se prolonga el ayuno. La gluconeogénesis abarca más de un tejido y ocurre únicamente en el hígado y en la corteza renal (Dimitriadis. *et al*, 2003). La activación de la gluconeogénesis en los diabéticos nos indica que existe una probable pérdida de peso, esto lo podemos observar en la figura 2. El grupo control sin suplementos (Control ω 3-0) tiende a ganar más peso que las diabéticas (STZ ω 3-0). En la figura 3a se observa con mayor precisión que las diabéticas tienden a ganar menos peso que el grupo control. Así, se puede observar que dicha disminución se mantiene a lo largo del tiempo siendo el peso de los grupos diabéticos (STZ) 16% menor (438 g) que el grupo control (522.8 g) al final del estudio. En trabajos previos realizados en ratas utilizando el mismo modelo de diabetes se ha observado un comportamiento similar tanto en machos (Valencia y Pérez , 2011) como en hembras (Figueroa 2004). Una de las características de las ratas es la acumulación

de grasa peritoneal, la cual incrementa conforme aumenta la edad, situación controlada por ejes hormonales muy bien caracterizados y parecidos a los del humano. En el hombre, el contenido de tejido adiposo es de aproximadamente 66% en los recién nacidos e incrementa en forma gradual hasta la edad adulta alcanzando hasta el 80% a partir de los 13 años (White, *et al.*, 1991). Al parecer en este estudio podemos apreciar una similitud entre ratas y humanos con este fenómeno.

Uno de los fenómenos que llama la atención es el comportamiento del peso en los grupos de los tratamientos ω 3 1 día por semana (Control ω 3-1), ω 3 3 días por semana (Control ω 3 -3) y ω 3 7 días por semana (Control ω 3 -7) en el grupo control y ω 3 7 días por semana (STZ ω 3 -7) del grupo diabético. En las figuras 2 y 3 se puede apreciar que existe una mayor ganancia de peso en los tratamientos ω 3 1 (5%), ω 3 3 (18.8%) y ω 3 7 (28.3%) de los grupos controles respecto al tratamiento ω 3 0 y una diferencia de (4, 14 y 22% respectivamente) del peso final. En el grupo diabético se observa un mayor peso (15.8%) en los animales del tratamiento ω 3 7 (STZ ω 3-7) con una mayor ganancia de peso (31.8%). Este fenómeno puede estarse produciendo por un incremento en la síntesis y liberación de la insulina en los grupos mencionados. Como lo hemos mencionado anteriormente la insulina es una hormona anabólica, entonces podemos inferir que la suplementación de ω 3 tienden a aumentar la síntesis de insulina y a su vez a la anulación de la gluconeogénesis así creando una mayor ganancia de peso. Los cambios en la concentración de la insulina son consecuencia de diversos factores como: tipo de alimento ingerido, ayuno, resistencia a la insulina y distribución de la grasa corporal (Havel PJ., *et al.*, 1996). Estudios realizados en animales inducidos a diabetes tipo 2 tratados con ω 3 han mostrado un incremento en las concentraciones de la insulina en sangre (Orozco Tapia, 2008).

El mantenimiento de la glucemia en su estrecho rango de normalidad (80 a 100 mg/dL) depende del equilibrio entre la secreción de insulina y el grado de sensibilidad a la misma (Arslanian; 2005). En condiciones normales, como las establecidas en el grupo control, este equilibrio conocido como *índice de disposición* permanece constante y las variaciones fisiológicas de la sensibilidad a la insulina se compensan con cambios de la

secreción de la misma en sentido opuesto. Sin embargo en el caso de que la disminución a la sensibilidad a la insulina (tratamientos $\omega 1$, $\omega 3$ y $\omega 7$ del grupo control) no sea compensada adecuadamente (por incremento en la secreción) el índice de disposición se altera, resultando a largo plazo en una situación de deficiencia relativa de insulina, con la consiguiente aparición de hiperglicemia (Ize-Ludlow y Sperling; 2005). Una de las posibles explicaciones acerca de la permanente concentración de glucosa en sangre dentro de los parámetros normales en las ratas del grupo control tratadas con $\omega 3$ y su alteración en los parámetros medidos de la curva de tolerancia a la glucosa es el efecto metabólico que tiene la disminución del aporte de glucosa a las células ya sea de forma aguda (ayuno) o crónica, ya que pone en marcha mecanismos que permiten el incremento en el aporte de esta molécula a los tejidos, como la liberación de la hormona cortisol, la cual es regulada a través del ciclo circadiano. Esta hormona tiende a incrementar su liberación durante las primeras horas del día en humanos y por la tarde noche en ratas, además se ha observado que también incrementa su concentración en animales diabéticos (Oster *et al*; 1988).

El análisis de los resultados de la concentración de glucosa en sangre de los animales del grupo control con adición de $\omega 3$ no muestra en ninguno de los tratamientos (Control $\omega 3-1$, $\omega 3-3$ y $\omega 3-7$) evidencias de alteración de este parámetro a lo largo del tiempo (ver figura 5); sin embargo, en el caso del grupo diabético (STZ) se muestra que las concentraciones de glicemias son mucho mayores en todos los grupos de tratamiento, inclusive a mayor tiempo de vida desarrollan mayor concentración de glucosa y un menor control de esta, pero en el caso del grupo STZ $\omega 3-7$ la concentración de glucosa en sangre tiende a disminuir al grado de llegar a concentraciones parecidas a los del grupo control. Lo anterior indica que la ingesta de $\omega 3$ en el grupo STZ, tiende a controlar la glicemia, y más aún parece que a mayor dosis de $\omega 3$ y tiempo de dosificación, menor concentración de glucosa en sangre y un mayor control de esta.

Otro de los parámetros que es interesante mencionar son las Curvas de Tolerancia a la Glucosa (CTG) ya que aquí observamos cómo el grupo control tiene una mayor capacidad de controlar la glucosa sanguínea cuando los animales son administrados con

dextrosa por vía digestiva a comparación de los animales inducidos a diabetes (ver figura 10), cabe mencionar que las desviaciones estándar de los grupos diabéticos (STZ) son mucho más grandes que los controles lo cual nos indica que tienen una menor capacidad para controlar la glicemia. Esto nos indica que existe una hipoinsulinemia y una hiperglicemia en el modelo diabético tal como se esperaba, de hecho se puede observar que existe una relación entre tiempo de progresión de la diabetes (de 1 a 5 meses) y la concentración de glucosa sanguínea. Parece que entre mayor edad tengan los animales, la concentración de glucosa es mayor y con un menor control de ella. Pero esta relación no se sigue en los modelos con el tratamiento de $\omega 3$.

En el caso, por ejemplo, del grupo diabético con ácidos grasos omega 3 de un día a la semana (STZ- $\omega 3$ -1) se puede observar que tiene un mejor control de la glicemia (como lo refleja el área bajo la curva). Este efecto se puede observar con mayor claridad al quinto mes de edad donde la concentración de glucosa tuvo un mejor control comparado al grupo sin tratamiento de $\omega 3$ (quinto mes en la Figura 10), pero aun con mayor concentración de glucosa comparado con el control del mismo grupo con tratamiento de un día.

En el grupo diabético con $\omega 3$ de 3 días a la semana (STZ- $\omega 3$ -3) tiene todavía un mejor control de la glicemia y una concentración menor comparada con el grupo STZ- $\omega 3$ -1 y todavía más evidente al quinto mes de edad, donde la concentración de la glicemia es parecida al grupo control (Control $\omega 3$ -3) y con un mejor control de la glicemia, es decir, que las desviaciones estándar son más pequeñas que el grupo sin tratamiento (ver figura 12).

Se muestra una mejoría con respecto al control de la glicemia en el grupo diabético con $\omega 3$ de 7 días a la semana (STZ- $\omega 3$ -7) donde las concentraciones de la glucosa sanguínea son menores comparadas con los demás grupos $\omega 3$ -1 y $\omega 3$ -3. Aquí inclusive al quinto mes, las concentraciones son similares al grupo control. Se observa que conforme aumenta el tiempo de vida y tratamiento con los $\omega 3$, se hace más parecido al grupo control (Control $\omega 3$ -7). Cabe la posibilidad de que este efecto benéfico, se le pueda atribuir a una mayor síntesis de insulina gracias a la ingesta de $\omega 3$, ya que se conoce que

dicha hormona aumenta la rapidez de transporte de glucosa a través de la membrana celular en el tejido adiposo y en el músculo, con lo que disminuye la glicemia (Dimitriadis *et al.*, 2003).

La sangre es un tejido de fácil acceso y que podría darnos mucha información acerca del metabolismo de lípidos en la progresión de la diabetes, especialmente a través los eritrocitos a partir de los cuales obtenemos los fantasmas de eritrocitos. Estos fantasmas de eritrocitos ya han sido utilizados previamente en el laboratorio en otro modelo de ratas con diabetes, específicamente en las ratas SHR (Pérez-Hernández *et al* 2010), donde se demostró por medio de un monitor de fluorescencia que la fluidez membranal depende de la composición de ácidos grasos, aunque no se descarta la contribución del colesterol o de proteínas. Aquí se analizó la composición de ácidos grasos presentes en los fantasmas de eritrocitos, donde los ácidos grasos insaturados tuvieron una mayor proporción en el grupo control que en el grupo diabético (STZ) a los 3 meses de edad; en algunos casos las proporciones fueron muy grandes como en el ácido oleico que es 8 veces más grande en el control que en el diabético o el palmitoleico que es 5.6 veces más grande, entre otros (ver tabla 1). Estos resultados son consistentes con lo propuesto por Pilon (2016), quien afirma que con el desarrollo de la diabetes, siempre disminuye la fluidez membranal.

El índice de ácidos grasos insaturados sobre saturados nos puede indicar cómo es la fluidez membranal de dichos fantasmas, lo cual nos proporciona información de suma importancia para saber cómo se comportan las membranas en esta patología. En el grupo control se puede observar que el índice de fluidez es mayor que en el diabético. Esto podría ser debido a que la diabetes está alterando el metabolismo de los lípidos, pues como se ha mencionado anteriormente la insulina tiene una fuerte relación con la síntesis de lípidos ya que es una hormona anabólica (Dimitriadis *et al.*, 2003). Adicionalmente, estos resultados son consistentes con la propuesta de Ntambi (1999) quien dice que la actividad de las enzimas desaturasas disminuye conforme se desarrolla la diabetes, reduciendo la proporción de ácidos grasos insaturados, similar a lo que aquí encontramos.

En el caso de los diabéticos con los tratamientos de $\omega 3$ de 3 meses de edad podemos observar que la proporción de ácidos grasos insaturados es mayor a medida que la dosis $\omega 3$ aumenta (ver tabla 2). En índice de fluidez membranal en este caso también tiende a aumentar conforme la dosis de $\omega 3$ es mayor. Esto tal vez nos quiere decir que la enzima desaturasa, que es la encargada de introducir los dobles enlaces en los ácidos grasos (Ntambi, 1999) se encuentre en mayor actividad cuando se suplementan los animales con $\omega 3$, o que tal vez la prevención del desarrollo de la hiperglicemia permite el buen funcionamiento de la desaturasa.

En el grupo control con el tratamiento de $\omega 3$ de 3 meses de edad (ver tabla 3) se observa que el índice de fluidez membranal (I/S) de los grupos con tratamiento (Control $\omega 3$ -1,3 y 7) son mayores que el grupo sin tratamiento (Control $\omega 3$ -0) y los ácidos grasos insaturados su contenido va en aumento aunque hay que mencionar que en la dosis de 7 días por semana de $\omega 3$ disminuyen su contenido (mol %). Tal parece que el índice de fluidez sí es afectado por la suplementación de $\omega 3$ o en su defecto como son grupos no diabéticos tiene un mejor control de la glicemia y esto hace que tengan un funcionamiento regular de la enzima desaturasa.

En el caso del grupo control y diabético a los 6 meses de edad sin tratamiento con $\omega 3$ (ver tabla 4) se muestran contenidos de los ácidos grasos tanto saturados como insaturados similares. Esta similitud no se mostró en otros parámetros como glucosa sanguínea, curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) y triglicéridos. El hecho de que dos grupos experimentales con diferencias significativas en otros parámetros tengan una composición de ácidos grasos similar, y consecuentemente también el cociente de ácidos grasos insaturados/saturados, resulta desconcertante. A la fecha lo único que nos queda pensar es en la capacidad homeostática que los sujetos experimentales puedan tener para llegar a mostrar estas similitudes (Guyton 2008) y el hecho de haber tratado con una diabetes con hiperglicemia ligera, permitió que ocurriera este fenómeno homeostático. Esto es consistente con el hecho de que los pacientes diabéticos en las etapas iniciales ni siquiera se percatan de los cambios que está sufriendo su organismo y es hasta varios

años después, cuando el proceso homeostático se rompe cuando surgen los signos y síntomas.

En el grupo diabético (STZ) con el tratamiento de $\omega 3$ de 6 meses de edad (ver tabla 5) podemos observar que el índice de fluidez membranal (I/S) fue mayor en los grupos suplementados con $\omega 3$ (STZ $\omega 3$ -1, 3 y 7) que el grupo sin suplemento (STZ $\omega 3$ -0). Como se puede observar en la Tabla 5, el contenido de ácidos grasos insaturados incrementó en todos los grupos con suplemento de $\omega 3$. Aunque en este trabajo no medimos directamente la fluidez membranal utilizando algún monitor de fluidez como el dipirenilpropano o el difenilhexatrieno, sabemos que la composición de ácidos grasos de los fantasmas de eritrocitos están directamente relacionados con dicho parámetro, como lo hemos demostrado en otros trabajos de este grupo de investigación (Pérez-Hernández *et al*, 2010), así que el índice de fluidez I/S en las membranas de eritrocitos, indica que los $\omega 3$ aumentaron la fluidez membranal.

Ahora pasando al grupo control de 6 meses de edad con tratamiento de $\omega 3$ (ver Tabla 6) lo interesante aquí es que los grupos con tratamientos de $\omega 3$ (Control $\omega 3$ -1, 3 y 7) son mayores los índices de fluidez a comparación del grupo sin tratamiento (Control $\omega 3$ -0). Entonces podemos decir que los $\omega 3$ posiblemente también afectan en la composición de ácidos grasos de los fantasmas y a su vez también altera el índice de fluidez, fenómeno que sólo estaba ocurriendo con los diabéticos. Lo anterior significa que el tratamiento con estos ácidos grasos, realmente lleva a alteraciones en las propiedades fisicoquímicas de las membranas, en este caso de los fantasmas de eritrocitos.

Estas alteraciones en los grupos control con tratamiento de $\omega 3$ también se vieron afectados en otros parámetros, tales como peso, glicemias y triglicéridos, haciendo énfasis en el pesos que al parecer es el más alterado, lo que nos lleva a pensar que la ingesta de $\omega 3$ en personas sin algún padecimiento como la diabetes no es tan benéfica o eficiente como se ha recomendado.

7. Conclusiones

- En ratas inducidas a diabetes (STZ), el consumo de ácidos grasos previno de la pérdida de peso; sin embargo, en las ratas control, se generó una tendencia hacia el sobrepeso.
- El suministro de ácidos grasos omega 3 a las ratas diabéticas (STZ), especialmente el suministro de 7 días a la semana, ayudó a regular la glicemia a concentraciones casi normales. En los grupos control, no hubo efectos deletéreos aparentes.
- En animales inducidos a diabetes (STZ), el suministro de ácidos grasos omega 3 a cualquier dosis administrada, ayudó a regular la concentración de triglicéridos en sangre. Sin embargo, en los grupos control, a cualquier dosis, aumentó la concentración de triglicéridos.
- En relación a las concentraciones de colesterol pudimos observar que no hubo ningún incremento o disminución en su concentración en los grupos control y diabéticos (STZ); al parecer la ingesta de ácidos grasos omega 3 no tuvo ningún efecto.
- En las Curvas de Tolerancia de la Glucosa (CTG) observamos que el consumo de ácidos grasos omega 3 tuvo un efecto positivo al mejorar el control de las glicemias de los grupos diabéticos (STZ). Sin embargo, en los grupos control, el suministro crónico de ácidos grasos omega 3 (7 días a la semana) alteró la CTG, retrasando el control de la glicemia.
- La ingesta de ácidos grasos omega 3 influyó en la composición de ácidos grasos de las membranas de los eritrocitos y consecuentemente en el índice de fluidez, tanto en los grupos control como inducidos a diabetes.

8. Perspectivas

Actualmente el consumo de los ácidos grasos omega 3 se ha hecho una “moda” por sus propiedades que supuestamente contribuyen a la salud, a tal grado que no requieres una consulta médica para consumirlos, basta con ir a cualquier farmacia o supermercado para obtenerlos. Ahora bien el no saber con exactitud si dichos ácidos grasos omega 3 son benéficos como se nos ha estado anunciando podría ser todo lo contrario por eso surgió la necesidad de averiguar si tienen dicho efecto benéfico sin ningún efecto colateral o efecto perjudicial para la salud.

Si bien es cierto que en este trabajo encontramos que los ácidos grasos omega 3 tuvieron un efecto benéfico sobre los grupos inducidos a diabetes, no podemos afirmar que sólo tengan efectos positivos, porque en los grupos control, encontramos efectos adversos. Considero que se debe realizar un mayor número de experimentos para dilucidar las causas de estos efectos positivos o adversos que encontramos en este trabajo de Tesis.

Este trabajo bien podría ser una pauta para desarrollar más proyectos que se relacionan con esta investigación ya que aún quedan muchas preguntas por resolver, ya sea desde un panorama bioquímico, físico-químico o inclusive fisiológico. Por tal razón en este laboratorio de investigación se desarrollan más proyectos con esta visión de lo que está ocurriendo con el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los ácidos grasos omega 3.

9. Fuentes de Información

1. Aguilar S. C. A, Rojas R, Gómez P.F.J, Garcia E, Valles V, Ríos T.J.M. 2000. Early onset type 2 diabetes in a Mexican, population-based, nation-wide survey: *Am J Med.*; 13:569-74.
2. Aguilar S.C.A, Mehta R, Rojas R, Gómez PFJ, Olaiz G, Rull J.A. 2005. Management of the metabolic syndrome as a strategy for preventing the macrovascular complications of type 2 diabetes: controversial issues. *Current Diabetes Reviews.* 1:145-58
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010; 33(Suppl 1):S62–S69.
4. Arslanian S A. 2005. Clamp techniques in pediatrics: what have we learned? *Horm Res.*; 64:16-24.
5. Arterburn L.M, Hall E.B, Oken H. 2006. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr.*; 83(6 Suppl): 1467S-76S.
6. Atlas de Diabetes de la Federación Internacional de la Diabetes. Internacional Diabetes Federación; 2015.
7. Aznar M.V. La epidemia del siglo XXI. 2014. Redacción Médica. [Internet]. España; [citado 10-enero de 2017]. Recuperado a partir de: <http://www.redaccionmedica.com/opinion/la-epidemia-del-siglo-xxi-5543>
8. Beck-Nielsen H, Hother-Nielsen O. 2003. Obesidad en la diabetes mellitus tipo 2. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. Diabetes Mellitus, Texto básico y clínico. México: McGraw-Hill Interamericana. p. 702-712.
9. Bennett H. 2003. Aspectos epidemiológicos de la diabetes mellitus tipo 2. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. Diabetes Mellitus, Texto básico y clínico. México: McGraw-Hill Interamericana.. p. 1331.
10. Calder P.C. 2014. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta.*; 1851(4):469-84.

11. Calder P.C. 2013. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *Br J Clin Pharmacol*. 75(3): 645-62.
12. Carrero J, Bautista S, Baro J, Fonolla J, Jiménez J, Boza J, López E. 2005. Efectos Cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp*. 20:63-69.
13. Castro- Muñozledo, F. 2008. Corneal epithelial cell cultures as a tool for research, drug screening and testing. *Exp Eye Res*; 86(3): 459-469.
14. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetesd 2018. *Diabetes Care* 2018; 41(Suppl. 1):S13–S27. Recuperado de: <https://doi.org/10.2337/dc18-S002>
15. Dimitri, G.D. Raptis S.A. Newsholme E. A. 2003. Integración de algunos efectos bioquímicos y fisiológicos de la insulina que podrían participar en el control de la glucemia. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. *Diabetes Mellitus, Texto basico y clínico*. México: McGraw-Hill Interamericana.. P. 200-215.
16. Doadrio Villarejo L.A. Contaminación y obesidad. *Obesógenos*. RANF. [Internet] España; 2018 [citado 23-de junio de 2017] p. 234-265. Recuperado a partir de: <http://www.forbes.com.mx/mexico>
17. En México, Norma Oficial Mexicana Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad (NOM-008-SSA3- 2010).
18. Fernández S.G, Jardón D.A, Figueroa H.J.L. 2006. Modelos experimentales utilizados para el estudio e investigación de la diabetes mellitus. En: 2do Congreso Nacional de Química Médica. Del 4 al 8 de Septiembre, Queretaro, Qro, México. Recuperado de: [file:///C:/Users/hp/Downloads/22_fernandez-saavedra_y_col.\(a\).pdf](file:///C:/Users/hp/Downloads/22_fernandez-saavedra_y_col.(a).pdf)
19. Ferrannini E. Hiperinsulinemia y Resistencia a la insulina. 2003. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. *Diabetes Mellitus, Texto basico y clínico*. México: McGraw-Hill Interamericana.. p 1234-1243
20. Guyton A. C. 2011. *Fisiología Humana*. Mexico: Mc Graw-Hill. Interamericana, México.
21. Havel P.J, Kasim-Karakas S, Mueller W, Johnson PR, Gingerich R.I, Stern J. 1996. Relationship of plasma insulin and adiposity in normal weight and over-

- weight women: effects of dietary fat content and sustained weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.*; 81(12):4406-4413.
22. Hevian P. 2016. Educación en diabetes. *Rev Med Clin CONDES.* 27(2):271-276.
 23. Howard B.V. Abbott W.G, Beltz W.F. 1987. Integrated study of low density lipoprotein metabolism and very low-density lipoprotein metabolism in non-insulindependent diabetes. *Metabolism.* 36: 870.
 24. Islas S, Revilla M.C. 2002. Diabetes Mellitus: Concepto y nueva clasificación. En: Islas S, Revilla Monsalve C, editores. Diabetes Mellitus. México: Mc-Graw-Hill Interamericana. p. 3-20.
 25. Ize-Ludlow D y Sperling M.A. 2005. The classification of diabetes mellitus: a conceptual framework. *Pediatric Clin North America.* 52:533-1552.
 26. Lillioja S, Mott DM, Howard B. 1998. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action: longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *N. Engl. J. Med.* 318:1217.
 27. Maureen I. Harris. 2003. Definición y clasificación de la diabetes Mellitus y criterios actuales para el diagnóstico. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. Diabetes Mellitus, Texto básico y clínico. México: Ed McGraw-Hill Interamericana. p. 406-416.
 28. Mori T.A, Beilin L.J. 2004 Omega-3 fatty acids and inflammation. *Curr Atheroscler Rep.* 6(6):461-7.
 29. Morrison, W.R. y Smith, L.M. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.*; 5:600-608.
 30. Ntambi J. 1999. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acid and cholesterol. *J. Lipid Research*; 40:1549-1568.
 31. Orozco Tapia R. 2008. Efecto de los ácidos grasos omega 3 (FA ω -3) y linoleico conjugado (CLA) en la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) en ratas Wistar. [Tesis Licenciatura]. [México]: Universidad Nacional Autónoma de México.
 32. Oster M.H, Castonguay TW, Keen C.L. 1988. Circadian rhythm of corticosterone in diabetic rats. *Life Science.*; 43(Issue 20):1643-1645.

33. Pérez-Hernández I. 2008. Cambios en los ácidos grasos y fosfolípidos durante el desarrollo de la diabetes e hipertension en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). [Tesis Licenciatura]. [México]: Universidad Nacional Autónoma de México.
34. Pérez-Hernández I. Avendaño Y. Mejía R. 2010. Analysis of the membrane fluidity of the erythrocytes ghosts in diabetic spontaneously hypertensive rats. *Acta diabetol*; 47(Suppl 1):47-55.
35. Pérez-Hernández I. 2011. Efecto del aceite de linaza (ácido alfa linolénico) sobre la fluidez membranal en células de ratas espontáneamente hipertensas con diabetes. [Tesis Maestria]. [México]: Universidad Nacional Autónoma de México.
36. Pilon M. 2016. Revisiting the membrane-centric view of diabetes. *Lipids health Disease*; 15:167.Pp1-6
37. Pratley, R. E, Weyer C, Bogardus C. 2003. Anormalidades metabólicas en la genesis de la diabetes tipo 2. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. Diabetes Mellitus, Texto basico y clínico. México: Ed McGraw-Hill Interamericana. 2003. p. 680-689.
38. PubMed. Consultada en 2017 Gov NCBI/ US National Library of Medicine National Institutes of Health. Fecha de consulta: Agosto del año 2017
39. Quinn P, Tessier C, Dominique R, Kaumanov K. Wolf C. 2005. Structure and Thermotropic phase behaviour of detergent-resistant membrane raft fractions isolated from human and ruminant erythrocytes. *Biochim et Biophys Acta*; 1713:5-14.
40. Rivera V.M. 2012. Uso de ácidos grasos omega 3 contra la diabetes. [Tesis Maestria]. [México]: Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.
41. Rojas de PE, Molina R, Rodríguez C. Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. Capitulo II. *Rev Ven End Met*; 10(1):7-12.
42. Romero J. 2007. El farmacéutico ante los productos milagro. Trastornos de la conducta alimentaria.; 6:660-677.

43. Romero-Márquez R.S, Díaz-Veja G, Romero-Zepeda H. 2011. Estilo y calidad de vida de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Instituto Mexicano del Seguro Social*; 49(2):125-136.
44. Shepherd P, Wein S, Gasperikova D, Ukropec J, Certik M, Klimes I. 2002. Comparison of the extrapancreatic action of alfa-linolenic acid and n-3 PUFAs in the high fat diet-induced insulin resistance” *Endocrine Regulation*; 36:143-149.
45. Shepherd P. Kahn B. 2003. Transportadores de glucosa y estado fisiopatológicos. En: LeRoith D, Taylor S, Olefsky J, editores. *Diabetes Mellitus, Texto basico y clínico*. México: McGraw-Hill Interamericana. 2003. p.779-792.
46. Simopoulos AP. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*. 2002; 21(6):495-505.
47. Steerenberg PA, Beekhof PK, Feskens EJ. 2002. Long-term effect of fish oil diet on basal and stimulated plasma glucose and insulin levels in ob/ob mice. *Diabetes Nutr Metab*; 15: 205–14.
48. Tsuda K, Nishio I. 2003. Insuline sensitivity, glucose metabolism, and membrane fluidity in hipertensive subjects. *Circulation*. 108, 2653–2659.
49. Vázquez CM, Rovira N, Ruiz-Gutiérrez V. 1997. Developmental changes in glucose transport, lipid composition, and fluidity of jejunal. *BBM J Physiology*; 273:R1086–R1093.
50. Voet D y Voet J.D. 2008. *Bioquímica*. México: Panamericana. 1315 p.
51. White D.R, Widowson E.M, Woodard HQ, Dickerson J.W. 1991. The composition of body tissues (II). Fetus to young adult. *Br J Radiol*; 64: 149-59.