



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**“Comparación del efecto de los ácidos grasos omega-3
de cadena larga y cadena corta durante el desarrollo
inicial de la diabetes”**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA**

**PRESENTA:
KARLA ALEJANDRA AVENDAÑO BRISEÑO**

**Director de Tesis:
Dr. Ricardo Mejía Zepeda.**



Los reyes Iztacala, Tlalnepanitla, Estado de México, 2019.



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

Al Programa de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT N^o IN 215917-3 otorgado al Dr. Ricardo Mejía Zepeda. UBIMED. FESI- UNAM.

A los miembros del sínodo por todo su apoyo, su tiempo y por todo el interés en el proyecto de investigación.

Dr. Hugo Virgilio Perales Vela.

Dr. Ismael Herminio Pérez Hernández

M. en C. Laura Castañeda Partida

Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro

DEDICATORIAS

A **mis padres**, por todo el amor, el apoyo y la comprensión incondicional que me brindaron durante toda mi formación académica. No tengo forma de agradecer todo lo que han hecho por mí, gracias a ustedes (con los sacrificios que eso implica) he podido llegar hasta aquí, sintiéndome satisfecha y con ganas de seguir superándome, espero siempre contar con ambos pues básicamente son los pilares y motores de mi vida. Los amo demasiado.

A **mi hermana** (gorda) por todo su amor y apoyo. Por los buenos momentos que hemos pasado y por enseñarme lo valiosa y divertida que puede ser la vida. I lovui

A **mis abuelitas**, por ser mis ejemplos de fortaleza femenina. Gracias, porque a pesar de todo siempre están dispuestas a ayudar y a dar amor. Las amo.

A **mis tías, tíos y primos**, porque cada uno de ustedes ha dejado una huella en mí, gracias por motivarme a ser una buena estudiante y por todo el apoyo brindado tanto a mí como a mi familia. Los quiero mucho.

A **mis amigos de la carrera**, con quién compartí muchas cosas muy buenas e hicieron de esta etapa una de las mejores de mi vida. Gracias por su amistad, los quiero mucho. Leslie, Brenda, Misa, Vale, Kevin, Leo, Marianita, Roberto, Paola.

A **mis compañeros del laboratorio**, por todo su apoyo, buena vibra y porque en ustedes he encontrado a muy buenos amigos. Especialmente a Jorge, amigo nunca olvidaré que fuiste la primera persona con la que conviví en el laboratorio, agradezco todo tu apoyo y los momentos que pasamos. Fue muy satisfactorio crecer junto a ti en el campo de la investigación. A Ramiro, gracias por todo el apoyo y la paciencia. Siempre fuiste mi “sensei” en la investigación y te has convertido en un muy buen amigo. Los quiero.

Al **Dr. Ricardo**, gracias por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por tanta paciencia y por todo su apoyo y comprensión durante todo este tiempo. Gracias por compartir parte de sus conocimientos conmigo, y ser un ejemplo a seguir. Es el mejor investigador del mundo y algún día espero lograr la mitad de lo que usted ha logrado. Lo quiero mucho.

A **la Dra. Figueroa**, gracias por todo su tiempo y apoyo. No sabe cuánto he aprendido de usted, es una gran persona y una excelente investigadora. La admiro y la estimo demasiado.

A **Zenit**, mi amor no tengo palabras para agradecer todo lo que has hecho por mí, gracias por tanto amor, apoyo y tiempo. Especialmente gracias por escucharme, por no juzgarme y siempre ayudarme a superar todo de la mejor manera. Realmente quiero compartir muchos trabajos de investigación más contigo. No tienes una idea de cuánto Te amo.

"ALL WE HAVE TO DECIDE IS
WHAT TO DO WITH THE TIME
THAT IS GIVEN US".

Gandalf

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|-----|
| I. | ÍNDICE DE TABLAS..... | I |
| II. | ÍNDICE DE FIGURAS..... | III |
| III. | ABREVIATURAS..... | V |
| IV. | RESUMEN | VI |
| 1 | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 | DIABETES MELLITUS | 1 |
| 1.1.1 | <i>Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)</i> | 2 |
| 1.1.2 | <i>Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)</i> | 2 |
| 1.1.3 | <i>Diabetes gestacional</i> | 2 |
| 1.1.4 | <i>Otros factores que favorecen el desarrollo de DM</i> | 3 |
| 1.2 | PANORAMA DE LA DM..... | 4 |
| 1.3 | ENFERMEDADES Y ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS A LA DM TIPO 2 | 4 |
| 1.4 | TRATAMIENTO DE LA DM. | 6 |
| 1.5 | IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LOS ÁCIDOS GRASOS | 8 |
| 1.6 | METABOLISMO DEL CEREBRO Y ALTERACIONES DURANTE LA DM 2..... | 9 |
| 2 | ANTECEDENTES..... | 11 |
| 3 | JUSTIFICACIÓN..... | 13 |
| 4 | HIPOTESIS..... | 13 |
| 5 | OBJETIVOS..... | 14 |
| 5.1 | GENERAL..... | 14 |
| 5.2 | OBJETIVOS PARTICULARES: | 14 |
| 6 | MATERIAL Y MÉTODOS | 15 |
| 6.1 | ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN | 15 |
| 6.2 | INDUCCIÓN DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 | 15 |
| 6.3 | ADMINISTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3..... | 16 |
| 6.4 | MEDICIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS | 16 |
| 6.5 | SACRIFICIO DE ANIMALES | 17 |
| 6.5.1 | <i>Extracción de cerebro</i> | 17 |
| 6.5.2 | <i>Obtención de mitocondrias cerebrales</i> | 17 |
| 6.5.3 | <i>Respiración mitocondrial de células cerebrales</i> | 18 |
| 6.6 | OBTENCIÓN DE METILESTÉRES..... | 18 |
| 6.7 | ANÁLISIS DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE MITOCONDRIAS Y TEJIDO CEREBRAL | 19 |
| 6.8 | ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 19 |
| 7 | RESULTADOS..... | 20 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 7.1 | COMPOSICIÓN DE ACEITES..... | 20 |
| 7.2 | EFFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS ω -3 DE CADENA LARGA (EPA Y DHA) Y CADENA CORTA (ALA) SOBRE EL PESO DE RATAS CONTROL Y RATAS INDUCIDAS A DIABETES (STZ) CON Y SIN TRATAMIENTO..... | 21 |
| 7.3 | EFFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS ω -3 DE CADENA LARGA (EPA Y DHA) Y CADENA CORTA (ALA) SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA DE RATAS CONTROL Y RATAS INDUCIDAS A DIABETES (STZ) CON Y SIN TRATAMIENTO..... | 23 |
| 7.4 | EFFECTO DE LA EDAD Y LA INDUCCIÓN A DM2 SOBRE LAS VELOCIDADES DE RESPIRACIÓN MITOCONDRIAL (ESTADO 4 Y ESTADO 3) Y SOBRE EL CONTROL RESPIRATORIO DE MITOCONDRIAS DE CEREBRO | 26 |
| 7.5 | EFFECTO DE LA EDAD, LA INDUCCIÓN A DM2 Y LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 DE CADENA LARGA Y CADENA CORTA SOBRE LAS VELOCIDADES DE RESPIRACIÓN MITOCONDRIAL (ESTADO 4 Y 3) Y SOBRE EL CONTROL RESPIRATORIO DE MITOCONDRIAS DE CEREBRO..... | 29 |
| 7.6 | COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE TEJIDO CEREBRAL Y MITOCONDRIAS DE RATAS WISTAR..... | 40 |
| 8 | DISCUSIÓN..... | 56 |
| 8.1 | GANANCIA DE PESO | 56 |
| 8.2 | GLICEMIA | 60 |
| 8.3 | RESPIRACIÓN MITOCONDRIAL | 64 |
| 8.4 | COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y FLUIDEZ MEMBRANAL DE TEJIDO CEREBRAL Y MITOCONDRIA | 72 |
| 9 | CONCLUSIONES..... | 77 |
| 10 | LITERATURA CITADA. | 79 |
| 11 | ANEXOS | 87 |

I. Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Aceites comerciales analizados por cromatografía de gases | 20 |
| Tabla 2. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas Wistar normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) a 1 mes de edad | 40 |
| Tabla 3. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas Wistar normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) a 1 mes de edad | 41 |
| Tabla 4. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) a 3 meses de edad | 42 |
| Tabla 5. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Control) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 3 meses de edad | 43 |
| Tabla 6. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas inducidas a diabetes (STZ) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 3 meses de edad | 44 |
| Tabla 7. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) a 6 meses de edad | 45 |
| Tabla 8. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Control) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 6 meses de edad | 46 |
| Tabla 9. Composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas inducidas a diabetes (STZ) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 6 meses de edad | 48 |
| Tabla 10. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) a 3 meses de edad | 49 |
| Tabla 11. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 3 meses de edad | 50 |
| Tabla 12. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas inducidas a diabetes (STZ), tratadas con ácidos grasos omega 3 a 3 meses de edad | 52 |

| | |
|---|----|
| Tabla 13. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) y ratas inducidas a diabetes (grupo STZ) a 6 meses de edad | 53 |
| Tabla 14. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 6 meses de edad | 54 |
| Tabla 15. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas inducidas a diabetes (STZ) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 a 6 meses de edad | 55 |
| Tabla 16. Actividad de la delta 9 desaturasa en la conversión de Esteárico a Oleico en todos los grupos respecto al tiempo experimental | 73 |
| Tabla 17. Actividad de la delta 9 desaturasa en la conversión de palmítico a palmitoleico en todos los grupos respecto al tiempo experimental | 73 |

II. Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Curva de crecimiento de ratas Wistar normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) y sus respectivos grupos tratados con ácidos grasos ω -3 | 22 |
| Figura 2. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) y sus respectivos grupos tratados con ácidos grasos ω -3 | 25 |
| Figura 3. Parámetros respiratorios de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) en función de la edad. | 28 |
| Figura 4. Parámetros respiratorios de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Control) e inducidas a diabetes (STZ) que recibieron tratamiento de ácidos grasos ω - 3 de cadena larga en función de la edad | 32 |
| Figura 5. Parámetros respiratorios de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas e inducidas a diabetes que recibieron tratamiento de ácidos grasos ω 3 de cadena corta en función de la edad | 33 |
| Figura 6. Velocidad de respiración mitocondrial del estado 4 de mitocondrias de cerebro de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad | 36 |
| Figura 7. Diferencia de la velocidad del consumo de oxígeno en el estado 4 de la respiración de mitocondrias de cerebro a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales | 36 |
| Figura 8. Velocidad de respiración mitocondrial del estado 3 de mitocondrias de cerebro de todos los grupos experimentales a los 3 y 6 meses de edad | 37 |
| Figura 9. Diferencia de la velocidad del consumo de oxígeno en el estado 3 de la respiración de mitocondrias de cerebro a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales | 37 |
| Figura 10. Control Respiratorio de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad | 39 |
| Figura 11. Diferencia de Control Respiratorio a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales | 39 |

Figura 12. Curva de Tolerancia a la glucosa de ratas nomoglicémicas (grupo control, a) y ratas inducidas a diabetes (STZ, b) a los 4 meses de edad

95

III. ABREVIATURAS

| | |
|--------------------------------|---|
| AA | Ácido Áraquidónico |
| ADA | American Diabetes Association (Asociación Americana de Diabetes) |
| ALA | Ácido Alfa linolénico |
| ATP | Adenosin trifosfato |
| BHE | Barrera Hematoencefálica |
| C + ω -C | Grupo control tratado con ácidos grasos ω -3 de cadena corta |
| C + ω -L | Grupo control tratado con ácidos grasos ω -3 de cadena larga |
| DM | Diabetes mellitus |
| DM1 | Diabetes mellitus tipo 1 |
| DM2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| CR | Control Respiratorio |
| DHA | Ácido Docosaheptaenoico |
| EGTA | Ácido etilenglicol-bis(2- aminoetiléter)- N,N,N'N'-tetraacético |
| EPA | Ácido Eicosapentaenoico |
| FADH ₂ | Dinucleótido de flavina y adenina. |
| FAS | Complejo multienzimático ácido graso sintasa |
| GLUT 4 | Glucotransportador de glucosa 4 |
| H ₃ PO ₄ | Ácido Fosfórico |
| MgCl ₂ | Cloruro de Magnesio |
| NADH | Dinucleótido de nicotinamida y adenina |
| PPARS | Receptores activadores de proliferación del peroxisoma |
| STZ | Grupo inducido a diabetes |
| STZ + ω -C | Grupo inducido a diabetes tratado con ácidos grasos ω -3 de cadencorta |
| STZ + ω -L | Grupo inducido a diabetes tratado con ácidos grasos ω -3 de cadena larga |
| VLDL | Lipoproteínas de muy bajas densidad |

IV. RESUMEN

La Diabetes mellitus es un importante problema de salud en México y el mundo y se conoce que su desarrollo puede llevar varios años antes de manifestarse. Durante el desarrollo de esta patología se llevan a cabo diversas modificaciones metabólicas, algunas de ellas relacionadas con daño al cerebro. En los últimos años se ha promovido el consumo de ácidos grasos omega 3 para el tratamiento y prevención de la diabetes, sin embargo, hasta la fecha se desconoce si el efecto es benéfico o no. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga (EPA y DHA) y cadena corta (ALA) sobre el desarrollo inicial de diabetes, así como las consecuencias de estas moléculas sobre la composición de ácidos grasos y la respiración en mitocondrias de cerebro. Se trabajó con ratas Wistar machos; la inducción a DM2 se hizo por inyección intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) a neonatos. El destete de las ratas se hizo a las 4 semanas; la administración de los ácidos grasos se hizo de forma oral por diferentes tiempos (hasta los 3 ó 6 meses de edad). Se midió la glicemia y peso durante el crecimiento. En el sacrificio se extrajo el cerebro, el tejido se homogenizó y las mitocondrias se obtuvieron por centrifugaciones diferenciales. La respiración mitocondrial fue evaluada por oximetría y la composición de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases. La hiperglicemia generada fue muy ligera, simulando las etapas iniciales del desarrollo de la diabetes, con alteración en el control de la glicemia, y en general, sin cambios significativos en la ganancia de peso corporal de los organismos. En mitocondrias cerebrales, el modelo de hiperglicemia ligera no presenta diferencias en el CR, no obstante, las velocidades de respiración mitocondrial sí cambian. El efecto de los ácidos grasos omega 3 sobre los parámetros de la respiración es distinto y particularmente en grupos normoglicémicos, los ácidos grasos de cadena corta muestran una disminución significativa en el CR. El análisis de cromatografía muestra que, en general, no hay cambios drásticos en la composición de ácidos grasos de las membranas mitocondriales de cerebro; no obstante se presentan cambios particulares en ciertos ácidos grasos. En conclusión, se puede afirmar que aun cuando el desarrollo de la diabetes no es evidente, ya se están generando alteraciones tanto en la bioenergética mitocondrial como en el metabolismo de lípidos en el cerebro, además de que el grado de hiperglicemia y el tiempo de exposición a esta, parecen jugar un papel importante en el desarrollo de la patología y las modificaciones bioquímicas consecuentes.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Diabetes mellitus

La Diabetes mellitus (DM) es un importante y creciente problema de salud en todos los países independientemente de su grado de desarrollo. Nuestro país ocupa el 6° lugar a nivel mundial en número de personas con diabetes y según el Instituto Nacional de Salud Pública desde el año 2000, la DM en México es la primera causa de muerte entre las mujeres y la segunda en los hombres. En 2010 esta patología causó 83,000 muertes en el país y la cifra en los últimos años sigue en aumento (Rojas *et al*, 2015).

La DM se define como un grupo de trastornos metabólicos que se caracteriza porque las personas que lo padecen presentan hiperglicemia (concentración elevada de glucosa en sangre) que puede acompañarse en mayor o menor medida con una alteración en el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas. En general se habla de que el origen y las causas son distintas, sin embargo, todas conllevan a defectos en la secreción o acción de la insulina (American Diabetes Association, ADA, 2014).

La insulina es una hormona peptídica sintetizada por las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas (McKee, 2014). Su función principal es promover la captación de glucosa en las células del músculo estriado esquelético y del tejido adiposo, y la homeostasis de la glucosa en sangre, además, participa en otros procesos metabólicos como: estimulación de lipogénesis, síntesis de glucógeno y proteínas e inhibe los procesos contrarios. En el caso de la DM la insulina que es secretada por las células β pancreáticas no es suficiente o las células diana no responden de manera adecuada a su estímulo, lo que da como resultado una desregulación de los procesos antes mencionados y produce un aumento en la concentración de glucosa en sangre (Saltiel y Kahn, 2001).

Los signos y síntomas clínicos de la hiperglicemia son: polifagia, polidipsia, poliuria y pérdida de peso, si la patología no se atiende de forma adecuada pueden presentarse complicaciones como la pérdida de la agudeza visual, daño renal e incluso pie diabético (Rivera – Hernández *et al*, 2001).

De acuerdo con el comité de expertos de la ADA existen diferentes tipos de diabetes, los cuales se clasifican en:

1.1.1 Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)

Anteriormente denominada diabetes insulino dependiente. Este tipo de diabetes es el resultado de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas que conlleva a una deficiencia absoluta de insulina. Esta destrucción autoinmune tiene múltiples predisposiciones genéticas y se relaciona con factores ambientales poco definidos (ADA, 2018). La tasa de destrucción de las células β pancreáticas es variable entre los pacientes (se ha mencionado que es más rápida en lactantes y niños).

La DM tipo 1 representa del 5-10% de los casos clínicos de DM en el mundo y para sobrevivir los pacientes necesitan de un suministro constante de insulina.

1.1.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)

Este tipo de diabetes corresponde a lo que anteriormente se denominada DM no insulino dependiente o diabetes del adulto. Se caracteriza por la pérdida progresiva de la secreción de insulina y/o derivada de resistencia a la insulina. A diferencia de la DM1 la deficiencia de insulina es relativa (no absoluta) por lo que los pacientes que la padecen no requieren de insulina exógena para sobrevivir

Las estadísticas indican que entre el 90 y el 95% de los pacientes que padecen diabetes presentan la DM2, la cual se asocia a malos hábitos alimenticios, inactividad física y un exceso de peso corporal.

1.1.3 Diabetes gestacional

La diabetes gestacional se caracteriza por la presencia de cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se inicia durante el embarazo. Esta intolerancia deriva de algunas hormonas que produce la placenta y que se oponen al efecto de la insulina lo que conduce a un incremento en las concentraciones de glucosa en sangre. Normalmente la

Diabetes gestacional se diagnostica en el segundo o tercer trimestre de embarazo y en la mayoría de los casos clínicos esta condición se revierte después del parto.

1.1.4 Otros factores que favorecen el desarrollo de DM

❖ Defectos genéticos en la secreción de insulina:

Las alteraciones metabólicas asociadas con los receptores de insulina producen ciertos grados de hiperglicemia.

❖ Infecciones:

Algunos virus se asocian con la destrucción de las células β pancreáticas (virus de la rubeola y el megalovirus, entre otros).

❖ Enfermedades del páncreas :

Se habla de cualquier proceso que afecte al páncreas puede causar DM, entre estos procesos se encuentran la pancreatitis, el trauma, las infecciones y el carcinoma.

❖ Endocrinopatías:

Ciertas hormonas como el glucagón antagonizan el efecto de la insulina y cuando se encuentran en exceso pueden desencadenar DM.

❖ Diabetes inducida por drogas/ toxinas:

Existe una gran variedad de fármacos que pueden interferir en el metabolismo de los carbohidratos, los mecanismos de acción incluyen: disminución en la secreción de insulina, aumento en la producción hepática de glucosa o desarrollo de resistencia a la acción de la insulina.

1.2 Panorama de la DM

El número de personas con DM en el mundo se encuentra en aumento debido al constante crecimiento poblacional y envejecimiento de la población. Entre los 3 países con mayor número de individuos diabéticos se encuentran: India, China y Estados Unidos y se estima que estos tres países seguirán encabezando la lista hasta el año 2030 (Franco, 2009).

En el caso particular de México, los malos hábitos alimenticios de la población, así como la falta de actividad física han ocasionado que las personas tengan sobrepeso y obesidad, un factor de riesgo para desarrollar diversas enfermedades. En 2012, Gutiérrez y colaboradores a través de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición reportaron que alrededor de 6.4 millones de mexicanos padecían diabetes y que el 99% de estos casos clínicos correspondían a DM tipo 2. Actualmente las cifras han aumentado y la DM tipo 2 se ha convertido en un problema de salud pública, por lo que en los últimos años se han realizado una gran cantidad de investigaciones para conocer más acerca de sus efectos y las posibles causas.

1.3 Enfermedades y alteraciones metabólicas asociadas a la DM tipo 2

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en pacientes que padecen DM2 y uno de los principales factores de riesgo son las dislipidemias. Está bien documentado que la DM2 causa un estado de hiperlipidemia, entendiéndose a esta como un aumento en la concentración de triacilgliceroles y colesterol en sangre lo que puede desencadenar problemas graves (Cuevas y Alonso, 2016).

Se ha reportado que el incremento de los lípidos circulantes en el torrente sanguíneo provoca que estos se acumulen en los islotes del páncreas, afectando a las células β lo que ocasiona alteraciones en la secreción de insulina y contribuye a aumentar las concentraciones de glucosa en sangre (Schaffer, 2003). Las altas concentraciones de glucosa en sangre pueden generar un estado denominado "glucotoxicidad" y tomando en cuenta las características químicas de esta molécula (altamente reactiva por la presencia

de hidroxilos en su estructura) puede desencadenar efectos adversos sobre las estructuras celulares y sus funciones (Halliwell y Gutteridge, 2015).

Dentro de las estructuras que más se ven afectadas por la glucotoxicidad y de las cuales se han realizado una gran cantidad de estudios debido a su importancia para la célula se encuentran las membranas biológicas.

En general, se acepta que con el desarrollo de la DM 2 las membranas de distintas células tienden a ser más rígidas o, dicho de otro modo, menos fluidas (Pilon, 2016). El término fluidez hace referencia a la viscosidad de la bicapa lipídica y se explica por el grado de resistencia que imponen los componentes de la membrana al movimiento. La fluidez de la membrana depende mucho del porcentaje de ácidos grasos insaturados en los fosfolípidos (McKee y McKee, 2014), por lo que durante el desarrollo de la DM los cambios en la fluidez están principalmente regulados por un incremento de ácidos grasos saturados en la membrana; sin embargo, el cambio en la composición de estos ácidos grasos no es el único determinante para modificar la fluidez membranal, también se encuentran otros parámetros como la temperatura y la cantidad de colesterol que se encuentra contenido en la bicapa lipídica (Stryer *et al*, 2015). La alteración de la fluidez representa, por lo tanto, un problema grave para la célula ya que se ha observado experimentalmente que algunos procesos de transporte, así como la actividad de ciertas enzimas pueden alterarse cuando la fluidez de la membrana se ve afectada (Bloom *et al*, 1991).

Las mitocondrias son organelos que básicamente se encuentran formados por membranas y que gracias a esta estructura (dos sistemas de membranas: membrana interna y membrana externa) puede llevarse a cabo un proceso que es fundamental para la célula, la fosforilación oxidativa; vía metabólica cuya finalidad es la producción de ATP (energía) a través del bombeo de protones y transferencia de electrones por parte de los complejos mitocondriales. Dichos protones acumulados servirán como fuerza protón-motriz para la generación de ATP por la enzima ATP sintetasa utilizando como sustratos ADP y fósforo inorgánico. Generalmente las moléculas donadoras de protones son el NADH y FADH₂, moléculas que se forman a partir de otras vías metabólicas como la glucólisis y el ciclo de Krebs. La fosforilación oxidativa tiene lugar específicamente en la membrana interna de la mitocondria y el aceptor final de electrones por lo regular es el oxígeno molecular (Voet y Voet, 2006).

De forma general se acepta que la mitocondria es uno de los principales organelos en donde se produce mayor cantidad de radicales libres (moléculas cuya característica es la presencia de un electrón desapareado en su último orbital molecular) debido a que la transferencia de electrones para la total reducción del O_2 hasta la formación de agua (H_2O) no es un proceso 100% eficiente, sin embargo, existen moléculas especializadas, conocidas como antioxidantes, que ayudan a estabilizar químicamente a los radicales libres (Halliwell y Gutteridge, 2015). Se conoce que durante el desarrollo de DM2 hay un aumento en la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes se ven afectadas, lo que puede generar un estado de estrés oxidativo en las células, fenómeno clave en el desarrollo y progresión de esta patología (Ha y Lee, 2000).

1.4 Tratamiento de la DM2.

En respuesta a todas las alteraciones que desencadena la DM tipo 2, se han buscado distintas alternativas que sean auxiliares para el control de la hiperglicemia. Los tratamientos más utilizados son los fármacos hipoglucemiantes, que como su nombre lo indica son drogas que disminuyen la concentración de glucosa en sangre luego de su administración por vía oral. Existen varios tipos de fármacos entre los que podemos encontrar: el grupo de las sulfonilureas, Biguanidas, Tiazolidinedionas, entre otros (Mateos y Zacarías, 2002).

Un ejemplo de los hipoglucemiantes es la metformina, fármaco empleado para el tratamiento de DM tipo 2, pertenece al grupo de las biguanidas y se conoce que este fármaco es auxiliar en la disminución de la glucosa liberada por el hígado. Principalmente se ha postulado que su mecanismo de acción es la inhibición de la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa (inhibición de la gluconeogénesis) así como la reducción de la actividad del glucagón (disminución de la glucogenólisis). Por su parte, en el músculo, dicho fármaco promueve la captación de la glucosa mediada por insulina a través del glucotransportador 4 (GLUT 4) (Godoy y Moreira, 2009; Bailey, 2015).

Otro ejemplo del empleo de estos fármacos es el grupo de las sulfonilureas, del cual, su mecanismo de acción está bien descrito y sus efectos se deben a la unión de estas moléculas a su receptor (íntimamente relacionado con los canales de potasio sensibles al trifosfato de adenosina) en la superficie de las células β (SUR-1). La unión de la sulfonilurea a su receptor desencadena el cierre de los canales de potasio, lo cual

impide la salida iones de potasio de la célula β , como consecuencia la membrana celular se despolariza originando la abertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. El ingreso de los iones de calcio a la célula produce la contracción de los microtúbulos y con ello la exocitosis de la insulina preformada y almacenada en gránulos adyacentes a la membrana plasmática, dando lugar a la primera fase de liberación (Romero, 2009).

Sin embargo, a pesar de la existencia de los fármacos hipoglucemiantes, se han propuesto otras alternativas “más naturales” que puedan tener el mismo efecto. En los últimos años la ingesta de ácidos grasos omega 3 de cadena larga, principalmente el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), como posible tratamiento de la DM 2, ha incrementado. Por ello, se han realizado distintos trabajos para demostrar el efecto hipoglucemiante, encontrando que efectivamente pueden ser auxiliares en el control de la glicemia y aparentemente tienen un efecto hipolipemiante sin embargo, aún no se conoce el mecanismo exacto por el cual estas moléculas tienen este efecto, no obstante se ha postulado que lo hacen por medio de los receptores activadores de proliferación del peroxisoma (PPARS), los cuales son receptores nucleares que pertenecen a la familia de factores de transcripción activados por ligandos (Auwerx, 1999). Existen tres tipos de PPARS que son designados con letras del alfabeto griego y se localizan en distintos tejidos (Sanhueza y Valenzuela, 2006). De ellos el de mayor interés en el metabolismo de la glucosa asociado a los lípidos es el PPAR γ y el cual se encuentra principalmente en hígado y juega un papel importante para la diferenciación y proliferación de los adipocitos. Estos receptores son activados por ligandos naturales (ácidos grasos y prostanoides) que se unen al receptor y estimulan la expresión de diversos genes, entre los que se encuentran los implicados en la respuesta a la insulina, incluido el receptor de insulina y sus sustratos (IRS-1, IRS2) (Iwata *et al*, 2001), así como los que codifican para el transportador de glucosa GLUT 4 que se expresa principalmente en músculo esquelético, músculo cardiaco y tejido adiposo (Sandoval *et al*, 2016).

Además de todo lo anterior, se ha postulado que algunos ácidos grasos consumidos en la dieta pueden ser incorporados en algunas estructuras celulares, tal es el caso de los fosfolípidos que componen a las membranas. La estructura de estos ácidos grasos (con largas cadenas hidrocarbonadas con una o varias insaturaciones) aumenta la fluidez de la bicapa lipídica, pues adoptan una forma determinada que les permite ocupar más espacio dentro de las estructuras que los contienen, facilitando así el movimiento de receptores, canales iónicos, enzimas, etc (Crawford *et al*; 1999).

1.5 Importancia biológica de los ácidos grasos

Se debe tener presente que los ácidos grasos no sólo se limitan a ser constituyentes esenciales de las membranas biológicas sino que también desempeñan otras importantes funciones en diversos tejidos. En primer lugar, los ácidos grasos son fuente de energía para la célula ya que después de que son consumidos en la dieta y que han pasado por el proceso de digestión y absorción, estos pueden formar parte de los triacilgliceroles (los cuales consisten en tres ácidos grasos que se encuentran esterificados a una molécula de glicerol); lo que facilita su transporte en el torrente sanguíneo para que posteriormente puedan ser almacenados en el citosol de las células adiposas como reservas energéticas (Voet y Voet, 2006).

Los ácidos grasos no esterificados pueden participar en la regulación de la expresión genética, pues juegan un papel clave como ligandos para diversos receptores nucleares (particularmente los ácidos grasos de la familia de los ω -3), dentro de los receptores que más han sido estudiados se encuentran los PPARS. Entre los principales ácidos grasos que ejercen este efecto de ligandos se encuentran: el ácido araquidónico (AA), EPA, DHA, el ácido alfa linolénico (ALA) y el ácido linoleico conjugado (Sanhueza y Valenzuela, 2006; Varga *et al*, 2011).

Algunos ácidos grasos se asocian con otras moléculas de naturaleza lipídica como los fosfolípidos o los ésteres de colesterilo, que a su vez se asocian en conjunto de forma no covalente con proteínas formando lo que se conoce como lipoproteínas, cuya función es servir como vehículo para el transporte de los triacilgliceroles y el colesterol en el torrente sanguíneo (Voet y Voet, 2006).

Además, los ácidos grasos son precursores de la síntesis de otras moléculas señalizadoras como los eicosanoides, un grupo heterogéneo de moléculas que se producen en la mayor parte de los tejidos de los mamíferos y entre los que se encuentran las prostaglandinas, los leucotrienos y los tromboxanos; responsables de mediar una amplia variedad de procesos fisiológicos como: la inflamación, la percepción del dolor y la regulación del flujo sanguíneo (McKee y McKee, 2014).

Debido a la importancia de los ácidos grasos en el metabolismo celular, el consumo de estas moléculas, principalmente los de cadena larga, ha sido recomendado también en el tratamiento de diversas enfermedades.

Adicionalmente se ha establecido que los ácidos grasos son fundamentales para asegurar el correcto desarrollo de los órganos y en particular diversos estudios se han centrado en determinar la participación de estos ácidos grasos en el desarrollo del cerebro, encontrando que efectivamente desempeñan un papel clave, principalmente la familia de los ω -3, (entre ellos destaca el DHA) donde se ha postulado que su consumo es fundamental, ya que es el principal componente estructural de membranas celulares de cerebro y retina, por lo que su consumo es requerido durante el tercer trimestre del embarazo y hasta los 18 meses de vida de los infantes (Innis y Friesen, 2008), razón por la cual los ácidos grasos de cadena larga han sido incorporados en la elaboración de fórmulas lácteas, “asegurando” los requerimientos de los lactantes en sus primeros años de vida.

Por otro lado, se ha planteado que el consumo de los ácidos grasos omega -3 de cadena larga es indispensable para el cerebro de los adultos, pues además de mejorar la función cognoscitiva, se ha planteado que una alteración en el metabolismo de estas moléculas está relacionada con la aparición de ciertos trastornos neurológicos como el Alzheimer o el trastorno bipolar (Söderberg *et al*, 1991).

1.6 Metabolismo del cerebro y alteraciones durante la DM 2

El cerebro es un órgano muy importante pues controla diversas funciones vitales, debido a esto existen estructuras especializadas que lo protegen de posibles lesiones físicas (cráneo) o que impiden el paso de sustancias y/o agentes biológico infecciosos que intervengan con su buen funcionamiento (barrera hematoencefálica, BHE) (Escobar y Gómez, 2008).

De forma normal, la principal fuente de energía del cerebro es la glucosa; sin embargo, durante la DM2 donde el suministro de glucosa es bajo se recurre a la degradación de otras moléculas para la obtención de energía, en este caso en particular los ácidos grasos son catabolizados a cuerpos cetónicos (Peña *et al*, 2004). Los cuerpos cetónicos se forman de manera normal a través de un proceso llamado cetogénesis que tiene lugar en las mitocondrias de hígado, en el cual una pequeña fracción de acetil-coA (intermediario y producto metabólico resultante de la β -oxidación) se convierte en acetoacetato al unirse dos moléculas de acetil coa y posteriormente perder la coenzima. El acetoacetato puede reducirse para dar origen al β -hidroxibutirato o en menor medida

puede descarboxilarse para dar origen a la acetona, en conjunto estas tres moléculas se conocen como cuerpos cetónicos. Durante el desarrollo de la DM tipo 2 las mitocondrias de hígado utilizan una mayor cantidad de grasas y por ende incrementan la producción de los cuerpos cetónicos.

La producción de cuerpos cetónicos es superior a su oxidación, lo que ocasiona que se acumulen y generen un estado de acidosis en el organismo, debido a que estas moléculas tienen un radical carboxilo en su estructura, lo que podría desencadenar problemas muy graves (Peña *et al*, 2004). Debido a que la BHE es permeable a los cuerpos cetónicos, estas moléculas pueden ser utilizadas como sustrato energético en el cerebro (Crone y Gjedde, 1973; Pierre y Pellerin, 2005).

A pesar de que los cuerpos cetónicos derivan de los ácidos grasos se ha postulado que no todas las moléculas de esa naturaleza pueden atravesar la BHE y solamente se habla de que algunos ácidos grasos que no se encuentran esterificados o en asociación con otros componentes tienen la capacidad de hacerlo. Aunque no se sabe con precisión qué ácidos grasos son capaces de cruzar la BHE desde hace tiempo existe interés por averiguarlo. En 1997 Williams y colaboradores demostraron que tanto el ácido palmítico como el araquidónico son capaces de atravesar la BHE. Sin embargo, aunque se han postulado varias hipótesis en torno al transporte de los ácidos grasos a través de esta estructura hasta la fecha no se sabe con precisión el mecanismo exacto por el cual ocurre. De aquí que surja una serie de preguntas acerca del consumo de estos ácidos grasos y su función en el cerebro, ya que al existir la BHE en el cerebro la absorción de estas moléculas no resulta tan “sencilla” en comparación con otros órganos y, de acuerdo con la investigación realizada hasta el momento se ha postulado que la BHE es selectiva y que la estructura de los ácidos grasos (la longitud de la cadena y el número de insaturaciones de ésta) parecen desempeñar un papel determinante para su transporte.

2 ANTECEDENTES

Con el objetivo de evaluar los efectos de la DM 2 sobre las membranas biológicas se han realizado diferentes estudios desde el punto de vista molecular, estructural y funcional de diversos tejidos y órganos. De forma general se plantea que con el desarrollo de DM 2 las membranas de distintas células tienden a ser más rígidas (Pilon, 2016). Esta propuesta es parcialmente aceptada por nuestro equipo de trabajo, ya que en diversos experimentos que se han realizado en el laboratorio se ha encontrado que dependiendo de la etapa de desarrollo de esta patología efectivamente la fluidez de la membrana cambia, aunque esto no implique necesariamente una disminución. Para ejemplificar lo anterior, en un estudio elaborado por Pérez y colaboradores (2017) se encontró un aumento de la fluidez membranal y un aumento del control respiratorio de mitocondrias de hígado en ratas con DM2 durante la etapa inicial de la patología. De igual forma Figueroa y colaboradores (2015) reportan una disminución en la actividad mitocondrial acompañada del incremento en la lipoperoxidación y cambios físicos (aumento de la fluidez) y químicos (composición de ácidos grasos) particulares en las membranas de mitocondrias de placenta en ratas con hiperglicemia ligera. Los datos anteriores sugieren que la fluidez membranal y/o funciones asociadas, no tienen un comportamiento único y que esto depende de muchos factores como: estado fisiológico, edad, nutrición, medio ambiente, etc.

Recordando que la DM 2 es una patología que está catalogada dentro de las enfermedades crónicas, es decir que es de larga duración y de progresión lenta, las alteraciones metabólicas que se presentan y que son perjudiciales para el organismo pueden tardar varios años en manifestarse y debido a estas condiciones las células y sus membranas tienen que adaptarse al nuevo entorno. No obstante, en muchas ocasiones los cambios que se presentan son muy sutiles y considerando la progresión lenta de estas alteraciones es difícil diferenciar si son derivadas de los estadios iniciales del desarrollo de esta patología o si sólo se trata de variaciones que pudieran presentarse en el organismo de forma normal.

Por lo anterior estamos interesados en generar un modelo de DM 2 con hiperglicemia ligera, que pueda reflejar los cambios que se presentan durante los primeros estadios de desarrollo de esta patología; además se pretende comparar el efecto de los ácidos grasos ω -3 tanto de cadena larga (EPA y DHA), los cuales ya se sabe que

son auxiliares en el control de la glucemia y los ácidos grasos ω -3 de cadena corta (principalmente ALA) que a pesar de que no se han estudiado a fondo, Vicenteño (2018) demostró su efecto positivo, ya que al administrar estas moléculas a ratas Wistar con un modelo de DM2 (durante un lapso máximo de 5 meses) estas resultaron ser auxiliares en el control de la glucemia llegando a presentar concentraciones de glucosa similares a los grupos control, además, de que parecen participar en la regulación de otros parámetros fisiológicos como la concentración de triacilgliceroles en sangre.

En este trabajo se pretende analizar si los ácidos grasos omega 3, tanto los de cadena larga (EPA y DHA) como los de cadena corta (ALA), tienen algún efecto sobre la glicemia en un modelo de DM2 con hiperglicemia ligera y si dichos ácidos grasos pueden atravesar la BHE para incorporarse a células cerebrales y llegar hasta sus mitocondrias, en las cuales podrían afectar su respiración.

3 JUSTIFICACIÓN

Hoy en día se está promoviendo indiscriminadamente el consumo de DHA y EPA argumentando que son buenos para mantener la salud y promover un sano crecimiento de los infantes, sin embargo, poco se conoce sobre sus efectos reales y menos aún sobre sus mecanismos y sitios de acción. No hay que olvidar que DHA y EPA no son los únicos ácidos grasos omega-3 que existen, también se encuentran los ácidos grasos ω -3 de cadena corta (ALA, precursor de DHA y EPA) que no han sido estudiados con tanta profundidad y que podrían tener el mismo efecto positivo (o negativo) en la regulación de la glucemia, lo que en segundo plano ayudaría a disminuir o atenuar los cambios estructurales que causa el desarrollo temprano de DM2 en las membranas biológicas.

En este estudio en particular, se pretende estudiar las membranas mitocondriales de cerebro, recordando que los trabajos que han sido realizados hasta el momento no brindan información suficiente sobre las alteraciones que pudieran presentarse en este órgano, por lo que se ha planteado como objetivo indagar más sobre el tema.

4 HIPOTESIS

Los ácidos grasos omega 3 administrados tendrán un efecto positivo en contra del desarrollo de DM2, así mismo estas moléculas atravesarán la BHE para incorporarse a las células cerebrales y llegar hasta sus mitocondrias en donde afectarán su respiración y la composición de sus membranas.

5 Objetivos

5.1 General

- Comparar el efecto de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga y corta sobre el desarrollo inicial de diabetes así como las consecuencias sobre la composición de ácidos grasos y la respiración en mitocondrias de cerebro.

5.2 Objetivos particulares:

- Generar un modelo de DM 2 con hiperglicemia ligera en ratas Wistar neonatos.
- Estudiar y comparar el efecto de los ácidos grasos ω - 3 de cadena larga y cadena corta sobre el peso y la glicemia de ratas inducidas a DM2 y sus respectivos controles normoglicémicos a 3 y 6 meses de edad.
- Estudiar el efecto de los tratamientos sobre el control respiratorio (CR) en mitocondrias de cerebro.
- Analizar la composición de ácidos grasos en tejido cerebral y mitocondrias de cerebro de ratas con hiperglicemia ligera.

6 MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Animales de experimentación

Para la obtención de los modelos experimentales, primero se trabajó con ratas Wistar hembras proporcionadas por el bioterio de la FES Iztacala con una edad aproximada de 3 meses, las cuales fueron ubicadas en cajas de polisulfonato junto con machos sanos de la misma estirpe con la finalidad de que pudieran aparearse.

Una vez que las hembras mostraron signos de gestación se trasladaron a otra caja individual y se les dio seguimiento durante las semanas subsecuentes. Las crías resultantes se separaron por sexo. Los machos fueron seleccionados y fueron regresados con la madre para que pudieran ser alimentados hasta que cumplieran las 4 semanas de edad

Los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de bioterio con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a 22°C, contaban con libre acceso a alimento y agua.

6.2 Inducción de Diabetes mellitus tipo 2

La diabetes fue inducida en machos neonatos de 48 horas de edad por inyección intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) con una concentración de 130 mg/kg de peso corporal disuelto en 50 µl de amortiguador de citrato, a un pH de 4.6. Para el caso del grupo control solamente se les inyectó el amortiguador de citratos. Los animales fueron mantenidos con la madre hasta que fueron destetados, aproximadamente a las cuatro semanas de edad.

6.3 Administración de ácidos grasos omega-3

La administración de ácidos grasos ω - 3 se hizo de manera directa, desde que fueron destetados (4 semanas de edad), con ayuda de una micropipeta repetidora.

Para asegurar que los aceites comerciales adquiridos eran una buena fuente de ácidos grasos ω - 3 tanto de cadena larga como de cadena corta se procedió a hacer el análisis correspondiente por cromatografía de gases. En el caso de la provisión de los ácidos grasos omega-3 de cadena corta se administró aceite de linaza marca FLAX SEED OIL 1000. Para el caso de los ácidos grasos de cadena larga se ocupó aceite de salmón SALMON OIL 1000.

La administración se realizó durante 5 días a la semana por distintos lapsos de tiempo según los grupos experimentales: 3 y 6 meses de edad. La dosis suministrada fue de 200 mg/Kg de peso corporal. El volumen administrado dependió del peso de los animales.

6.4 Medición de parámetros fisiológicos

La concentración de glucosa en sangre fue cuantificada con un equipo Accucheck; el peso de los animales se obtuvo con ayuda de una balanza digital. Ambas mediciones se realizaron semanalmente desde el destete de los animales y hasta el momento del sacrificio con la finalidad de poder observar el comportamiento de estos dos parámetros fisiológicos durante los estadios iniciales de la DM2.

En el caso particular de la medición de la glicemia los animales fueron mantenidos en un ayuno mínimo de 4 horas.

6.5 Sacrificio de animales

6.5.1 Extracción de cerebro

Una vez que las ratas cumplieron con la edad requerida de experimentación, fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40mg/kg de peso) por vía intraperitoneal y una vez que no hubo sensibilidad alguna, se prosiguió a exsanguinarlas por punción cardíaca.

Posteriormente las ratas fueron decapitadas y se prosiguió con la extracción del cerebro. El cerebro se transfirió a un medio acuoso (medio H) el cual contiene sacarosa 0.07 M, ácido 4- (2-hidroxietil) piperazina-1-etanosulfónico (HEPES) 20 mM, manitol 0.21M y albúmina bovina 2 mM a pH 7.4.

6.5.2 Obtención de mitocondrias cerebrales

El cerebro se homogeneizó con ayuda de un homogeneizador de vidrio Potter-Elvehjem en hielo evitando el sobrecalentamiento de la muestra. Con la finalidad de conocer la composición de ácidos grasos del tejido cerebral se colectó una muestra de dicho homogenado para su posterior análisis en cromatografía de gases.

Las mitocondrias del cerebro fueron aisladas por centrifugaciones diferenciales empleando una centrífuga Sorvall ST 16 R (Thermo Scientific) con rotor F15-6x100. Se hicieron 3 centrifugaciones, de 10 minutos cada una. En la primera centrifugación de 2500 rpm fue colectado el sobrenadante. La segunda centrifugación fue de 7500 rpm donde se obtuvo la pastilla. Después se hizo una incubación durante 30 minutos con medio H y albúmina al 1% con la finalidad de eliminar los ácidos grasos libres de la fracción mitocondrial. La última centrifugación fue de 9000 rpm, obteniéndose la pastilla (mitocondrias cerebrales) y resuspendiéndola en el menor volumen posible para posteriormente proceder a cuantificar proteína (Método de Bradford, 1976).

6.5.3 Respiración mitocondrial de células cerebrales

La función mitocondrial fue evaluada con la medición de consumo de oxígeno. Para ello se utilizó un electrodo de oxígeno tipo Clark conectado a un oxímetro YSI 500A. Los experimentos fueron realizados en un cámara de reacción que contenía 1.5 ml de medio de control respiratorio (medio de reacción) cuyos componentes son Succinato 10mM, Sacarosa 250 mM, MgCl₂ 10 mM, H₃PO₄ 10 mM, EGTA 1.1 mM y Albúmina bovina al 1% a pH 7.4. El medio de reacción se mantuvo a una temperatura de 37°C mediante un baño de recirculación JULABO 77960. El consumo de oxígeno fue monitoreado por una computadora con ayuda del programa Bite Wedge Standard.

La respiración mitocondrial se evaluó con los cambios en la velocidad del consumo de oxígeno (consumo de oxígeno por unidad de tiempo) en los estados 4 (alto contenido de sustrato y oxígeno) y estado 3 (alto contenido de sustrato y adición de ADP) para posteriormente calcular el control respiratorio (Velocidad en estado 3/estado 4).

6.6 Obtención de metilestéres

Los metil-estéres de los ácidos grasos fueron obtenidos siguiendo el método de Morrison y Smith (1964). Se utilizaron viales de vidrio de 4 ml en donde se adicionaron 50 µl de muestra, posteriormente se agregó 1 ml de reactivo de trifloruro de boro 14% en metanol. Se colocaron en baño maría por 30 minutos a temperatura de ebullición del agua (aproximadamente 92°C). Una vez transcurrido el tiempo los viales se retiraron del baño maría y se adicionaron 2 ml de hexano y 1 ml de agua, lo que dio como resultado la formación de dos fases. A continuación, se centrifugó y se colectó la parte orgánica trasladándola a otro vial. El hexano fue evaporado con una corriente constante de nitrógeno y los metil-ésteres de los ácidos grasos fueron almacenados en congelación y protegidos de la luz para su posterior análisis.

6.7 Análisis de los ácidos grasos de mitocondrias y tejido cerebral

Los metil-ésteres de los ácidos grasos fueron resuspendidos en 50 μ l de hexano, se analizaron en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Clarus 500 cuyas características son las siguientes: inyector capilar "Split/splitless" y detector de ionización de flama (FID). La columna responsable de la separación de los ácidos grasos fue una columna capilar Omegawax con un diámetro interno de 0.25 mm y 30 m de longitud. El gas acarreador fue nitrógeno. Se inyectaron 4 μ l de la muestra y la composición de ácidos grasos tanto de tejido, así como de mitocondrias cerebrales se determinó por comparación de los tiempos de retención con metil ésteres estándares y por análisis de las áreas bajo los picos de los ácidos grasos correspondientes registrados en el cromatograma.

6.8 Análisis estadístico

Se realizó una prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, la cual permite el análisis de muestras no pareadas. El estadístico se realizó en Excel y las condiciones del mismo fueron: n= de 3 a 7 animales ($p < 0.05$). Todos los grupos experimentales fueron analizados entre sí y los resultados se muestran en tablas de significancia en Anexos 1.

7 RESULTADOS

7.1 Composición de aceites

La composición de aceites comerciales seleccionados para los tratamientos fue analizada por cromatografía de gases. En la tabla 1 se presenta la composición (mol %) de aceite de linaza y aceite de salmón. Se encontró que el aceite de linaza es buena fuente de ácidos grasos omega 3 de cadena corta, ya que contiene alrededor de 62.4 mol% de ALA (omega 3 de cadena corta). Por otro lado, el aceite de salmón resultó ser buena fuente de ácidos grasos omega 3 de cadena larga pues su contenido de EPA y DHA fue de 26.8 y 14.4 mol% respectivamente.

Tabla 1. Aceites comerciales analizados por cromatografía de gases. En **a** se muestra la composición de ácidos grasos del aceite de linaza, mientras que en **b** se presenta la composición de ácidos grasos del aceite de salmón.

| a) Aceite de Linaza | | b) Aceite de salmón | |
|--------------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
| Ácido graso | mol % | Ácido graso | mol % |
| Palmítico | 6.3 | Mirístico | 4.1 |
| | | Palmítico | 9.7 |
| Esteárico | 2.1 | Palmitoleico | 6.0 |
| | | Esteárico | 2.6 |
| Oleico | 15.4 | Oleico | 17.7 |
| | | Linoleico | 3.9 |
| Linoleico | 13.7 | Linolénico | 5.8 |
| | | Araquídico | 1.5 |
| Alfa Linolénico | 62.4 | Araquidónico | 1.6 |
| | | EPA | 26.8 |
| | | DHA | 14.4 |
| | | NI | 5.8 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, no identificado

7.2 Efecto de los ácidos grasos ω -3 de cadena larga (EPA y DHA) y cadena corta (ALA) sobre el peso de ratas control y ratas inducidas a diabetes (STZ) con y sin tratamiento

En la figura 1 se muestra la curva de crecimiento de los diferentes grupos experimentales. La gráfica se compone de dos partes, del lado izquierdo se presentan los grupos de ratas normoglicémicas (Grupo control), y del lado derecho se muestran los grupos que fueron inducidos a diabetes (Grupo STZ), ambas partes de la gráfica incluyen a los respectivos grupos con la administración de ácidos grasos de cadena larga y cadena corta.

En la gráfica se muestran los pesos promedios de todos los grupos experimentales que fueron obtenidos cada mes desde el destete de los animales (1 mes de edad) hasta el momento del sacrificio (6 meses de edad).

En general se observa que la mayor ganancia de peso corporal fue la del grupo Control sin tratamiento con un peso promedio de 511 ± 62 g a los seis meses de edad. De acuerdo a lo esperado el peso promedio del grupo STZ sin tratamiento fue menor, con un peso de 454 ± 66 g hasta el momento del sacrificio, lo que representa una ganancia de peso 11% menor en comparación con el grupo control.

En el caso de los grupos control que fueron tratados con ácidos grasos se observa que ambos grupos tuvieron una menor ganancia de peso promedio con respecto al grupo control. Particularmente el grupo al que se le administró los ácidos grasos de cadena larga (C + ω -L) fue el que tuvo una menor ganancia de peso corporal con respecto a todos los grupos experimentales ya que su peso promedio fue de 426 ± 44 g (que representa un peso 16% menor que el grupo control).

Con respecto a los grupos experimentales que fueron inducidos a diabetes y que recibieron el tratamiento de ácidos grasos se observa que ambos grupos muestran una tendencia a ganar peso si se compara con el grupo STZ, nuevamente los ácidos grasos de cadena larga parecen tener un mayor efecto ya que en la gráfica se aprecia que este fue el grupo que tuvo una mayor ganancia de peso (con un peso promedio de 479 ± 60 g, lo que representa un peso 5.5 % mayor con relación al grupo STZ sin tratamiento).

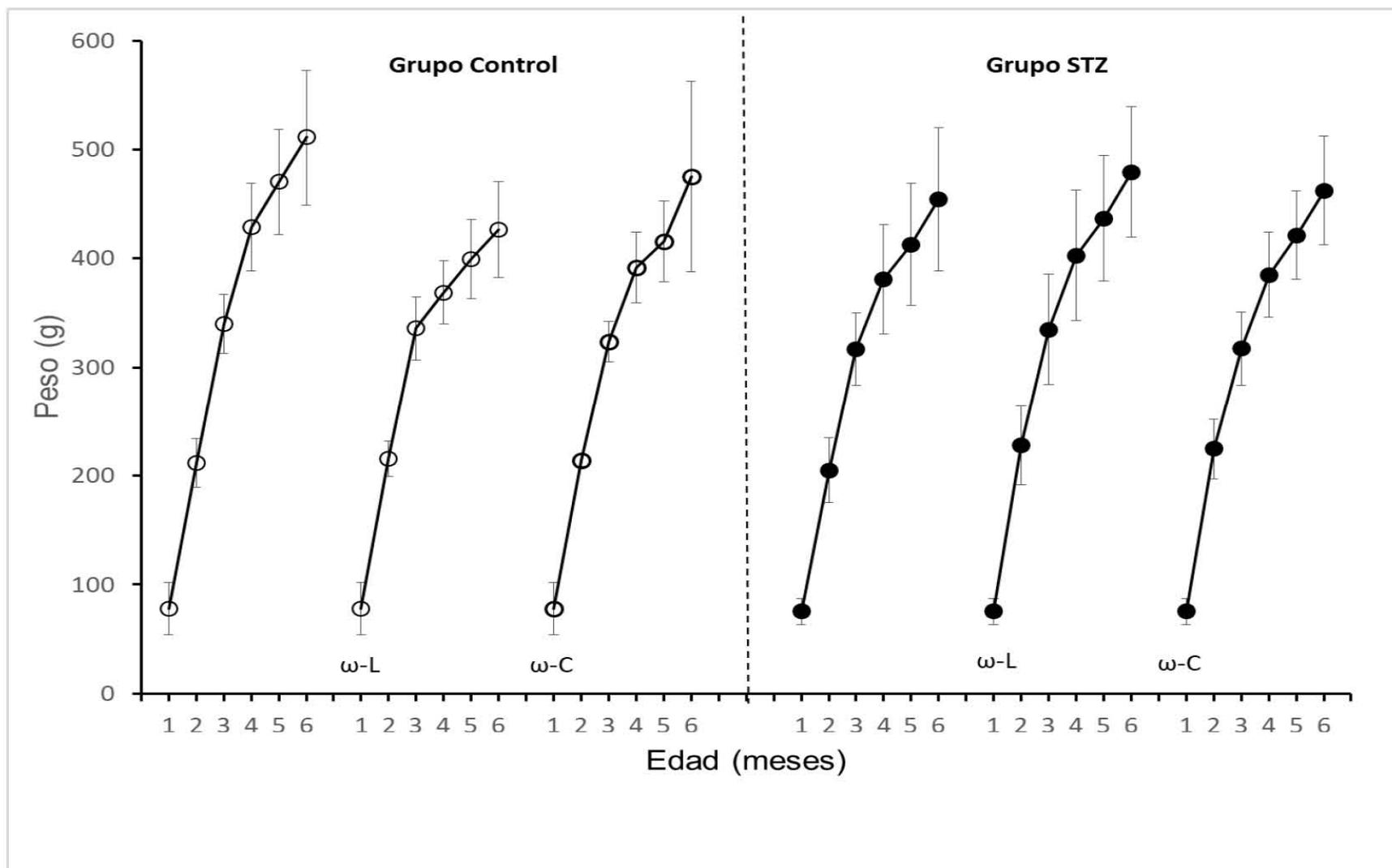


Figura 1. Curva de crecimiento de ratas Wistar normoglicémicas (grupo Control), inducidas a diabetes (Grupo STZ) y los respectivos grupos tratados tanto con ácidos grasos ω -3 de cadena larga (EPA y DHA) así como los grupos tratados con ácidos grasos de cadena corta (α -linolénico) a partir de un mes de edad. n= 21, control 31, STZ a 1 mes de edad; n= 6- 12 de 2 a 3 meses de edad y n= 3-6 de 4 a 6 meses de edad.

7.3 Efecto de los ácidos grasos ω -3 de cadena larga (EPA y DHA) y cadena corta (ALA) sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas control y ratas inducidas a diabetes (STZ) con y sin tratamiento

En la figura 2 se muestran las glicemias promedio de todos los grupos experimentales con los que se trabajó en esta tesis. La medición de este parámetro fisiológico se hizo mes con mes desde el destete de los animales (1 mes de edad) hasta el momento del sacrificio (6 meses de edad). La gráfica consta de dos partes, del lado izquierdo se presentan los grupos de ratas normoglicémicas (Grupos control), y del lado derecho se muestran los grupos que fueron inducidos a diabetes (Grupos STZ), ambas partes de la gráfica incluyen a los respectivos grupos con la administración de ácidos grasos de cadena larga y cadena corta.

En general, se observa que las concentraciones de glucosa sanguínea de los grupos Control con y sin tratamiento se mantienen en un intervalo de 80-110 mg/dL durante todo el tiempo experimental lo que parece indicar que no hubo alteración aparente en este parámetro con la administración de los ácidos grasos.

En el caso de los grupos que fueron inducidos a diabetes se observa que la glicemia inicial (al primer mes de edad) es mayor con relación a los grupos control, lo que en principio refleja la inducción de los animales neonatos. De acuerdo a lo esperado en los tres grupos experimentales se observa que la dispersión de los datos es muy grande, lo que estaría reflejando el comportamiento normal de los organismos que padecen DM2.

Con respecto al grupo STZ sin tratamiento se puede apreciar que conforme pasa el tiempo la glicemia de estos animales tiende a “normalizarse” y si se compara con el grupo control parece no haber diferencia entre ambos grupos, principalmente en los dos últimos meses de vida.

La administración de los ácidos grasos de cadena larga parece participar en el control de la glicemia ya que en la gráfica se observa que en el transcurso de los primeros tres meses la concentración de glucosa sanguínea comienza a disminuir y a partir del cuarto mes en adelante la glicemia se mantiene en concentraciones aparentemente “normales” hasta el momento del sacrificio.

Por su parte, la administración de los ácidos grasos de cadena corta también parece participar en el control de la glicemia, ya que en la gráfica se puede apreciar una

tendencia a disminuir las concentraciones de glucosa sanguínea en los primeros 4 meses de vida después del tratamiento, sin embargo, la última medición no permite aceptar por completo esta aseveración.

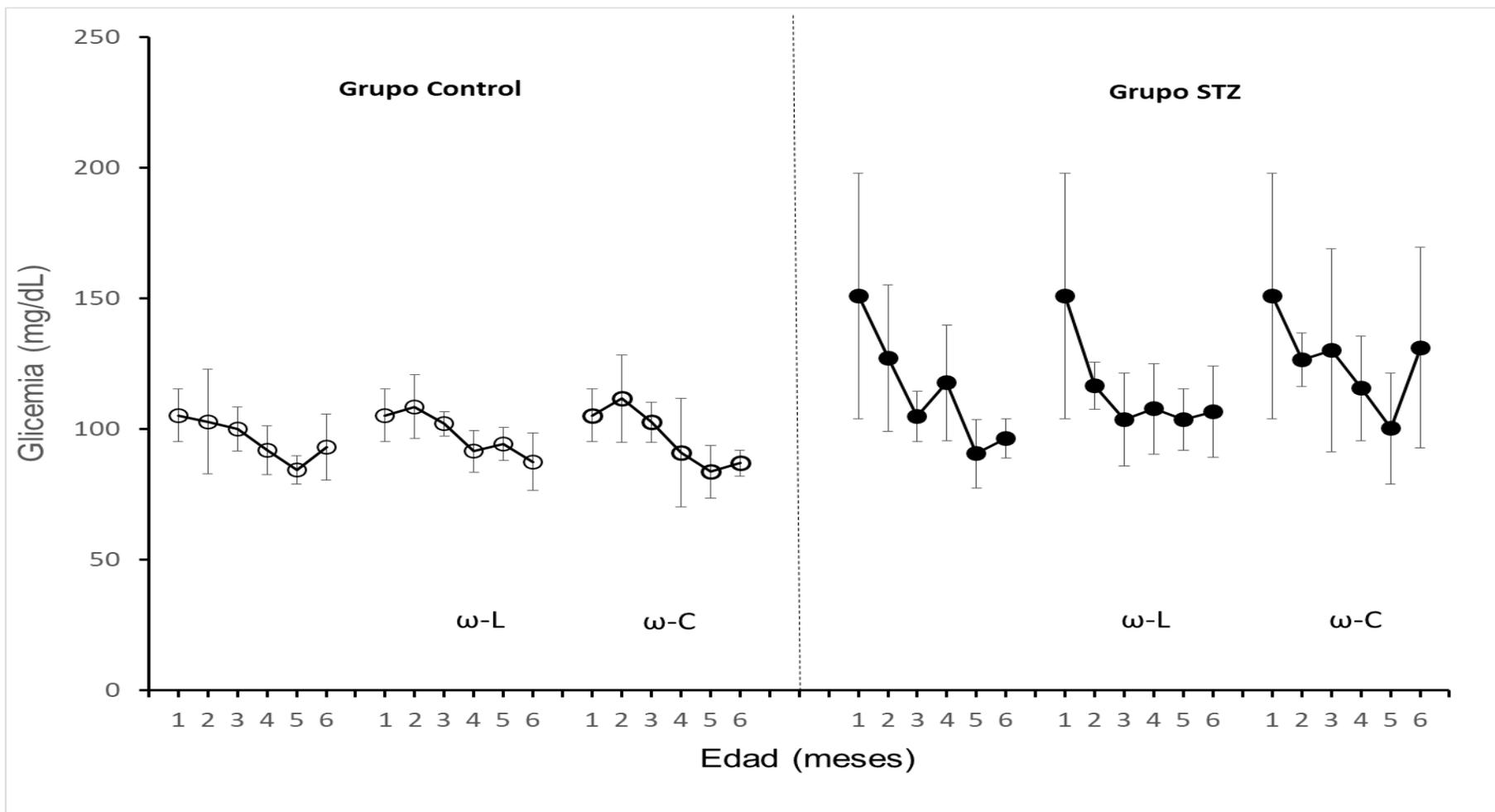


Figura 2. Concentración de glucosa en sangre de ratas Wistar normoglicémicas (Grupo control), inducidas a diabetes (Grupo STZ) y los respectivos grupos tratados tanto con ácidos grasos ω -3 de cadena larga (EPA y DHA) así como los grupos tratados con ácidos grasos de cadena corta (ALA) a partir de un mes de edad. n= 21, Control 31, STZ a 1 mes de edad; n= 6- 12 de 2 a 3 meses de edad y n= 3-6 de 4 a 6 meses de edad.

7.4 Efecto de la edad y la inducción a DM2 sobre las velocidades de respiración mitocondrial (estado 4 y estado 3) y sobre el control respiratorio de mitocondrias de cerebro

Con la finalidad de observar el efecto de la edad y la inducción a DM2 sobre los parámetros respiratorios de las mitocondrias de cerebro, se realizaron las mediciones por oximetría de las velocidades de respiración mitocondrial (estado 4 y estado 3) para posteriormente obtener el CR a 1, 3 y 6 meses de edad. En la figura 3 se muestran los gráficos de estos parámetros, del lado izquierdo se observan las velocidades de respiración y el CR del grupo Control (barras blancas), mientras que en el lado derecho se muestran los mismos parámetros para el grupo STZ (barras negras). En la parte superior derecha de cada gráfico se incluyen las ecuaciones correspondientes de cada pendiente de la recta (línea de tendencia). La línea punteada sólo indica el sentido en el que se comportan los datos con el paso del tiempo, no es un análisis matemático que describa el comportamiento preciso de los mismos.

En principio, se puede apreciar (Figura 3a y b) que la velocidad de respiración basal de las mitocondrias (estado 4 mitocondrial) del grupo Control parece no sufrir cambios significativos durante las tres edades experimentales, contrario a lo que se muestra para el grupo STZ, cuya línea de tendencia y pendiente muestra un aumento de este parámetro conforme transcurre el tiempo experimental. En lo que respecta a la velocidad de respiración del estado de activación mitocondrial (estado 3, donde se lleva a cabo la síntesis de ATP) ambos grupos muestran una tendencia a disminuir, sin embargo, esta tendencia es mayor para el grupo Control (específicamente este aumento de la velocidad de respiración del estado 4 del grupo control es 2.4 veces mayor, Figura 3 c y d).

El CR (obtenido a partir del cociente de la velocidad de respiración del estado 3 / velocidad de respiración del estado 4) se puede apreciar en los últimos gráficos de la figura 3 (e y f). Claramente se observa que ambos grupos disminuyen su CR conforme pasan los meses, sin embargo, el grupo STZ sufre una mayor disminución de este parámetro (sustentado por la pendiente de la línea de tendencia, pues es 3 veces mayor que la pendiente mostrada por el grupo control). Lo anterior parece indicar que una hiperglicemia ligera es suficiente para que las velocidades de respiración mitocondrial sufran cambios (específicamente la velocidad del estado 4) y que estos cambios sean reflejo de un menor CR de las mitocondrias de cerebro de este grupo.

Una vez que se comprobó que la hiperglicemia ligera (por muy ligera que esta sea, como en el caso de este estudio que en los últimos meses la concentración de glucosa sanguínea parecía casi normal) es capaz de afectar los parámetros respiratorios de las mitocondrias a largo plazo, se propuso indagar acerca de los posibles efectos (positivos o negativos) de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta sobre las velocidades de respiración mitocondrial y el CR.

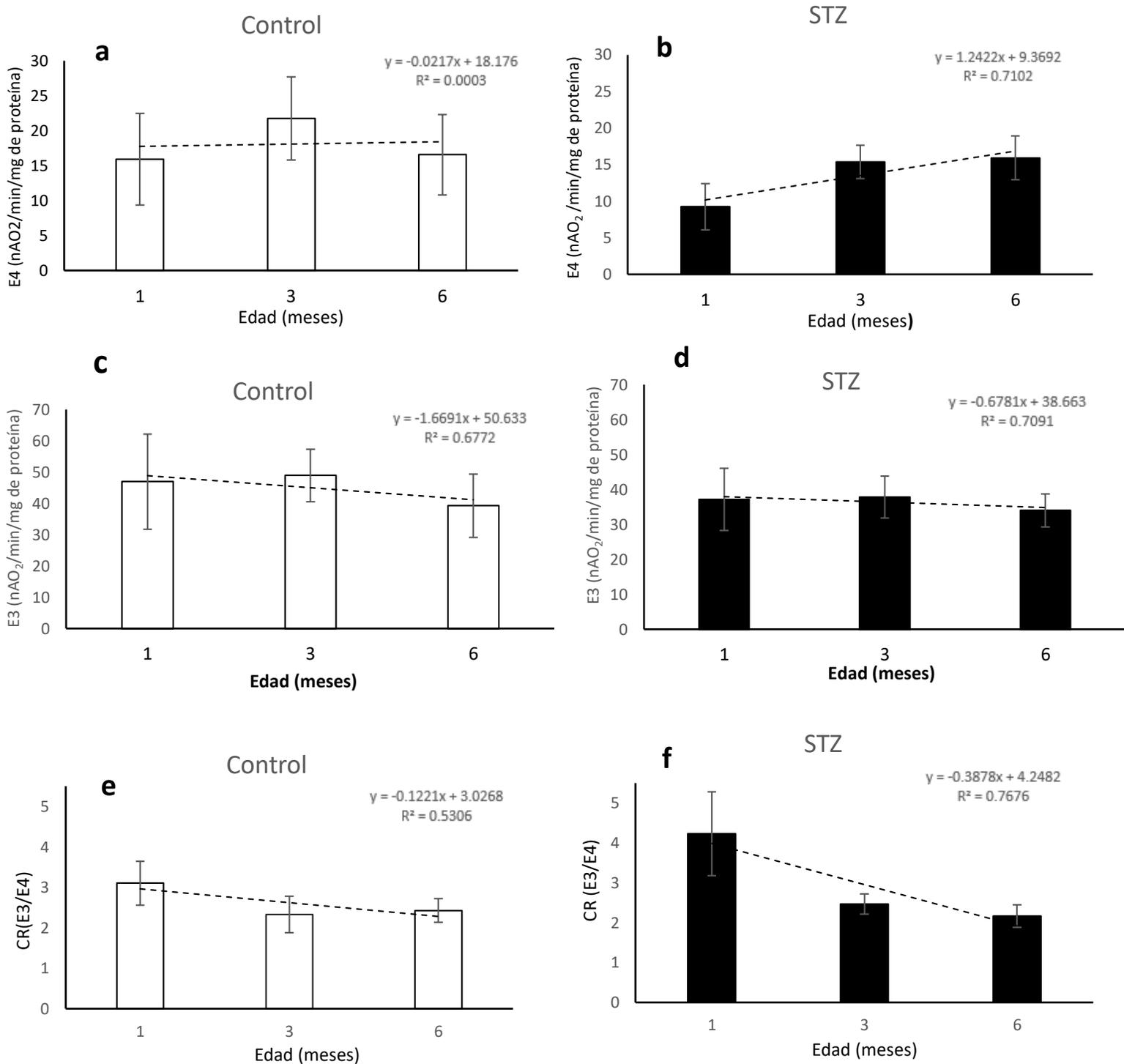


Figura 3. Parámetros respiratorios de mitocondrias de cerebro en función de la edad. Respiración mitocondrial en estado basal o Estado 4 de ratas control (a) e inducidas a diabetes con STZ (b). Respiración mitocondrial en estado activo o Estado 3 de ratas control (c) e inducidas a diabetes con STZ (d). Control Respiratorio de grupo control (e) y grupos inducidos a diabetes con STZ (f). n=3-6. La línea punteada sólo indica el sentido en el que se comportan los datos con el paso del tiempo, no es un análisis matemático que describa el comportamiento preciso de los mismos

7.5 Efecto de la edad, la inducción a DM2 y los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta sobre las velocidades de respiración mitocondrial (estado 4 y 3) y sobre el control respiratorio de mitocondrias de cerebro

En la figura 4 nuevamente se observa del lado izquierdo los grupos que recibieron tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (C+ ω -L, barras grises claro) y del lado derecho los grupos inducidos a diabetes y tratados con estos mismos ácidos grasos (STZ+ ω -L, barras grises oscuro). Las mediciones de los parámetros respiratorios se muestran a 1, 3 y 6 meses de edad.

En principio (Figura 4 a y b) se observa que estos ácidos grasos tienen un efecto distinto en las velocidades de respiración basal en ambos grupos, ya que para el grupo C+ ω -L no parece haber ningún cambio drástico conforme pasa la edad; en cambio, en el grupo STZ+ ω -L se ve claramente una tendencia de aumento de este parámetro.

Comparando los datos de la velocidad de respiración basal en ambos grupos tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena larga, con relación a sus respectivos grupos control se observa lo siguiente: En primer lugar, se puede observar que el grupo tratado con EPA y DHA aumenta su velocidad de respiración del estado 4 con relación a la velocidad de respiración mostrada por el grupo control (Figura 4a y 5a) ya que la pendiente mostrada para el grupo control marca una disminución muy leve de este parámetro conforme transcurren los meses. En lo que respecta al grupo STZ + ω -L con relación a su grupo control (Figura 4b y 5b) se aprecia que en ambos grupos la velocidad de respiración aumenta, sin embargo, tomando en cuenta el valor de la pendiente, dicho aumento en el grupo STZ con tratamiento de estos ácidos grasos es alrededor de 1.2 veces mayor con relación al grupo STZ.

La velocidad de respiración del estado 3 mitocondrial disminuye en el grupo C+ ω -L con relación a la velocidad de respiración del estado 3 obtenida para el grupo STZ+ ω -L, ya que “aparentemente”, en este último grupo experimental este parámetro se mantiene constante durante todo el tiempo (Figura 4 c y d).

Estos datos de respiración mitocondrial del estado 3 del C+ ω -L arrojan una tendencia parecida a los del grupo control (aunque por la pendiente de la recta, parece que esta disminución en el estado 3 es 1.4 veces mayor que su respectivo grupo control, Figura 3c y 4c), lo anterior parece indicar que la administración de EPA y DHA sí tienen

un efecto perceptible sobre este parámetro. En relación al grupo STZ+ ω -L y su respectivo grupo control (Figura 4d y 5d) se observa que la tendencia aparentemente no es la misma, ya que a pesar de que las pendientes de ambos gráficos son pequeñas, en el grupo STZ+ ω -L, la velocidad de respiración del estado 3 aumenta, mientras que, en el grupo STZ la pendiente marca una disminución.

Aunque se vean estas variaciones en los parámetros de la respiración tanto en el grupo control y en el grupo STZ tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena larga, el resultado final conlleva a la disminución del CR en ambos grupos, sin embargo, el grupo STZ+ ω -L parece disminuir este control respiratorio de forma más evidente (Figura 4 e y f).

De igual forma se planteó determinar si los ácidos grasos de cadena corta tienen un efecto distinto a los ácidos grasos de cadena larga sobre los parámetros de respiración de mitocondrias de cerebro. Para ello se muestra la Figura 5 en donde se aprecian ambos grupos, del lado izquierdo los grupos control (barras azul claro) y del lado derecho los inducidos a DM2 (barras café oscuro). Ambos grupos fueron tratados con ácidos grasos omega- 3 de cadena corta.

De forma general, se observa que en ambos grupos hay un aumento de la velocidad de respiración del estado basal mitocondrial (Figura 5 a y b), aunque es importante mencionar que este aumento en el grupo C+ ω -C es alrededor de 4 veces mayor que el grupo STZ + ω -C. Por su parte, el estado 3 mitocondrial en ambos grupos también muestra una tendencia a disminuir conforme transcurren los meses, pero en este caso la disminución indicada por la pendiente de la línea de tendencia es 4.3 veces mayor en el grupo STZ + ω -C (Figura 5 c y d).

En lo que respecta a las velocidades de respiración del estado 4 del grupo C+ ω -C y su respectivo grupo control (Figura 3a y 5a) se observa que la tendencia no es la misma, puesto que en el grupo C+ ω -C la pendiente indica un aumento de este parámetro, mientras que, para el grupo control la pendiente marca una ligera disminución de la velocidad de respiración. En cuanto al grupo STZ + ω -C con relación al grupo STZ (Figura 3b y 5b) las velocidades de respiración del estado 4 en ambos grupos muestran una tendencia a aumentar, no obstante, el grupo STZ tratado muestra un menor aumento de este parámetro (específicamente este aumento de la velocidad de respiración del estado 4 mitocondrial es 3.4 veces menor con relación al grupo STZ).

Las velocidades de respiración del estado 3 mitocondrial en el grupo control tratado con ALA con relación a su grupo control (Figura 3c y 5c) se observa la misma tendencia, ya que en ambos grupos la velocidad de respiración del estado 3 mitocondrial disminuye, sin embargo, esta disminución es mayor en el grupo control, pues tomando en cuenta el valor de la pendiente, este aumento del grupo control es 3 veces mayor con relación al valor de la pendiente del grupo C+ ω -C. En cuanto al grupo STZ + ω -C con relación al grupo STZ (Figura 3d y 5d) se muestra que las velocidades de respiración del estado 3 muestran la misma tendencia, ya que en ambos grupos este parámetro aumenta, no obstante, el aumento del grupo STZ con tratamiento es 3.4 veces mayor que su respectivo grupo STZ.

El resultado final de estas disminuciones y aumentos de las velocidades de respiración mitocondrial en los grupos que fueron tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena corta llevan a una disminución del CR en ambos grupos (Figura 5 e y f).

En conclusión, todos los grupos experimentales tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta mostraron una disminución de su CR conforme transcurre el tiempo, sin embargo, la disminución de este parámetro no es la misma para los grupos control y para los grupos STZ tratados. Lo anterior permite afirmar, que en general el efecto que ejercen los tratamientos, principalmente sobre las velocidades de respiración mitocondrial del estado 3 y 4 en ambos grupos, dependen del tipo de ácido graso administrado y, al parecer, este efecto también está sujeto a la presencia de una condición metabólica anormal en los organismos, como lo es la hiperglicemia ligera.

Efecto de la edad, la inducción a DM2 y los ácidos grasos omega 3 de cadena larga sobre el control respiratorio y las velocidades de respiración mitocondrial del estado 3 y 4 de mitocondrias de cerebro

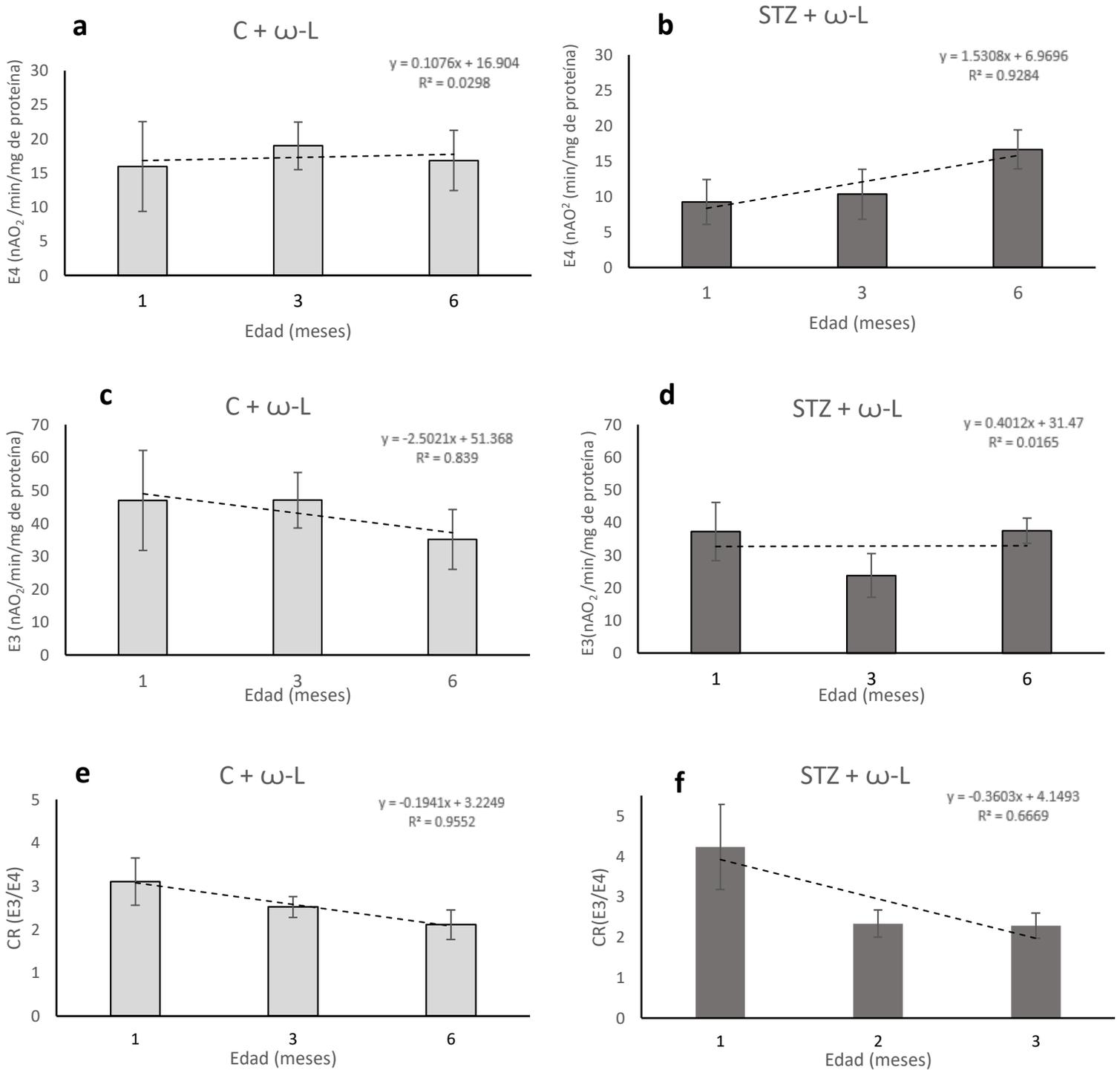


Figura 4. Parámetros mitocondriales en función de la edad. Respiración mitocondrial en estado basal o Estado 4 de ratas control + ωL (a) e inducidas a diabetes con STZ + ωL (b). Respiración mitocondrial en estado activo o Estado 3 de ratas control + ωL (c) e inducidas a diabetes con STZ + ωL (d). Control Respiratorio (Cociente del Estado 3 / Estado 4) de grupos control tratados con ωL (e) e inducidas a diabetes con STZ + ωL (f). n = 3-6. La línea punteada sólo indica el sentido en el que se comportan los datos con el paso del tiempo, no es un análisis matemático que describa el comportamiento preciso de los mismos.

Efecto de la edad, la inducción a DM2 y los ácidos grasos omega 3 de cadena corta sobre el control respiratorio y las velocidades de respiración mitocondrial del estado 3 y 4 de mitocondrias de cerebro

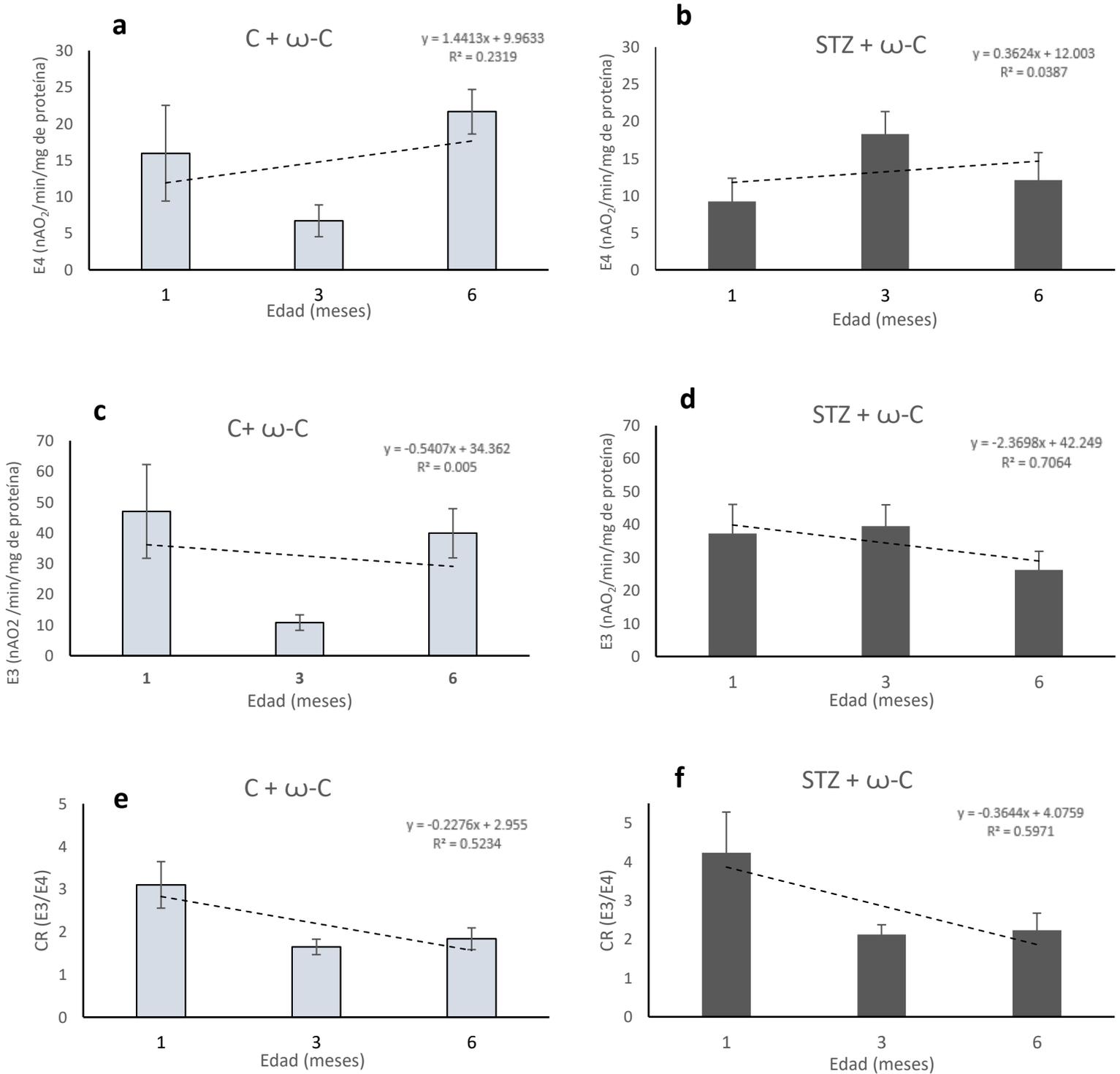


Figura 5. Parámetros mitocondriales en función de la edad. Respiración mitocondrial en estado basal o Estado 4 de ratas control + ωC (a) e inducidas a diabetes con STZ + ωC (b). Respiración mitocondrial en estado activo o Estado 3 de ratas control + ωC (c) e inducidas a diabetes con STZ + ωC (d). Control Respiratorio (Cociente del Estado 3 / Estado 4) de grupos control tratados con ωC (e) e inducidas a diabetes con STZ + ωC (f). n = 3-6 La línea punteada sólo indica el sentido en el que se comportan los datos con el paso del tiempo, no es un análisis matemático que describa el comportamiento preciso de los mismos

Con la finalidad de sintetizar toda la información referente a las velocidades de respiración del estado 3 y estado 4 de mitocondrias de cerebro de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad se presentan las Figuras 6 y 8 en donde se pueden apreciar dos colores de barras distintos para diferenciar el grupo control (barras azules) y el grupo STZ (barras rosas). Las tonalidades de las barras muestran a los respectivos grupos que fueron tratados con ácidos grasos de cadena larga y corta. Y en la figura se incluyen las diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) de los grupos experimentales con relación al grupo control (*) y con relación al grupo STZ (+). De forma general se aprecia que todos los grupos experimentales muestran la misma tendencia ya sea a disminuir o aumentar su velocidad de respiración en el estado 4 y 3 mitocondrial a los 3 y 6 meses de edad. Principalmente se puede apreciar que las velocidades del estado 4 y 3 del grupo STZ a los 3 meses son estadísticamente distintas con respecto al grupo control, sin embargo, a los 6 meses no ocurre lo mismo. Un aspecto interesante es que las velocidades de respiración para el estado 4 y 3 mitocondrial del grupo C+ ω -C parece comportarse distinto de los 3 a los 6 meses, ya que en el primer tiempo experimental su velocidad de respiración para ambos estados se ve significativamente disminuida en comparación con el grupo Control y a los 6 meses de edad las velocidades de respiración para ambos parámetros aumentan. Sin embargo, este aumento sigue marcando diferencias estadísticas significativas con relación al grupo Control. Otro cambio importante es referente a las velocidades de ambos estados del grupo STZ + ω -L, ya que de igual forma a los 3 meses tienen una disminución significativa de estos parámetros y a los 6 meses ambas velocidades aumentan, sin embargo, a esta última edad no muestran diferencia estadística con relación a su respectivo grupo STZ.

Para tener una mejor visión de la tendencia que marcan las velocidades de respiración de los 3 a los 6 meses de edad se realizó un diferencial de las velocidades de respiración para el estado 4 (Figura 7) y el estado 3 mitocondrial (Figura 9). En ambos gráficos se muestra que todos los grupos experimentales muestran el mismo “perfil de comportamiento” para ambos parámetros. De forma general, se muestra que la mayoría de los grupos tienden a disminuir las velocidades de respiración del estado 4 y estado 3 con el paso del tiempo, sin embargo, si comparamos ambos gráficos se aprecia que esta disminución es más evidente en la velocidad de respiración del estado 3 mitocondrial.

De igual forma ambos gráficos permiten evidenciar que el grupo C+ ω -L muestra una menor disminución de la diferencia de velocidad de respiración del estado 4 mitocondrial de 3 a 6 meses con relación al grupo control, sin embargo, esta tendencia no se mantiene para la diferencia de velocidad del estado 3 mitocondrial, pues se aprecia (Figura 9) que este parámetro en el grupo control tratado con EPA y DHA es mayor con relación a su respectivo grupo control. En cuanto a la diferencia de velocidades tanto del estado 4 como del estado 3 del grupo STZ con tratamiento de ácidos grasos de cadena corta, se aprecia que estos sí tienen la misma tendencia, ya que en ambos casos hay una disminución de este diferencial, y dicha disminución es mayor con respecto al grupo STZ.

Con relación a los grupos que no mostraron una disminución del diferencial de las velocidades de respiración en ambos estados mitocondriales es interesante resaltar que el grupo C+ ω -C aumenta considerablemente sus velocidades de respiración para ambos estados, y que por su parte, también sucede lo mismo con el grupo STZ+ ω -L, pero a diferencia del grupo anterior este aumento en la velocidades de respiración de ambos estados es más discreta.

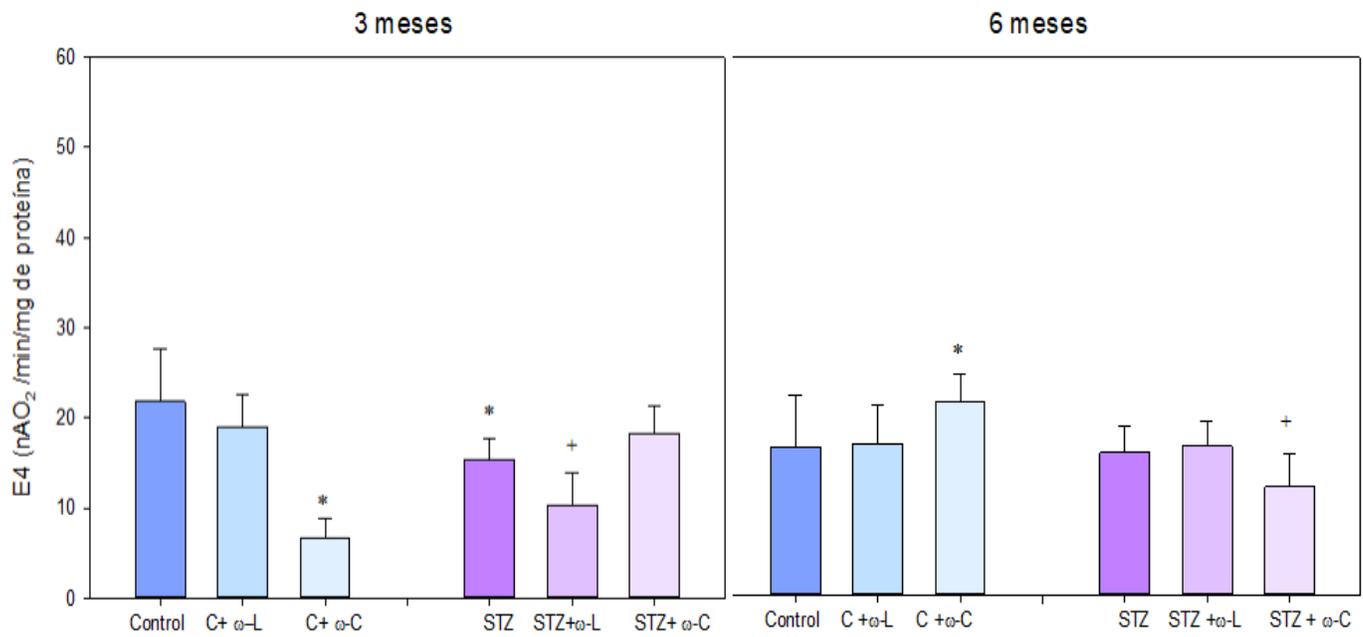


Figura 6. Velocidad de respiración mitocondrial del estado 4 de mitocondrias de cerebro (nAO₂/min/mg de proteína) a 3 y 6 meses de edad.

* $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo control sin tratamiento
 + $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo stz sin tratamiento

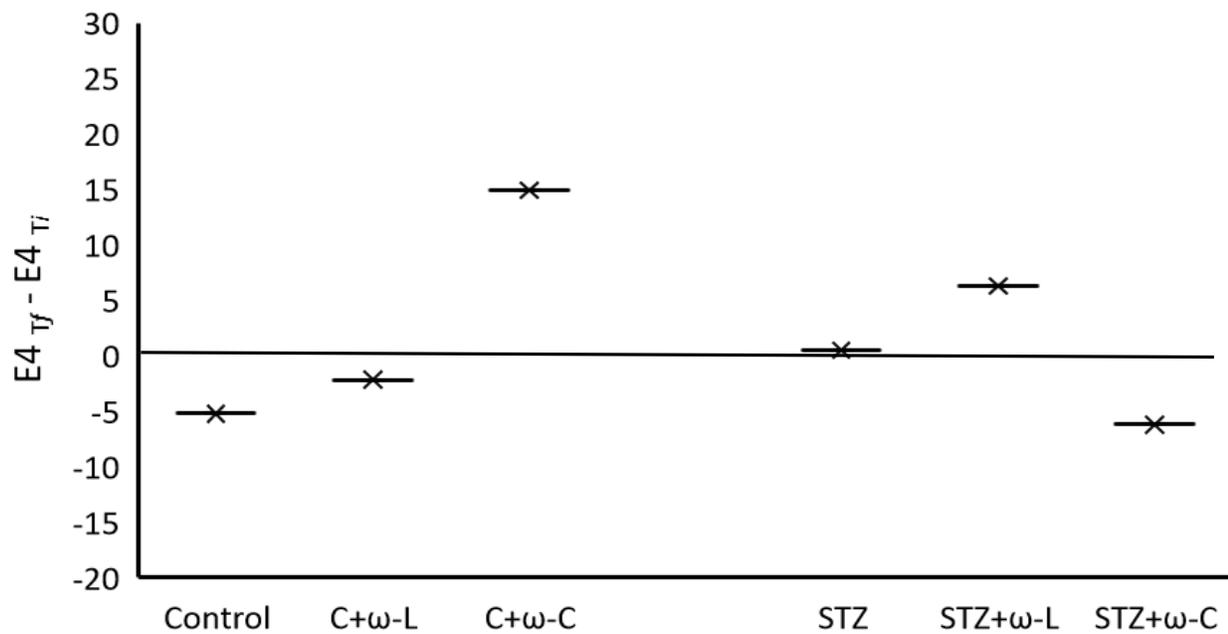


Figura 7. Diferencia de la velocidad del consumo de O₂ en el estado 4 de la respiración de mitocondrias de cerebro a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales. Tf = E4 (nA O₂/min/mg de proteína) a 6 meses de edad; Ti = E4 (nA O₂/min/mg de proteína) a 3 meses de edad

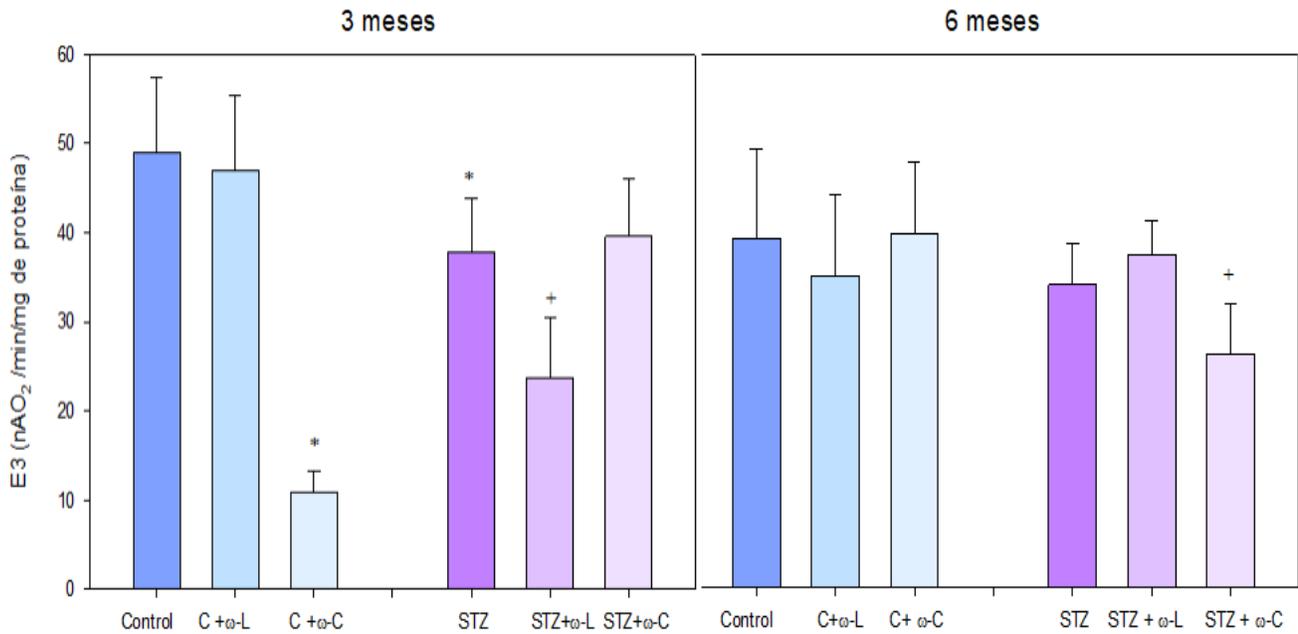


Figura 8. Velocidad de respiración mitocondrial del estado 3 de mitocondrias de cerebro de todos los grupos experimentales (nAO₂/min/mg de proteína) a 3 y 6 meses de edad.

* $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo control sin tratamiento

+ $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo stz sin tratamiento

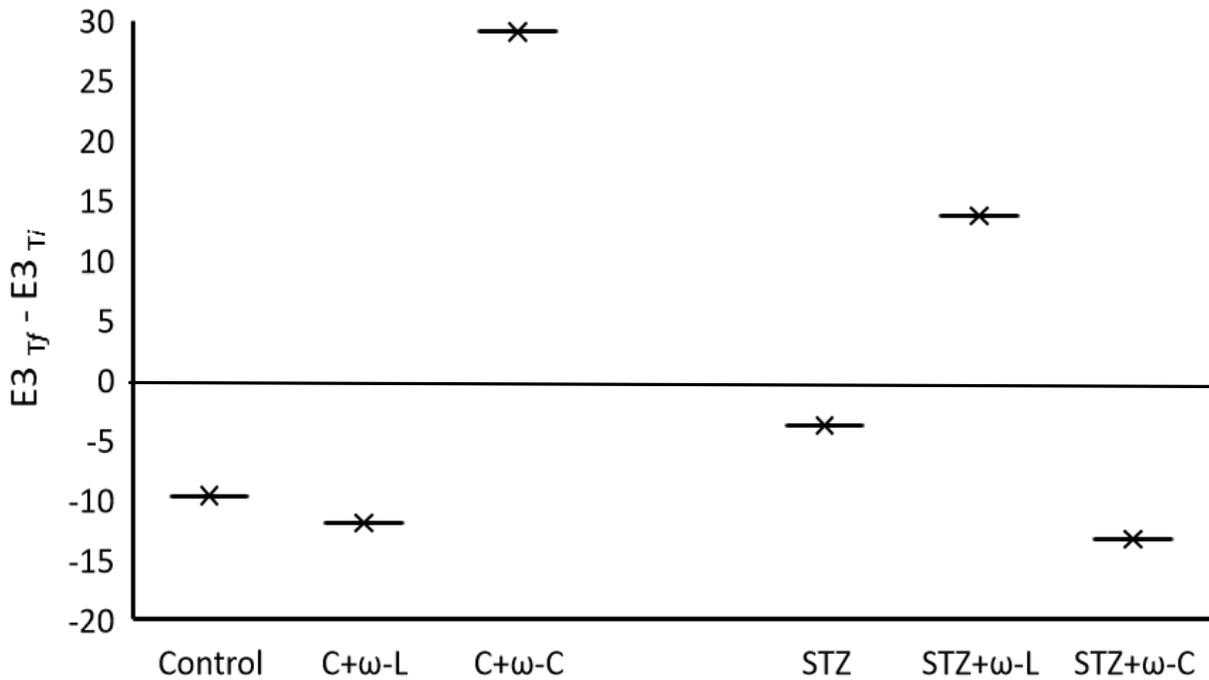


Figura 9. Diferencia de la velocidad del consumo de O₂ en el estado 3 de la respiración de mitocondrias de cerebro a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales. Tf = E3 (nA O₂/min/mg de proteína) a 6 meses de edad; Ti = E3 (nA O₂/min/mg de proteína) a 3 meses de edad

Para finalizar, en la Figura 10 se muestran los datos compilados del CR de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad. De forma similar se aprecian dos colores de barras distintos para diferenciar el grupo control (barras azules) y el grupo STZ (barras rosas). Las tonalidades de las barras muestran a los respectivos grupos que fueron tratados con ácidos grasos de cadena larga y corta. Y en la figura se incluyen las diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) de los grupos experimentales con relación al grupo control (*) y con relación al grupo STZ (+). Como se aprecia en el gráfico, en general, no hay diferencias estadísticas significativas para la mayoría de los grupos tratados con ácidos grasos (incluidos tanto grupos control como grupos STZ) con relación a sus respectivos grupos control. Sin embargo, es evidente que los ácidos grasos omega-3 de cadena corta sí están teniendo un efecto sobre este parámetro (ya que es estadísticamente distinto con relación a su grupo control) y este efecto se observa tanto a los 3 como a los 6 meses de edad.

Con la finalidad de observar si existe alguna tendencia en el CR de todos los grupos experimentales a los 3 y 6 meses de edad, se hizo el diferencial de este parámetro con respecto al tiempo y en la Figura 11 se observa que el CR de todos los grupos experimentales se mantienen en valores cercanos a 0 (con ligeras variaciones) lo que indica que este parámetro no está cambiando drásticamente en relación a los dos tiempos experimentales. Lo anterior es importante ya que si se realiza un análisis tomando en cuenta sólo este parámetro, da la impresión de que ni la hiperglicemia ligera ni el tratamiento con los ácidos grasos tuvieron algún efecto, sin embargo al considerar todos los datos anteriores mostrados de las velocidades de respiración del estado 4 y 3 mitocondrial se puede concluir que a pesar de que el CR no parece estar afectándose de forma tan evidente (lo que implica que las mitocondrias no sufren desacoplamiento del proceso de fosforilación oxidativa y síntesis de ATP), las velocidades de respiración que determinan este parámetro sí lo hacen y resultan sumamente importante puesto que son el reflejo de los primeros cambios bioquímicos que se presentan en la función mitocondrial.

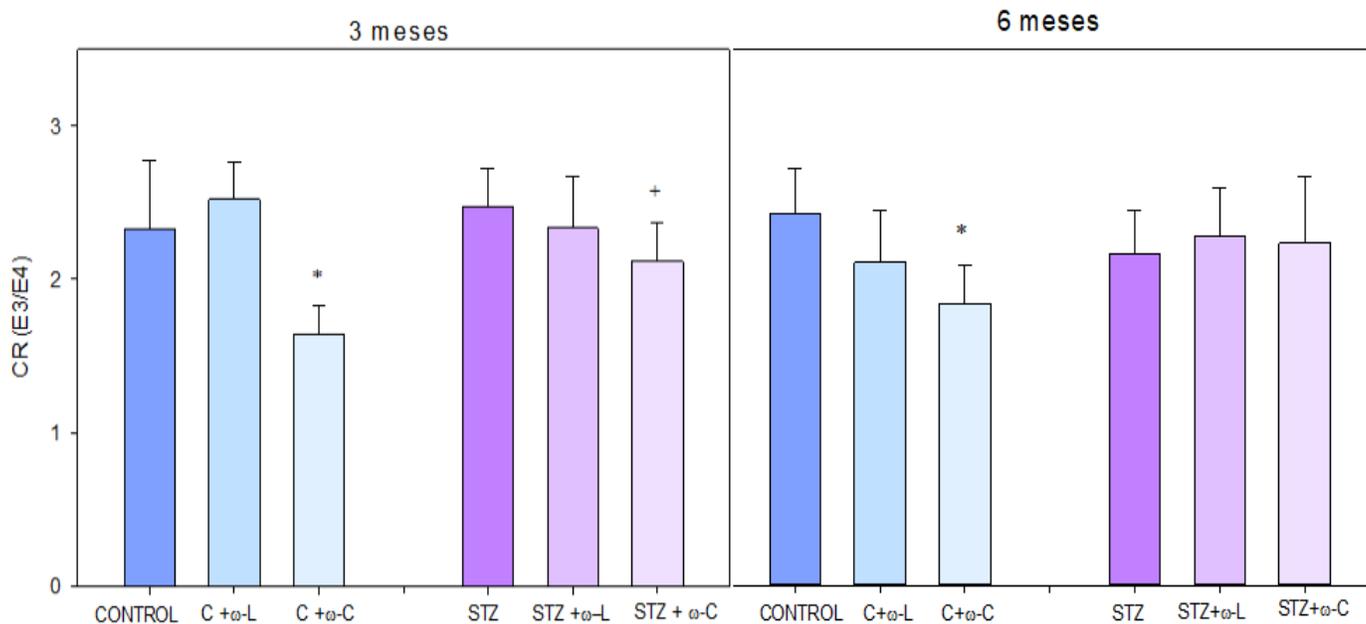


Figura 10. Control Respiratorio (velocidad de respiración del estado 3 / velocidad de respiración del estado 4) de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad.

* $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo control sin tratamiento

+ $p \leq 0.05$ diferencia significativa con respecto al grupo stz sin tratamiento

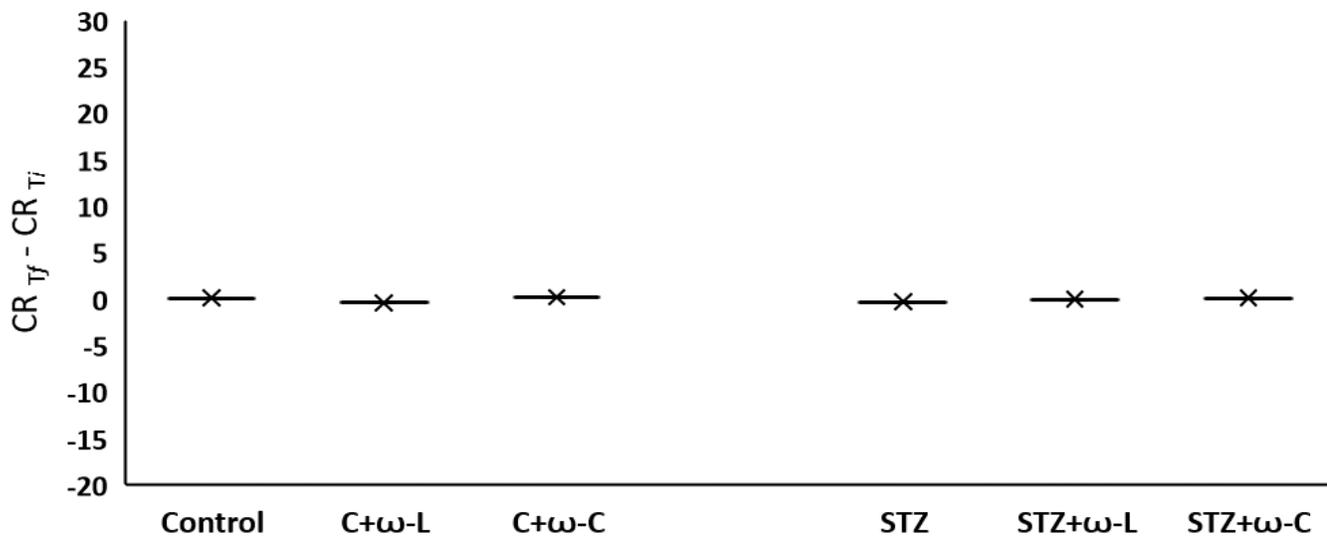


Figura 11. Diferencia de CR (velocidad de respiración del estado 3/ velocidad de respiración del estado 4) a 3 y 6 meses de edad de todos los grupos experimentales. Tf = CR (velocidad de respiración estado 3/velocidad de respiración del estado 4) a 6 meses de edad; Ti = CR (velocidad de respiración estado 3/velocidad de respiración del estado 4).

7.6 Composición de ácidos grasos de tejido cerebral y mitocondrias de ratas Wistar

Se analizó la composición de ácidos grasos de tejido cerebral así como la composición de ácidos grasos de sus respectivas mitocondrias con la finalidad de observar posibles cambios en este parámetro entre los organismos normoglicémicos (grupos Control), los organismos que fueron inducidos a diabetes (grupo STZ) y sus respectivos grupos que recibieron tratamiento de ácidos grasos omega -3 de cadena larga (grupo C+ ω -L, grupo STZ + ω -L) y cadena corta (C+ ω -C, STZ+ ω -C) durante el crecimiento de los animales (1, 3 y 6 meses de edad) y el desarrollo de la diabetes.

En la tabla 2 se muestra la composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas Wistar a 1 mes de edad. Durante este tiempo experimental, las ratas no contaron con tratamiento de ácidos grasos omega 3, por lo que se infiere que los valores que se muestran (composición de ácidos grasos y la concentración de ácidos grasos ω - 3) son de origen materno. De forma general, se observa que la inducción de DM2 no generó cambios significativos en la composición de ácidos grasos de tejido cerebral a 1 mes de edad.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas Wistar normoglicémicas (Grupo Control) e inducidas a DM2 (Grupo STZ) a 1 mes de edad.

| Ácido graso | Control | STZ |
|----------------|--------------|--------------|
| Mirístico | 0.16 ± 0.12 | 0.06 ± 0.03 |
| Miristoleico | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.05 ± 0.02 | 0.04 ± 0.01 |
| Palmitico | 16.42 ± 2.31 | 14.37 ± 1.13 |
| Palmitoleico | 0.89 ± 0.57 | 0.70 ± 0.34 |
| Heptadecanoico | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 |
| Esteárico | 19.17 ± 0.79 | 18.59 ± 0.34 |
| Oleico | 25.56 ± 2.85 | 26.40 ± 1.25 |
| Linoleico | 0.97 ± 0.52 | 0.77 ± 0.17 |
| Araquídico | 0.25 ± 0.15 | 0.27 ± 0.01 |
| Araquidónico | 10.71 ± 0.94 | 11.55 ± 1.16 |
| EPA | 0.50 ± 0.60 | ND |
| C22:? | 2.89 ± 0.46 | 3.15 ± 0.26 |
| DHA | 14.22 ± 1.57 | 15.67 ± 0.53 |
| Lignocérico | 0.96 ± 0.18 | 1.09 ± 0.18 |
| NI | 7.24 ± 1.51 | 7.47 ± 1.43 |
| Saturados | 37.02 ± 2.86 | 34.38 ± 1.37 |
| Insaturados | 55.74 ± 3.65 | 58.23 ± 0.63 |
| I/S | 1.52 ± 0.21 | 1.70 ± 0.07 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S cociente de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control n= 4, STZ n=3

* (p<0.05) diferencia estadística significativa respecto al grupo normoglicémico.

Por su parte, la composición de ácidos grasos de las mitocondrias de cerebro de ratas Wistar a 1 mes de edad se observa en la tabla 3. De forma similar no se presentan grandes cambios en la composición, sin embargo, la concentración de DHA en el grupo STZ presenta un aumento significativo con respecto al grupo control ($p < 0.05$).

Tabla 3. Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (Grupo Control) e inducidas diabetes (grupo STZ) a 1 mes de edad

| Ácido graso | Control | STZ |
|----------------|--------------|----------------|
| Mirístico | 0.22 ± 0.14 | 0.20 ± 0.11 |
| Miristoleico | 0.10 ± 0.04 | 0.04 ± 0.03 |
| Pentadecanoico | 0.05 ± 0.01 | 0.05 ± 0.01 |
| Palmítico | 16.58 ± 0.89 | 15.63 ± 1.13 |
| Palmitoleico | 0.97 ± 0.12 | 0.95 ± 0.21 |
| Heptadecanoico | 0.04 ± 0.01 | 0.03 ± 0.00 |
| Esteárico | 18.82 ± 0.18 | 18.95 ± 0.14 |
| Oleico | 26.77 ± 1.15 | 25.16 ± 1.55 |
| Linoleico | 0.71 ± 0.07 | 0.73 ± 0.04 |
| Araquídico | 0.19 ± 0.05 | 0.17 ± 0.04 |
| Araquidónico | 10.85 ± 0.77 | 11.57 ± 1.22 |
| C 22:? | 3.21 ± 0.25 | 3.22 ± 0.12 |
| DHA | 15.51 ± 0.48 | 16.73 ± 0.94 * |
| Lignocérico | 0.80 ± 0.28 | 0.86 ± 0.16 |
| NI | 5.27 ± 0.61 | 5.70 ± 1.20 |
| Saturados | 36.70 ± 0.80 | 35.89 ± 1.3 |
| Insaturados | 58.06 ± 1.23 | 58.41 ± 1.4 |
| I/S | 1.58 ± 0.07 | 1.63 ± 0.09 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control n=4, STZ n= 3
 * ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa respecto al grupo normoglicémico.

De forma general, se observa que a 1 mes de edad tanto la inducción a DM2 así como la exposición de la hiperglicemia ligera durante el primer tiempo experimental no generó cambios significativos en la composición de ácidos grasos de tejido cerebral y sus mitocondrias. Lo anterior podría ser un reflejo de la protección “inmediata” de este órgano antes situaciones que impliquen una alteración del metabolismo.

A partir de que los organismos cumplieron 1 mes de edad se comenzó con la administración de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y corta a los respectivos grupos, por lo que al cumplir los 3 meses de edad los animales ya habían recibido el suplemento de estos ácidos grasos durante 2 meses.

A continuación, se presenta la composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas Wistar a 3 meses de edad. En principio se presenta la tabla 4 en donde se muestra la composición de ácidos grasos de tejido cerebral de ratas control e inducidas a diabetes. En general, se aprecia una disminución significativa de EPA y ácido linoleico del grupo STZ ($p < 0.05$) con respecto al grupo Control a los 3 meses de edad. En el caso particular del ácido pentadecanoico se observa un aumento significativo con relación a su grupo control. No obstante, los cambios presentados por el grupo STZ no se reflejan de manera evidente en el índice de fluidez, ya que ambos grupos tienden a mantener el mismo valor numérico en este parámetro.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (grupo control) e inducidas a diabetes (grupo STZ) a 3 meses de edad

| Ácido graso | Control (n=3) | STZ (n=4) |
|----------------|------------------|---------------|
| Mirístico | 0.20 ± 0.03 | 0.13 ± 0.01 |
| Miristoleico | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.13 ± 0.11 | 0.30 ± 0.09 * |
| Palmitico | 17.04 ± 0.77 | 17.83 ± 1.74 |
| Palmitoleico | 0.97 ± 0.23 | 1.25 ± 0.51 |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.03 | 0.03 ± 0.01 |
| Estearico | 19.88 ± 1.03 | 20.46 ± 2.35 |
| Oleico | 26.88 ± 0.68 | 27.08 ± 2.03 |
| Linoleico | 0.82 ± 0.12 | 0.63 ± 0.06 * |
| Araquídico | 0.55 ± 0.03 | 0.40 ± 0.08 |
| Araquidónico | 8.49 ± 0.36 | 9.40 ± 0.81 |
| EPA | 1.79 ± 0.36 | 0.73 ± 0.38 * |
| C22: ? | 2.76 ± 0.50 | 3.08 ± 0.30 |
| DHA | 10.73 ± 0.72 | 10.03 ± 0.66 |
| Lignocérico | 1.22 ± 0.06 | 1.13 ± 0.13 |
| NI | 8.49 ± 2.52 | 7.60 ± 1.44 |
| Saturados | 39.06 ± 1.34 | 40.27 ± 3.90 |
| Insaturados | 52.45 ± 1.12 | 52.20 ± 3.02 |
| I/S | 1.34 ± 0.04 | 1.31 ± 0.18 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso-saturados); ND, No detectados. Control n= 3, STZ n=4

En la tabla 5 se muestra la composición de ácidos grasos de tejido cerebral del grupo control y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (C + ω-L) y cadena corta (C+ ω-C) a 3 meses de edad. En principio, se puede apreciar que en el grupo C+ω-L se presenta una disminución significativa tanto del ácido graso mirístico como del araquídico y un aumento significativo del ácido araquidónico con relación al grupo control ($p < 0.05$). Por su parte, en el grupo C+ω-C se aprecia un aumento significativo del palmitoleico y en este grupo también presenta una disminución significativa de las concentraciones de oleico y araquídico. Todas las diferencias significativas con respecto al grupo control.

Tabla 5. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Grupo control), ratas normoglicémicas con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (C + ω-L) y cadena corta (C+ω-C) a 3 meses de edad.

| Ácido graso | Control | C+ ω-L | C + ω-C |
|-----------------------|--------------|----------------|----------------|
| Mirístico | 0.20 ± 0.03 | 0.10 ± 0.02 * | 0.16 ± 0.03 |
| Miristoleico | ND | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.13 ± 0.11 | 0.40 ± 0.10 | 0.04 ± 0.01 |
| Palmitico | 17.04 ± 0.77 | 18.11 ± 0.79 | 17.19 ± 0.88 |
| Palmitoleico | 0.97 ± 0.23 | 1.00 ± 0.28 | 2.80 ± 1.31 * |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.03 | 0.07 ± 0.01 | ND |
| Esteárico | 19.88 ± 1.03 | 20.31 ± 0.40 | 20.14 ± 0.19 |
| Oleico | 26.88 ± 0.68 | 24.58 ± 1.83 | 24.94 ± 1.19 * |
| Linoleico | 0.82 ± 0.12 | 0.92 ± 0.06 | 0.72 ± 0.07 |
| Araquídico | 0.55 ± 0.03 | 0.45 ± 0.05 * | 0.30 ± 0.07 * |
| Araquidónico | 8.49 ± 0.36 | 10.23 ± 0.33 * | 8.98 ± 0.13 |
| EPA | 1.79 ± 0.36 | 1.37 ± 0.52 | 1.54 ± 0.29 |
| C22: ? | 2.76 ± 0.50 | 2.71 ± 0.12 | 2.86 ± 0.28 |
| DHA | 10.73 ± 0.72 | 11.63 ± 0.22 | 11.36 ± 0.40 |
| Lignocérico | 1.22 ± 0.06 | 1.05 ± 0.17 | 0.98 ± 0.21 |
| NI | 8.49 ± 2.52 | 7.26 ± 1.90 | 8.14 ± 1.48 |
| Saturados | 39.06 ± 1.34 | 40.47 ± 1.06 | 38.81 ± 1.11 |
| Insaturados | 52.45 ± 1.12 | 52.43 ± 1.55 | 53.21 ± 0.93 |
| I/S | 1.34 ± 0.04 | 1.30 ± 0.04 | 1.37 ± 0.05 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. n= 3

Los cambios en la composición de los ácidos grasos de los grupos STZ tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena larga y corta se presentan en la tabla 6. De forma

general, se aprecia que en el grupo STZ + ω -L presenta una disminución significativa de esteárico con relación al grupo control y con relación a su respectivo grupo STZ. Además, es evidente que hay un aumento significativo ($p < 0.05$) de EPA (respecto al grupo Control y al grupo STZ) y un aumento de DHA que sólo fue significativo con respecto al grupo Control. Por su parte, en el grupo STZ + ω -C se presenta una disminución significativa de Oleico, así como un aumento significativo de EPA y DHA con relación al grupo control.

Tabla 6 . Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (grupo control) y ratas inducidas a diabetes sin tratamiento (Grupo STZ) y con tratamiento de ácidos grasos omega-3 de cadena larga (Grupo STZ + ω -L) y cadena corta (STZ + ω -C) a 3 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ | STZ + ω -L | STZ + ω -C |
|-----------------------|------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Mirístico | 0.20 \pm 0.03 | 0.13 \pm 0.01 | 0.18 \pm 0.08 | 0.20 \pm 0.11 |
| Miristoleico | ND | ND | 0.04 \pm 0.00 | ND |
| Pentadecanoico | 0.13 \pm 0.11 | 0.30 \pm 0.09 | 0.07 \pm 0.02 | 0.04 \pm 0.01 |
| Palmítico | 17.04 \pm 0.77 | 17.83 \pm 1.74 | 17.76 \pm 1.25 | 16.42 \pm 0.60 |
| Palmitoleico | 0.97 \pm 0.23 | 1.25 \pm 0.51 | 1.01 \pm 0.46 | 1.37 \pm 0.54 |
| Heptadecanoico | 0.03 \pm 0.03 | 0.03 \pm 0.01 | 0.04 \pm 0.01 | ND |
| Esteárico | 19.88 \pm 1.03 | 20.46 \pm 2.35 | 16.03 \pm 0.84 * α | 21.15 \pm 0.86 |
| Oleico | 26.88 \pm 0.68 | 27.08 \pm 2.03 | 29.64 \pm 0.88 * | 24.22 \pm 1.10 * α |
| Linoleico | 0.82 \pm 0.12 | 0.63 \pm 0.06 | 1.44 \pm 0.90 | 0.79 \pm 0.05 |
| Araquídico | 0.55 \pm 0.03 | 0.40 \pm 0.08 | 0.24 \pm 0.10 | 0.37 \pm 0.03 |
| Araquidónico | 8.49 \pm 0.36 | 9.40 \pm 0.81 | 10.43 \pm 0.82 | 9.58 \pm 0.68 |
| EPA | 1.79 \pm 0.36 | 0.73 \pm 0.38 | 3.63 \pm 0.48 * α | 1.30 \pm 0.45 α |
| C22: ? | 2.76 \pm 0.50 | 3.08 \pm 0.30 | 2.84 \pm 0.27 | 2.92 \pm 0.23 |
| DHA | 10.73 \pm 0.72 | 10.03 \pm 0.66 | 11.03 \pm 0.86 α | 11.49 \pm 0.59 α |
| Lignocérico | 1.22 \pm 0.06 | 1.13 \pm 0.13 | 0.94 \pm 0.18 | 1.16 \pm 0.14 |
| NI | 8.49 \pm 2.52 | 7.60 \pm 1.44 | 4.79 \pm 0.92 | 9.02 \pm 0.97 |
| Saturados | 39.06 \pm 1.34 | 40.27 \pm 3.90 | 35.26 \pm 1.12 | 39.33 \pm 0.53 |
| Insaturados | 52.45 \pm 1.12 | 52.20 \pm 3.02 | 60.028 | 51.67 \pm 0.73 |
| I/S | 1.34 \pm 0.04 | 1.31 \pm 0.18 | 1.70 \pm 0.09 | 1.31 \pm 0.02 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control n=3, STZ n= 4, STZ + ω -L n= 5, STZ + ω -C n=6

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control; α ($p < 0.05$) diferencia estadística con respecto al grupo STZ

La composición de ácidos grasos de tejido cerebral del grupo Control y el grupo STZ a los 6 meses de edad se muestra en la tabla 7. En general, se observa que no hay grandes diferencias en la composición de ácidos grasos entre ambos grupos, sin embargo, el grupo STZ muestra un aumento significativo ($p < 0.05$) en la concentración de mirístico y de C22:? (aunque no se sabe a ciencia cierta de qué ácido graso se trata, se sabe que es un ácido graso de 22 carbonos con un número de dobles enlaces no definido). A pesar de que en ambos grupos se presentan diferencias en estos ácidos grasos, es evidente que el cambio en la proporción de dichas moléculas es muy pequeño, con lo cual el índice de fluidez no se ve afectado de manera drástica y por ello no se aprecian diferencias significativas entre ambos grupos, sin embargo, la tendencia de este parámetro parece ser ligeramente mayor en el grupo STZ.

Tabla 7. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (Grupo Control) e inducidas diabetes (grupo STZ) a 6 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ |
|-----------------------|--------------|---------------|
| Mirístico | 0.09 ± 0.05 | 0.23 ± 0.15 * |
| Miristoleico | ND | 0.09 ± 0.06 |
| Pentadecanoico | 0.05 ± 0.02 | 0.08 ± 0.06 |
| Palmitico | 16.16 ± 1.47 | 16.46 ± 1.47 |
| Palmitoleico | 1.34 ± 0.31 | 1.29 ± 0.72 |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.06 ± 0.03 |
| Esteárico | 18.18 ± 1.04 | 17.17 ± 3.76 |
| Oleico | 30.12 ± 2.96 | 31.12 ± 2.15 |
| Linoleico | 0.63 ± 0.20 | 0.47 ± 0.14 |
| Araquídico | 0.86 ± 0.21 | 0.43 ± 0.07 * |
| Araquidónico | 9.08 ± 0.91 | 9.19 ± 0.84 |
| EPA | 0.72 ± 0.99 | ND |
| Behénico | 0.16 ± 0.06 | 0.09 ± 0.02 |
| C22:? | 2.67 ± 0.19 | 3.24 ± 0.19 * |
| DHA | 11.62 ± 0.89 | 11.42 ± 0.71 |
| Lignocérico | 1.50 ± 0.38 | 1.74 ± 0.32 |
| NI | 6.92 ± 1.26 | 7.03 ± 2.51 |
| Saturados | 37.01 ± 1.42 | 36.24 ± 2.93 |
| Insaturados | 56.07 ± 2.37 | 56.77 ± 2.74 |
| I/S | 1.52 ± 0.12 | 1.58 ± 0.17 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. n= 6

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control; α ($p < 0.05$) diferencia estadística con respecto al grupo STZ

En la siguiente tabla (Tabla 8) se muestra la composición de los ácidos grasos de los grupos control tratados a los 6 meses de edad. El grupo C+ ω-L muestra una disminución significativa ($p < 0.05$) de Araquidónico, C22:? Y DHA con respecto al grupo control. También se observa que el esteárico aumenta de forma significativa de igual forma con respecto a su grupo control. Por su parte, en el grupo C+ω-C se presenta una disminución significativa ($p < 0.05$) tanto del araquídico como del C22:? con respecto al grupo control.

Tabla 8. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas normoglicémicas (grupos control) y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (C+ω-L) y cadena corta (C+ω-C) a 6 meses de edad

| Ácido graso | Control | C+ ω-L | C + ω-C |
|-----------------------|--------------|----------------|---------------|
| Mirístico | 0.09 ± 0.05 | 0.15 ± 0.07 | 0.07 ± 0.01 |
| Miristoleico | ND | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.05 ± 0.02 | 0.03 ± 0.00 | 0.04 ± 0.02 |
| Palmitico | 16.16 ± 1.47 | 17.06 ± 0.56 | 15.95 ± 0.64 |
| Palmitoleico | 1.34 ± 0.31 | 1.38 ± 0.32 | 1.08 ± 0.29 |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.02 ± 0.01 | 0.03 ± 0.00 |
| Esteárico | 18.18 ± 1.04 | 19.76 ± 0.99 * | 18.92 ± 0.85 |
| Oleico | 30.12 ± 2.96 | 29.41 ± 1.52 | 31.36 ± 0.90 |
| Linoleico | 0.63 ± 0.20 | 0.76 ± 0.07 | 0.68 ± 0.22 |
| Araquídico | 0.86 ± 0.21 | 0.76 ± 0.08 | 0.61 ± 0.08 * |
| Araquidónico | 9.08 ± 0.91 | 7.89 ± 0.58 * | 8.20 ± 0.53 |
| EPA | 0.72 ± 0.99 | 0.50 ± 0.18 | 0.81 ± 0.32 |
| Behénico | 0.16 ± 0.06 | 0.14 ± 0.06 | 0.27 ± 0.12 |
| C22:? | 2.67 ± 0.19 | 1.85 ± 0.34 * | 2.17 ± 0.25 * |
| DHA | 11.62 ± 0.89 | 10.41 ± 0.92 * | 10.72 ± 0.76 |
| Lignocérico | 1.50 ± 0.38 | 1.41 ± 0.42 | 1.60 ± 0.13 |
| NI | 6.92 ± 1.26 | 8.33 ± 1.40 | 7.51 ± 0.90 |
| Saturados | 37.01 ± 1.42 | 39.34 ± 0.93 | 37.5 ± 1.3 |
| Insaturados | 56.07 ± 2.37 | 52.20 ± 1.55 | 55.0 ± 0.6 |
| I/S | 1.52 ± 0.12 | 1.33 ± 0.06 | 1.47 ± 0.07 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control n= 6, C + w-L C+w-C n= 3

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control.

Para finalizar, se presenta la composición de ácidos grasos de los grupos que fueron inducidos y que recibieron tratamiento de ácidos grasos ω -3 (tabla 9). En general se puede apreciar que el grupo STZ + ω -L es el grupo que presenta un mayor número de diferencias, mostrando una disminución significativa ($p < 0.05$) de la concentración de esteárico con relación tanto al grupo control como al grupo STZ, así mismo la concentración de ácido araquídico muestra una disminución con relación al grupo control, pero un aumento significativo con respecto al grupo STZ. La concentración de EPA en este grupo aumenta significativamente con relación al grupo control y en el caso de C22 y el ácido graso lignocérico se muestra una disminución significativa de la concentración de estos ácidos grasos con respecto al grupo STZ. Por su parte, en el grupo inducido a DM2 tratado con ácidos grasos de cadena corta hay una disminución de la concentración de mirístico y C22 :? con respecto al grupo STZ, así mismo, se muestra un aumento significativo de linoleico y araquídico nuevamente con relación al grupo STZ.

En general, en estos grupos experimentales y a esta edad es donde se muestra un mayor número de diferencias entre grupos, sin embargo, de igual forma que en los grupos anteriores, los cambios en la proporción de estos ácidos grasos son pequeños, lo que implica que el cociente de fluidez no se altera demasiado. A pesar de lo descrito anteriormente se puede apreciar una mayor tendencia de aumento en este parámetro en los grupos diabéticos.

Tabla 9. Composición de ácidos grasos (mol%) de tejido cerebral de ratas Wistar inducidas a diabetes (STZ), tratadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ + ω -L) y cadena corta (STZ + ω - C) a 6 meses de edad.

| Ácido graso | Control (n=6) | STZ (n=6) | STZ + ω -L (n=7) | STZ + ω -C (n=5) |
|-----------------------|------------------|--------------|----------------------------|----------------------------|
| Mirístico | 0.09 ± 0.05 | 0.23 ± 0.15 | 0.13 ± 0.07 | 0.08 ± 0.02 α |
| Miristoleico | ND | 0.09 ± 0.06 | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.05 ± 0.02 | 0.08 ± 0.06 | 0.05 ± 0.03 | 0.03 ± 0.01 |
| Palmítico | 16.16 ± 1.47 | 16.46 ± 1.47 | 16.57 ± 0.75 | 15.62 ± 0.76 |
| Palmitoleico | 1.34 ± 0.31 | 1.29 ± 0.72 | 1.31 ± 0.64 | 1.64 ± 0.63 |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.06 ± 0.03 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.00 |
| Esteárico | 18.18 ± 1.04 | 17.17 ± 3.76 | 16.93 ± 0.77 * | 17.03 ± 1.21 |
| Oleico | 30.12 ± 2.96 | 31.12 ± 2.15 | 29.92 ± 0.78 | 30.47 ± 1.16 |
| Linoleico | 0.63 ± 0.20 | 0.47 ± 0.14 | 0.55 ± 0.13 | 0.65 ± 0.10 α |
| Araquídico | 0.86 ± 0.21 | 0.43 ± 0.07 | 0.60 ± 0.17 * α | 0.73 ± 0.25 α |
| Araquidónico | 9.08 ± 0.91 | 9.19 ± 0.84 | 8.71 ± 0.60 | 8.68 ± 0.42 |
| EPA | 0.72 ± 0.99 | ND | 2.66 ± 0.38 * | 1.68 ± 0.81 |
| Behénico | 0.16 ± 0.06 | 0.09 ± 0.02 | 0.16 ± 0.01 | 0.13 ± 0.09 |
| C22:? | 2.67 ± 0.19 | 3.24 ± 0.19 | 2.87 ± 0.26 α | 2.70 ± 0.36 α |
| DHA | 11.62 ± 0.89 | 11.42 ± 0.71 | 11.70 ± 0.48 | 11.55 ± 0.41 |
| Lignocérico | 1.50 ± 0.38 | 1.74 ± 0.32 | 1.40 ± 0.19 α | 1.66 ± 0.31 |
| NI | 6.92 ± 1.26 | 7.03 ± 2.51 | 6.46 ± 1.15 | 7.39 ± 1.79 |
| Saturados | 37.01 ± 1.42 | 36.24 ± 2.93 | 35.83 ± 0.83 | 35.29 ± 1.34 |
| Insaturados | 56.07 ± 2.37 | 56.77 ± 2.74 | 57.71 ± 0.98 | 57.36 ± 2.18 |
| I/S | 1.52 ± 0.12 | 1.58 ± 0.17 | 1.61 ± 0.05 | 1.63 ± 0.11 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. n= 6

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control; α ($p < 0.05$) diferencia estadística con respecto al grupo STZ

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro a 3 y 6 meses de edad. Es importante mencionar que los índices de fluidez que se encontraron tanto para tejido como para mitocondria son bastantes parecidos, por lo cual se decidió presentar primero la composición de los tejidos y después de las mitocondrias con la finalidad observar mejor el efecto de la hiperglicemia ligera y los tratamientos administrados.

De forma similar a lo que ocurre en el primer mes de experimentación, la composición de los ácidos grasos de las mitocondrias de cerebro no parece cambiar entre

los grupos Control y STZ a los 3 meses de edad. Particularmente hay una disminución significativa ($p < 0.05$) de la concentración de ácido araquídico en el grupo STZ con relación al grupo control, sin embargo, este cambio es tan pequeño que no se refleja en el índice de fluidez de este grupo, por lo que no se muestran diferencias significativas en este parámetro entre ambos grupos.

Tabla 10. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (grupos control) y ratas inducidas a DM2 (grupo STZ) a 3 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ |
|-----------------------|--------------|---------------|
| Mirístico | 0.14 ± 0.04 | 0.11 ± 0.02 |
| Miristoleico | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.04 ± 0.01 | 0.06 ± 0.03 |
| Palmítico | 17.19 ± 0.21 | 17.58 ± 0.83 |
| Palmitoleico | 0.68 ± 0.03 | 0.84 ± 0.19 |
| Heptadecanoico | 0.02 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 |
| Esteárico | 20.52 ± 1.21 | 20.37 ± 0.38 |
| Oleico | 26.72 ± 0.52 | 25.53 ± 1.81 |
| Linoleico | 0.81 ± 0.08 | 0.90 ± 0.38 |
| Araquídico | 0.44 ± 0.10 | 0.30 ± 0.06 * |
| Araquidónico | 10.35 ± 0.32 | 10.94 ± 0.76 |
| EPA | 1.03 ± 0.41 | 0.60 ± 0.31 |
| C22:? | 3.40 ± 0.38 | 3.30 ± 0.19 |
| DHA | 11.67 ± 0.29 | 11.73 ± 0.27 |
| Lignocérico | 1.02 ± 0.26 | 0.93 ± 0.18 |
| NI | 6.17 ± 1.06 | 6.85 ± 0.96 |
| Saturados | 39.35 ± 1.17 | 39.37 ± 0.80 |
| Insaturados | 54.65 ± 1.25 | 53.83 ± 0.83 |
| I/S | 1.39 ± 0.07 | 1.37 ± 0.04 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso-saturados); ND, No detectados. Control n= 3, STZ n=6

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control

A continuación, se muestra la tabla de composición de ácidos grasos de los grupos control que fueron tratados con ácidos grasos omega-3 (tabla 11). De forma general se aprecia que en el grupo C+ ω -L hay un aumento significativo de la concentración de ácido pentadecanoico, ácido palmítico y DHA con respecto al grupo control; así mismo, se muestra una disminución en la concentración del oleico con respecto al mismo grupo control. Por su parte, en el grupo C+ ω -C se aprecia un aumento en la concentración de palmitoleico y DHA, además de una disminución en la concentración de oleico y ácido araquídico. Todas las diferencias significativas ($p<0.05$) con respecto al grupo control.

Tabla 11. Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (grupo control) y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (c+w-L) y cadena corta (c+w-C) a 3 meses de edad.

| Ácido graso | Control | C+ ω -L | C + ω -C |
|-----------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| Mirístico | 0.14 \pm 0.04 | 0.14 \pm 0.05 | 0.13 \pm 0.02 |
| Miristoleico | ND | ND | ND |
| Pentadecanoico | 0.04 \pm 0.01 | 0.15 \pm 0.05 * | 0.03 \pm 0.00 |
| Palmítico | 17.19 \pm 0.21 | 18.11 \pm 0.63 * | 17.06 \pm 0.89 |
| Palmitoleico | 0.68 \pm 0.03 | 1.10 \pm 0.48 | 2.03 \pm 0.37 * |
| Heptadecanoico | 0.02 \pm 0.00 | 0.03 \pm 0.01 | ND |
| Esteárico | 20.52 \pm 1.21 | 20.75 \pm 0.53 | 20.22 \pm 0.34 |
| Oleico | 26.72 \pm 0.52 | 23.52 \pm 0.75 * | 23.94 \pm 0.64 * |
| Linoleico | 0.81 \pm 0.08 | 0.98 \pm 0.12 | 0.90 \pm 0.17 |
| Araquídico | 0.44 \pm 0.10 | 0.34 \pm 0.03 | 0.23 \pm 0.03 * |
| Araquidónico | 10.35 \pm 0.32 | 10.46 \pm 0.65 | 11.18 \pm 0.19 |
| EPA | 1.03 \pm 0.41 | 1.60 \pm 0.64 | 0.89 \pm 0.02 |
| Behénico | ND | ND | ND |
| C22:? | 3.40 \pm 0.38 | 3.14 \pm 0.21 | 3.15 \pm 0.06 |
| DHA | 11.67 \pm 0.29 | 12.46 \pm 0.51 * | 13.50 \pm 0.43 * |
| Lignocérico | 1.02 \pm 0.26 | 0.88 \pm 0.10 | 0.64 \pm 0.03 |
| NI | 6.17 \pm 1.06 | 6.39 \pm 1.42 | 6.11 \pm 0.43 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso-saturados); ND, No detectados. Control, C+w-C n= 3, C+w-L n=5

* ($p<0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control

En la tabla 12 se presenta la composición de ácidos grasos de mitocondrias de ratas STZ tratadas con ácidos grasos omega 3. Un aspecto interesante es que en el grupo

STZ+ ω -L hay un aumento del índice de fluidez con respecto a los demás grupos experimentales, por ende, los cambios en la composición de los ácidos grasos en este grupo son muy evidentes. En principio se aprecia un aumento en la concentración de palmitoleico, oleico y DHA respecto del grupo Control y respecto del grupo STZ. También se aprecia una disminución significativa en la concentración de esteárico, linoleico de igual forma con respecto al grupo control y al grupo STZ. Adicionalmente la concentración de EPA disminuye de forma significativa, pero en este caso sólo lo hace con respecto al grupo control. Por su parte, en el grupo STZ+ ω -C se aprecia un aumento en la concentración de palmitoleico y DHA con respecto al grupo STZ; y en este grupo experimental también se presenta una disminución del oleico con respecto al grupo control y al grupo STZ.

A los 6 meses de edad la composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro en los grupos control y STZ no parecen mostrar cambios tan significativos, en la tabla 13 se aprecia que el palmitoleico disminuye su concentración de forma significativa ($p < 0.05$) en el grupo STZ, y tanto los ácidos grasos linoleico como el lignocérico aumentan significativamente en el grupo STZ con respecto al grupo Control. Nuevamente no se encontró diferencia significativa entre el índice de fluidez entre ambos grupos, sin embargo, la tendencia de este parámetro es mayor en el grupo que fue inducido a DM2.

Tabla 12. Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de cerebro de ratas Wistar inducidas a diabetes (STZ), tratadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ + ω -L) y cadena corta (STZ + ω - C) a 3 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ | STZ + ω -L | STZ + ω -C |
|-----------------------|--------------|--------------|-------------------------|------------------------|
| Mirístico | 0.14 ± 0.04 | 0.11 ± 0.02 | 0.14 ± 0.04 | 0.17 ± 0.04 α |
| Miristoleico | ND | ND | 0.03 ± 0.03 | ND |
| Pentadecanoico | 0.04 ± 0.01 | 0.06 ± 0.03 | 0.04 ± 0.02 | 0.08 ± 0.10 |
| Palmítico | 17.19 ± 0.21 | 17.58 ± 0.83 | 16.37 ± 1.04 α | 17.17 ± 0.50 |
| Palmitoleico | 0.68 ± 0.03 | 0.84 ± 0.19 | 1.38 ± 0.36* α | 1.33 ± 0.65 α |
| Heptadecanoico | 0.02 ± 0.00 | 0.01 ± 0.00 | 0.03 ± 0.00 | ND |
| Esteárico | 20.52 ± 1.21 | 20.37 ± 0.38 | 15.05 ± 0.76 * α | 21.39 ± 0.94 |
| Oleico | 26.72 ± 0.52 | 25.53 ± 1.81 | 31.62 ± 2.10 * α | 23.25 ± 0.63* α |
| Linoleico | 0.81 ± 0.08 | 0.90 ± 0.38 | 0.51 ± 0.05 * α | 0.92 ± 0.13 |
| Araquídico | 0.44 ± 0.10 | 0.30 ± 0.06 | 0.20 ± 0.05 | 0.30 ± 0.03 |
| Araquidónico | 10.35 ± 0.32 | 10.94 ± 0.76 | 10.43 ± 0.53 | 10.11 ± 0.66 |
| EPA | 1.03 ± 0.41 | 0.60 ± 0.31 | 0.50 ± 0.34 * | 0.76 ± 0.20 |
| Behénico | ND | ND | 0.05 ± 0.03 | ND |
| C22:? | 3.40 ± 0.38 | 3.30 ± 0.19 | 3.41 ± 0.11 | 3.15 ± 0.12 |
| DHA | 11.67 ± 0.29 | 11.73 ± 0.27 | 13.75 ± 0.57 * α | 12.83 ± 0.46 α |
| Lignocérico | 1.02 ± 0.26 | 0.93 ± 0.18 | 0.93 ± 0.21 | 0.95 ± 0.23 |
| NI | 6.17 ± 1.06 | 6.85 ± 0.96 | 5.60 ± 0.40 | 7.58 ± 0.70 |
| Saturados | 39.35 ± 1.17 | 39.37 ± 0.80 | 32.82 ± 1.44 | 40.05 ± 0.80 |
| Insaturados | 54.65 ± 1.25 | 53.83 ± 0.83 | 61.64 ± 1.161 | 52.34 ± 1.02 |
| I/S | 1.39 ± 0.07 | 1.37 ± 0.04 | 1.88 ± 0.11 | 1.31 ± 0.05 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control n=3 ; STZ, STZ +w-C n=6 ; STZ+w-L n=5

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control; α ($p < 0.05$) diferencia estadística con respecto al grupo STZ

Tabla 13. Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (grupo control) y ratas inducidas a diabetes (grupo STZ) a 6 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ |
|-----------------------|--------------|---------------|
| Mirístico | 0.12 ± 0.05 | 0.16 ± 0.07 |
| Miristoleico | 0.02 ± 0.01 | 0.03 ± 0.03 |
| Pentadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.07 ± 0.06 |
| Palmítico | 15.72 ± 0.75 | 15.70 ± 0.49 |
| Palmitoleico | 1.50 ± 0.29 | 1.13 ± 0.22 * |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.13 ± 0.21 |
| Esteárico | 18.06 ± 0.62 | 17.00 ± 1.57 |
| Oleico | 30.17 ± 1.72 | 31.27 ± 0.78 |
| Linoleico | 0.49 ± 0.07 | 0.60 ± 0.12 * |
| Araquídico | 0.35 ± 0.08 | 0.34 ± 0.10 |
| Araquidónico | 10.20 ± 0.32 | 10.18 ± 0.40 |
| EPA | 0.19 ± 0.07 | ND |
| Behénico | ND | ND |
| C22:? | 3.33 ± 0.24 | 3.59 ± 0.12 |
| DHA | 13.24 ± 1.01 | 12.93 ± 0.51 |
| Lignocérico | 1.14 ± 0.25 | 1.56 ± 0.33 * |
| NI | 5.52 ± 0.90 | 5.32 ± 1.75 |
| Saturados | 35.45 ± 1.21 | 34.95 ± 1.46 |
| Insaturados | 59.06 ± 1.96 | 53.73 ± 1.43 |
| I/S | 1.67 ± 0.11 | 1.71 ± 0.09 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso-saturados); ND, No detectados. n=6

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control

Con la finalidad de mostrar la composición de ácidos grasos de las mitocondrias de cerebro de los grupos control que fueron tratados con ácidos grasos omega 3 se presenta la tabla 14. En esta tabla se aprecia que los cambios significativos ($p<0.05$) en la composición de las membranas mitocondriales del grupo C+ ω -L con respecto al grupo control están dados por un aumento en la concentración de linoleico así como una disminución de la concentración de ácido araquidónico y C22 : ?. Por otro lado, el grupo C+ ω -C muestra una disminución significativa de la concentración de Esteárico y C22:? con respecto al grupo Control.

Tabla 14. Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de cerebro de ratas normoglicémicas (grupo control) y sus respectivos grupos con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (c+w-L) y cadena corta (c+w-C) a 6 meses de edad.

| Ácido graso | Control | C+ ω -L | C + ω -C |
|----------------|--------------|----------------|-----------------|
| Mirístico | 0.12 ± 0.05 | 0.14 ± 0.07 | 0.10 ± 0.04 |
| Miristoleico | 0.02 ± 0.01 | 0.03 ± 0.02 | 0.02 ± 0.02 |
| Pentadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 |
| Palmítico | 15.72 ± 0.75 | 15.10 ± 1.39 | 15.50 ± 0.15 |
| Palmitoleico | 1.50 ± 0.29 | 1.32 ± 0.51 | 1.46 ± 0.22 |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 | 0.04 ± 0.02 |
| Esteárico | 18.06 ± 0.62 | 18.22 ± 0.35 | 17.15 ± 0.10 * |
| Oleico | 30.17 ± 1.72 | 31.20 ± 1.07 | 32.66 ± 2.62 |
| Linoleico | 0.49 ± 0.07 | 0.59 ± 0.09 * | 0.55 ± 0.06 |
| Araquídico | 0.35 ± 0.08 | 0.44 ± 0.12 | 0.44 ± 0.03 |
| Araquidónico | 10.20 ± 0.32 | 9.60 ± 0.48 * | 10.09 ± 0.63 |
| EPA | 0.19 ± 0.07 | 0.13 ± 0.08 | 0.29 ± 0.07 |
| Behénico | ND | 0.07 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 |
| C22:? | 3.33 ± 0.24 | 3.05 ± 0.13 * | 2.79 ± 0.14 * |
| DHA | 13.24 ± 1.01 | 12.15 ± 0.78 | 12.17 ± 0.54 |
| Lignocérico | 1.14 ± 0.25 | 1.23 ± 0.39 | 1.08 ± 0.07 |
| NI | 5.52 ± 0.90 | 6.75 ± 0.59 | 5.55 ± 20.82 |
| Saturados | 35.45 ± 1.21 | 35.27 ± 0.69 | 34.40 ± 0.13 |
| Insaturados | 59.06 ± 1.96 | 58.06 ± 0.33 | 60.04 ± 2.85 |
| I/S | 1.67 ± 0.11 | 1.65 ± 0.04 | 1.75 ± 0.09 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S cociente de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso-saturados); ND, No detectados. Control n=6, C+w-L, C+w-C n=3

* ($p<0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control

Para finalizar, en la tabla 15 se presenta la composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de los grupos STZ tratados con ácidos grasos ω -3. En la tabla se observa que en el grupo STZ+ ω -L se presenta una disminución significativa ($p < 0.05$) de la concentración de esteárico y un aumento en la concentración de EPA, ambas diferencias con respecto al grupo control. En el caso del grupo STZ+ ω -C las concentraciones de palmitoleico y DHA son significativamente mayores con respecto al grupo STZ y por su parte, la concentración del ácido linoleico es significativamente menor con relación al grupo STZ. Las diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) encontradas para este grupo con respecto al grupo control fueron una disminución de la concentración de esteárico y un aumento significativo de EPA.

Tabla 15. Composición de ácidos grasos de mitocondrias de cerebro de ratas inducidas a diabetes (STZ) con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ+ ω -L) y cadena corta (STZ + ω -C) a los 6 meses de edad.

| Ácido graso | Control | STZ | STZ + ω -L | STZ + ω -C |
|----------------|--------------|--------------|----------------------|-----------------------|
| Mirístico | 0.12 ± 0.05 | 0.16 ± 0.07 | 0.12 ± 0.06 | 0.09 ± 0.03 |
| Miristoleico | 0.02 ± 0.01 | 0.03 ± 0.03 | ND | 0.02 ± 0.01 |
| Pentadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.07 ± 0.06 | 0.04 ± 0.01 | 0.03 ± 0.00 |
| Palmitico | 15.72 ± 0.75 | 15.70 ± 0.49 | 16.30 ± 0.57 | 16.49 ± 0.23 |
| Palmitoleico | 1.50 ± 0.29 | 1.13 ± 0.22 | 1.32 ± 0.26 | 1.51 ± 0.31 α |
| Heptadecanoico | 0.03 ± 0.01 | 0.13 ± 0.21 | 0.04 ± 0.01 | 0.03 ± 0.00 |
| Esteárico | 18.06 ± 0.62 | 17.00 ± 1.57 | 16.48 ± 1.00 * | 17.02 ± 0.63 * |
| Oleico | 30.17 ± 1.72 | 31.27 ± 0.78 | 30.96 ± 2.06 | 30.53 ± 1.04 |
| Linoleico | 0.49 ± 0.07 | 0.60 ± 0.12 | 0.59 ± 0.43 | 0.47 ± 0.07 α |
| Araquídico | 0.35 ± 0.08 | 0.34 ± 0.10 | 0.35 ± 0.14 | 0.36 ± 0.05 |
| Araquidónico | 10.20 ± 0.32 | 10.18 ± 0.40 | 10.09 ± 0.46 | 9.92 ± 0.22 |
| EPA | 0.19 ± 0.07 | ND | 1.19 ± 0.49 * | 0.95 ± 0.41 * |
| Behénico | ND | ND | 0.07 ± 0.05 | 0.06 ± 0.01 |
| C22:? | 3.33 ± 0.24 | 3.59 ± 0.12 | 3.23 ± 0.13 α | 3.22 ± 0.21 |
| DHA | 13.24 ± 1.01 | 12.93 ± 0.51 | 13.02 ± 0.46 | 13.43 ± 0.31 α |
| Lignocérico | 1.14 ± 0.25 | 1.56 ± 0.33 | 1.08 ± 0.15 | 0.94 ± 0.15 α |
| NI | 5.52 ± 0.90 | 5.32 ± 1.75 | 5.13 ± 1.24 | 4.96 ± 1.25 |
| Saturados | 35.45 ± 1.21 | 34.95 ± 1.46 | 34.46 ± 1.35 | 35.00 ± 0.82 |
| Insaturados | 59.06 ± 1.96 | 53.73 ± 1.43 | 60.41 ± 1.34 | 60.04 ± 1.39 |
| I/S | 1.67 ± 0.11 | 1.71 ± 0.09 | 1.76 ± 0.10 | 1.72 ± 0.07 |

EPA, Ácido Eicosapentaenoico; DHA, Ácido Docosahexaenoico; NI, No identificado; I/S índice de fluidez (ácidos grasos insaturados/ ácidos graso saturados); ND, No detectados. Control, STZ n=6, STZ + ω -L n=7 ; STZ+ ω -C n=5

* ($p < 0.05$) diferencia estadística significativa con respecto al grupo control; α ($p < 0.05$) diferencia estadística con respecto al grupo STZ

8 DISCUSIÓN

8.1 Ganancia de peso

En este trabajo se generó un modelo de DM2 con hiperglicemia ligera con la finalidad de simular los primeros estadios de desarrollo de esta patología, para poder observar posibles cambios (fisiológicos, antropométricos y metabólicos) que se pudieran presentar en el organismo. De acuerdo al Comité de Expertos para el Diagnóstico y Clasificación de DM de la ADA (2018) se han establecido una serie de criterios para el diagnóstico de este síndrome, dentro de estos criterios se encuentran signos y síntomas clínicos específicos, entre los que destacan: polifagia, polidipsia, poliuria y pérdida de peso

El peso es un parámetro antropométrico muy importante pues su determinación contribuye a la valoración nutricional de una persona, por lo que cambios repentinos en este parámetro (ya sea por un aumento o disminución) podría ser un indicio de posibles alteraciones metabólicas en el organismo (Rabat y Rebollo, 2010).

En la Figura 1 se puede apreciar la curva de crecimiento de todos los grupos experimentales a partir del primer mes de edad y hasta el momento del sacrificio. De forma general se observa que el grupo control fue el grupo que tuvo una mayor ganancia de peso en relación a los demás grupos experimentales.

El grupo STZ tuvo menor ganancia de peso promedio en comparación con todos los grupos experimentales, con un peso 16% menor que el grupo control. Estos resultados son consistentes con el modelo de hiperglicemia ligera generado en este trabajo ya que una disminución en la secreción de insulina (ocasionado por disminución del número de células β pancreáticas por acción de la STZ) implica una alteración en los procesos metabólicos en la que esta hormona participa. En un principio la estimulación de la captación de glucosa (por translocación de GLUT 4 a la membrana plasmática) en las células del tejido adiposo y del tejido muscular no puede llevarse a cabo, lo que implica que estas células no puedan utilizar la glucosa para obtención de energía. Esta restricción obliga a los miocitos y adipocitos a utilizar aminoácidos y ácidos grasos para producción

de ATP, lo que da como resultado una disminución de las reservas de estas moléculas en los tejidos correspondientes (Shepherd y Kahn, 1999).

Así mismo, la falta de insulina disminuye la entrada de aminoácidos en el tejido muscular, favorece el catabolismo proteico (Wang *et al*, 2006) y aumenta el uso de aminoácidos como sustrato para la gluconeogénesis (Hatting *et al*, 2018), lo que conlleva a una disminución de la masa muscular.

Adicionalmente, la falta de insulina impide la captación de los ácidos grasos en el tejido adiposo puesto que la enzima lipoproteína lipasa 1, enzima encargada de catalizar la hidrólisis de los triacilglicérolos contenidos en las lipoproteínas (Quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, VLDL), no es estimulada de manera adecuada (Panarotto *et al*, 2002; Mead *et al*, 2002). De igual forma sin insulina, los adipocitos no pueden sintetizar ni almacenar triacilglicérolos (ya que estas moléculas son constantemente utilizadas para obtención de energía) con lo que se ve favorecida la lipólisis, generando así un mayor flujo de ácidos grasos libres al hígado para ser oxidados y transformados a cuerpos cetónicos (Dimitriadis *et al*, 2011).

En resumen, la falta o disminución de insulina en el organismo conlleva a alteraciones de los procesos metabólicos en los que esta hormona participa, principalmente las repercusiones de estas alteraciones resultan en una disminución de las reservas del tejido muscular y tejido adiposo, que se ve reflejado en una menor ganancia de peso corporal ya que ambos tejidos son componentes principales que contribuyen a la determinación de este parámetro (Carbajal, 2013).

Por otro lado, la ganancia de peso de los grupos a los que se les administraron los ácidos grasos ω -3 fue menor en comparación con su respectivo grupo control. Particularmente los animales que fueron suplementados con ω -3 de cadena larga fueron los que mostraron una menor ganancia de peso. Diversos estudios se han realizado con el objetivo de dilucidar el papel que tienen los ácidos grasos poliinsaturados ω -3 de cadena larga (principalmente EPA y DHA) en el equilibrio del peso corporal.

Se ha reportado que la suplementación de aceite de pescado, (aceite de atún, constituido por 7% de EPA y 23% de DHA) en la alimentación de roedores disminuye la ganancia de peso y previene la acumulación de lípidos en el tejido adiposo blanco en comparación con otros aceites dietéticos suplementados entre los que se encuentran el aceite de palma, el aceite de soya o el aceite de colza (Ikemoto *et al*, 1996). En otros

estudios no se han encontrado diferencias significativas entre la suplementación de diferentes aceites dietéticos y su efecto en el peso corporal, sin embargo, las ratas que fueron suplementadas con aceite de pescado mostraron una menor cantidad de grasa corporal total con respecto a los otros grupos (Hill *et al*, 1993).

Este efecto “preventivo” de acumulación de grasa se ha relacionado con las lipoproteínas de muy baja densidad VLDL (cuya función es el transporte endógeno de lípidos desde el lugar de su síntesis hepática hasta los tejidos periféricos), ya que se ha visto que EPA y DHA disminuyen su síntesis en el hígado, con lo cual el transporte de los ácidos grasos se reduce y la captación de estas moléculas, así como su posterior acumulación como reserva en los tejidos se ve disminuida (Bays *et al*, 2008).

También se ha encontrado que EPA y DHA están implicados en la supresión de la transcripción de los genes que codifican enzimas lipogénicas entre las que se encuentran: acetil Co-A carboxilasa, el complejo multienzimático ácido graso sintasa (FAS) y la esteroil co-A desturasa (Saltar *et al*, 1994; Dentin *et al*, 2005). Además, se ha demostrado que EPA y DHA promueven la transcripción de enzimas que participan en la oxidación de los ácidos grasos como la acil CoA Oxidasa, la proteína de desacoplamiento 2 y la palmitoiltransferasa carnitina 1 (Guo *et al*, 2005; Sampath y Ntambi, 2006). Por lo tanto, la inhibición de la síntesis de ácidos grasos en el hígado y el aumento de la oxidación de estas moléculas parecen desempeñar un papel fundamental en la ganancia de peso corporal.

Además de lo anterior, se ha propuesto que la participación de EPA y DHA en la disminución del peso corporal también se podría ver influenciada por la posible relación de estos ácidos grasos con la leptina y adiponectina (adipocinas que participan en la regulación de la masa corporal) las evidencias de soporte para esta hipótesis es que en ciertos estudios se ha encontrado que después de la ingesta de estos ácidos grasos la sensación de hambre disminuye y la saciedad posprandial es mayor (Ohashi *et al*, 2004; Bays *et al*, 2009).

Finalmente, la administración de los ácidos grasos omega 3 parecen tener una repercusión positiva en la ganancia de peso de los organismos que fueron inducidos a diabetes, particularmente el grupo STZ+ ω -L es el grupo que muestra una tendencia a incrementar su peso (5.5% más con respecto al grupo STZ). Este posible efecto benéfico se relaciona con los procesos metabólicos en los que estas moléculas participan. En los

últimos años ha tomado importancia la participación de estos ácidos grasos como ligandos del PPAR y ya que la unión a estos receptores nucleares promueve la expresión de ciertos genes que están implicados en el proceso de reconocimiento y transporte de la insulina, entre estos se encuentran receptores de insulina y sus sustratos, así como los que codifican para el glucotransportador 4 (Iwata et al, 2001; González- Périz *et al*, 2009). Esto es importante si se considera que la insulina es una hormona anabólica que promueve la entrada de aminoácidos para la síntesis de proteínas en el tejido muscular y estimula la síntesis de triacilgliceroles para la posterior acumulación de estas moléculas en el tejido adiposo (Dimitriadis *et al*, 2011).

Por su parte, el incremento de la ganancia de peso del grupo STZ + ω -C en relación al grupo STZ no muestra ningún cambio aparente, por lo que se concluye que estas moléculas no tuvieron ningún efecto en este parámetro. De forma similar, Vicenteño (2018) trabajó con la administración de ALA durante el desarrollo de DM2 empleando diferentes esquemas de dosificación (1, 3 y 7 días a la semana, dosis 125 mg/kg de peso) y encontró un efecto benéfico de estas moléculas sobre la ganancia de peso corporal de ratas con hiperglicemias severas cuando la frecuencia de administración del tratamiento fue mayor. Lo anterior parece indicar que el efecto de este ácido graso está sujeto a una serie de factores entre los que se encuentran: el grado de hiperglicemia, la dosis administrada y el esquema de dosificación empleado.

8.2 Glicemia

Existen diversas técnicas experimentales para generar modelos de DM en animales, sin embargo, la inducción de DM2 por acción de la estreptozotocina ha sido de los métodos más utilizados debido a la alta selectividad para las células β pancreáticas (LeDoux *et al*, 1986).

El mecanismo de acción de la STZ se basa en su efecto genotóxico ya que este fármaco al ser un agente alquilante lleva a cabo la metilación directa del DNA de las células β pancreáticas lo que ocasiona que se formen aductos y exista rompimiento de las cadenas de DNA para posteriormente promover la muerte celular (Bennett y Pegg, 1981; Yamamoto *et al*, 1981). Además de lo anterior se ha propuesto que durante el metabolismo de la STZ se forman especies reactivas de oxígeno, las cuales desempeñan un papel clave en la progresión del efecto tóxico de este compuesto (Takasu *et al*, 1991). La sensibilidad a la STZ depende de una serie de factores entre los que se encuentran: la edad, el sexo, el estado nutricional y la especie animal. Además, ha quedado demostrado que el tiempo, la dosis y la vía de administración son determinantes para su efecto (Bequer *et al*, 2016).

La concentración de STZ utilizada en este trabajo fue de 130 mg/Kg de peso corporal, esta concentración de acuerdo con lo reportado en la literatura resulta suficiente para reducir en su mayoría el número de células β en el páncreas si se administra a una rata adulta (Weir *et al*, 1986). Sin embargo, en animales neonatos existe la capacidad por parte del páncreas de diferenciar y /o regenerar sus células β pancreáticas de forma parcial (Bonner – Weir *et al*, 1981), por lo que el resultado final llevaría a alteraciones en el control de la glicemia, con concentraciones de glucosa en sangre mayores a lo que se presenta de forma normal.

En este trabajo se encontró que la glicemia en los grupos control se mantuvo en un intervalo de 80-110 mg/dL durante todo el tiempo experimental (Figura 2). Estos resultados resultan consistentes considerando que se ha reportado que la concentración de glucosa sanguínea para la mayoría de los mamíferos con ayuno de 8 horas es de 80 – 100 mg/dL. Derivado de lo anterior, todo parece indicar que la administración de los ácidos grasos no tuvo ningún efecto aparente sobre este parámetro en estos grupos experimentales.

En la Figura 2 se puede observar que las concentraciones de glucosa sanguínea del grupo STZ se normalizan durante el transcurso del tiempo y al comparar estas glicemias con la del grupo Control parece que no hay diferencia, particularmente en los últimos meses de vida estudiados.

Con el propósito de observar el control de la glicemia en ambos grupos se realizó una curva de tolerancia a la glucosa (que fue realizada cuando los animales cumplieron una edad aproximada de 4 meses). Los resultados de esta prueba se muestran en los anexos (anexo 2). En la gráfica del grupo control se aprecia que después de la ingesta de dextrosa las concentraciones de glucosa sanguínea a los 60 minutos no sobrepasan los 130 mg/dL y a pesar de que sólo se tomaron mediciones los primeros 90 minutos, este tiempo fue suficiente para observar un regreso de la glicemia casi a sus valores iniciales. Por el contrario, el grupo STZ muestra que el pico promedio alcanzado por la glicemia a los 60 minutos después de la ingesta de dextrosa se encuentra por encima de los 270 mg/dL y aunque la concentración de glucosa en sangre disminuye en los 90 minutos subsecuentes, la glicemia aún sigue siendo elevada. En consideración con los criterios para evaluar la “anormalidad” en una curva de tolerancia a la glucosa (basados en el valor del pico que alcanza la glicemia en los primeros 60 minutos y la falta de retorno de las concentraciones normales de glucosa sanguínea a las dos horas) (Bhandari *et al*, 2008) es evidente que, aunque las últimas dos mediciones de la glicemia del grupo STZ podrían pasar como “normales” los animales de este grupo presentan una alteración en el control de este parámetro.

Lo anterior es consistente con las manifestaciones de las alteraciones del metabolismo de carbohidratos en los primeros estadios de desarrollo de DM2. Diferentes instituciones de investigación especialistas en la historia natural de esta patología han denominado a estas etapas iniciales como “prediabetes” y los criterios de diagnóstico se establecen de la siguiente manera: Glucosa plasmática alterada después de un ayuno de 8 horas que resulta entre 100 y 125 mg/dL y tolerancia a la glucosa alterada (Glucosa plasmática entre 140 y 199 mg /dL dos horas después de una carga oral de glucosa) (ADA,2018). La detección temprana de estos parámetros en los pacientes es de gran importancia para su tratamiento ya que dentro de este marco de referencia se ha visto que la gran mayoría de los casos de DM2 se presentan en individuos que, durante un periodo variable de años, han presentado diversas alteraciones metabólicas que preceden y acompañan al estado de hiperglucemia persistente (Rosas- Saucedo *et al*, 2017).

La administración de los ácidos grasos ω - 3 a los grupos STZ parece tener un efecto positivo sobre el control de la glicemia. Concretamente EPA y DHA fueron los que mostraron tener un mayor efecto ya que en la Figura 2 se muestra que en los dos primeros meses a partir del tratamiento las concentraciones de glucosa en sangre comienzan a disminuir y en los últimos meses esta glicemia se mantiene en valores normales; además, es interesante referir que la dispersión de los datos se muestra relativamente constante en todos los meses después de la administración del tratamiento. Lo anterior resulta relevante si se compara con el comportamiento típico de la glicemia que ha sido observado en los organismos diabéticos, ya que estos muestran una dispersión de sus datos mucho mayor, lo cual es derivado de los cambios drásticos en sus concentraciones de glucosa sanguínea y por tanto es un reflejo de la pérdida del control de la glicemia en estos animales.

Los estudios que se han realizado con el objetivo de determinar el impacto del aceite de pescado en contra del desarrollo de DM2 (principalmente en la homeostasis de la glucosa y el perfil lipídico) han arrojado resultados contradictorios y todo parece indicar que el efecto resultante (positivo o negativo) depende de una serie de factores entre los que se encuentran el tiempo de comienzo de la intervención (en relación con el grado de desarrollo de la patología), la dosis administrada y la proporción de los principales ácidos grasos omega 3 que componen el aceite de pescado administrado (Chen *et al*, 2015).

Sin embargo, hay estudios que reportan que el suplemento de ácidos grasos polinsaturados ω - 3 mejora el control glucémico en organismos con DM2 lo que resulta consistente con lo encontrado en este trabajo.(Vicenteño, 2018; Gonzánlez- Périz *et al*, 2009).

No obstante, los mecanismos por los cuales se da este efecto positivo en el control de este parámetro aún no están del todo claros. Las investigaciones en modelos animales han revelado diferentes mecanismos potenciales. En principio se ha postulado que estas moléculas mejoran la sensibilidad a la insulina hepática (por oxidación de ácidos grasos hepáticos e inhibición de la lipogénesis, lo que mejora la señalización y respuesta a la insulina). También se ha postulado que este efecto benéfico se debe a los efectos antiinflamatorios de los omega 3 (dado que la inflamación tisular mediada por macrófagos es un mecanismo clave para la resistencia a la insulina en la obesidad) (Oh *et al*, 2010),

así mismo se ha propuesto que estas moléculas participan en la modulación de las hormonas incretinas (las cuales están implicadas en la secreción de insulina estimulada por la glucosa) (Flachs *et al*, 2014) y por último se ha postulado que este efecto benéfico puede ser mediado por los PPARS (al estimular la expresión de diversos genes entre los que se encuentran los implicados en la respuesta a la insulina, receptor de insulina y sus sustratos) (Smith *et al*, 2001) así como los que codifican para GLUT 4 expresado en músculo esquelético, músculo cardíaco y tejido adiposo.

Por su parte, la administración de los ácidos grasos de cadena corta sobre los organismos STZ no muestra una tendencia del control de la glicemia en particular, ya que en los primeros 4 meses de tratamiento en general se aprecia que las concentraciones de glucosa sanguínea disminuyen, sin embargo, en el último mes este parámetro se muestra muy elevado (incluso es similar al obtenido en el primer mes de edad); además las dispersiones de los datos mostrados en cada mes del tratamiento son mayores con respecto al grupo STZ + ω -L.

El trabajo realizado por Vicenteño (2018) también evalúa el efecto de ALA sobre la homeostasis de la glucosa en ratas inducidas a diabetes con hiperglicemia (más severa en relación a este estudio) y en este caso encuentra que con un esquema de dosificación de 7 días a la semana, el control de la glucosa en sangre se mejora; lo anterior es un aspecto importante a considerar, ya que nuevamente la frecuencia de administración del tratamiento parece ser determinante para su efecto.

8.3 Respiración mitocondrial

La característica principal de la DM2 es la hiperglicemia la cual es causada por la deficiencia de insulina o resistencia a la insulina. El origen de esta patología está asociado a un conjunto de factores, entre los que principalmente se incluyen: la genética, el estilo de vida y la edad. Específicamente, se han realizado diversos estudios a nivel molecular con la finalidad de indagar acerca de las posibles causas que contribuyen a la resistencia a la insulina, dentro de estas se encuentran diversos mecanismos intrínsecos celulares como el estrés oxidativo, el estrés del retículo endoplásmico y la disfunción mitocondrial (Odegaard y Chawla, 2013; Gutiérrez- Rodelo *et al*, 2017).

Está bien documentado que durante un estado de DM2 las mitocondrias presentan diversos cambios (metabólicos y morfológicos) que llevan en última instancia a la disfunción mitocondrial. Aunque no se conocen por completo cuales son los factores determinantes para que esto ocurra, se han propuesto los siguientes: pérdida del potencial y pérdida de permeabilidad de las membranas mitocondriales, cambios en la fluidez membranal y una mayor producción de radicales libres en la mitocondria (Sivitz y Yorek, 2010).

Uno de los principales objetivos de este estudio fue determinar si en los primeros estadios de desarrollo de la DM2 se presentan alteraciones en los parámetros de la respiración (velocidad de respiración del estado 4 y 3 así como su efecto sobre el CR) de las mitocondrias de cerebro, además de determinar el efecto de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta sobre estos mismos parámetros.

En principio, se encontró que un estado de hiperglicemia ligera es suficiente para alterar las velocidades de respiración de mitocondrias de cerebro, específicamente aumentando la velocidad de respiración del estado 4 mitocondrial (o estado de respiración basal mitocondrial, Figura 3d).

De forma normal, cuando no hay consumo de ATP, la respiración del estado 4 mitocondrial está regulada por la difusión pasiva de los protones a través de la membrana interna. En este sentido, la velocidad de respiración de este estado va a depender de la pérdida del gradiente de protones (generado en el espacio intermembrana por los sitios de bombeo de protones, complejo I, III y IV) de modo que se mantenga la fuerza motriz necesaria para llevar a cabo los procesos que dependen de esta (Stryer *et al*,

2015). Por lo tanto, tomando en cuenta lo anterior todo parece indicar que el aumento de la velocidad de respiración del estado 4 en las ratas con hiperglicemia ligera se da por una mayor pérdida del gradiente de protones en el espacio intermembrana, lo que puede ser ocasionado por una mayor fuga de protones hacia la matriz mitocondrial.

En cuanto al efecto de la administración de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga al grupo STZ se encontró que estos muestran una tendencia de aumento de la velocidad de respiración del estado 4 mitocondrial parecida a la mostrada por el grupo STZ. En el caso del grupo control tratado con estos mismos ácidos grasos también se muestra una tendencia de aumento de este parámetro, no obstante, este incremento no es de la misma magnitud que el grupo STZ tratado. Tomando en cuenta lo anterior todo parece indicar que, en ambos grupos tratados con estos ácidos grasos se está llevando a cabo esta pérdida del gradiente de protones, sin embargo, en el grupo STZ tratado esta pérdida parece ser mucho mayor.

En lo que respecta al efecto de los ácidos graso omega 3 de cadena corta en este mismo parámetro también se muestra que la tendencia de ambos grupos tratados es aumentar, sin embargo, es interesante que el aumento de la velocidad de respiración en el estado 4 sea mucho mayor en el grupo C+ ω -C que el grupo STZ tratado. Por lo que, en términos generales, la explicación bioenergética anterior también aplicaría para estos grupos, pero de forma interesante la pérdida del potencial del gradiente de protones se ve reflejada de forma más evidente en el grupo control tratado con estos ácidos grasos.

En condiciones normales, cuando existe un gasto de ATP tanto a nivel mitocondrial como a nivel celular, se produce una estimulación para que puedan utilizarse los substratos energéticos, de igual forma se presenta un aumento de la demanda de consumo de oxígeno por la cadena respiratoria y la síntesis de ATP también se incrementa. Cuando el metabolismo celular hidroliza el ATP se favorece la salida matricial de esta molécula al citosol en intercambio con ADP, lo que disminuye la relación ATP/ADP mitocondrial. Como consecuencia se produce una estimulación de la ATP sintasa (sensible a las concentraciones mitocondriales de ATP, ADP, Pi y a la fuerza protón motriz). La disminución de la fuerza protón motriz asociada a la síntesis de ATP estimula a su vez la actividad de la cadena respiratoria (Brand y Nicholls, 2011; Stryer *et al*, 2015).

Con relación a los resultados obtenidos de las velocidades de respiración del estado 3 mitocondrial se aprecia que la mayoría de los grupos experimentales tienden a disminuir este parámetro con relación a la edad (incluido el grupo inducido a DM2), sin embargo, no lo hacen en la misma magnitud. Los principales grupos en los cuales se da una mayor disminución de este parámetro son: el grupo control, el grupo control con tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena larga y el grupo que fue inducido a DM2 y que recibió el tratamiento de ácidos grasos omega 3 de cadena corta.

En términos de la función bioenergética de la mitocondria, lo anterior podría significar que la eficiencia de estimulación de la ATP sintasa (para la posterior síntesis de ATP) disminuye conforme transcurre el tiempo experimental, y por tanto, la disminución de la fuerza protón motriz se da en forma más lenta (determinada por el gradiente de protones en el espacio intermembrana), lo que a su vez conduce a una menor estimulación de la actividad de la cadena respiratoria (o para fines de nuestra investigación, a una menor velocidad de respiración en este estado de activación mitocondrial).

Un punto interesante es que en el grupo STZ+ ω -L muestra una tendencia de aumento en la velocidad de respiración del estado 3 mitocondrial, esto es importante ya que de todos los grupos experimentales este fue el único grupo en el que se presentó este fenómeno. El resultado biológico puede ser explicado también en función de lo descrito anteriormente, en donde “aparentemente” el tratamiento de ácidos grasos ω -3 de cadena larga tienen un efecto, en realidad no se sabe si este efecto sea positivo o negativo, en el cual podría estar aumentando la eficiencia de estimulación de la ATP sintasa lo que conlleva a un mayor uso del gradiente protón motriz con una mayor estimulación de la cadena respiratoria. Además, en los últimos años, se ha postulado que los complejos mitocondriales pueden asociarse para formar lo que se conoce como “respirosoma”, esta asociación se establece con la finalidad de hacer más eficiente el transporte de electrones y en general, para optimizar la respiración mitocondrial. Se ha establecido que la formación de supercomplejos depende de una serie de factores entre los que se encuentran la integridad de la membrana y la estructura de la cresta mitocondrial (Dudkina *et al*, 2010). En varios estudios se ha visto que algunas patologías como la DM2, disminuyen la asociación de estos complejos (Antoun *et al*, 2015), y una posible explicación para dicho fenómeno está relacionada con los efectos de esta patología en las membranas, ya que se acepta que durante el desarrollo de la DM2 las

membranas tienden a ser rígidas, lo que ocasiona que el “libre” movimiento de estos complejos mitocondriales no pueda llevarse a cabo. Derivado de lo anterior se propone que los ácidos grasos ω -3 de cadena larga podrían estar teniendo un efecto benéfico en la respiración al estar afectando la fluidez de la membrana mitocondrial con lo cual se podría estar favoreciendo la formación de estos supercomplejos.

A pesar de que en este caso se consideran únicamente los parámetros bioenergéticos de la mitocondria para dar una posible explicación a los resultados obtenidos en esta investigación (con relación a las velocidades de respiración de los estados mitocondriales), esto no significa que sean los únicos factores que estén interviniendo. Como se mencionó al principio de esta sección, está bien documentado que durante el desarrollo de diabetes se producen una mayor cantidad de radicales libres en la mitocondria (Dalle- Done *et al*, 2006). Estas moléculas con la finalidad de alcanzar su estabilidad química se pueden asociar con otras moléculas que son componentes importantes de la mitocondria como los fosfolípidos que componen las membranas biológicas o los aminoácidos que forman parte de las proteínas que conforman la cadena transportadora de electrones; lo que en última instancia llevaría a una alteración de su estructura química y como consecuencia a una alteración en su función biológica (Ott *et al*, 2007; Halliwell y Gutteridge, 2015). Además, se ha reportado que los productos finales de la lipoperoxidación (malondialdehído y el 4- hidroxinonenal) reducen la actividad de todos los complejos de la cadena transportadora de electrones (Lashin *et al*, 2005).

Perusquía-García (2018) evaluó la lipoperoxidación en mitocondrias de hígado en organismos normoglucémicos e inducidos a DM2 (con hiperglicemia severa) y a sus respectivos grupos con administración de ácidos grasos omega 3 de cadena corta en diferentes esquemas de dosificación (1, 3 y 7 días a la semana) y a 3 edades experimentales distintas (1, 3 y 6 meses). Encontró que durante el desarrollo de DM2 hay un incremento significativo de la producción de lipoperóxidos (cuantificación de malondialdehído) mitocondriales en las tres edades experimentales con relación a sus respectivos grupos control. Los resultados obtenidos de esta investigación fueron consistentes con los resultados reportados por Martiñon (2019), quién continuó con el proyecto de investigación y evaluó los parámetros respiratorios de dichas mitocondrias encontrando que hay una asociación entre la producción de lipoperóxidos y la

determinación del CR. Esta relación se establece de la siguiente manera: A mayor concentración de malondialdehído menor es el CR.

En otro estudio, realizado por Pérez- Hernández (2018) se evaluó el efecto de ALA sobre las propiedades fisicoquímicas y su implicación en la función mitocondrial de las membranas durante el desarrollo de la diabetes y encontró que la DM2 *per se* repercute sobre la velocidad de respiración del estado 4 y 3 mitocondrial, que se ve reflejado en una disminución del CR a los 6 meses de edad, además de que encuentra que a diferentes edades experimentales la fluidez de las membranas cambia y aparentemente este parámetro también se relaciona con la respiración. En el caso particular del efecto del ácido graso omega 3 de cadena corta suplementado encuentra que el efecto que ejercen estas moléculas en la respiración está dado por un incremento en el consumo de oxígeno mitocondrial en estos grupos experimentales.

Los resultados obtenidos en los trabajos anteriores permiten conocer cómo es que se están dando las relaciones entre los posibles factores que están involucrados en la alteración de los parámetros respiratorios y sirven como antecedente para predecir qué es lo que podría estar ocurriendo si la hiperglicemia ligera generada en este modelo tuviera un tiempo de exposición mayor, así como el posible efecto de la administración de los ácidos grasos ω - 3, sin embargo, es importante tener presente que estos resultados fueron obtenidos de mitocondrias hepáticas y puede ser que en cerebro ocurran procesos bioquímicos distintos.

Conocer las velocidades de respiración de los estados 4 y 3 mitocondriales es de suma importancia ya que a partir de estos parámetros se puede obtener el coeficiente de control respiratorio (CR, obtenido de la relación entre el estado 3 y 4). Diversos autores han sugerido que este parámetro es un indicador del grado de dependencia de la fosforilación oxidativa por parte de la cadena respiratoria (Mitchell, 1961) y se ha sugerido que entre mayor sea el valor obtenido, mayor es el grado de acoplamiento.

De forma general, los resultados presentados en este estudio con relación al CR, permiten analizar dos cosas distintas. En principio en las Figuras 3, 4 y 5 (e y f) se muestra la tendencia del CR conforme transcurre el tiempo experimental en todos los grupos con los que se trabajó en esta tesis, mientras que en la Figura 10 se observan todos los CR de todos los grupos experimentales a 3 y 6 meses de edad (y finalmente, en

la Figura 11 se muestra el análisis de la diferencia de este parámetro de los 3 a los 6 meses de edad).

En general, en este estudio se encontró que el CR de las mitocondrias de todos los grupos experimentales tiende a disminuir con el paso del tiempo, sin embargo, es evidente que no lo hacen en la misma magnitud. En la figura 3 (e y f) se aprecia que la disminución de este parámetro en el grupo STZ es mayor en comparación con el CR del grupo control. Estos resultados parecen consistentes considerando el modelo de hiperglicemia ligera trabajado en este estudio, ya que, a mayor tiempo de exposición a la hiperglicemia, mayor es el efecto tóxico sobre las mitocondrias y sobre su función biológica.

En relación a los grupos que fueron inducidos a DM2 y que fueron tratados con ácidos grasos ω -3 se aprecia que para ambos casos la disminución del CR no parece mostrar cambios importantes (figura 4f y figura 5f) en comparación con el grupo STZ, por lo que estos ácidos grasos no parecen estar teniendo ningún efecto de este parámetro con relación al tiempo. Por su parte, los grupos controles tratados con ácidos grasos omega 3 de cadena larga y corta sí muestran un aumento de la disminución del CR con relación al grupo control. Específicamente este aumento viene a ser alrededor de 1.5 veces mayor para el grupo control tratado con ácidos grasos omega 3 de cadena larga y alrededor de 1.8 veces mayor para el grupo control tratado con ácidos grasos omega 3 de cadena corta.

Para finalizar, el CR de la mayoría de los grupos experimentales no muestra cambios drásticos a los 3 y 6 meses de edad (Figura 10 y Figura 11). Sin embargo, es evidente que el grupo control que fue tratado con ácidos grasos ω -3 de cadena corta muestra una disminución significativa del CR con respecto a su respectivo grupo control tanto a 3 como a 6 meses de edad. Experimentalmente se ha visto que, la adición de concentraciones micromolares de ácidos grasos libres a la mitocondria provoca una caída del potencial de membrana, un aumento en el estado 4 de la respiración, una disminución de la relación del CR y una disminución de la relación de ADP/O (Wojtczak y Schönfeld, 1993; Di Paola y Lorusso, 2006). Lo anterior es consistente con los resultados encontrados en este estudio para el grupo control con administración de ácidos grasos de cadena corta ya que al compilar toda la información, se aprecia que en este grupo hay un aumento de la velocidad de consumo de oxígeno del estado 4 a los 6 meses de edad (Figura 5 f) y la disminución del CR es evidente a los 3 y 6 meses de edad con respecto a

su grupo control (figura 10). Desde hace tiempo se conoce que los ácidos grasos de cadena larga no esterificados son desacoplantes de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, hasta la fecha no se conoce por completo el mecanismo exacto por el cual esto ocurre; con base en varias investigaciones se han propuesto dos modelos potenciales: El primero es el modelo del ciclo protonofórico de los ácidos grasos propuesto por Garland y colaboradores en 1996 el cual postula que los ácidos grasos entran en la mitocondria por difusión a través de la membrana en su forma protonada mediante flip- flop y una vez dentro liberan un H⁺ en la matriz mitocondrial lo que disminuye el gradiente de potencial electroquímico de los protones. El segundo modelo propone que no hay un transporte de ácidos grasos en la membrana, sino que estas moléculas se unen a un sitio de la proteína transportadora como su grupo prostético. El grupo carboxilo del ácido graso actuaría transfiriendo los protones a los aminoácidos del canal de translocación donde posteriormente sería translocados a la matriz (Rial y Nicholls,1983). La propuesta de ambos modelos es la disminución del gradiente de potencial de los protones lo que conduciría al desacoplamiento de la respiración mitocondrial y que, de acuerdo con diversos autores este podría ser un mecanismo adaptativo para disipar la generación de oxidantes mitocondriales (Papa y Skulachev, 1997; Brand, 2000.)

Lo interesante es que este efecto sólo se observó en los grupos controles con administración de ácidos grasos ω - 3 de cadena corta, lo que parece indicar que la intervención de los ácidos grasos ω -3 de cadena larga en el mismo grupo experimental en los procesos antes mencionados es mucho menor, ya que estas moléculas podrían ser utilizadas de forma “directa” en otros mecanismos bioquímicos como en el caso del efecto que mostraron en la ganancia de peso corporal (Figura 1). Derivado de lo anterior, todo parece indicar que una condición de hiperglicemia ligera, así como la administración de ácidos grasos ω -3 (principalmente la administración de los ácidos grasos de cadena larga) no tienen efectos drásticos sobre el CR en general, lo que implica que las mitocondrias de cerebro están acopladas.

En conclusión, los ácidos grasos ω -3 de cadena larga y corta tienen un efecto sobre las velocidades de respiración mitocondrial; sin embargo los cambios en estos parámetros no afectan drásticamente el CR; y al parecer el efecto que ejercen los tratamientos sobre los parámetros de la respiración no es el mismo para ambos tipos de ácidos grasos, además, su efecto parece estar sujeto al grupo experimental al que sea administrado. Lo anterior es importante, ya que, estos cambios en los parámetros de respiración causados

por la administración de los tratamientos, podrían demostrar que estas moléculas tienen la capacidad de atravesar la BHE; lo que implica que la idea que se tiene en relación a que esta estructura impide el paso de sustancias que puedan intervenir en el correcto funcionamiento de este órgano se vuelve bastante cuestionable.

8.4 Composición de ácidos grasos y fluidez membranal de tejido cerebral y mitocondrias.

Los ácidos grasos cumplen diversas funciones importantes en el metabolismo celular, particularmente, han destacado por ser constituyentes esenciales de las membranas biológicas. Se conoce que la composición y el grado de insaturación de estos ácidos grasos en los fosfolípidos es de suma importancia para regulación de la permeabilidad, la fluidez membranal y en consecuencia para las funciones que llevan a cabo las membranas celulares (Voet y Voet 2004).

En este estudio se planteó analizar la composición de los ácidos grasos de tejido cerebral y sus respectivas mitocondrias con la finalidad de observar posibles cambios en este parámetro durante el crecimiento de los organismos, el desarrollo de DM2 y el tratamiento con ácidos grasos ω -3 de cadena larga y cadena corta.

Para poder determinar los posibles cambios en la fluidez membranal se trabajó con un índice de fluidez definido de la siguiente manera: cociente I/S (donde I = ácidos grasos insaturados, S= ácidos grasos saturados). Es importante mencionar que este índice de fluidez sólo toma en cuenta a los ácidos grasos, por lo que los resultados analizados sólo hacen alusión a un índice de fluidez y no al parámetro físico como tal (puesto que para poder determinar este parámetro se deben considerar otras moléculas como las proteínas que también forman parte de la membrana).

En general se observa que el cociente de I/S de todos los grupos que corresponden a un mismo tiempo experimental no muestran cambios entre sí, no obstante, este índice de fluidez membranal parece cambiar con relación al tiempo experimental y particularmente se aprecia que hay un mayor valor de este parámetro a los 6 meses de edad.

Se acepta que con el desarrollo de DM2 las membranas de distintas células tienden a ser más rígidas (Pilon, 2016), así mismo se ha propuesto que el cambio en este parámetro durante el desarrollo de esta patología es derivado de una disminución de la actividad de las desaturasas (Ntambi, 1999), lo que implica que la proporción de los ácidos grasos saturados en la membrana aumenta y por tanto el índice de fluidez membranal disminuye. Como se mencionó en los antecedentes, esta propuesta es

parcialmente compatible con los resultados obtenidos por nuestro equipo de trabajo, ya que se ha encontrado que dependiendo de la etapa de desarrollo de la DM2 la fluidez de la membrana efectivamente cambia, sin embargo, este cambio no implica necesariamente una disminución.

En el caso particular de este estudio se encontró que conforme transcurre el tiempo experimental la actividad de la delta 9 desaturasa (principalmente su actividad en la conversión de Esteárico a Oleico, (tabla 16) aumenta en todos los grupos experimentales, sin embargo, este aumento es mayor en los grupos que fueron inducidos a diabetes. Lo anterior corresponde con el aumento del índice de fluidez membranal encontrado a los 6 meses de edad y al parecer, estos resultados podrían estar reflejando un proceso de “compensación metabólica” que si bien parece estar ocurriendo en todos los grupos experimentales todo parece indicar que este proceso es mayor en el grupo STZ y sus respectivos grupos tratados.

Tabla 16. Actividad de la delta 9 desaturasa en la conversión de Esteárico a Oleico en todos los grupos respecto al tiempo experimental.

| Oleico /Esteárico | Control | C + ω-L | C + ω-C | STZ | STZ +ω-L | STZ + ω-C |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Cerebro | | | | | | |
| 1 mes | 1.34 ± 0.22 | | | 1.42 ± 0.16 | | |
| 3 meses | 1.36 ± 0.11 | 1.21± 0.07 | 1.24 ± 0.08 | 1.38 ± 0.18 | 1.84 ± 0.16 | 1.15 ± 0.09 |
| 6 meses | 1.59 ± 0.19 | 1.46 ±0.12 | 1.66± 0.08 | 1.89 ± 0.43 | 1.77 ± 0.17 | 1.80 ± 0.19 |
| Mitocondrias | | | | | | |
| 1 mes | 1.42±0.10 | | | 1.33 ± 0.10 | | |
| 3 meses | 1.30 ± 0.11 | 1.13 ± 0.5 | 1.19 ± 0.09 | 1.26 ± 0.11 | 2.11 ± 0.22 | 1.09± 0.07 |
| 6 meses | 1.70 ± 0.13 | 1.68 ± 0.09 | 1.93 ± 0.19 | 1.86 ± 0.25 | 1.87± 0.21 | 1.80 ± 0.13 |

Tabla 17. Actividad de la delta 9 desaturasa en la conversión de palmítico a palmitoleico en todos los grupos respecto al tiempo experimental.

| Palmitoleico /Palmítico | Control | C+ ω-L | C+ ω-C | STZ | STZ+ ω-L | STZ +ω-C |
|-------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Cerebro | | | | | | |
| 1 mes | 0.048 ± 0.024 | | | 0.048 ± 0.026 | | |
| 3 meses | 0.057± 0.016 | 0.055± 0.013 | 0.165 ± 0.079 | 0.072 ± 0.044 | 0.060 ± 0.029 | 0.082 ± 0.033 |
| 6 meses | 0.084 ± 0.022 | 0.070 ±0.020 | 0.055± 0.027 | 0.077 ± 0.049 | 0.078 ± 0.053 | 0.103 ± 0.055 |
| Mitocondrias | | | | | | |
| 1 mes | 0.059 ± 0.010 | | | 0.060± 0.012 | | |
| 3 meses | 0.039 ± 0.007 | 0.061 ±0.030 | 0.120 ± 0.038 | 0.047 ± 0.015 | 0.089 ± 0.032 | 0.077 ± 0.035 |
| 6 meses | 0.096 ± 0.025 | 0.077 ±0.032 | 0.095 ± 0.038 | 0.078 ± 0.029 | 0.081 ± 0.024 | 0.091 ± 0.029 |

Lo anterior es consistente con lo reportado por Pérez y colaboradores (2017) quienes encontraron un aumento de la fluidez membranal y un aumento CR de mitocondrias de hígado en ratas Wistar con DM2 durante la etapa inicial de la patología. De igual forma Figueroa y colaboradores (2015) reportan una disminución en la actividad mitocondrial acompañada del incremento en la lipoperoxidación y cambios físicos (aumento de la fluidez) y químicos (composición de ácidos grasos) particulares en las membranas de mitocondrias de placenta en ratas con hiperglicemia ligera. Estos trabajos son de suma importancia si se considera que la concentración de glucosa sanguínea para ambos trabajos fue mayor, por lo que el “aparente” aumento del índice de fluidez a los 6 meses de edad encontrado en este estudio podría ser comparado con el aumento de fluidez membranal encontrado en las etapas iniciales de desarrollo de la patología por ambos investigadores (aproximadamente al mes de edad o antes, en el caso de las mitocondrias de placenta). Todo lo anterior apoya a la hipótesis de que la fluidez (del tejido cerebral y sus membranas, en el caso de este estudio) y/o funciones asociadas no tienen un comportamiento único y que ésta depende de diversos factores entre los que principalmente se encuentran: el grado de hiperglicemia y el tiempo de exposición a esta.

Un aspecto interesante observado en este estudio es que a pesar de que el índice de fluidez no muestra cambios significativos entre los grupos experimentales se aprecia que (de forma similar a lo que ocurre con los resultados del CR), una vez que se analizan los componentes que dan lugar a estos parámetros se observa que en estos sí hay cambio (en el caso del índice de fluidez membranal, estos cambios se aprecian en la composición de los ácidos grasos entre los diferentes grupos experimentales). Lo anterior podría ser reflejo de un proceso bioquímico denominado “steady state” en el cual se asume que un sistema permanece en un estado “constante” a lo largo del tiempo, sin embargo para que este estado se pueda mantener (con la finalidad de permitir el correcto funcionamiento) requiere de un trabajo continuo (Friesz, 2007)., es decir es un sistema en equilibrio dinámico el cual, en el caso de este estudio, tendrá “pequeños” cambios (composición de ácidos grasos) que se suman en conjunto para evitar un cambio neto (índice de fluidez).

Desde hace tiempo se conoce que los ácidos grasos denominados esenciales (entre ellos ALA, EPA y DHA) tienen que ser consumidos directamente de la dieta. Su importancia para el metabolismo celular es tan grande que se han realizado una gran cantidad de

estudios para determinar su efecto en distintos órganos. Derivado de dichos trabajos experimentales se ha propuesto que la ingesta de estos ácidos grasos tiene la capacidad de modificar la composición de las membranas biológicas de distintos órganos (Chapkin *et al*, 1991; Vicenteño, 2018; Pérez- Hernández, 2018). En particular hace algunas décadas se pensaba que estas moléculas no podrían ingresar hasta el cerebro debido a la presencia de la BHE (pues se creía que era una estructura altamente selectiva), sin embargo, en la actualidad esta idea se ha vuelto bastante controvertida ya que existen estudios (aunque muchos han sido realizados *in vitro*) en los que se ha demostrado que ciertos ácidos grasos sí pueden atravesar la BHE (Edmond *et al*, 1998; Edmond, 2001; Rapoport *et al*, 2001). Hasta el momento no está claro el mecanismo de transporte de los ácidos grasos en el cerebro, sin embargo, la hipótesis más aceptada es el transporte de estas moléculas mediado por proteínas específicas. (Mitchell *et al*, 2009; Mitchell *et al*, 2011; Pan *et al*, 2016; Ochiai *et al*, 2017).

Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la BHE es una estructura selectiva, ya que el ALA administrado (tratamiento ω -3 de cadena corta) no fue detectado en los cromatogramas del tejido cerebral ni de su respectivas mitocondrias. Lo anterior es consistente con las investigaciones que se han realizado en los últimos años y en las cuales se han encontrado una serie de proteínas específicas que permiten el transporte de ácidos grasos con características particulares. Dentro de estas proteínas se encuentra Mfsd2a, una proteína que se expresa en el endotelio de la BHE y la cual ha sido asociada al transporte de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, principalmente mediando la absorción cerebral de DHA (Nguyen *et al*, 2014); como consecuencia, se asume que el ALA administrado tendría que ser convertido a EPA y/o DHA para poder ingresar a la BHE y que, de ser de esta forma, podría explicar la acumulación de EPA en los grupos STZ+ ω -C a los 6 meses de edad. Adicionalmente, en el hígado de las ratas tratadas con ácidos grasos omega 3 de cadena corta, sí se encuentra el ALA, lo cual indica que la BHE realmente está participando selectivamente en los ácidos grasos que llegan a cerebro (Campos, Tesis en elaboración).

Tomando en cuenta lo anterior se asume que los tratamientos ω -3 de cadena larga administrados atravesaron la BHE y se incorporaron a las membranas de tejido y en menor medida, de las mitocondrias (estos cambios podrían ser avalados por las concentración de EPA en los diferentes grupos experimentales, principalmente a los 6 meses de edad), sin embargo, todo parece indicar que la incorporación de estos ácidos

grasos no suele ocurrir de la misma manera para todos los grupos experimentales, puesto que, en los grupos STZ tratados es donde se aprecia una mayor acumulación. Por lo anterior, sería importante realizar más estudios para poder dilucidar el comportamiento del metabolismo lipídico en el cerebro, especialmente cuando se tiene una condición metabólica alterada, como en el caso de la diabetes mellitus.

9 CONCLUSIONES

- Aunque no hay diferencias estadísticas significativas, la hiperglicemia ligera que presentaron los organismos inducidos a diabetes generó una tendencia a una menor ganancia de peso corporal y al parecer el suministro de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta ayudó a prevenir esta ligera pérdida de peso. Por su parte, el grupo C+ ω -L fue en el que se observó una menor ganancia de peso corporal con respecto a todos los grupos experimentales
- La administración de los ácidos grasos ω -3 de cadena larga ayudó a la regulación parcial del control de la glicemia en los animales que fueron inducidos a diabetes, mientras que, la administración de estas moléculas a los grupos control no mostró ningún efecto aparente.
- Tanto el modelo de hiperglicemia ligera como la administración de los ácidos grasos ω -3 generaron cambios en los parámetros de las velocidades de respiración de mitocondrias de cerebro (principalmente en el estado 4 mitocondrial), sin embargo, el CR no se vio afectado de manera significativa.
- El efecto de los ácidos grasos ω -3 en las velocidades de respiración de mitocondrias de cerebro es distinto a los 3 y 6 meses de edad y la administración de los ácidos grasos ω -3 de cadena corta disminuye el CR de forma significativa en organismos normoglicémicos.
- El modelo de hiperglicemia ligera no generó cambios significativos en el índice de fluidez membranal a 1, 3 y 6 meses de edad tanto en tejido como en mitocondrias de cerebro, sólo hubo pequeños cambios en la concentración de algunos ácidos grasos.
- La administración de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga y cadena corta a los grupos control y a los grupos STZ no mostraron un efecto sobre el índice de fluidez membranal tanto en tejido como en las mitocondrias de cerebro, sin embargo, de igual forma se presentan cambios en las concentraciones de algunos ácidos grasos particulares.
- Es posible que los “pequeños” cambios en la composición de ácidos grasos de la mitocondria, inducidos por el suministro de los ácidos grasos omega-3, participen en las características de la respiración mitocondrial.

- A partir de nuestros resultados se sugiere que los ácidos grasos ω -3 sí pueden atravesar la BHE.
- En general podemos afirmar que aun cuando el desarrollo de la diabetes no sea evidente, ya se están generando alteraciones tanto en la bioenergética mitocondrial como en el metabolismo de lípidos en el cerebro.

10 LITERATURA CITADA.

- American Diabetes Association. 2014 Diagnosis and Clasification of diabetes mellitus. *Diab Care*, 37, S81-S90.
- American Diabetes Association. 2018. Standards of medical care in diabetes. *Diab Care* 41 (suppl. 1), S13-S27.
- Antoun, G., McMurray, F., Thrush, A., Patten, D.A., Peixoto, A.C., Slack, R.S...Harper, ME. Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation and supercomplex assembly in rectus abdominis muscle of diabetic obese individuals. *Diabetología* 58 (12), 2861-2866.
- Auwerx J. 1999. PPAR gamma, the ultimate thrifty gene. *Diabetología*, 42 (9), 1033- 49
- Bailey, C. 2015. The current drug treatment landscape for diabetes and perspectives for the future. *Clin Pharmacol Ther*, 98, 170-184.
- Bays, H.E., Maki, K.C., Doyle, R.T., Stein, E. 2009. The effect of prescription omega-3 fatty acids on body weight after 8 to 16 weeks of treatment for very high triglyceride levels. *Nutr Res*, 29, 305-312.
- Bays, H.E., Tighe, A.P., Sadovsky, R., Davidson, M.H. 2008. Prescription omega-3 fatty acids and their lipid effects: physiologic mechanisms of action and clinical implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 6 (3), 391-409.
- Bhandari U, Jain N, Pillai KK. 2008. Further studies on antioxidant potential and protection of pancreatic β -Cells by embelia ribes in experimental diabetes. *Experimental Diabetes Research*. Indian J Pharmacol, 40(5),215-220
- Bennett, R.A. y Pegg, A.E. 1981. Alkylation of DNA in Rat Tissues following Administration of Streptozotocin. *Cancer Research* 41, 2786-2790.
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, J.L., Artiles, D., Bermúdez, R., Clapés, S. 2016. Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica* 36 (2), 230-238.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. *Anal Biochem*, 72 (1), 248-254.
- Brand, M.D. 2000. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. *Exp Gerontol*, 35 (6-7), 811-820.
- Brand, M. D., & Nicholls, D. G. 2011. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *The Biochemical journal*, 435(2), 297–312. doi:10.1042/BJ20110162

- Bloom, M., Evans, E., Mouritsen, O.G. 1991. Physical properties of the fluid lipid bilayer component of cell membrane: A perspective. *Q Rev. Biophys.* 2, 293-39.
- Bonner-Weir S, Trent DF, Honey RN, Weir GC. 1981. Responses of neonatal rat islets to streptozotocin: Limited β -cell regeneration and hyperglycemia. *Diabetes*, 30 (1),64-9. <http://dx.doi.org/10.2337/diab.30.1.64>
- Carbajal, A. 2013. Manual de Nutrición y Dietética. Universidad Computense de Madrid. Disponible en: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/manual-de-nutricion>
- Chapkin, R.S., Akoh, C.C., Miller, C.C. 1991. Influence of dietary n-3 fatty acids on macrophage glycerophospholipid molecular species and peptidoleukotriene synthesis. *J Lipid Res*, 32(7), 1205- 1213.
- Chen C, Yu X, Shao S. 2015. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Glucose Control and Lipid Levels in Type 2 Diabetes: a Meta-analysis (Report), 10(10).
- Crawford, M.A., Bloom, M., Broadhurst, C.L., Schmidt, W.F., Cunnane, S.C., Galli, C.,...Parkington, J. 1999. Evidence for the unique function of docosahecaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids* 34 (suppl.), S39-247.
- Crone, C., Gjedde, A. 1973. Blood - brain transport kinetics of ketone bodies. *Acta Physiol. Scand* 87 (1), 48 A- 49 A.
- Cuevas, M.A., Alonso, K.R. 2016. Dislipidemia Diabética. *Rev. Med. Clín. Las Condes* 27 (2), 152-159. doi: 10.1016/j.rmcl.2016.04.004
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., and Milzani, A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical chemistry* 52, 601-623.
- Dentin, R., Benhamed, F., Pégrier, J.P., Fougère, F., Viollet, B., Vaulont, S., Girard, J., Postic, C. 2005. Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *J Clin Invest*, 115(10), 2843-2854.
- Di Paola, M y Lorusso, M. 2006. Interaction of free fatty acids with mitochondria: coupling, uncoupling and permeability transition. *Biochim Biophys Acta*, 1757 (9-10), 1330-1337.
- Dimitriadis, G., Mitrou, P., Lambadiari, V., Maratou, E., Raptis, S.A. 2011. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract*, 93 (suppl 1), S 52-59
- Dudkina,N.V., Kouril, R., Peters, K., Braun, H.P., Boekema, E.J. 2010. Structure and function of mitochondrial supercomplexes. *Biochim Biophys Acta*. 1797 (6-7), 664-670
- Edmond, J., Higa, T. A., Korsak, R. A., Bergner, E. A. and Lee, W. N. P. 1998. Fatty acid transport and utilization for the developing brain. *J. Neurochem.* 70, 1227– 1234.
- Edmond, J. 2001. Essential polyunsaturated fatty acids and the barrier to the brain: the components of a model for transport. *J. Mol. Neurosci.* 16, 181– 193.

- Escobar, I.A., Gómez, G.B., 2008. Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. *Rev Mex Neuroci* 9 (5), 395-405.
- Flachs, P., Rossmesl, M., Kopechy, J. 2014. The Effect of ω -3 Fatty Acids on Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity. *Physiol. Res.* 63 (Suppl.1), S93-S118.
- Figueroa- García M del C., Espinosa- García M.T., Martínez – Montes F., Palomar – Morales., Mejía – Zepeda R. 2015. Even a Chronic Mild Hyperglycemia Affects Membrane Fluidity and Lipoperoxidation in Placental Mitochondria in Wistar Rats. *PLoS one*, 10 (12).
- Friesz, T.L. 2007. Network Science, Nonlinear Science and Infrastructure Systems. University park, PA, USA: Springer USA.
- Franco, L.J. 2009. Diabetes: Aspectos Epidemiológicos. En J. R, Guzmán., R. Lyra y N. Cavalcanti. (Eds.) Diabetes mellitus: visión Latinoamericana (pp. 38-49). México: Intersistemas.
- Garlid, K.D., Orosz, D.E., Modriansky, M., Vassanelli, S., and Jezek, P. 1996. On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein. *J Biol Chem* 271, 2615-2620.
- Godoy – Matos A., Moreira, R. 2009. Síndrome Metabólico: Del diagnóstico al tratamiento. En J. R, Guzmán., R. Lyra y N. Cavalcanti. (Eds.) Diabetes mellitus: visión Latinoamericana pp. 175-178. México: Intersistemas.
- González- Périz A., Horrillo, R., Ferré, N., Gronert, K., Dong, B., Morán- Salvador, E... Clária, J. 2009. Obesity- induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by omega-3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. *FASEB J*, 23 (6), 1946-1957.
- Guo, w., Xie w., Lei, t., Hamilton, J.A. 2005. Eicosapentaenoic acid, but not oleic acid, stimulates beta- oxidation in adipocytes. *Lipids* 40 (8), 15-20.
- Gutiérrez, J.P., Rivera- Dommarco, J., Shamah- Levy, T., Villalpando- Hernández, S., Franco, A., Cuevas- Nasu, L... Hernández- Ávila, M. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (Mx).
- Gutierrez- Rodelo, C., Roura – Guiberna, A., y Olivares- Reyes. J.A. 2017. Mecanismos moleculares de la Resistencia a la Insulina: una actualización. *Gac. Méd. Méx.* 153, 214-28
- Ha. H., Lee, H. B. 2000. Reactive oxygen species as glucose signaling molecules in mesangial cells cultured under high glucose *Kidney Int*, 58, S19-S25
- Halliwell, B., Gutteridge M.C.J. 2015. Free radicals in biology & medicine, 5ª Ed. Reino Unido: Oxford University Press, 257

- Hatting, M., Tavares, C.D.J., Sharabi, K., Rines, A.K., Puigserver, P. 2018. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 1411 (1), 21-35
- Hill, J.O., Peters, J.C., Lin, D., Yakubu, F., Greene, H., Swift, L.1993. Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 17(4), 223-236.
- Innis, S.M., Friesen, R.W. 2008. Essential n-3 fatty acids in pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am J Clin Nutr* 87 (3), 548-557.
- Ikemoto, S., Takahashi, M., Tsunoda, N., Maruyama, K., Itakura, H., Ezaki, O. 1996. High-Fat Diet- Induced Hyperglycemia and Obesity in Mice: Differential Effects of Dietary Oils. *Metabolism* 45 (12), 1539-1546.
- Iwata, M., Haruta, T., Usui, I., Takata, Y., Takano, A., Kawahara, J.,...Kobayashi M. 2001. Pioglitazone Ameliorates Tumor Necrosis Factor- α -Induced Insulin Resistance by a Mechanism Independent of Adipogenic Activity of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ . *Diabetes* 50 (5), 1083-1092
- Lashin, O.M., Szweda, P.A., Szweda, L.I., Romani, A.M.2005 Decreased complex II respiration and HNE-modified SDH subunit in diabetic heart. *Free Radic Biol Med.*, 40(5), 886-896.
- Le Doux, S.P., Woodley, S.E., Patton, N.J., Wilson, G.L.1986. Mechanisms of nitrosourea-induced β -cell damage.Alterations in DNA, *Diabetes* 35, 866-872.
- Martiñon, R.D.A. 2018 Efecto de los ácidos grasos omega-3 sobre la actividad mitocondrial hepática de ratas con diabetes mellitus tipo 2. [Tesis de Licenciatura en desarrollo]. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mateos, S.C.N., Zacarías, C.R. 2002. Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González* 5 (1 y 2), 33-41.
- McKee, T. y McKee J. R. 2014. Bioquímica. Las bases moleculares de la vida. 5ª Ed México: The McGraw-Hill, 340-368.
- Mead, J.R., Irvine, S.A., Ramji, D.P. 2002. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med*, 80 (12), 753-769.
- Mitchell, P. 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature*, pp. 423-427.
- Mitchell, R.W., Edmundson, C.L., Miller, D.W., Hatch, G.M. 2009. On the mechanism of oleate transport across human brain microvessel endothelial cells. *J. Neurochem.* 110, 1049- 1057.
- Mitchell, R.W., On, N.H., Del Bigio, M.R., Miller, D.W., Hatch, G.M. 2011 Fatty acid transport protein expression in human brain and potential role in fatty acid transport across human brain microvessel endothelial cells. *J. Neurochem.* 117, 735- 746.

- Morrison, R.W; Smith, M.L.1964. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride- methanol. *J Lip Res*, 5:600-608.
- Nguyen, L.N., Ma, D., Shui, G., Wong, P., Cazenave-Gassiot, A., Chang, X...Silver, D.L. 2014. Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature* 509(7501),503-506.
- Ntambi J.M. 1999 Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res.* 40(9),1549-1558.
- Ochiai, Y., Uchida, Y., Ohtsuki, S., Tachikawa M., Aizawa, S., Terasaki T .2017. The blood-brain barrier fatty acid transport protein 1 (FATP1/SLC27A1) supplies docosahexaenoic acid to the brain, and insulin facilitates transport *J Neurochem.* 141(3), 400-412. doi: 10.1111/jnc.13943.
- Odegaard, J. I., y Chawla, A. 2013. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science*, 339(6116), 172–177. doi:10.1126/science.1230721
- Ohashi, A., Matsushita, Y., Kimura, K., Miyashita, K., Saito, M. 2004 Conjugated linoleic acid deteriorates insulin resistance in obese/diabetic mice in association with decreased production of adiponectin and leptin. *J Nutr Sci Vitaminol*, 50, 416 –421
- Oh, D.Y., Talukdar, S., Bae, E.J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Li, P., Lu, W.J., Watkins, S.M., Olefsky, J.M. 2010. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell* 142(5), 685-698.
- Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., and Zhivotovsky, B. 2007. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 12, 913-922.
- Pan, Y., Short, J.L., Choy, K.H., Zeng, A.X., Marriott, P.J., Owada... Nicolazzo, J.A. 2016. Fatty Acid- Binding Protein 5 at the Blood- Brain Barrier Regulates Endogenous Brain Docosahexaenoic Acid Levels and Cognitive Function. *J Neurosci*, 36 (46), 11755-11767.
- Panarotto, D., Rémillard, P., Bouffard, L., Maheux, P. 2002. Insulin resistance affects the regulation of lipoprotein lipase in the postprandial period and in an adipose tissue-specific manner. *Eur J Clin Invest* 32 (2), 84-92.
- Papa, S y Skulachev, V.P. 1997. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol Cell Biochem*, 174 (1-2), 305-319.
- Peña, A., Arroyo, A., Gómez, A., Tapia, R., 2004. Bioquímica. Los cuerpos cetónicos México: Limusa.
- Pérez-Hernández, I. H., Domínguez-Fuentes, J. M., Palomar-Morales, M., Zazueta-Mendizabal, A. C., Baiza-Gutman, A., & Mejía-Zepeda, R. 2017. Liver mitochondrial membrane fluidity at early development of diabetes and its correlation with the respiration. *J. Bioenergetics and Biomembranes*, 1-9.

- Pérez- Hernández. 2018. Efecto del ácido alfa linolénico sobre propiedades fisicoquímicas de membranas mitocondriales y su repercusión en la actividad mitocondrial durante el desarrollo de la diabetes, (Tesis que para obtener el título de doctor en ciencias), FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Perusquia-García .R. 2018. Composición de ácidos grasos de mitocondrias hepáticas en diabetes mellitus tipo-2: efecto de ácidos grasos omega-3. (Tesis para obtener el título de Biólogo), FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pierre, K., Pellerin, L. 2005. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J Neurochem.* 94 (1).
- Pilon, M. 2016. Revisiting the membrane-centric view of diabetes. *Lipids Health Dis* 15. (1): 167 doi:10.1186/s12944-016-0342-0.
- Rabat, R J., Rebollo, P. I. 2010, 5 de octubre. Valoración del estado nutricional. Sancyd. Sevilla, España. Recuperado de: <http://sancyd.es/comedores/discapacitados/contactenos.php>
- Rapoport, S. I., Chang, M. C. J. and Spector, A. A. 2001. Delivery and turnover of plasma-derived essential PUFAs in mammalian brain. *J. Lipid Res*, 42, 678– 685.
- Rial, E., and Nicholls, D.G. 1983. The regulation of the proton conductance of brown fat mitochondria. Identification of functional and non-functional nucleotide-binding sites. *FEBS letters* 161, 284-288.
- Rivera – Hernández A, Cruz M, Kumate J. 2001. La Diabetes: Un problema de salud pública en el mundo. Una nueva perspectiva. *Vertientes. Rev Especializada en Ciencias de la Salud.* 3 (1-2), 50-55.
- Rojas, M.M.R., Jiménez, C.A., Franco A., Aguilar, S.C.A. 2015. “Epidemiología de la diabetes mellitus en México”. En Aguilar Salinas, Carlos A. *et al*, (eds), *Acciones para enfrentar a la diabetes. Documento de postura.* Academia Nacional de Medicina de México, México.
- Romero, Z. A. 2009. Tratamiento de la Diabetes mellitus Tipo 2 con sulfonilureas. En J. R, Guzmán., R. Lyra y N. Cavalcanti. (Eds.) *Diabetes mellitus: visión Latinoamericana* (pp. 308-309). México: Intersistemas.
- Rosas- Saucedo, J., Caballero, A.E., Brito- Córdoba, G., García, H., Costa- Gil, J., Lyra, R., Rosas Guzmán, J. 2017. Consenso de Prediabetes. Documento de disposición de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD). *Rev ALAD*, 7, 184-202.
- Sanhueza, C.J; Valenzuela, B.A. 2006. Receptores nucleares y regulación de la expresión génica por ácidos grasos poliinsaturados: algo más que producción de energía y esencialidad. *Rev. chi. Nutr.*, 33(2), 150-161

- Saltar, D.B., Clarke, S.D., Thelen, A., Liimatta, M. 1994. Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J lipid Res*, 35 (6), 1076-1084.
- Saltiel, A.R., Kahn, C.R. 2001. Insulin Signalling and the regulation of glucosa and lipid metabolism. *Nature*. 414, 799-806. doi: 10.1038/414799a
- Sampath, H., Ntambi, J.M. 2006. Regulation of gene expression by polyunsaturated fatty acids. *Heart Metab*, 32,32-35.
- Sandoval- Muñiz, R de J., Vargas- Guerreo, B., Flores- Alvarado, L.J., Gurrola- Díaz, C.M. 2016. Glucotransportadores (GLUT): Aspectos clínicos, moleculares y genéticos. *Gac Med Mex*, 152 (4), 547-557.
- Schaffer, J.E. 2003. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol* 14(3), 281-287. doi: 10.1097/01.mol.0000073508.41685.7f
- Shepherd, P.R y Kahn, B.B.1999. Glucose transporters and insulin action- implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med*,341
- Sivitz, W. I., & Yorek, M. A. 2010. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxidants and redox signaling*, 12(4), 537–577. doi:10.1089/ars.2009.2531
- Smith U, Gogg S, Johansson A, Olausson T, Rotter V, Svalstedt B. 2001. Thiazolidinediones (PPARgamma agonists) but not PPARalpha agonists increase IRS-2 gene expresión in 3T3-L1 and human adipocytes. *FASEB J*, 15 (1): 215-20.
- Söderberg, M., Edlund, C., Kristensson, K., Dallner, G. 1991. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids* 26 (6), 421-425.
- Stryer, L; Berg, M.J; Tymoczko L.J. 2015 Bioquímica con aplicaciones clínicas. 7ª Ed. España: Reverté.
- Takasu, N., Komiya, T., Asawa, T., Nagasawa, Y., Yamada, T. 1991. Streptozotocin- and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation, *Diabetes* 40, 1141–1145.
- Varga, T.,Czimmerer, Z., y Nagy, L. 2011. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica et biophysica acta*, 1812(8), 1007–1022. doi:10.1016/j.bbadis.2011.02.014
- Vicenteño, M.U. 2018. Análisis de diferentes dosis de ácidos grasos omega 3 (alfa-linolénico) en fantasmas de eritrocitos de ratas inducidas a diabetes tipo 2. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Voet, D y Voet G.J. 2006. Bioquímica 3ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1776p
- Wang, X., Hu, Z., Hu, J., Du, J., Mitch., W.E. 2006. Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin- proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. *Endocrinology*, 147 (9), 4160-4168.

- Weir, G.C., Leahy, J.L., Bonner- Weir, S. 1986. Experimental reduction of B-cell mass:implications for the pathogenesis of diabetes. *Diabetes Metab Rev*, 2 (1-2), 125-161.
- Williams, W.M., Chang, M.C., Hayakawa, T., Grange, E., Rapoport, S.I. 1997. In vivo incorporation from plasma of radiolabeled palmitate and arachidonate into rat brain microvessels, *Microvasc. Res.* 53, 163–166.
- Wojtczak, L y Schönfeld, P. 1993. Effect of fatty acids on energy coupling processes in mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, 1183 (1), 41-57.
- Yamamoto, H., Uchigata , Y., Okamoto, H. 1981. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP- ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature*, 294 (5838), 284-286.

11 ANEXOS

11.1 Tablas de significancia del análisis estadístico

A continuación se muestran las tablas de significancia obtenidas a partir del análisis estadístico (prueba de t, $p < 0.05$). Las tablas presentadas del lado izquierdo corresponden a los resultados de tejido y las tablas del lado derecho corresponden a los resultados obtenidos para las mitocondrias. Las tablas se presentan por ácido graso y por edad experimental (3 y 6 meses). Todos los grupos experimentales fueron comparados entre sí.

| Comparación | Tejido | | | | | | Mitocondria | | | | | |
|-------------|-----------------------|-----------------|-----------------|--------|------------------|------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| | 1 tiempo experimental | | | | | | 1 tiempo experimental | | | | | |
| | 3 meses | | | | | | 3 meses | | | | | |
| | Mirístico | | | | | | Mirístico | | | | | |
| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
| | | 0.003 | 0.092 | 0.002 | 0.400 | 0.465 | | 0.498 | 0.466 | 0.124 | 0.413 | 0.142 |
| | CN + ω L | | 0.015 | 0.018 | 0.071 | 0.080 | CN + ω L | | 0.471 | 0.137 | 0.405 | 0.116 |
| | CN + ω C | | | 0.037 | 0.338 | 0.275 | CN + ω C | | | 0.089 | 0.362 | 0.104 |
| | STZ | | | | 0.115 | 0.110 | STZ | | | | 0.055 | 0.006 |
| | STZ + ω L | | | | | 0.377 | STZ + ω L | | | | | 0.140 |
| | STZ + ω C | | | | | | STZ + ω C | | | | | |
| | 2 tiempo experimental | | | | | | 2 tiempo experimental | | | | | |
| | 6 meses | | | | | | 6 meses | | | | | |
| | Mirístico | | | | | | Mirístico | | | | | |
| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
| | | 0.092 | 0.240 | 0.031 | 0.144 | 0.331 | | 0.280 | 0.353 | 0.148 | 0.455 | 0.171 |
| | CN + ω L | | 0.060 | 0.225 | 0.004 | 0.038 | CN + ω L | | 0.232 | 0.382 | 0.331 | 0.102 |
| | CN + ω C | | | 0.061 | 0.099 | 0.212 | CN + ω C | | | 0.146 | 0.344 | 0.320 |
| | STZ | | | | 0.084 | 0.030 | STZ | | | | 0.181 | 0.049 |
| | STZ + ω L | | | | | 0.087 | STZ + ω L | | | | | 0.181 |
| | STZ + ω C | | | | | | STZ + ω C | | | | | |
| | 3 meses | | | | | | 3 meses | | | | | |
| | Pentadecanoico | | | | | | Pentadecanoico | | | | | |
| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
| | | 0.019 | 0.116 | 0.043 | 0.118 | 0.032 | | 0.005 | 0.127 | 0.072 | 0.433 | 0.253 |
| | CN + ω L | | 0.186 | 0.108 | 0.000 | 0.000 | CN + ω L | | 0.003 | 0.003 | 0.001 | 0.096 |
| | CN + ω C | | | 0.002 | 0.059 | 0.395 | CN + ω C | | | 0.023 | 0.180 | 0.203 |
| | STZ | | | | 0.000 | 0.000 | STZ | | | | 0.028 | 0.363 |
| | STZ + ω L | | | | | 0.012 | STZ + ω L | | | | | 0.180 |
| | STZ + ω C | | | | | | STZ + ω C | | | | | |
| | 6 meses | | | | | | 6 meses | | | | | |
| | Pentadecanoico | | | | | | Pentadecanoico | | | | | |
| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
| | | 0.1390 | 0.2551 | 0.1445 | 0.4550 | 0.0515 | | 0.183 | 0.311 | 0.089 | 0.429 | 0.153 |
| | CN + ω L | | 0.3284 | 0.1231 | 0.1634 | 0.2596 | CN + ω L | | 0.226 | 0.121 | 0.117 | 0.340 |
| | CN + ω C | | | 0.1550 | 0.2579 | 0.1915 | CN + ω C | | | 0.143 | 0.230 | 0.198 |
| | STZ | | | | 0.1491 | 0.0531 | STZ | | | | 0.078 | 0.068 |
| | STZ + ω L | | | | | 0.0691 | STZ + ω L | | | | | 0.084 |
| | STZ + ω C | | | | | | STZ + ω C | | | | | |

3 meses
Palmitico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.085 | 0.420 | 0.251 | 0.206 | 0.110 |
| CN + ωL | | | 0.124 | 0.407 | 0.342 | 0.004 |
| CN + ωC | | | | 0.293 | 0.259 | 0.081 |
| STZ | | | | | 0.470 | 0.049 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.022 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Palmitico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.027 | 0.409 | 0.230 | 0.121 | 0.473 |
| CN + ωL | | | 0.047 | 0.135 | 0.006 | 0.011 |
| CN + ωC | | | | 0.206 | 0.191 | 0.409 |
| STZ | | | | | 0.030 | 0.160 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.066 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Palmitico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.175 | 0.412 | 0.367 | 0.265 | 0.238 |
| CN + ωL | | | 0.043 | 0.262 | 0.172 | 0.015 |
| CN + ωC | | | | 0.298 | 0.125 | 0.275 |
| STZ | | | | | 0.431 | 0.140 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.028 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Palmitico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.202 | 0.323 | 0.482 | 0.071 | 0.028 |
| CN + ωL | | | 0.324 | 0.176 | 0.038 | 0.030 |
| CN + ωC | | | | 0.260 | 0.024 | 0.000 |
| STZ | | | | | 0.035 | 0.005 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.247 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Palmitoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.455 | 0.038 | 0.210 | 0.450 | 0.136 |
| CN + ωL | | | 0.040 | 0.236 | 0.484 | 0.154 |
| CN + ωC | | | | 0.039 | 0.013 | 0.023 |
| STZ | | | | | 0.237 | 0.370 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.135 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Palmitoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.090 | 0.002 | 0.096 | 0.008 | 0.067 |
| CN + ωL | | | 0.014 | 0.118 | 0.167 | 0.266 |
| CN + ωC | | | | 0.000 | 0.024 | 0.066 |
| STZ | | | | | 0.005 | 0.051 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.445 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Palmitoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.419 | 0.142 | 0.445 | 0.463 | 0.165 |
| CN + ωL | | | 0.148 | 0.421 | 0.428 | 0.275 |
| CN + ωC | | | | 0.328 | 0.292 | 0.106 |
| STZ | | | | | 0.482 | 0.213 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.200 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Palmitoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.253 | 0.423 | 0.016 | 0.126 | 0.494 |
| CN + ωL | | | 0.339 | 0.220 | 0.494 | 0.267 |
| CN + ωC | | | | 0.035 | 0.212 | 0.421 |
| STZ | | | | | 0.098 | 0.021 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.138 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Heptadecanoico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CN | No aplica |
| CN + ωL | | No aplica | | 0.008 | 0.003 | No aplica |
| CN + ωC | | | No aplica | No aplica | No aplica | |
| STZ | | | | 0.372 | No aplica | |
| STZ + ωL | | | | | No aplica | |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Heptadecanoico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | 0.029 | No aplica | 0.249 | 0.000 | No aplica |
| CN + ωL | | No aplica | | 0.008 | 0.030 | No aplica |
| CN + ωC | | | No aplica | No aplica | No aplica | |
| STZ | | | | 0.000 | No aplica | |
| STZ + ωL | | | | | No aplica | |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Heptadecanoico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.113 | 0.455 | 0.019 | 0.207 | 0.250 |
| CN + ωL | | | 0.158 | 0.043 | 0.052 | 0.038 |
| CN + ωC | | | | 0.067 | 0.219 | 0.108 |
| STZ | | | | | 0.021 | 0.035 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.372 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Heptadecanoico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.451 | 0.258 | 0.148 | 0.446 | 0.466 |
| CN + ωL | | | 0.327 | 0.240 | 0.131 | 0.349 |
| CN + ωC | | | | 0.251 | 0.493 | 0.218 |
| STZ | | | | | 0.141 | 0.171 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.032 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Esteárico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.272 | 0.347 | 0.356 | 0.001 | 0.045 |
| CN + ωL | | | | 0.459 | 0.00010 | 0.080 |
| CN + ωC | | | | 0.414 | 0.414 | 0.046 |
| STZ | | | | | 0.003 | 0.260 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Esteárico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.353 | 0.353 | 0.392 | 0.000 | 0.135 |
| CN + ωL | | | 0.087 | 0.098 | 0.000 | 0.109 |
| CN + ωC | | | | 0.292 | 0.000 | 0.042 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.017 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Esteárico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.033 | 0.163 | 0.269 | 0.015 | 0.062 |
| CN + ωL | | | 0.164 | 0.146 | 0.001 | 0.008 |
| CN + ωC | | | | 0.232 | 0.003 | 0.029 |
| STZ | | | | | 0.437 | 0.471 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.432 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Esteárico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.345 | 0.023 | 0.078 | 0.003 | 0.011 |
| CN + ωL | | | 0.004 | 0.119 | 0.011 | 0.012 |
| CN + ωC | | | | 0.440 | 0.148 | 0.368 |
| STZ | | | | | 0.240 | 0.493 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.159 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Oleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.055 | 0.035 | 0.440 | 0.002 | 0.004 |
| CN + ωL | | | 0.393 | 0.077 | 0.001 | 0.360 |
| CN + ωC | | | | 0.085 | 0.000 | 0.198 |
| STZ | | | | | 0.019 | 0.010 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Oleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.000 | 0.002 | 0.157 | 0.004 | 0.000 |
| CN + ωL | | | 0.225 | 0.023 | 0.000 | 0.270 |
| CN + ωC | | | | 0.097 | 0.000 | 0.084 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.008 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Oleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.356 | 0.257 | 0.260 | 0.432 | 0.407 |
| CN + ωL | | | 0.064 | 0.132 | 0.244 | 0.153 |
| CN + ωC | | | | 0.430 | 0.017 | 0.150 |
| STZ | | | | | 0.097 | 0.280 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.176 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Oleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.191 | 0.062 | 0.092 | 0.237 | 0.345 |
| CN + ωL | | | 0.210 | 0.455 | 0.429 | 0.209 |
| CN + ωC | | | | 0.122 | 0.149 | 0.072 |
| STZ | | | | | 0.368 | 0.106 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.341 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Linoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.140 | 0.142 | 0.018 | 0.145 | 0.298 |
| CN + ωL | | | 0.011 | 0.001 | 0.182 | 0.006 |
| CN + ωC | | | | 0.061 | 0.113 | 0.064 |
| STZ | | | | | 0.059 | 0.001 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.053 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Linoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.044 | 0.234 | 0.354 | 0.000 | 0.123 |
| CN + ωL | | | 0.248 | 0.343 | 0.000 | 0.242 |
| CN + ωC | | | | 0.499 | 0.001 | 0.431 |
| STZ | | | | | 0.026 | 0.457 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Linoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.160 | 0.384 | 0.061 | 0.180 | 0.449 |
| CN + ωL | | | 0.281 | 0.006 | 0.013 | 0.062 |
| CN + ωC | | | | 0.060 | 0.129 | 0.392 |
| STZ | | | | | 0.146 | 0.021 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.087 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Linoleico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.049 | 0.111 | 0.047 | 0.292 | 0.324 |
| CN + ωL | | | 0.287 | 0.483 | 0.498 | 0.033 |
| CN + ωC | | | | 0.303 | 0.446 | 0.065 |
| STZ | | | | | 0.490 | 0.035 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.277 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Araquidico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.018 | 0.002 | 0.014 | 0.001 | 0.000 |
| CN + ω L | | | 0.018 | 0.203 | 0.009 | 0.010 |
| CN + ω C | | | | 0.074 | 0.195 | 0.039 |
| STZ | | | | | 0.019 | 0.190 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.009 |
| STZ + ω C | | | | | | |

3 meses
Araquidico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.037 | 0.011 | 0.015 | 0.001 | 0.005 |
| CN + ω L | | | 0.001 | 0.092 | 0.000 | 0.012 |
| CN + ω C | | | | 0.041 | 0.229 | 0.006 |
| STZ | | | | | 0.007 | 0.429 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.001 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Araquidico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.211 | 0.045 | 0.000 | 0.012 | 0.174 |
| CN + ω L | | | 0.053 | 0.000 | 0.078 | 0.431 |
| CN + ω C | | | | 0.005 | 0.428 | 0.243 |
| STZ | | | | | 0.021 | 0.010 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.145 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Araquidico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.091 | 0.058 | 0.461 | 0.485 | 0.427 |
| CN + ω L | | | 0.460 | 0.105 | 0.175 | 0.087 |
| CN + ω C | | | | 0.081 | 0.173 | 0.025 |
| STZ | | | | | 0.456 | 0.398 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.469 |
| STZ + ω C | | | | | | |

3 meses
Araquidónico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.002 | 0.047 | 0.068 | 0.005 | 0.020 |
| CN + ω L | | | 0.002 | 0.082 | 0.354 | 0.087 |
| CN + ω C | | | | 0.212 | 0.013 | 0.094 |
| STZ | | | | | 0.051 | 0.357 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.047 |
| STZ + ω C | | | | | | |

3 meses
Araquidónico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.391 | 0.009 | 0.125 | 0.403 | 0.289 |
| CN + ω L | | | 0.062 | 0.153 | 0.468 | 0.195 |
| CN + ω C | | | | 0.307 | 0.032 | 0.015 |
| STZ | | | | | 0.124 | 0.035 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.197 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Araquidónico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.041 | 0.087 | 0.417 | 0.197 | 0.198 |
| CN + ω L | | | 0.263 | 0.025 | 0.041 | 0.032 |
| CN + ω C | | | | 0.056 | 0.124 | 0.101 |
| STZ | | | | | 0.126 | 0.128 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.473 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Araquidónico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.028 | 0.370 | 0.469 | 0.324 | 0.066 |
| CN + ω L | | | 0.170 | 0.046 | 0.081 | 0.116 |
| CN + ω C | | | | 0.401 | 0.500 | 0.288 |
| STZ | | | | | 0.361 | 0.112 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.227 |
| STZ + ω C | | | | | | |

3 meses
EPA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.156 | 0.199 | 0.007 | 0.001 | 0.076 |
| CN + ωL | | | 0.320 | 0.059 | 0.000 | 0.427 |
| CN + ωC | | | | 0.014 | 0.000 | 0.221 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.035 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.000 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
EPA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.110 | 0.292 | 0.058 | 0.047 | 0.107 |
| CN + ωL | | | 0.055 | 0.004 | 0.005 | 0.007 |
| CN + ωC | | | | 0.078 | 0.051 | 0.161 |
| STZ | | | | | 0.309 | 0.148 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.070 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
EPA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | 0.360 | 0.446 | No aplica | 0.000 | 0.066 |
| CN + ωL | | | 0.107 | No aplica | 0.000 | 0.026 |
| CN + ωC | | | | No aplica | 0.000 | 0.066 |
| STZ | | | | | No aplica | No aplica |
| STZ + ωL | | | | | | 0.009 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
EPA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | 0.183 | 0.087 | No aplica | 0.005 | 0.011 |
| CN + ωL | | | 0.032 | No aplica | 0.004 | 0.008 |
| CN + ωC | | | | No aplica | 0.008 | 0.018 |
| STZ | | | | | No aplica | No aplica |
| STZ + ωL | | | | | | 0.195 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Behenico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | No aplica |
| CN + ωL | | | No aplica | No aplica | No aplica | No aplica |
| CN + ωC | | | | No aplica | No aplica | No aplica |
| STZ | | | | | No aplica | No aplica |
| STZ + ωL | | | | | | No aplica |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Behenico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | No aplica |
| CN + ωL | | | No aplica | No aplica | No aplica | No aplica |
| CN + ωC | | | | No aplica | No aplica | No aplica |
| STZ | | | | | No aplica | No aplica |
| STZ + ωL | | | | | | No aplica |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Behenico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.289 | 0.080 | 0.010 | 0.486 | 0.268 |
| CN + ωL | | | 0.093 | 0.058 | 0.173 | 0.457 |
| CN + ωC | | | | 0.004 | 0.052 | 0.079 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.153 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.215 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
Behenico

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CN | | No aplica |
| CN + ωL | | | 0.055 | No aplica | 0.411 | 0.114 |
| CN + ωC | | | | No aplica | 0.257 | 0.471 |
| STZ | | | | | No aplica | No aplica |
| STZ + ωL | | | | | | 0.233 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
C22

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.436 | 0.388 | 0.166 | 0.390 | 0.264 |
| CN + ωL | | | 0.220 | 0.052 | 0.240 | 0.103 |
| CN + ωC | | | | 0.184 | 0.457 | 0.382 |
| STZ | | | | | 0.122 | 0.177 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.312 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
C22

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.124 | 0.162 | 0.314 | 0.465 | 0.081 |
| CN + ωL | | | 0.475 | 0.102 | 0.015 | 0.474 |
| CN + ωC | | | | 0.111 | 0.004 | 0.491 |
| STZ | | | | | 0.144 | 0.059 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.002 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
C22

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.001 | 0.007 | 0.000 | 0.074 | 0.430 |
| CN + ωL | | | 0.129 | 0.000 | 0.000 | 0.009 |
| CN + ωC | | | | 0.000 | 0.002 | 0.036 |
| STZ | | | | | 0.007 | 0.005 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.182 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
C22

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.049 | 0.004 | 0.021 | 0.168 | 0.212 |
| CN + ωL | | | 0.039 | 0.000 | 0.038 | 0.123 |
| CN + ωC | | | | 0.000 | 0.001 | 0.009 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.002 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.462 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
DHA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.054 | 0.129 | 0.117 | 0.321 | 0.067 |
| CN + ωL | | | 0.185 | 0.005 | 0.146 | 0.353 |
| CN + ωC | | | | 0.014 | 0.279 | 0.377 |
| STZ | | | | | 0.049 | 0.003 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.160 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
DHA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.027 | 0.002 | 0.389 | 0.001 | 0.003 |
| CN + ωL | | | 0.013 | 0.007 | 0.003 | 0.118 |
| CN + ωC | | | | 0.000 | 0.272 | 0.036 |
| STZ | | | | | 0.000 | 0.000 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.008 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
DHA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.048 | 0.089 | 0.337 | 0.426 | 0.431 |
| CN + ωL | | | 0.334 | 0.054 | 0.008 | 0.023 |
| CN + ωC | | | | 0.108 | 0.018 | 0.043 |
| STZ | | | | | 0.212 | 0.369 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.291 |
| STZ + ωC | | | | | | |

6 meses
DHA

| | CN | CN + ωL | CN + ωC | STZ | STZ + ωL | STZ + ωC |
|----------|----|---------|---------|-------|----------|----------|
| CN | | 0.074 | 0.069 | 0.256 | 0.304 | 0.353 |
| CN + ωL | | | 0.483 | 0.054 | 0.027 | 0.007 |
| CN + ωC | | | | 0.039 | 0.017 | 0.003 |
| STZ | | | | | 0.371 | 0.045 |
| STZ + ωL | | | | | | 0.058 |
| STZ + ωC | | | | | | |

3 meses
Lignocérico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.090 | 0.067 | 0.168 | 0.024 | 0.245 |
| CN + ω L | | | 0.338 | 0.264 | 0.216 | 0.183 |
| CN + ω C | | | | 0.153 | 0.393 | 0.091 |
| STZ | | | | | 0.067 | 0.391 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.029 |
| STZ + ω C | | | | | | |

3 meses
Lignocérico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.158 | 0.034 | 0.275 | 0.314 | 0.343 |
| CN + ω L | | | 0.003 | 0.319 | 0.320 | 0.280 |
| CN + ω C | | | | 0.017 | 0.030 | 0.028 |
| STZ | | | | | 0.479 | 0.429 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.455 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Lignocérico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.383 | 0.342 | 0.133 | 0.277 | 0.226 |
| CN + ω L | | | 0.255 | 0.117 | 0.473 | 0.180 |
| CN + ω C | | | | 0.249 | 0.072 | 0.367 |
| STZ | | | | | 0.019 | 0.354 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.045 |
| STZ + ω C | | | | | | |

6 meses
Lignocérico

| | CN | CN + ω L | CN + ω C | STZ | STZ + ω L | STZ + ω C |
|------------------|----|-----------------|-----------------|-------|------------------|------------------|
| CN | | 0.343 | 0.344 | 0.017 | 0.299 | 0.078 |
| CN + ω L | | | 0.272 | 0.114 | 0.193 | 0.089 |
| CN + ω C | | | | 0.025 | 0.492 | 0.104 |
| STZ | | | | | 0.003 | 0.002 |
| STZ + ω L | | | | | | 0.079 |
| STZ + ω C | | | | | | |

11.2 Curva de Tolerancia a la glucosa

En la siguiente figura se muestran los resultados obtenidos de la Curva de Tolerancia a la glucosa que se realizó a las ratas normoglicémicas (control) como a las inducidas a diabetes (STZ) cuando estos tenían aproximadamente 4 meses de edad con la finalidad de observar el control de la glicemia entre ambos grupos.

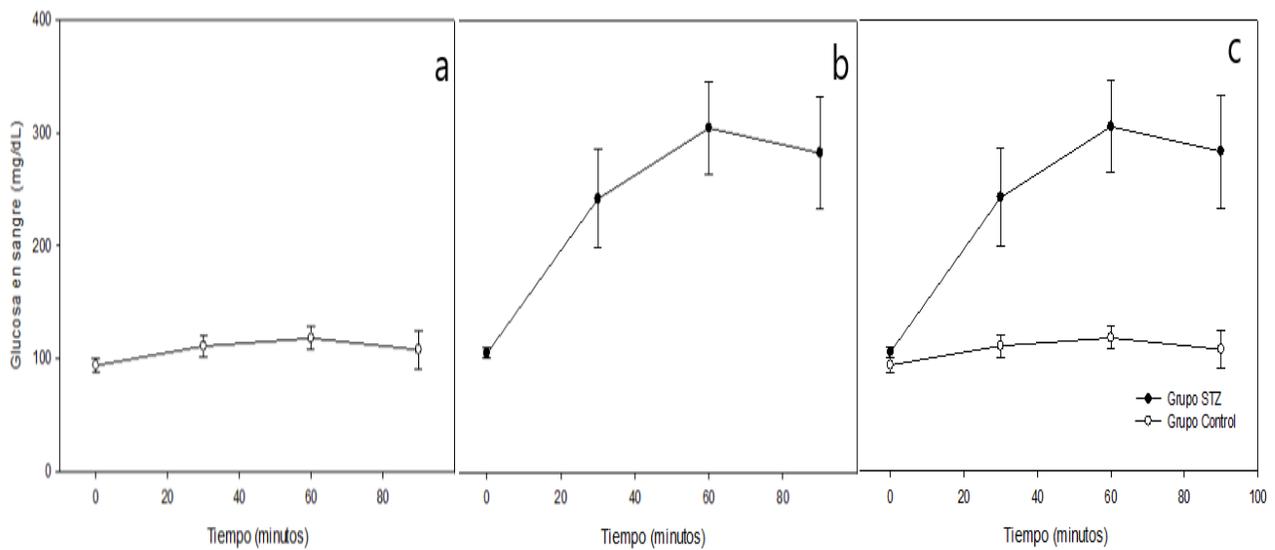


Figura 12. Curva de Tolerancia a la Glucosa de ratas normoglicémicas (Control, a) e inducidas a diabetes (STZ,,b) y comparación entre ambos grupos (c) a los 4 meses de edad.