



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Características Físicoquímicas de Membranas
en un Modelo de Tumor Renal de
Ratas Wistar Diabéticas**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

HÉCTOR ADRIÁN GARCÍA GASCA

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Ricardo Mejía Zepeda

CO-DIRECTORA DE TESIS:

Dra. María del Consuelo Figueroa García



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Estado de México, 2021





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

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

Al Programa de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT No. IN-213421 otorgado al Dr. Ricardo Mejía Zepeda. UBIMED, FESI-UNAM.

A los miembros del sínodo por su dedicación y atención:

Dra. Edaena Benítez Rangel

M. en C. Pilar Amellali Badillo Suárez

M. en C. Luis Felipe Santos Cruz

A mis amigos del Laboratorio 4 gracias por el apoyo que me han brindado.



DEDICATORIAS

A **mi Cari**, por ser esa fuerza que me impulsó a seguir adelante cuando mi mundo se derrumbó. Por no dejar que me rindiera, aunque el camino no fuera fácil. Tú eres la luz que iluminó mis momentos más oscuros. No tengo palabras para agradecerte todo lo que has hecho por mí. Gracias por escucharme, por no juzgarme, por todo el amor y apoyo incondicional. No tienes idea lo mucho que te amo. Siempre agradeceré a la vida por ponerte en mi camino.

A la **Dra. Figueroa**, gracias por estar siempre que la necesité. Usted fue mi guía, mi sensei; la admiro bastante. Sin usted yo no estaría donde estoy. Gracias infinitas por enseñarme un poco de lo todo lo que sabe. Siempre tendrá un lugar en mi corazón.

Al **Dr. Ricardo**, le estaré eternamente agradecido por todo el apoyo que me ha dado. Sin usted este trabajo no hubiera sido posible. Me enseñó la clase de persona que quiero ser en la vida, lo admiro y lo estimo bastante.

A **Putzis**, por enseñarme que todo es posible trabajando duro. Siempre te estaré inmensamente agradecido por todo lo que has hecho por mí, por mi formación académica y sobre todo por el amor incondicional que me has brindado desde que llegué a este mundo. Eres la mujer que más admiro en la vida.

A **Papi**, por inspirarme, cuidarme, guiarme y amarme cada día de mi vida. Te amo incondicionalmente.

A **Fatty**, por ser una chingonería de mujer. Gracias por todo el apoyo y amor incondicional. Eres muy especial para mí.

A **Martita**, por el apoyo, cuidado y amor incondicional que has dado desde que llegué al mundo.

A **Beto**, por el apoyo, enseñanza y el cuidado que me brindaste.



A **Jackie**, porque qué sería de mí sin ti. Agradezco a la vida por ponerte en mi camino. Gracias por el apoyo incondicional. Tu siempre has estado conmigo en las buenas y en las malas. Tú, sin duda, eres uno de los pilares que me mantienen de pie. Te amo demasiado, has sido mi compañera, mi amiga y mi confidente desde primer hasta octavo semestre y hasta en el laboratorio. Ha sido muy satisfactorio crecer contigo en todos estos años. Sin ti, nada hubiera sido lo mismo. Eres lo mejor que la carrera de Biología pudo darme. Te amo demasiado. We are a Team, Team.

A **Mimi**, por cruzarte en mi camino y jamás irte. Eres de esas personas que hace que se me olviden mis problemas. Tú me impulsas a seguir adelante. No tengo palabras para agradecerte todo el amor y apoyo que me has dado. Te admiro bastante mujer y te amito mucho.

A **Yeyito**, por ser mi damo de compañía, Gracias por todo el amor y el apoyo. Tu siempre me animaste a seguir adelante. Eres muy especial para mí. Siempre agradeceré a la vida por tener en ti a un amigo incondicional.

A **Cielitomix**, por ser mi cómplice de locuras. Gracias por hacerme reír. Por ayudarme a superarme día con día. Te quiero demasiado.

A **Tita y Salerito**, por su apoyo incondicional y enseñarme la clase de persona que quiero ser. Las amo y estimo demasiado. Salerito, tú eres mi hermana de otra madre, no tengo palabras para agradecerte todo lo que has hecho por mí.

A la **maestra Pilar Amellali**, por ser la persona que sentara en mí las bases de querer ser Biólogo. Por ser una gran profesora. Sus clases me inspiraron y me hicieron apasionarme por la Química. Gracias por sus enseñanzas. La estimo bastante.

A la **doctora Edaena Benítez Rangel**, por ser una gran profesora y contagiarme su pasión por la Bioquímica. Gracias por sus enseñanzas. La estimo mucho.

Al **maestro Luis Felipe**, por transmitirme su pasión por ser Biólogo y profesor. Muchas gracias por sus pláticas y enseñanzas.



A **mis amigos de enfermería**, gracias chicos por estar siempre que los necesité. Siempre agradeceré el haberlos conocido. En ustedes encontré la verdadera amistad. Georgie, Zackito y Andy los admiro mucho, ustedes me inspiran a superarme día con día.

A **mis amigos de la carrera**, por su apoyo, por la buena vibra, por hacer de esta etapa una de las mejores de mi vida. Vilchis, Mayita, Shadys, Fernandito, Carol y Mariana gracias por su amistad. Los quiero mucho.

A **mis compañeros del laboratorio**, por hacerme reír, por inspirarme, por guiarme. En ustedes he encontrado amistad sincera. En especial a Karlita y Dianita, ustedes me han inspirado a ser mejor persona. Y Ramirito, gracias por ser mi guía. Los quiero y adoro demasiado a todos.



Aunque no tengamos el poder de elegir de
dónde venimos, todavía podemos elegir
adónde vamos.

Stephen Chbosky

ÍNDICE

ABREVIATURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
Factores que intervienen en el desarrollo y proliferación de las células neoplásicas.....	2
Modelos de neoplasia.....	4
Relación entre las neoplasias y la diabetes mellitus.....	5
Terapias antineoplásicas.....	7
ANTECEDENTES	8
JUSTIFICACIÓN	10
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	11
Objetivo General.....	11
Objetivos Particulares.....	11
MATERIAL Y MÉTODOS	12
Modelo experimental.....	12
Generación del modelo de diabetes mellitus tipo 2 y tumor renal en ratas.....	12
Suplementación con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.....	13
Determinación de los parámetros fisiológicos.....	14
Lineamientos de bioética.....	14
Obtención de muestras.....	15
Procesamiento de las muestras.....	16
Extracción de lípidos de tejido normal y tumor neoplásico.....	16
Obtención de metil-ésteres de tejido normal y tumor renal.....	16
Análisis de ácidos grasos de tejido normal y tumor renal.....	17
Medición de fluidez lipídica de tejido normal y tumor renal.....	17
Histología.....	18



RESULTADOS	19
Peso.....	19
Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG).....	23
Incidencia de tumor renal.....	28
Estudio histopatológico	30
Composición de ácidos grasos	32
Polarización de fluorescencia	48
DISCUSIÓN	51
Modelo	51
Peso.....	54
Concentración de Glucosa en Sangre	55
Curva de Tolerancia a la Glucosa	56
Estudio Histopatológico.....	57
Composición de ácidos grasos	58
Polarización de Fluorescencia	59
CONCLUSIONES	62
LITERATURA CITADA	63
ANEXOS	73
Anexo 1. Curvas de tolerancia a la Glucosa a diferentes tiempos	73
Anexo 2. Comparación del índice de fluidez y polarización de fluorescencia	75



II



ABREVIATURAS

AG	Ácidos Grasos
AG ω -3 CL	Ácidos Grasos omega 3 de cadena larga
CTG	Curva de Tolerancia a la Glucosa
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2
RCC	Carcinoma de células renales
STZ	Estreptozotocina
STZ ω -3CL1ds 6m	Grupo de ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana
STZ ω -3CL3ds 3m	Grupo de ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana
STZ ω -3CL7ds 3m	Grupo de ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga
STZ ω -3CL7ds 6m	Grupo de ratas diabéticas tipo2 de 6 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga
I	Tejido renal sano
II	Tejido renal de transición
III	Parte externa de tumor renal
IV	Parte media del tumor renal
V	Parte interna del tumor renal



III



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 6 meses de edad, con suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana (STZ ω -3CL 1ds 6m).	32
Tabla 2	Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad, con suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana (STZ ω -3CL 3ds 3m).	33
Tabla 3	Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad, con suplementación diaria de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ ω -3CL 7ds 3m).	34
Tabla 4	Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 6 meses de edad, con suplementación diaria de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ ω -3CL 7ds 6m).	35
Tabla 5	Incidencia de tumor renal	50



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Esquema de dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga a ratas inducidas a diabetes mellitus tipo 2.	13
Figura 2	Secciones en las que fue dividido el tejido y el tumor renal de ratas inducidas a diabetes 2 y dosificación de ácidos grasos ω -3 de cadena larga.	15
Figura 3	Curvas de crecimiento de ratas inducidas a diabetes tipo 2, suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	19
Figura 4	Concentración de glucosa en sangre de ratas inducidas a diabetes tipo 2, suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	21
Figura 5	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana.	23
Figura 6	Curva de Tolerancia a la Glucosa de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana.	24
Figura 7	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	25
Figura 8	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	26
Figura 9	Porcentaje de incidencia de tumor renal de ratas diabéticas tipo 2 con diferente dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	27
Figura 10	Fotografías del riñón izquierdo de ratas inducidas a diabetes tipo 2 con suplementación diaria de ácidos grasos ω -3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7d/s 6m).	28
Figura 11	Histología de ratas diabéticas tipo 2 dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.	30



V



Figura 12	Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga, un día a la semana, 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m).	38
Figura 13	Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m).	39
Figura 14	Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m).	39
Figura 15	Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m).	40
Figura 16	Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m).	42
Figura 17	Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m).	42
Figura 18	Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m).	43
Figura 19	Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m).	43
Figura 20	Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m).	45
Figura 21	Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m).	45



Figura 22	Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m).	46
Figura 23	Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de seis meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m).	46
Figura 24	Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m).	48
Figura 25	Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m).	48
Figura 26	Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m).	49
Figura 27	Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m).	49
Figura 28	Esquema de la localización preferencial de los monitores fluorescentes. TMA-DPH trimetil amonio difenil hexatrieno; DPiP, dipirenil propano; DPH, difenil hexatrieno.	60
Figura 29	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana a diferentes tiempos	73
Figura 30	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 día por semana a diferentes tiempos.	73
Figura 31	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 a diferentes tiempos.	74
Figura 32	Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 a diferentes tiempos.	74



- Figura 33** Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 1 día a la semana (STZ ω -3CL 1ds 6m). 76
- Figura 34** Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 3 días a la semana (STZ ω -3CL 3ds 3m). 78
- Figura 35** Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 7 días a la semana (STZ ω -3CL 3ds 7m). 81
- Figura 36** Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 7 días a la semana (STZ ω -3CL 7ds 6m). 84



RESUMEN

La tumorigénesis se ha convertido en una de las patologías crónico-degenerativas de gran importancia debido al alto índice de mortalidad. Los tumores que se desarrollan en el tejido renal son considerados muy agresivos debido a su alta tasa de mortalidad. Existen varios factores que intervienen en la proliferación de células neoplásicas como: factores genéticos (HIF-1, VEGF, VHL), cambios en el metabolismo de los ácidos grasos y alteraciones en las propiedades fisicoquímicas de las membranas biológicas. Debido a lo anteriormente mencionado se han propuesto varios modelos *in vivo* o *in vitro* para comprender los procesos y/o mecanismos que se ven involucrados en el desarrollo y proliferación del cáncer; no obstante, las neoplasias que se desarrollan en el riñón no han sido muy estudiadas. La estreptozotocina, molécula producida por *Streptomyces achromogenes*, ha sido utilizada como un agente inductor a diabetes mellitus tipo 1 y 2, sin embargo, en algunos estudios también se ha visto que produce desarrollo de neoplasia en riñón. Se han realizado estudios para establecer la relación entre la diabetes mellitus y el desarrollo de neoplasias, pero han sido poco concluyentes por lo que aún se desconoce el mecanismo biológico que pueda estar vinculando a estas dos patologías. Por otra parte, algunos estudios que establecen al consumo de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 como una alternativa antineoplásica debido a que limitan el crecimiento tumoral y en el desarrollo de la diabetes, aunque se desconocen los mecanismos de acción de estas moléculas. Con la finalidad de entender el efecto de estas moléculas en el desarrollo de la diabetes se han realizado estudios donde se implementaron diferentes esquemas de dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena corta, encontrando que existen diferencias en: la composición de ácidos grasos, la fluidez de membrana y la producción de especies reactivas de oxígeno en tejido hepático y en sus respectivas mitocondrias; sin embargo, para los ácidos grasos omega-3 de cadena larga no se tienen reportes. Por las razones anteriormente mencionadas, en el presente trabajo se analizó el efecto de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga sobre el desarrollo de tumores en tejido renal, se midió el peso y la glicemia a lo largo del estudio; los tumores



renales fueron generados a partir del modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar, el tumor obtenido se dividió en varias secciones (II,III, IV y V), se realizó un estudio histopatológico, posteriormente se extrajeron los lípidos del crecimiento tumoral y el tejido no tumoral (I) renal y por último se formaron liposomas, con el monitor fluorescente DPH incorporado a ellos, con la finalidad de estudiar propiedades fisicoquímicas de las membranas biológicas asociadas al desarrollo de tumores renales en el modelo de diabetes tipo 2. Los hallazgos encontrados indican alteraciones en: el peso (ratas que desarrollaron tumores renales tuvieron menor ganancia de peso), en el metabolismo de la glucosa (con glicemias entre los 97 a los 600 mg/dL), en los ácidos grasos (a mayor grado de desarrollo del tumor renal existe mayor cambio en la composición de ácidos grasos), la fluidez lipídica disminuye en el crecimiento neoplásico en comparación con el tejido no tumoral. Se obtuvo una eficacia de generación del tumor renal del 50%, se encontró que la dosificación diaria de ácidos grasos omega 3 de cadena larga se asoció con un mayor desarrollo de tumor renal, asimismo una asociación positiva entre la glicemia y la generación del tumor, por último, en el estudio histopatológico demostró que los tumores generados corresponden a Carcinoma de Células Renales (RCC) y tumor de células claras.



X



INTRODUCCIÓN

Desde inicios del siglo XXI, las patologías crónico-degenerativas han sido consideradas una epidemia debido a la alta tasa de mortalidad, dentro estas patologías se encuentra el desarrollo de tumores (Bray *et al.*, 2018). En el año 2018 el Observatorio Global del Cáncer tiene registro de 18.1 millones de personas diagnosticadas con cáncer, de las cuales, 9.6 millones murieron a causa de esta patología. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) estima que una de cada 6 personas desarrollará algún tipo de cáncer a lo largo de su vida, se estima que esta cifra aumentará en un 20% por año, este incremento en la incidencia del cáncer puede estar relacionado con factores como: la contaminación ambiental, la alimentación o la genética (Hsieh *et al.*, 2017). De manera similar, en la población mexicana los tumores se encontraron entre las tres principales causas de muerte en el año 2018, con aproximadamente 85 mil defunciones ocupando el tercer puesto (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2019).

La tumorigénesis hace referencia al crecimiento de una masa celular con rasgos funcionales y morfológicos diferentes al que presentan sus células precursoras (Ramzi *et al.*, 2000). Esta masa celular se caracteriza por una señalización proliferativa constante, la resistencia a la apoptosis y la inducción a angiogénesis (Hanahan y Weinberg, 2000). Los tumores se pueden desarrollar en cualquier tejido, sin embargo, los que se presentan en el riñón, aunque representan sólo el 2% de los casos diagnosticados se encuentran entre los más agresivos debido a su capacidad de invasión y complicaciones asociadas, ocupando una de las primeras 10 posiciones en el índice de mortalidad por cáncer (Owens, 2016).



Factores que intervienen en el desarrollo y proliferación de las células neoplásicas

Factores genéticos: La activación de oncogenes es el principal factor genético relacionado con el desarrollo de tumores, esto en consecuencia culmina en la sobreexpresión de los mismos y en la inactivación de los supresores tumorales. Esta desregulación conlleva a la proliferación celular desmedida y a la resistencia a la apoptosis (Meza-Junco *et al.*, 2006). Otro factor genético que se ha relacionado con el desarrollo de tumores es el factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF-1), es un complejo proteico que aumenta la expresión de algunos genes en presencia de bajas concentraciones de oxígeno. Este factor es sumamente importante para la adaptación celular a condiciones donde el aporte de oxígeno está disminuido (Grau, 2011). Durante la proliferación celular y en la medida que un tumor aumenta de tamaño se presentan zonas con hipoxia que activan al HIF-1 el cual induce angiogénesis por activación del factor de crecimiento endotelial (VEGF) (Forsythe *et al.*, 1996), además se presenta la sobreexpresión del complejo enzimático encargado de la síntesis de los AG [ácido graso sintetasa (FAS)] (Furuta *et al.*, 2008) y las fuentes de carbono que se utilizan para la síntesis de ácidos grasos (AG) son el acetato proveniente del citoplasma (Yoshii *et al.*, 2009) y la glutamina, a través de las reacciones inversas que se llevan a cabo en el ciclo de Krebs, que concluyen con la reducción de citrato a acetil-CoA (Metallo *et al.*, 2011). En condiciones normales (normoxia) el HIF-1 es degradado por la proteína supresora de tumores Von Hippel-Lindau (VHL); estudios de neoplasia en el riñón han reportado la disminución traduccional de VHL y el aumento de la actividad de HIF-1 como un elemento clave en el desarrollo de los diferentes tipos de neoplasias, ya sea adquiridos o hereditarios (Forsythe *et al.*, 1996).

Ácidos grasos (AG): son moléculas que participan en el metabolismo celular de diversas maneras, ya sea como almacén de energía, en la síntesis de moléculas de señalización y como parte de la estructura de las membranas biológicas (Voet y Voet, 2006). El metabolismo de los AG es similar en las células normales y las neoplásicas, sin embargo, se presentan algunas diferencias en la síntesis de estos



(Kuhajda, 2000). En células eucariotas, en la mayoría de los tejidos, la incorporación de los AG en las membranas se realiza a partir de AG provenientes de la dieta (Goodridge, 1991; Beld *et al.*, 2015), en cambio, en células neoplásicas se realiza principalmente por síntesis *de novo* (Medes *et al.*, 1953); los AG sintetizados en esta vía se ocupan en la producción de fosfolípidos y la formación de nuevas membranas, evento característico durante la constante proliferación en el desarrollo de tumores (Swinnen, 2003). El complejo enzimático FAS se encuentra sobreexpresado en diferentes tipos de cáncer (mama, colorrectal, próstata, ovario, pulmón, nefroblastoma, retinoblastoma, sarcomas de partes blandas) (Kuhajda, 2006; Swinnen *et al.*, 2006).

Membranas biológicas: son estructuras fundamentales para el funcionamiento celular, desempeñan varias funciones desde una simple barrera que separa el medio interno del externo hasta una estructura más compleja que participa en diferentes procesos celulares (Nagle y Tristram-Nagle, 2000). La composición química de las membranas determina las características fisicoquímicas de las mismas, como la fluidez membranal, término que se refiere a la capacidad de movimiento de las moléculas en medio sólido o líquido; esta propiedad les permite a las membranas la difusión de algunas moléculas y el giro y/o reorientación de sus componentes (fosfolípidos y proteínas) (Bernardino de la Serna *et al.*, 2016).

En estudios realizados en células tumorales de hígado se reporta alteraciones significativas en la composición de AG y la fluidez de las membranas (Galeotti *et al.*, 1986). Los principales cambios que se observan en los AG de las membranas son: la longitud de las cadenas, la presencia de dobles enlaces y la posición en la que estos se encuentran (Los y Murata, 2004; Grunberger *et al.*, 1982). El cambio en la fluidez se ha relacionado con diferentes tipos de tumores; por ejemplo, se presenta un aumento de este parámetro en células tumorales de colon y de pulmón (Rodrigues *et al.*, 2002; Sok *et al.*, 2002), en cambio, en células de mama se presenta una disminución (Merchant *et al.*, 1990).



Con respecto al carcinoma de células claras renales (ccRCC, por sus siglas en inglés) es el tumor más común (85%) en el tejido renal (Owens, 2016). Esta neoplasia se caracteriza por la disminución de la expresión del factor VHL y como consecuencia, aumento en la activación de HIF-1. Una de las principales características de este tipo de neoplasia es la acumulación de lípidos en el citoplasma (gotas lipídicas) (Rezende *et al.*, 1999), aunque aún no se conoce con certeza su mecanismo de acción en el desarrollo tumoral, se ha propuesto que sirven como almacenes de triglicéridos y colesterol utilizados por la célula para la síntesis de moléculas de señalización, fosfolípidos y la formación de membranas (Petan *et al.*, 2018).

Modelos de neoplasia

El estudio de los diferentes tipos de neoplasias en modelos *in vitro* o en animales es de gran importancia para la comprensión de los procesos y/o mecanismos que intervienen en el desarrollo y proliferación del cáncer en humanos. Uno de los principales desafíos en el estudio del cáncer es la elección del modelo ya que se requiere del que sea más representativo, reproducible, con resultados confiables y contrastables con otros modelos y con la enfermedad (Gengenbacher *et al.*, 2017).

El conocimiento actual del desarrollo de las neoplasias y sus características se basa en el estudio de líneas celulares y su incorporación *in vivo* en ratones (alotrasplante) (Hausser y Brenner, 2005); sin embargo, son cuestionables debido a que estos cultivos no provienen de la especie en la cual son utilizados y la expresión génica está determinada por las condiciones ambientales *in vitro* o *in situ* (Frese y Tuveson, 2007). Una estrategia alternativa para el estudio del cáncer ha sido el uso de modelos animales donde se induce el desarrollo de neoplasias mediante el uso de agentes físicos (radiación) o químicos (toxinas, fármacos, etc.) (Kemp, 2015); (Hanahan *et al.*, 2007). Los tumores más estudiados que cuentan con un modelo ya sea *in vitro* o *in vivo* han sido: el melanoma, la leucemia, los tumores de cerebro y mama, cáncer colorrectal, pulmonar, hepático, pancreático y de próstata; sin embargo, existen otros tipos de neoplasia de interés que no han sido tan estudiados, tales como los que se presentan en el riñón (Teicher, 2010).



La estreptozotocina (STZ) es una toxina producida por *Streptomyces achromogenes*, la cual se caracteriza por provocar alquilación al ADN, activar la poli-ribosilación del ADP, impidiendo así que se lleve a cabo la fosforilación oxidativa (Plascencia-Nieto, 2006). Además, la STZ produce óxido nítrico (NO), que al unirse al anión superóxido (O_2^-) forma peroxinitrito ($ONOO^-$) y causa estrés oxidativo induciendo apoptosis (Trujillo y Tovar, 2008). La STZ ingresa al espacio intracelular mediante el transportador de glucosa GLUT2, el cual es característico de las membranas plasmáticas de las células β pancreáticas, el hepatocito, células del intestino y el riñón (Sandoval-Muñiz *et al.*, 2016). Debido a lo anterior, se ha reportado el uso de STZ como agente inductor de diabetes mellitus en modelos animales (Furman, 2015). No obstante, otros estudios han mostrado que el uso de la STZ a largo plazo (200 días) ocasionan el desarrollo de tumores en los riñones de los animales de experimentación (Gruys *et al.*, 2001).

Relación entre las neoplasias y la diabetes mellitus

En algunos estudios epidemiológicos se reporta que las personas diagnosticadas con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tienen mayor riesgo, en comparación con la población en general, de desarrollar algún tipo de neoplasia (Gárciga-Cardoso y Licea-Puig, 2012; Uscanga-Yépez *et al.*, 2018); sin embargo, se desconoce el mecanismo biológico que relaciona a estas dos patologías (Psutka *et al.*, 2014). Existen diferentes explicaciones que relacionan a la DM2 con las neoplasias renales, una de ellas es la que propone que el inicio de la neoplasia se debe al daño en el ADN generado por la acción de los radicales libres, el NO y la disfunción mitocondrial los cuales incrementan el estrés oxidativo en varios órganos, especialmente en los riñones (Habib y Liang, 2014; Chen *et al.*, 2015; Friederich *et al.*, 2009). Otro mecanismo propuesto es el aumento de las concentraciones del factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-1) (Dupont *et al.*, 2003), este aumento se ha identificado en varios tipos de neoplasia, incluyendo tumores renales (Psutka *et al.*, 2014; Brahmkhatri *et al.*, 2015). El IGF-1 es una hormona sintetizada en el hígado, es la encargada de la proliferación celular, esta molécula está presente en su forma conjugada (IGFBP) en el torrente



sanguíneo, por lo que su acción está altamente regulada, lo que impide la constante unión a su receptor (IGF-R1). Un déficit en la producción de IGFBP provoca que el IGF-1 se encuentre de forma libre y provoque aumento en su actividad (Zelenko y Gallagher, 2014; Huang *et al.*, 2017).



Terapias antineoplásicas

Actualmente existen varios procedimientos que se utilizan para controlar, prevenir o eliminar tumores, estos incluyen: la cirugía, la radiación y la quimioterapia. La quimioterapia es una mezcla de sustancias citotóxicas que modifican el ciclo celular principalmente en las fases S (síntesis de ADN) y M (mitosis), este tipo de tratamiento carece de especificidad por lo que afecta a todas las células (Chabner, y Roberts, 2005). Debido a lo anterior, se han propuesto alternativas para contrarrestar el desarrollo tumoral, un ejemplo de esto es el consumo de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (AGPI ω -3) (Castro-González, 2002). Los AGPI ω -3 son aquellas moléculas que en su estructura presentan una doble ligadura en el tercer carbono (a partir del metilo) (Wiktorowska-Owczarek *et al.*, 2015). Se sugiere que estas moléculas tienen propiedades benéficas para la salud, en especial en el tratamiento de las neoplasias donde mitigan los efectos adversos de las quimioterapias (Shahidi y Ambigaipalan, 2018). Incluso se ha propuesto que estas moléculas previenen y limitan el crecimiento tumoral, aunque se desconoce los mecanismos de acción de estos AGPI ω -3 (Fuentes *et al.*, 2018).



ANTECEDENTES

Existen reportes que establecen a la STZ como un agente químico capaz de iniciar el desarrollo de tumores en riñón tanto en ratas como en ratones. Gruys, *et al.*, (2001) aplicaron una dosis de 200 mg/kg de STZ vía intraperitoneal a ratones de las cepas BALB/cNcr and C57BL/6Ncr, reportando un desarrollo de adenoma (25%) y carcinoma (75%) en tejido renal en el 31% de la población expuesta, en cambio Vinerean, *et al.*, (2011) utilizaron una dosis de 65 mg/kg de STZ y reportaron un índice de desarrollo de neoplasia renal hasta en el 57% de la población estudio.

Una de las características que se ha asociado al desarrollo de los tumores es el incremento en la fluidez de las membranas celulares. Existen estudios mediante resonancia magnética del espín del electrón en cultivos celulares de tumores de hígado (Nakazawa y Iwaizumi, 1989), de mama (Zeiseg *et al.*, 2007) y de ovario (Oommen *et al.*, 2016) donde se reporta un aumento en la fluidez membranal. Este mismo parámetro se ha medido mediante la utilización de la polarización de fluorescencia del monitor fluorescente 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH) en células neoplásicas de colon (Tavolari *et al.*, 2012) e implantes tumorales (Kaur y Sanyal, 2010) encontrando un incremento de la fluidez membranal en comparación con células sanas del mismo órgano.

Otro de los parámetros que se ha estudiado en células neoplásicas, ya sea *in vitro* o *in vivo*, ha sido la composición de ácidos grasos. Meng, *et al.*, en el 2004 reportaron una mayor concentración de AG insaturados (ácidos oleico, linoleico y eicosapentaenoico) en líneas celulares de cáncer (adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma de próstata, melanoma, carcinoma cervical, carcinoma de pulmón y glioblastoma) en comparación con las células sanas (fibroblastos embrionarios de ratón y fibroblasto de pulmón de humano).

Por otro lado, en estudios realizados por Mejía y colaboradores durante los últimos años se ha observado que el uso de la STZ es un excelente método de inducción a DMT2 en ratas neonatas con un porcentaje de eficiencia superior al 90%. Las glicemias que presentan los animales en los estudios realizados se encuentran por



arriba de los 160 mg/dL en el 100% de los individuos. Asimismo, se ha descrito que estas ratas diabéticas se caracterizan por una pérdida de peso, déficit en el control de la glicemia y triglicéridos, disminución del índice de fluidez, determinado por el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S), en tejido hepático y cerebral, en mitocondrias de hígado disminuye la fluidez y aumenta la lipoperoxidación. La finalidad de la generación de un modelo de diabetes en ratas ha sido el estudio del metabolismo de los ácidos grasos en diferentes órganos (placenta, hígado, cerebro, riñón, entre otros). Los resultados obtenidos demuestran que existe un grado de asociación entre la progresión de la diabetes y la composición de ácidos grasos en los diferentes tejidos y sus correspondientes mitocondrias. Además de lo anterior se ha observado que tanto la fluidez membranal como el control de la respiración mitocondrial se ven modificados en los animales diabéticos comparados con animales normales. Con la finalidad de entender el efecto que causa no sólo la patología sino también algunos de los tratamientos propuestos como el uso de ácidos grasos omega 3 se ha implementado la utilización de estos AG en diferentes esquemas de administración tanto a animales sanos como en ratas diabéticas encontrando que: existe una diferencia entre la composición de ácidos grasos en fantasmas de eritrocitos (Pérez-Hernández, *et al.*, 2011; Vicenteño, 2018), placenta (Figueroa-García MC *et al.*, 2015), hígado (Rivera, 2016; Perusquia, 2018; Campos, 2020) y cerebro (Avendaño, 2019; Figueroa-García, *et al.*, 2020). En los anteriores estudios se analizaron además de la composición de ácidos grasos parámetros importantes como: índice de fluidez (I/S), fluidez de la membrana con los monitores fluorescentes DPiP y DPH, encontrando que ambos factores incrementan en animales diabéticos, y que estos mismos factores disminuyen con el tratamiento de AG de cadena larga y corta en animales diabéticos pero teniendo el efecto contrario en individuos normales (Rivera, 2016; Martiñon, 2018; Pérez-Hernández, *et al.*, 2011).



JUSTIFICACIÓN

Varios estudios han reportado que existen cambios en las propiedades fisicoquímicas de las membranas en diferentes tipos de neoplasias, no obstante, para las neoplasias que se desarrollan en el riñón estos cambios no se han descrito. Adicionalmente, se ha establecido que la diabetes mellitus tipo 2 y el desarrollo de neoplasias, son patologías que se encuentran relacionadas, sin embargo, se desconocen los mecanismos biológicos que las vinculan. En este trabajo nos interesa comprender los cambios en las propiedades fisicoquímicas de las membranas biológicas asociados al desarrollo de tumores renales en un modelo de diabetes experimental tipo 2 en ratas Wistar. Asimismo, nos interesa entender la participación de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga en la promoción de tumores renales en este modelo de diabetes.

HIPÓTESIS

El consumo de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (EPA y DHA), a diferentes esquemas de dosificación, modifican la composición de ácidos grasos y la fluidez lipídica de las membranas de células neoplásicas de riñón en ratas inducidas a diabetes mellitus tipo 2 por estreptozotocina.



OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de los ácidos grasos omega 3 de cadena larga (DHA y EPA) en la composición de ácidos grasos y fluidez lipídica de tumor renal en ratas inducidas a diabetes mellitus tipo 2.

Objetivos Particulares

- Determinar la composición de los ácidos grasos en diferentes secciones de tumor renal de ratas diabéticas tipo 2, suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.
- Determinar la fluidez lipídica de diferentes secciones de tumor renal de ratas diabéticas tipo 2 suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.
- Estudiar los cambios macroscópicos y microscópicos del riñón de ratas diabéticas tipo 2 suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.



MATERIAL Y MÉTODOS

Modelo experimental

Se utilizaron 10 ratas hembras de la cepa Wistar de 4 meses de edad, con un peso promedio de 250 g, albergadas, en forma individual en jaulas de polisulfonato con un sistema de microaislamiento, con alimento (Labdiet 5012 Pet-Food ©) y agua *ad libitum* y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a 22 ° C, en el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se realizó frotis vaginal a las ratas para el diagnóstico de estro, aquellas que resultaron positivas cohabitaron con machos sanos de la misma estirpe, toda la noche, para su apareo. Durante la mañana se realizó frotis vaginal para verificar si hubo apareo. Las hembras positivas al apareo se albergaron de forma individual y a los 12 días post-coito, se confirmó la gestación mediante palpación (gravidez de los cuernos uterinos). Las hembras positivas fueron mantenidas de forma individual y monitoreadas hasta el parto, momento en el cual fueron seleccionados los machos. Los animales de cada grupo fueron elegidos por un sistema completamente aleatorizado para formar 4 grupos de 5 individuos cada uno.

Generación del modelo de diabetes mellitus tipo 2 y tumor renal en ratas

Los animales de experimentación fueron inducidos a diabetes mellitus tipo 2 a las 48 horas de edad, mediante la administración de 125 mg de estreptozotocina (STZ)/kg de peso corporal. La STZ se disolvió en 50 µL de amortiguador de citratos a pH de 4.5 y se inyectó por vía intraperitoneal. Los animales se mantuvieron con la madre hasta el destete (cuatro semanas de edad) y posteriormente se albergaron en grupos de 5 en cajas de polisulfonato.



Suplementación con ácidos grasos omega 3 de cadena larga

Los ácidos grasos ω -3 de cadena larga (EPA y DHA) fueron suplementados a una dosis de 125mg/kg de peso, vía oral, iniciando el tratamiento a los 30 días de edad. El esquema de dosificación que se utilizó fue de 1, 3 o 7 días por semana, con una *n* de 5 animales por tratamiento y se sacrificaron dependiendo de estado de salud que presentara cada grupo, teniendo una edad mínima de 3 meses y una edad máxima de 6 meses, como se muestra en la figura 1.

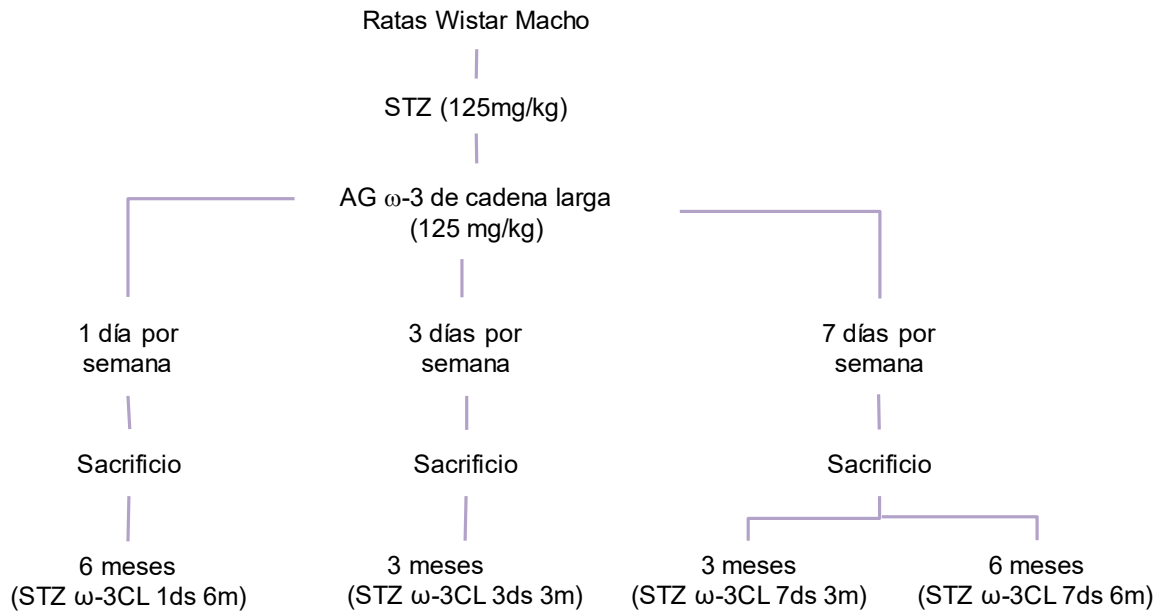


Figura 1. Esquema de dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga a ratas inducidas a diabetes mellitus tipo 2.



Determinación de los parámetros fisiológicos

Se realizó curva de tolerancia a la glucosa (CTG) mediante la administración oral (con sonda esofágica) de 2g de dextrosa/kg de peso en 1 mL de agua, previa medición de concentración basal de glucosa sanguínea. Posterior a la administración de dextrosa, se realizaron mediciones de las concentraciones de glucosa en sangre cada 30 minutos hasta 120 minutos, con un equipo Accutrend® de Roche. Las mediciones de peso y glucosa se realizaron semanalmente y la CTG una vez al mes.

Lineamientos de bioética

Para la realización de este estudio se siguieron las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM 062-ZOO-1999) y AVMA Guidelines on Euthanasia (2007).



Obtención de muestras

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (45 mg/kg) y exsanguinados por punción cardiaca. Los riñones se extrajeron y se resecaron para su evaluación macroscópica (diagnóstico de tumores). Posteriormente los riñones se cortaron en secciones con la finalidad de obtener muestras de los diferentes grados de crecimiento del tumor como se muestra en la figura 2. Además, se tomaron muestras para realizar el estudio microscópico (histología).

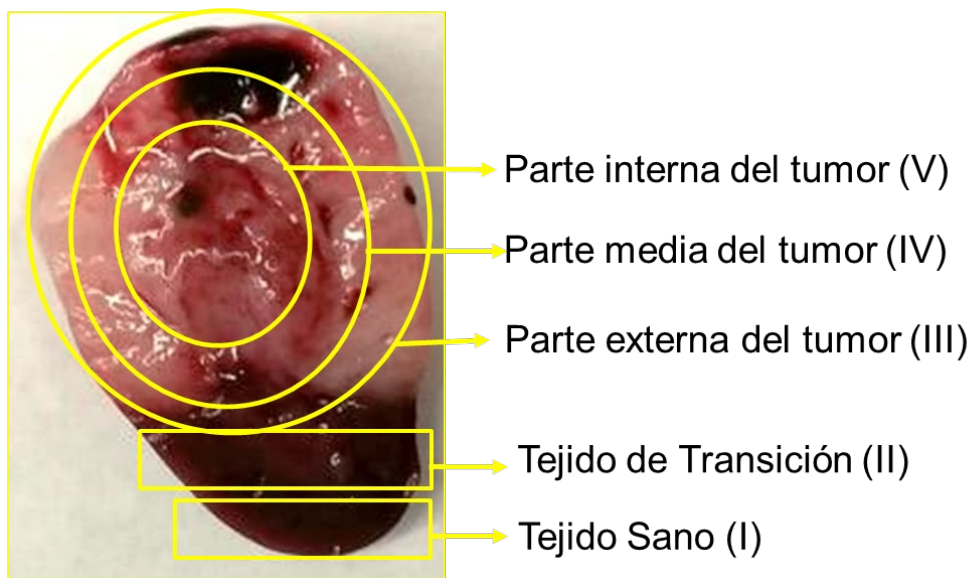


Figura 2. Secciones en las que fue dividido el tejido y el tumor renal de ratas inducidas a diabetes 2 y dosificación de ácidos grasos ω -3 de cadena larga.



Procesamiento de las muestras

Extracción de lípidos de tejido normal y tumor neoplásico

Una vez diseccionadas las muestras, se extrajeron los lípidos de cada sección mediante el método de Folch (1957), para lo cual, las muestras se pusieron en un homogeneizador tipo Tenbroeck y se les adicionó 5 mL de la mezcla de cloroformo-metanol (2:1), 5 mL de cloroformo y 5 mL de agua bidestilada, homogeneizando entre cada adición de solvente, al término, se obtuvo un sistema, de dos fases (acuosa y clorofórmica), el cual fue filtrado. Por último, se colectó la fase clorofórmica, en viales de vidrio de 20 mL, y se evaporó el solvente bajo una corriente de nitrógeno.

Obtención de metil-ésteres de tejido normal y tumor renal

Para la obtención de metil-ésteres se utilizó el método de Morrison y Smith (1964), primero se le adicionó 1 mL de cloroformo a los viales de vidrio que contenían las muestras (para resuspender los lípidos extraídos), se tomaron alícuotas de 100 μ L y se depositaron en viales de vidrio de 4 mL, consecutivamente, se evaporó el solvente con nitrógeno gaseoso. Posteriormente, a cada vial se les agregó 500 μ L de trifloruro de boro [14%] en metanol, se colocaron a una atmósfera de nitrógeno por 15 segundos y se mantuvieron en baño maría durante 30 minutos a temperatura de ebullición del agua. Una vez transcurrido el tiempo, los viales se retiraron del baño maría, se dejaron enfriar y se les adicionó 2 mL de hexano y 1 mL de agua bidestilada, con la finalidad de obtener dos fases. Finalmente, se colectó la fase hexánica y se vaporó el solvente con nitrógeno gaseoso; los viales fueron almacenados a -20 °C y fueron protegidos de la luz para su posterior análisis.



Análisis de ácidos grasos de tejido normal y tumor renal

Los metil-ésteres se resuspendieron en 50 μL de hexano y 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 encargada de la separación de ácidos grasos es una columna capilar Omegawax de diámetro interno de 0.25 mm y 30 m de longitud, el gas acarreador fue nitrógeno. Se inyectaron 4 μL de muestra, la identificación de ácidos grasos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención con metil ésteres estándares y por el análisis de las áreas bajo los picos que presentaban los ácidos grasos registrados en el cromatograma. Los resultados se reportaron en mol%.

Medición de fluidez lipídica de tejido normal y tumor renal

Para medir la fluidez, primero, fue necesario conocer el contenido de fosfolípidos membranales los cuales se determinaron por el método de Bartlett (1959), como se describe a continuación. A los viales que contenían los lípidos extraídos, se les agregaron 1 mL de cloroformo para resuspender los lípidos, se tomaron alícuotas de 10 y 20 μL y se colocaron en tubos de ensaye, posteriormente se evaporó el solvente con nitrógeno gaseoso, se les añadió 0.5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) [10 N] para después calentarse a 160 $^\circ\text{C}$ durante 4 horas. Se dejaron enfriar y se les adicionaron 100 μL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) [30%] y se calentaron nuevamente por 2 horas más. Se elaboró una curva patrón con una solución estándar [1 $\mu\text{g}/\text{mL}$] de fósforo inorgánico (Pi), los intervalos de la curva fueron de 0.5 mL de 0 hasta 4mL, a cada tubo se les agregó 0.5 mL de H_2SO_4 [10 N], 200 μL de heptamolibdato [5%], 200 μL de reactivo de Fiske-Subbarow (preparado semanalmente) y agua bidestilada hasta completar un volumen total de 5.3 mL; entre cada adición los tubos fueron homogeneizados y las muestras fueron procesadas como blanco. Inmediatamente, los tubos se colocaron en baño maría a temperatura de ebullición del agua durante 7 minutos y se midió su absorbancia a una longitud de onda de 830 nm. Posteriormente se realizaron los cálculos pertinentes para determinar los μmoles de Pi contenidos en cada muestra.



Para la medición de fluidez se formaron liposomas y se utilizó el monitor fluorescente 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH). El DPH fue disuelto en dimetil sulfóxido a una concentración final de 2mM, posteriormente se diluyó con etanol hasta una concentración de 0.2 μ M. Los fosfolípidos fueron resuspendidos en 1 mL de cloroformo, con los cálculos realizados anteriormente, se tomaron los volúmenes pertinentes para obtener 0.05 μ moles de Pi y se vertieron en tubos de vidrio, se evaporó el solvente con nitrógeno gaseoso, se adicionó el DPH disuelto en etanol y se evaporó nuevamente el solvente, posteriormente el contenido se resuspendió en 0.5 mL de PBS, se introdujo por 5 minutos en un sonicador de baño AS2060B Autosciencice®, se dejó reposar 30 minutos y se volvió a sonicar durante 5 minutos más. Por último, se midió la polarización de fluorescencia en un espectrofluorómetro Perkin Elmer LS55 equipado con portaceldas termostatzables y agitación independiente. Las muestras y el monitor fluorescente se manejaron a una relación 500:1, por lo que las concentraciones finales fueron de 100 μ M y 0.2 μ M respectivamente. El fluoróforo se excitó a una λ de 365 nm y la emisión fue leía a una λ de 440 nm a una temperatura constante de 23 °C.

Histología

Las muestras se fijaron en formaldehído [10%] y se procesaron como se describe a continuación: los especímenes se cortaron de forma longitudinal y se colocaron en cassettes para su posterior inclusión. Se realizaron cortes de 7 μ m y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Por último, los cortes se observaron en un microscopio óptico Zeiss modelo Axiostar equipado con un objetivo 40x acromático con apertura numérica 1.25, acoplado a una cámara Canon y programa EOS-1000D.



RESULTADOS

Peso

En el presente estudio se observó que el peso promedio de las ratas diabéticas tipo 2 suplementadas con AG ω -3 CL se encuentra en un rango que va de 273 a 407 g en el grupo dosificado 3 días por semana (STZ ω -3CL 3 d/s) y de 286 a 401 g al grupo que fue dosificado 7 días por semana (STZ ω -3CL 7 d/s) a los 3 meses de edad. A los 6 meses de edad se observa una diferencia de 193 g en los animales del grupo con AG 1 día por semana (STZ ω -3CL 1 d/s) y de 151 g en el grupo con esquema de 7 días por semana (STZ ω -3CL 7 d/s) entre el valor mayor y el menor en ambos grupos. El incremento de peso varía hasta 438 g (6m) en los animales que recibieron una dosis por semana, 353 g (3m) en el grupo con tratamiento de 3 días por semana y por último de 300 g (3m) y 406 g (6m) en el grupo con tratamiento de 7 días por semana (figura 3A). Es importante señalar que la mayoría de los individuos que presentaron tumor (rata 3 del grupo STZ ω -3CL 1 d/s 6m, rata 5 del grupo STZ ω -3CL 3 d/s 3m, ratas 4 y 5 del grupo STZ ω -3CL 7 d/s y ratas 3 y 4 del grupo STZ ω -3CL 7 d/s 6m) tienen una menor ganancia de peso (g) respecto a los individuos sanos de su misma estirpe y edad (figura 3B).



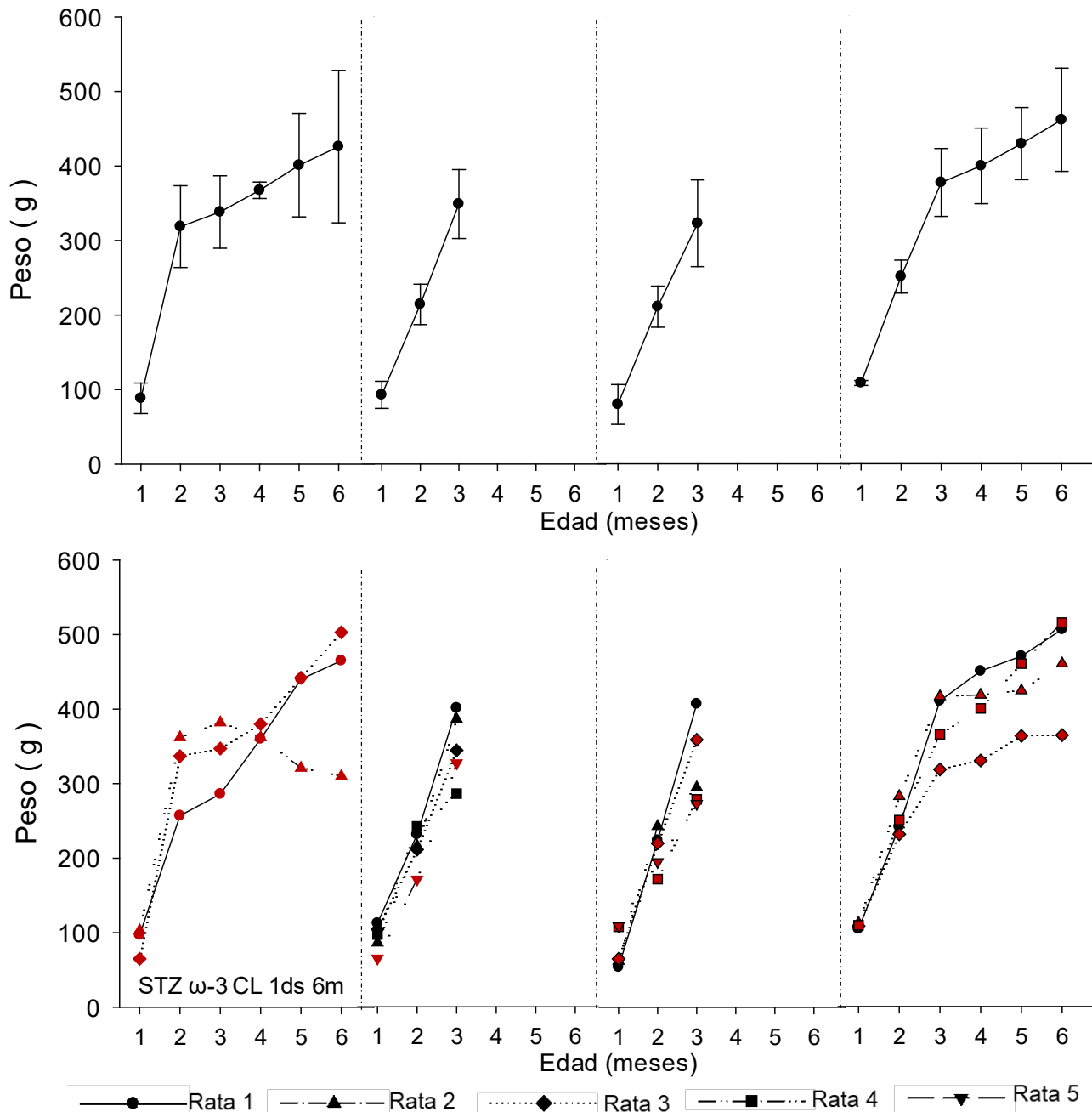


Figura 3. Curvas de crecimiento de ratas inducidas a diabetes tipo 2, suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga. A) Promedio; B) Valores Individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor. STZ ω -3CL1ds 6m, ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana; STZ ω -3CL3ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana; STZ ω -3CL7ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga; STZ ω -3CL7ds 6m, ratas diabéticas tipo2 de 6 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.



Glucosa

El efecto de los AG ω -3CL sobre la concentración de glucosa en ratas inducidas a DMT2 se puede observar en la figura 4. Los animales que fueron suplementados en un esquema de un día por semana (STZ ω -3CL 1 d/s) presentan una diferencia de 4.7 veces entre el sujeto con menor concentración (117 mg/dL) y el de mayor concentración (552 mg/dL) a los 6 meses de edad. Respecto a los animales que fueron suplementados en razón de 3 días por semana (STZ ω -3CL 3 d/s) se observa un incremento de 1.6 veces con un rango de 101 a 162 mg/dL a los 3 meses de edad. Los animales que recibieron el suplemento en un esquema de 7 días a la semana tienen una diferencia de 1.4 veces a los 3 meses (286 y 401 mg/dL) y de 5.08 veces a los 6 meses (89 y 453 mg/dL) entre el mayor y el menor valor encontrados.



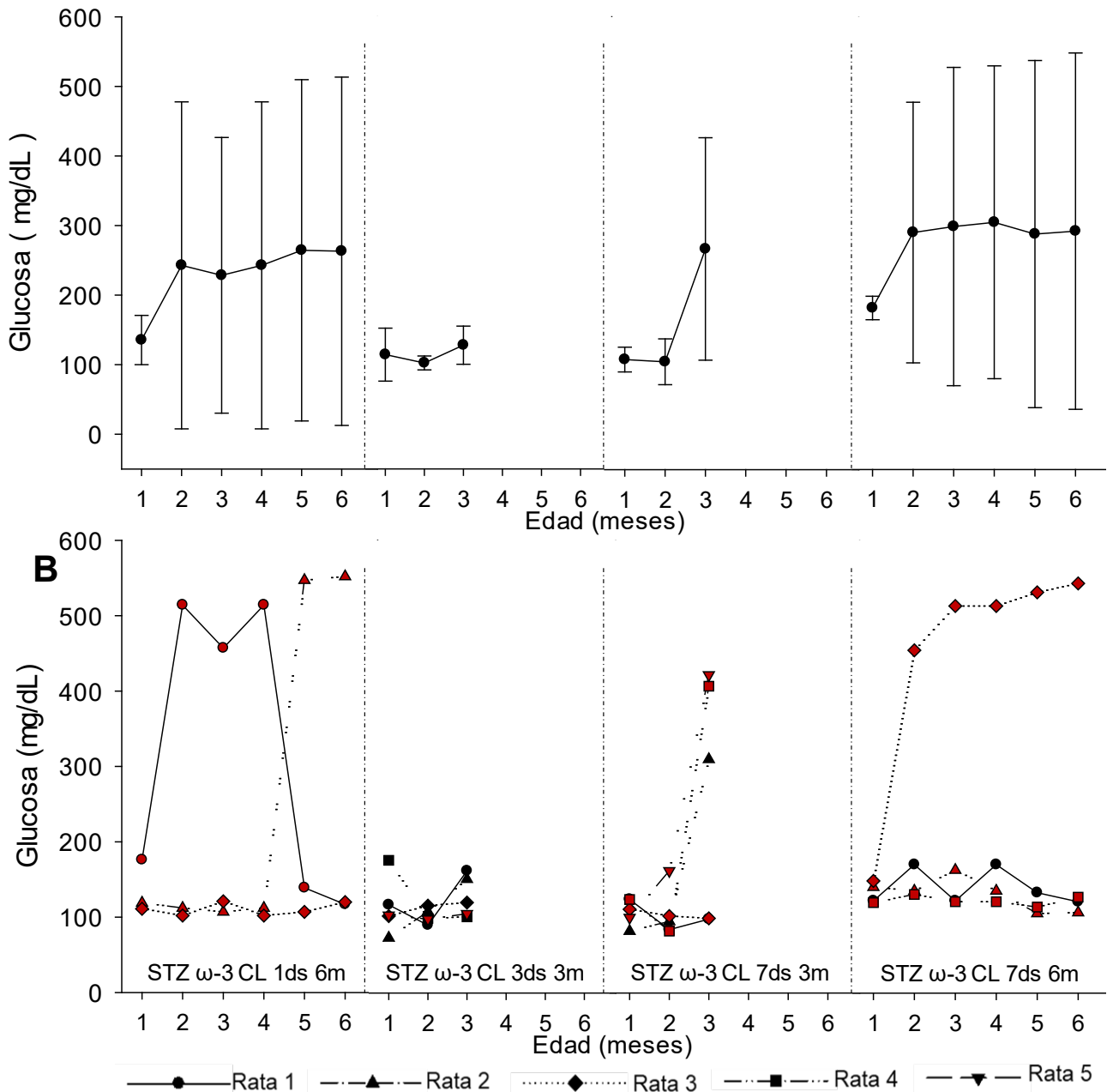


Figura 4. Concentración de glucosa en sangre de ratas inducidas a diabetes tipo 2, suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga. A) Promedio; B) Valores Individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor. STZ ω -3CL1ds 6m, ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana; STZ ω -3CL3ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana; STZ ω -3CL7ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga; STZ ω -3CL7ds 6m, ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.



Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG)

Una de las pruebas más utilizadas para el diagnóstico de la diabetes es la curva de tolerancia a la glucosa. En el presente estudio se encontró que el 100% de los animales inducidos son diabéticos debido a que el 50% incrementó la concentración de glucosa en sangre por arriba de 160 mg/dL a los 30 minutos después del desafío con dextrosa (2 g/kg) en más de tres ocasiones. El 50% restante incrementó la glicemia por arriba de los 200 mg/dL más de 4 ocasiones. Como se puede observar en las figuras 5 (STZ w-3CL 1d/s 6m), 6 (STZ w-3CL 3d/s 3m), 7 (STZ w-3CL 7d/s 3m) y 8 (STZ w-3CL 7d/s 6m), más del 50% de las veces en las que se realizó el estudio los animales no alcanzaron el valor basal después de dos horas de iniciada la prueba.



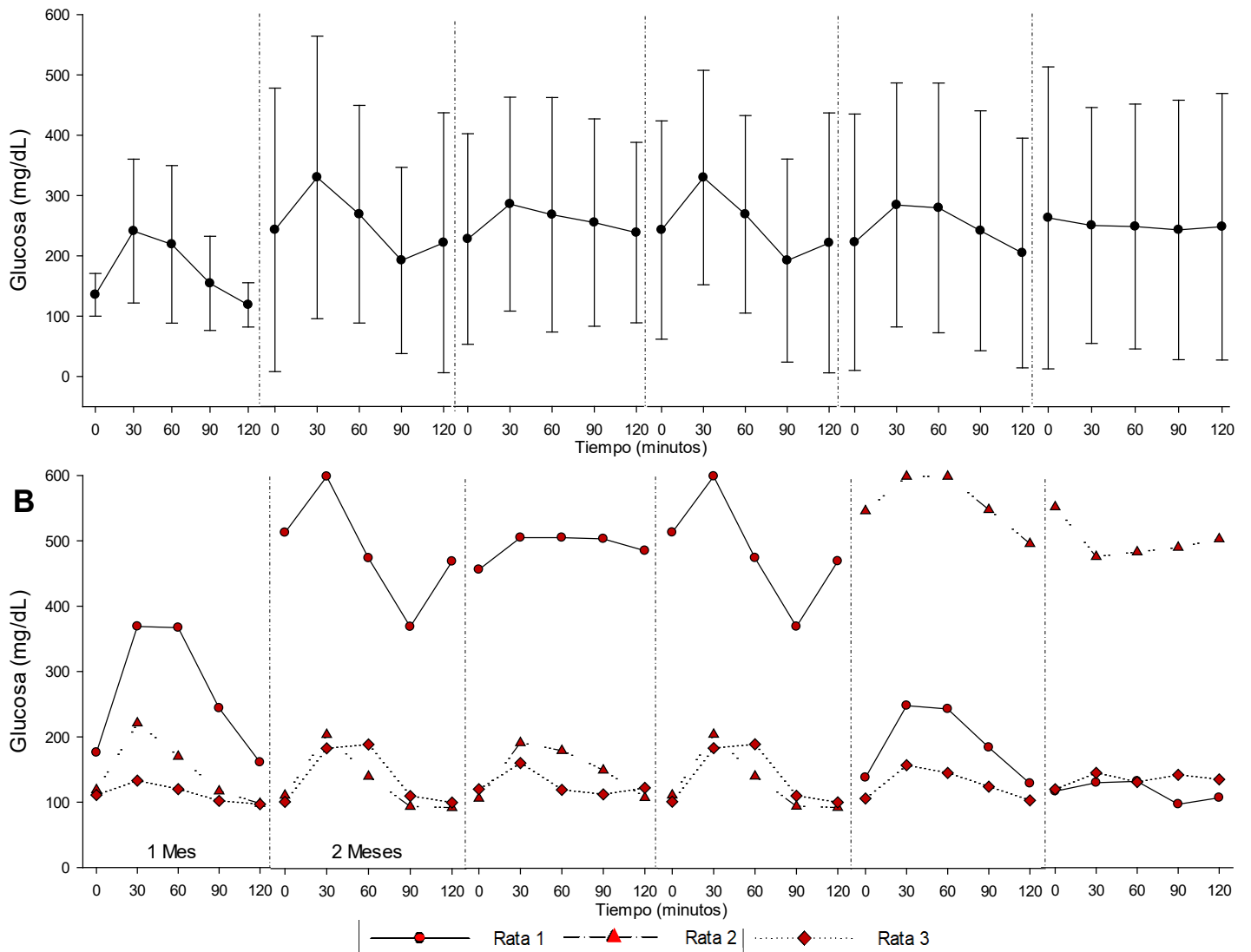


Figura 5. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana. A) Promedio; B) Valores Individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor.



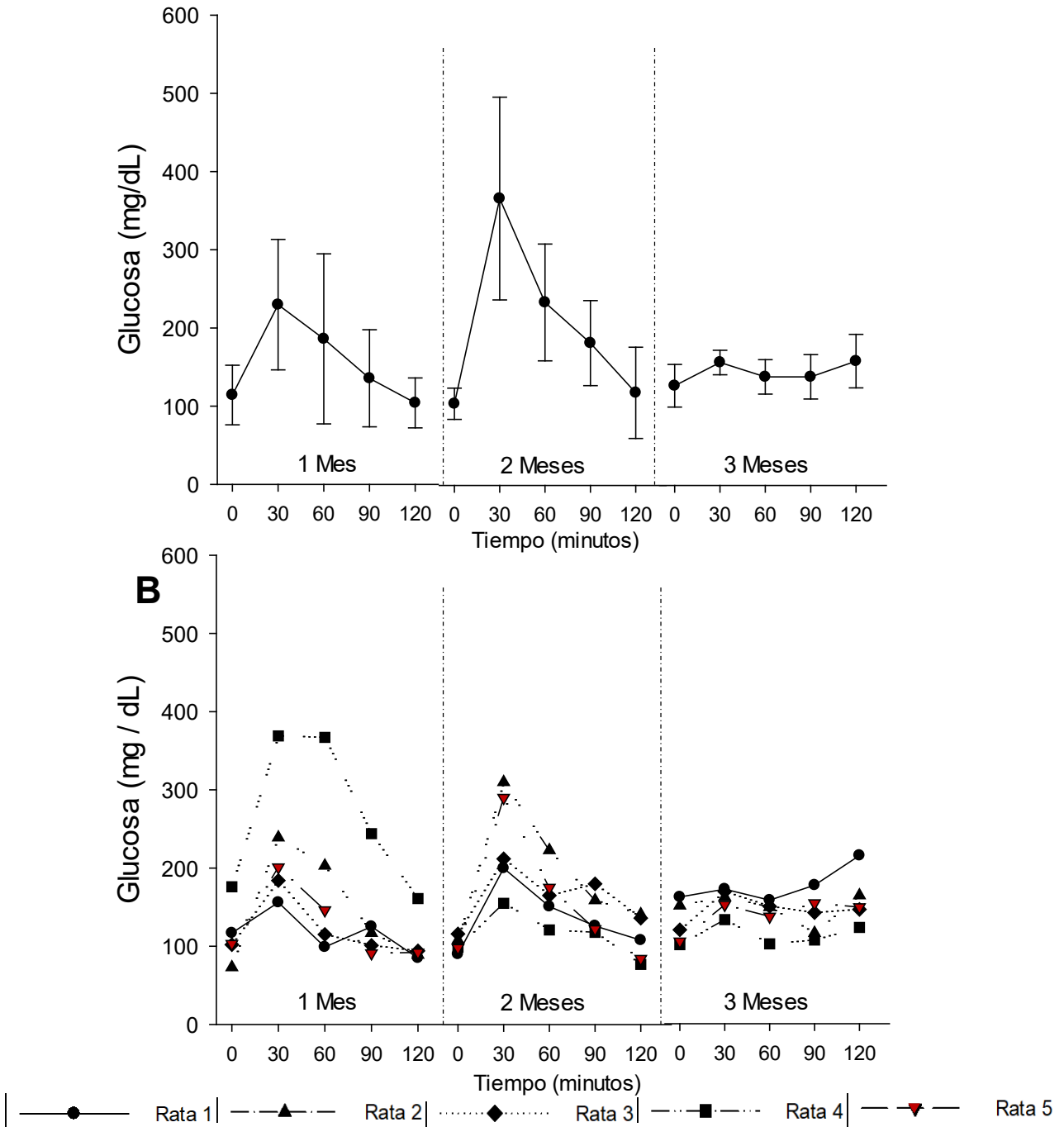


Figura 6. Curva de Tolerancia a la Glucosa de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana. A) Promedio; B) Valores individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor.



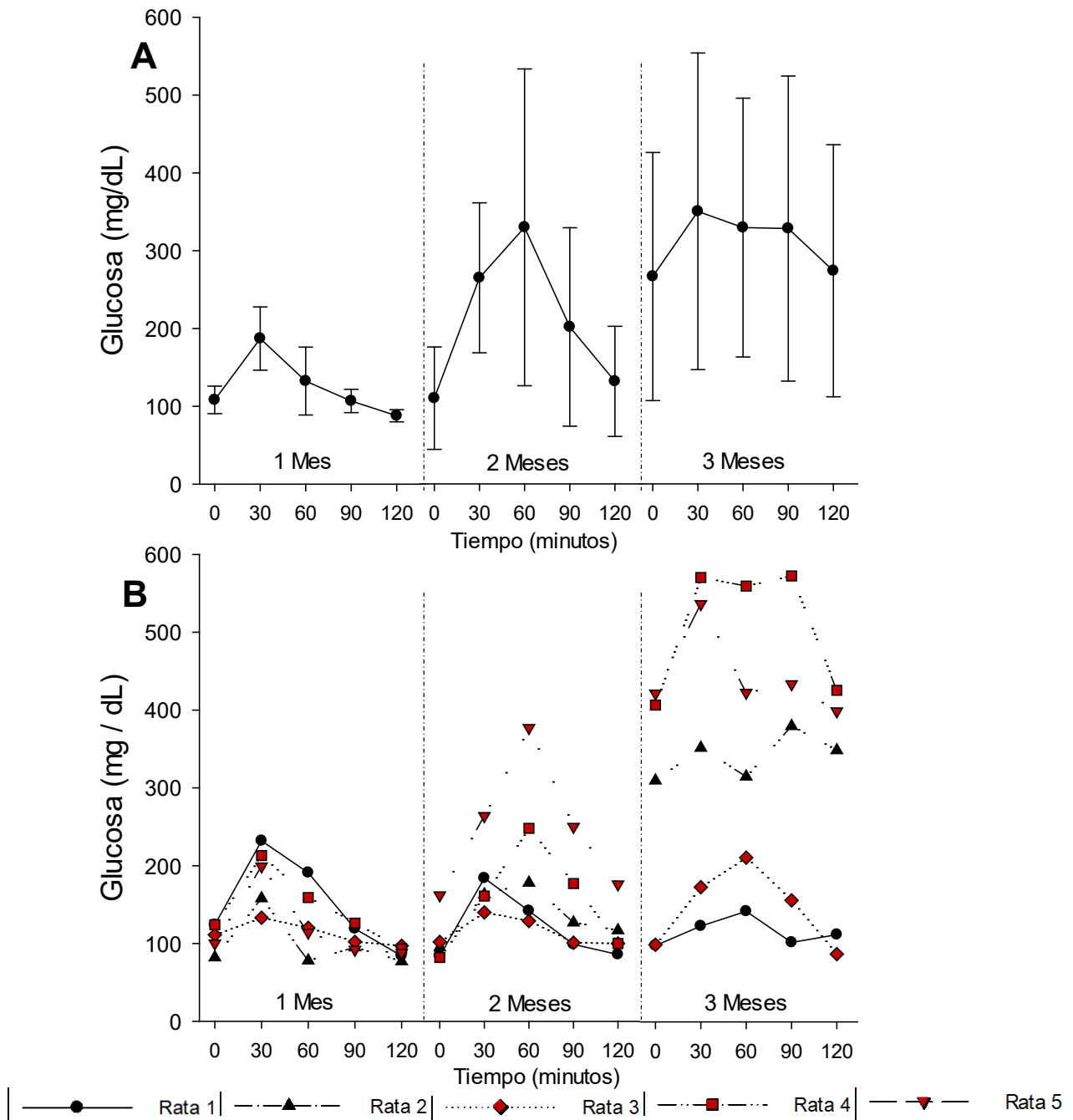


Figura 7. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas, tipo 2 de 3 meses de edad y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga. A) Promedio; B) Valores Individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor



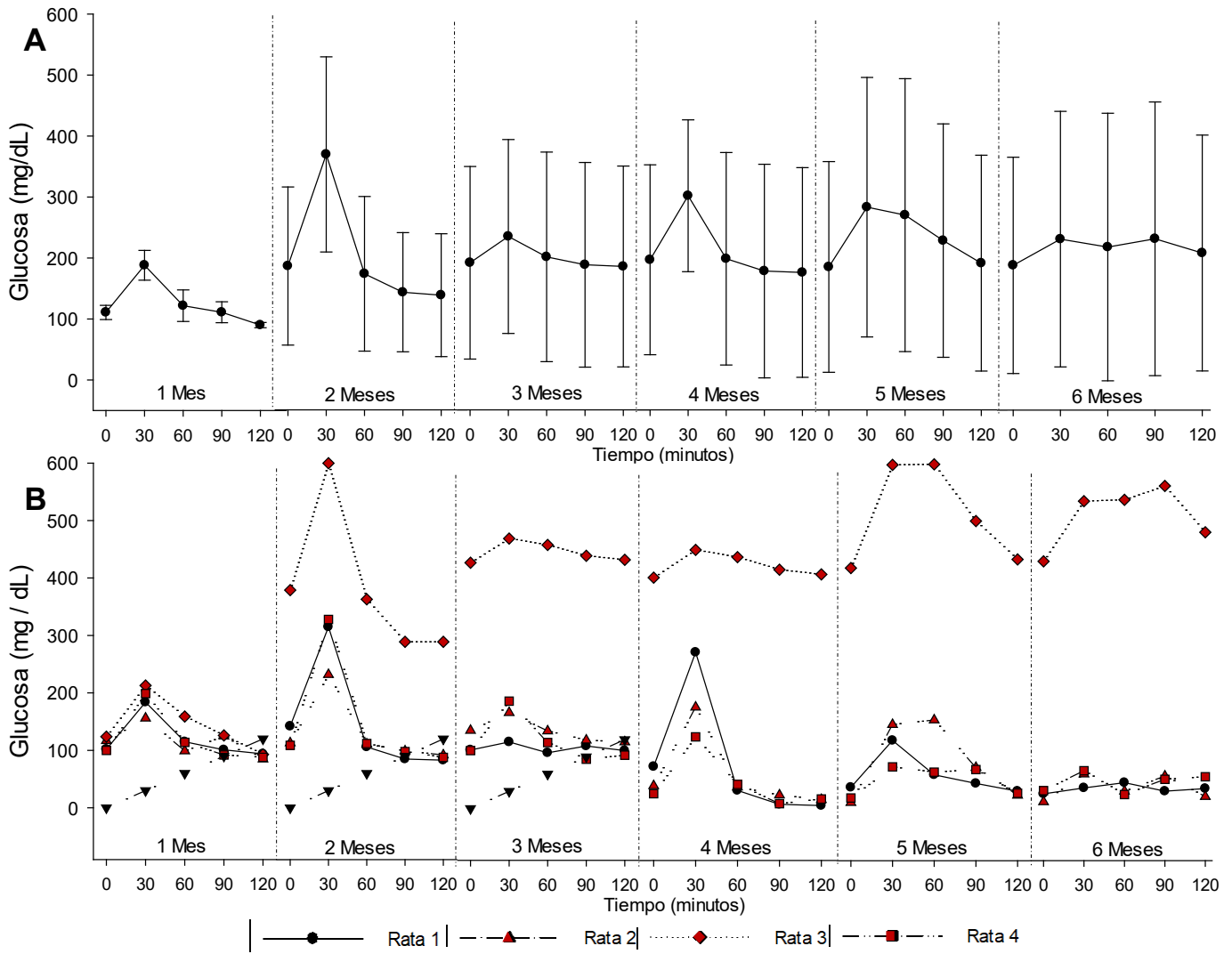


Figura 8. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga. A) Promedio; B) Valores Individuales. En negro ratas diabéticas sin tumor y en rojo ratas diabéticas con tumor.



Incidencia de tumor renal

El desarrollo de tumor renal en ratas inducidas a DMT2 con STZ (figura 9) se presentó en el 20% en los animales que recibieron dosificación 3 días por semana (STZ ω -3CL 3d/s) y del 60% en el grupo suplementado durante 7 días por semana (STZ ω -3CL 7d/s) durante 3 meses. En los grupos suplementados durante 6 meses se observó la presencia de tumor renal en el 60% de los individuos tanto en el grupo que recibió un esquema de suplementación de 1 día por semana (STZ ω -3CL 1d/s) como en aquellos individuos a los que fueron suplementados 7 días por semana (STZ ω -3CL 7d/s).

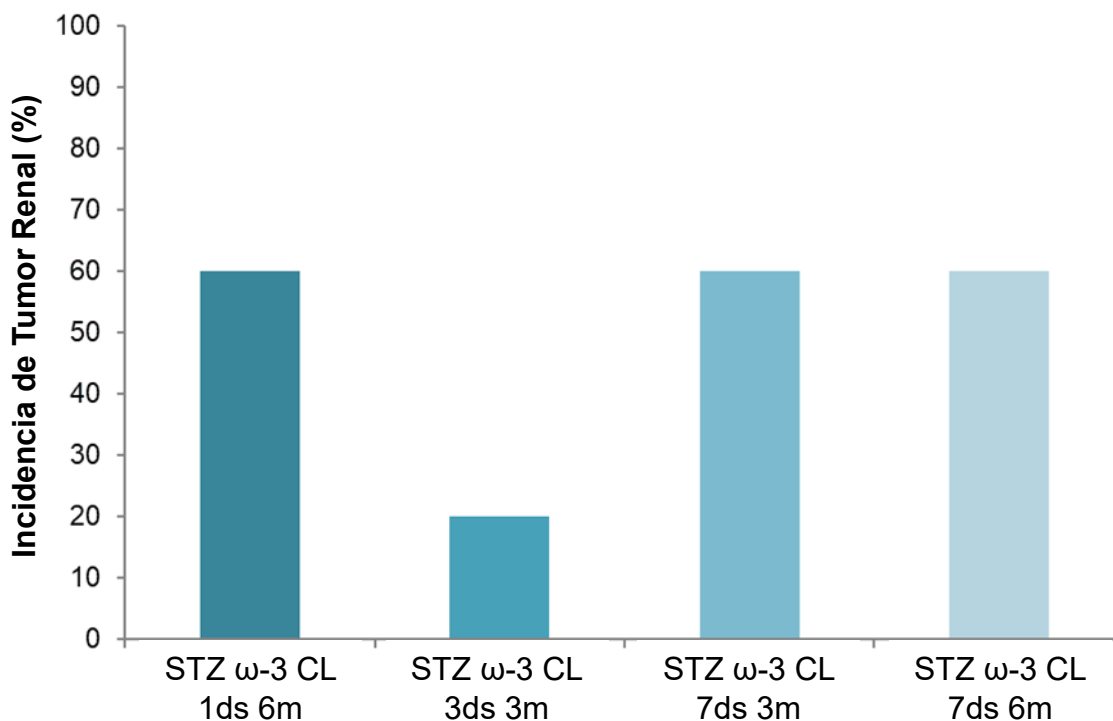


Figura 9. Porcentaje de incidencia de tumor renal de ratas diabéticas tipo 2 con diferente dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga. STZ ω -3CL1ds 6m, ratas diabéticas tipo 2 de 6 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana; STZ ω -3CL3ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana; STZ ω -3CL7ds 3m, ratas diabéticas tipo 2 de 3 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga; STZ ω -3CL7ds 6m, ratas diabéticas tipo2 de 6 meses de edad dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga.



En la figura 10 se puede observar que el crecimiento de los tumores en ratas diabéticas tipo 2 es variable, y el peso del órgano (0.4 g) incrementó en un rango de 0.15 a 0.48 g. Asimismo, se puede observar en la figura 10 en el 100% de los individuos que desarrollaron tumor renal la neoplasia tiende a crecer en el polo craneal del órgano. En el estudio macroscópico de los riñones se encontró que la consistencia del tumor (dureza) es mayor al tacto que en el tejido normal. También se observó un gran número de quistes (con abundante contenido de orina) distribuidos dentro del tejido tumoral, la coloración de este tejido es más pálida comparada con el órgano normal.

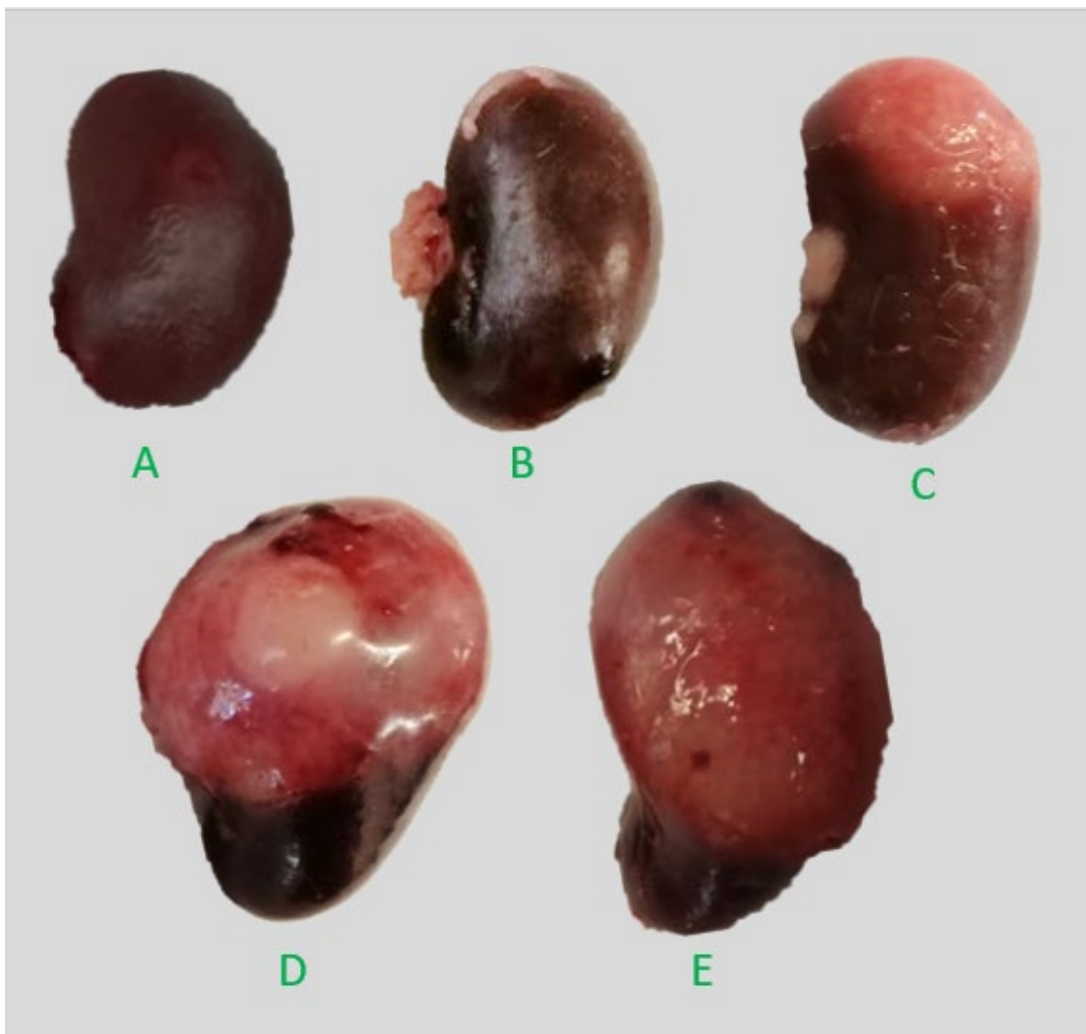


Figura 10. Fotografías del riñón izquierdo de ratas inducidas a diabetes tipo 2 con suplementación diaria de ácidos grasos ω -3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7d/s 6m). A, rata 1; B, rata 2; C, rata 3; D, rata 4 y E, rata 5.



Estudio histopatológico

Durante la necropsia, los animales presentaron estado de emaciación de moderado a severo, pelo hirsuto y piel queratinosa. En la inspección de los órganos se pudo apreciar palidez del hígado, riñones, bazo y corazón, intestino distendido con materia fecal casi líquida. Páncreas hipoplásico de color rosa perlado y puntilleo hemorrágico. Cavidad abdominal con adherencias múltiples en la zona renal derecha, que se extienden hacia la zona caudal del hígado y estómago y hacia la línea media envolviendo al páncreas y la cara dorsal del bazo. El riñón izquierdo del 50% de los animales en estudio presentó crecimiento tumoral de entre 0.8 y 3.2 cm. La masa tumoral era sólida, de color blanco nacarado, con múltiples nódulos, localizada en el polo craneal con expansión hacia la zona caudal (figura 10) en el 100% de los casos estudiados. A la disección del tumor se puede observar una zona hemorrágico-necrótica en la porción central interna, con abundante líquido.

En el estudio histopatológico del crecimiento tumoral de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 con STZ (125 mg/kg) se observa desarrollo neoplásico tanto en la zona epitelial como en la medular en el 100% de los casos estudiados. En la figura 11A se puede observar el desarrollo de carcinoma renal caracterizado por la presencia de células claras con citoplasma de aspecto finamente granular, pálido y espumoso. Asimismo el crecimiento celular es desordenado y células mitóticamente activas, tumor mesenquimal (figuras 11B y 11C), láminas de células redondas o fusiformes indiferenciadas dispuestas de forma libre, con escaso citoplasma de contorno celular claro, núcleos hiper cromáticos y mitosis moderada (figura 11B) evidente en tumores de inicio o crecimiento de moderado a leve, áreas quísticas y nidos de células poligonales eosinófilas (crecimiento tumoral masivo), empaquetadas con núcleos pleomórficos (redondos u ovalados), escasa cromatina



periférica y nucléolos centrales de carácter basófilo y gran tamaño. Además, se pueden observar grandes quistes, áreas de necrosis (figura 11 B).

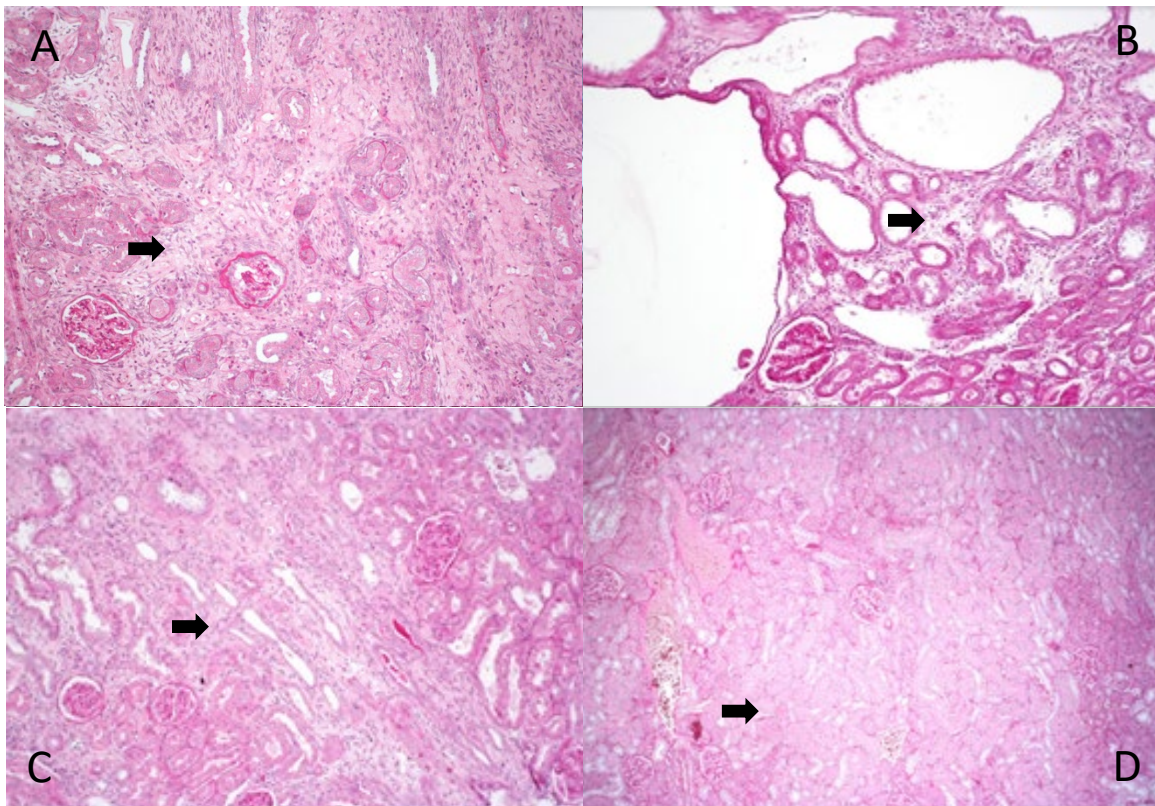


Figura 11. Carcinoma Renal de Células Claras de ratas diabéticas tipo 2 dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga. Tinción de Hematoxilina y Eosina. A, 10X; B, 10 X; C, 10X; D, 5X. ➡ Zona de células claras.



Composición de ácidos grasos

En los resultados obtenidos de la composición de ácidos grasos se puede observar que existe una disminución de los ácidos grasos saturados de aproximadamente el 26.18% entre los grupos que recibieron la suplementación de ácidos grasos durante 3 meses (STZ ω -3CL 3d/s, Tabla 2 y STZ ω -3CL 7d/s, Tabla 3) comparados con aquellos individuos que fueron suplementados por un periodo de 6 meses (STZ ω -3CL 1d/s, Tabla 1 y STZ ω -3CL 7d/s, Tabla 4); independientemente del esquema administrado. En el caso de los ácidos grasos insaturados existe un incremento de entre el 13.83 y del 16.52 en los individuos tratados por un periodo de 3 meses en comparación con aquellos que tenían un esquema de 6 meses.

Para comprender mejor el metabolismo de los ácidos grasos en el tumor renal se diseñó un esquema para seccionar los tumores mediante el cual se obtuvieron 5 diferentes secciones las cuales corresponden a: tejido normal (I), tejido de transición (II), parte externa del tumor (III), parte media del tumor (IV) y parte interna del tumor (V), asimismo se consideró como tejido normal (I) a aquellos riñones que no presentaron tumor. La composición de ácidos grasos de cada una de las secciones de los tumores se analizó y describe de la siguiente manera:

En los resultados obtenidos en los animales que no presentaron desarrollo de tumor en ninguno de los riñones se puede observar que existe un incremento de 1.71 veces el contenido de ácidos grasos saturados entre los individuos suplementados durante 3 meses (de 36 a 37%) comparados con los que recibieron el tratamiento con 6 meses (63.5%) este resultado es inversamente proporcional en el caso de los ácidos grasos insaturados (61.5% 3 meses; y 34.5% 6 meses). En los riñones donde se desarrolló el tumor se observa que la misma sección (I) la composición de ácidos grasos saturados (desde 37 hasta 44%) es siempre menor que la de los ácidos grasos insaturados (desde 54 hasta 62%) independientemente del esquema y tiempo de dosificación.



Respecto a la sección denominada de transición (II) se puede observar que la composición de ácidos grasos saturados es menor (15.4% STZ ω -3CL 3ds 3m, 20.61% STZ ω -3CL 7ds 3m, 19.45% STZ ω -3CL 1ds 6m y 8.38% STZ ω -3CL 7ds 6m) que la de los insaturados independientemente del tipo de esquema y duración del tratamiento. Para la parte externa del tumor (III) se puede observar un comportamiento semejante a la sección II (20.6%, 14.63%, 1.41% y 12.12% respectivamente); sin embargo, es importante señalar que mientras que en la sección II los grupos STZ ω -3CL 7ds 3m y STZ ω -3CL 1ds 6m tienen la mayor diferencia entre los ácidos grasos saturados e insaturados ésta es inversa en los mismos grupos en la parte externa del tumor (III). En la parte media del tumor (IV) se puede observar un comportamiento parecido al de la sección I (de los animales que no desarrollaron tumor) donde en los grupos STZ ω -3CL 3ds 3m y STZ ω -3CL 7ds 6m la concentración de ácidos grasos saturados es menor (11.59% y 5.66% respectivamente) mientras que en los grupos STZ ω -3CL 7ds 3m y STZ ω -3CL 1ds 6m tienen una menor concentración de estos mismos ácidos grasos (3.78% y 3.22% respectivamente). Los resultados de la sección interna del tumor (V) son muy parecidos a los de la sección III observándose una disminución de la concentración de ácidos grasos saturados independientemente del esquema y tiempo de tratamiento (21.42% STZ ω -3CL 3ds 3m, 11.41% STZ ω -3CL 7ds 3m, 0.53% STZ ω -3CL 1ds 6m y 7.35% STZ ω -3CL 7ds 6m). Es importante señalar que en los animales que recibieron el tratamiento de 1 día por semana durante 6 meses parece no haber diferencia entre la concentración de ácidos grasos saturados y los insaturados.

Los resultados del índice de fluidez obtenidos como un cociente entre los ácidos grasos saturados y los insaturados (I/S) muestran que existe una menor fluidez (2.66 veces) en el tejido sin desarrollo tumoral (I) en los individuos que recibieron un esquema de suplementación de 7 días 6 meses (STZ ω -3CL 7ds 6m), este mismo fenómeno se presenta, con menor intensidad (1.15 veces), en el tejido renal cuando hay desarrollo tumoral. Analizando las diferentes secciones del tumor se observó que en el tejido de transición (II) y la parte interna del tumor (V) la fluidez es mayor en los grupos de 3 meses cuando se incrementa el número de días de



suplementación de AG ω -3CL a los individuos y tiene un efecto inverso a los 6 meses, mientras que en las partes externa y media del tumor (III y IV respectivamente) el índice de fluidez tiende a ser menor en los esquemas de 7 días 3 meses (STZ ω -3CL 7ds 3m) y de 1 día 6 meses (STZ ω -3CL 1ds 6m).

Los resultados del índice de fluidez (I/S) muestran que existe una menor fluidez (2.66 veces) en el tejido sin desarrollo tumoral en los individuos que recibieron un esquema de suplementación de AG ω -3CL de 7 días 6 meses, este mismo fenómeno se presenta, con menor intensidad (1.15 veces), en el tejido renal cuando hay desarrollo tumoral. Analizando las diferentes secciones del tumor se observó que en el tejido de transición (II) y la parte interna del tumor (V) la fluidez es mayor en los grupos de 3 meses cuando se incrementa el número de días de suplementación de AG ω -3CL a los individuos y tiene un efecto inverso a los 6 meses, mientras que en la parte externa del tumor (III) y la parte media del tumor (IV) el índice de fluidez tiende a ser menor en los esquemas de 7 días 3 meses y de 1 día 6 meses.



Tabla 1. Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 6 meses de edad, con suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana (STZ ω -3CL 1ds 6m)

Ácidos grasos	Rata 1				Rata 2					Rata 3				
	I	II	III	V	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Mirístico (14:0)	0.79±0.04	2.83±0.27	2.22±0.28	1.24±0.07	0.76±0.04	1.22±0.13	1.69±0.03	2.06±0.08	2.25±0.06	0.60±0.06	0.54±0.01	1.85±0.15	1.80±0.50	1.53±0.49
Pentadecanoico (15:0)	0.29±0.06	0.92±0.10	0.56±0.03	0.35±0.03	0.25±0.04	0.23±0.03	0.35±0.05	0.33±0.004	0.50±0.03	0.17±0.01	0.29±0.01	0.34±0.07	0.52±0.19	0.35±0.11
Palmitico (16:0)	21.37±0.06	27.50±0.06	26.55±0.59	20.18±0.46	20.00±0.24	21.93±0.19	25.70±0.57	26.48±0.88	25.20±2.11	20.11±0.53	18.65±0.52	30.57±1.09	28.31±3.36	33.79±2.76
Palmitoleico (16:1)	0.75±0.39	3.46±0.24	1.48±0.42	1.24±0.13	0.97±0.07	1.08±0.16	1.57±0.48	2.30±1.04	1.96±0.16	0.30±0.08	0.54±0.11	1.17±0.02	1.33±0.04	1.46±0.19
Heptadecanoico (17:0)	0.41±0.06	0.72±0.23	0.59±0.19	0.37±0.09	0.40±0.04	0.23±0.17	0.58±0.10	0.59±0.08	0.55±0.14	0.34±0.17	0.34±0.05	0.90±0.12	0.60±0.13	0.63±0.30
Estearico (18:0)	22.59±0.71	15.80±0.58	11.61±0.66	17.39±0.36	19.39±0.36	11.71±0.62	17.28±0.90	17.06±0.37	18.04±0.71	18.08±0.46	12.50±0.67	19.63±0.73	20.31±3.55	21.33±2.35
Oleico (18:1)	9.05±0.91	26.09±0.84	22.15±1.59	16.61±0.16	12.71±1.08	30.56±1.89	23.61±0.92	23.64±2.0	24.66±0.69	12.69±0.38	19.15±0.50	27.39±1.38	9.98±2.66	24.43±6.35
Linoleico (18:2)	9.84±0.54	7.36±0.97	13.34±0.95	12.02±1.18	11.96±0.71	21.78±0.78	8.25±0.63	5.14±0.43	7.0±0.68	16.89±0.30	20.85±0.16	3.01±0.52	1.11±0.59	2.53±0.16
Linolénico (18:3)	0.20±0.17	0.23±0.10	0.49±0.18	0.13±0.05	0.20±0.11	0.49±0.12	0.19±0.08	0.19±0.07	0.18±0.10	0.16±0.02	0.34±0.08	0.54±0.15	0.37±0.17	0.53±0.33
Araquídico (20:0)	0.95±0.11	0.5±0.17	0.33±0.12	0.17±0.05	0.18±0.05	0.20±0.09	0.30±0.11	0.34±0.11	0.38±0.05	0.16±0.007	0.16±0.04	0.40±0.05	0.39±0.08	1.20±0.40
Eicosaenoico (20:1)	2.47±0.12	0.46±0.14	6.36±0.28	0.22±0.11	0.22±0.10	0.24±0.05	0.53±0.14	0.56±0.07	0.86±0.04	0.29±0.07	0.21±0.07	0.83±0.44	9.91±0.23	0.38±0.23
Araquidónico (20:4)	20.20±0.74	4.98±1.27	2.63±0.60	20.66±0.90	25.22±2.21	6.65±0.91	11.13±0.78	10.25±1.30	8.93±1.46	20.61±0.26	17.0±2.23	2.41±0.63	1.66±0.86	2.78±0.75
EPA (20:5)	0.75±0.09	1.49±0.56	1.22±0.41	1.53±0.40	0.72±0.33	0.24±0.11	0.50±0.22	0.73±0.34	0.59±0.15	0.42±0.03	0.55±0.06	0.83±0.44	2.13±2.62	0.72±0.69
Erúcico (22:1)	0.20±0.09	0.72±0.10	0.24±0.04	0.40±0.05	0.48±0.10	0.19±0.09	0.27±0.08	0.60±0.32	0.54±0.09	0.24±0.04	0.21±0.02	0.88±0.23	1.06±0.93	0.79±0.18
Lignocérico (24:0)	1.48±0.52	0.73±0.14	0.51±0.06	1.19±0.21	1.17±0.25	0.48±0.09	1.06±0.07	0.94±0.14	0.97±0.07	1.71±0.13	1.74±0.24	1.12±0.31	1.08±0.23	4.06±0.23
DHA (22:6)	5.27±0.16	5.60±0.41	6.55±0.73	5.07±0.18	2.66±1.12	1.77±0.25	3.26±0.18	3.76±0.15	4.33±0.06	6.27±0.07	5.18±0.33	7.59±0.23	21.01±1.32	2.68±0.72
NI	3.37±0.82	0.77±0.28	3.19±0.50	1.22±0.31	2.71±1.12	1.0±0.23	3.42±0.56	5.02±0.33	3.06±0.05	0.96±0.45	1.73±0.57	0.49±0.28	0.81±0.25	0.90±0.44
Saturados	47.88±0.75	48.85±0.86	42.36±0.79	40.89±0.59	42.15±0.46	36.0±0.74	46.97±1.31	47.80±0.75	47.90±2.18	41.17±0.51	34.24±1.19	54.85±1.15	49.83±7.62	59.42±5.24
Insaturados	48.74±0.20	50.38±0.88	54.46±0.34	57.89±1.42	55.14±0.93	63.0±0.84	49.31±1.06	47.19±0.49	49.03±2.14	57.88±0.45	64.04±1.76	44.66±0.91	49.36±7.37	39.68±5.51
I/S	1.02±0.02	1.03±0.04	1.29±0.03	1.42±0.04	1.31±0.02	1.75±0.06	1.05±0.05	0.99±0.03	1.03±0.09	1.41±0.03	1.87±0.12	0.81±0.03	0.99±0.30	0.68±0.15

I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosahexaenoico; NI, no identificado; I/S, índice de fluidez (ácidos grasos insaturados sobre ácidos grasos insaturados). $n = 3$, se realizaron 3 inyecciones en el cromatógrafo de gases.



Tabla 2. Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad, con suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 días por semana (STZ ω -3CL 3ds 3m)

Ácidos grasos	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5				
	I	I	I	I	I	II	III	IV	V
Mirístico (14:0)	0.48±0.10	0.48±0.02	0.73±0.16	0.56±0.04	0.69±0.03	0.38±0.01	0.59±0.02	0.54±0.06	0.60±0.06
Pentadecanoico (15:0)	0.22±0.02	0.18±0.02	0.18±0.06	0.22±0.01	0.24±0.02	0.21±0.01	0.17±0.02	0.18±0.04	0.16±0.05
Palmitico (16:0)	19.78±0.33	21.54±0.94	21.82±1.75	17.91±1.45	20.46±0.97	21.22±1.28	21.70±1.74	21.17±1.71	22.98±1.42
Palmitoleico (16:1)	1.36±0.92	1.25±0.84	3.02±0.32	0.43±0.05	0.54±0.07	0.56±0.49	1.25±0.79	0.89±0.16	0.95±0.13
Heptadecanoico (17:0)	0.31±0.06	0.27±0.06	0.27±0.02	0.29±0.06	0.32±0.07	0.31±0.05	0.22±0.01	0.28±0.20	0.12±0.01
Estearico (18:0)	13.68±0.59	14.99±0.46	11.85±0.48	13.20±0.30	14.10±0.42	17.37±0.64	14.64±0.62	18.84±2.15	13.62±1.33
Oleico (18:1)	18.08±0.18	19.12±1.33	22.50±2.62	17.63±2.48	18.94±1.05	11.94±0.57	20.60±1.10	19.76±1.19	21.39±0.87
Linoleico (18:2)	21.39±1.70	17.10±2.36	22.09±0.09	20.67±0.36	21.13±0.74	15.85±1.55	14.66±1.12	7.16±0.53	8.40±0.17
Linolénico (18:3)	0.33±0.03	0.20±0.04	0.39±0.04	0.35±0.05	0.32±0.03	0.11±0.01	0.17±0.04	0.03±0.01	0.11±0.01
Araquídico (20:0)	0.08±0.01	0.17±0.04	0.15±0.03	0.14±0.04	0.11±0.03	0.21±0.05	0.31±0.04	0.38±0.17	0.16±0.03
Eicosaenoico (20:1)	0.09±0.02	0.26±0.04	0.20±0.09	0.18±0.05	0.14±0.09	0.16±0.04	0.26±0.05	0.28±0.05	0.40±0.07
Araquidónico (20:4)	19.87±1.26	15.36±0.71	12.01±0.67	22.72±0.87	17.39±1.27	24.39±2.39	19.81±1.22	22.39±4.24	24.72±3.44
EPA (20:5)	0.37±0.12	0.49±0.22	0.57±0.13	0.42±0.18	0.37±0.03	0.53±0.43	0.22±0.04	0.72±0.16	0.46±0.19
Erúcico (22:1)	0.01±0.01	0.13±0.16	0.07±0.01	0.05±0.01	0.06±0.04	0.04±0.01	0.04±0.01	0.07±0.005	0.06±0.01
Lignocérico (24:0)	0.80±0.16	1.60±0.18	1.06±0.24	1.11±0.30	0.92±0.14	1.50±0.25	1.28±0.14	1.34±0.32	0.77±0.02
DHA (22:6)	2.25±0.03	5.07±0.17	2.23±0.34	2.64±0.07	2.57±0.12	3.08±0.20	2.50±0.34	3.05±0.42	3.36±0.17
NI	0.91±0.48	1.79±0.60	0.87±0.25	1.49±0.28	1.17±0.52	2.15±0.47	1.61±0.54	2.93±1.22	1.75±0.43
Saturados	35.33±1.03	39.24±0.95	36.05±2.12	33.42±1.90	36.84±1.35	41.20±1.82	38.90±1.83	42.74±4.13	38.42±2.75
Insaturados	63.76±1.42	58.97±0.92	63.08±2.34	65.09±2.15	61.99±0.92	56.65±2.10	59.50±2.31	54.33±3.11	59.84±3.06
I/S	1.81±0.09	1.50±0.06	1.76±0.16	1.95±0.18	1.68±0.09	1.38±0.11	1.53±0.13	1.28±0.21	1.57±0.20

I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosahexaenoico; NI, no identificado; I/S, índice de fluidez (ácidos grasos insaturados sobre ácidos grasos saturados). $n = 3$, se realizaron 3 inyecciones en el cromatógrafo de gases.



Tabla 3. Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 3 meses de edad, con suplementación diaria de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ ω -3CL 7ds 3m)

Ácidos grasos	Rata 1	Rata 2	Rata 3			Rata 4					Rata 5			
	I	I	I	II	III-V	I	II	III	IV	V	II	III	IV	V
Mirístico (14:0)	0.56±0.09	0.34±0.01	0.43±0.04	0.45±0.04	0.73±0.09	0.36±0.04	0.42±0.06	0.72±0.01	1.16±0.14	1.13±0.03	0.39±0.03	1.03±0.03	1.24±0.02	0.77±0.34
Pentadecanoico (15:0)	0.31±0.08	0.25±0.04	0.18±0.09	0.24±0.03	0.36±0.02	0.28±0.03	0.18±0.05	0.34±0.01	0.37±0.07	0.31±0.09	0.26±0.04	0.50±0.15	0.90±0.19	0.42±0.14
Palmitico (16:0)	19.67±0.89	18.26±0.92	18.17±0.99	19.65±0.15	22.06±1.73	21.03±0.85	19.21±0.85	20.35±0.50	25.44±0.96	23.10±1.14	18.54±0.12	21.90±1.02	25.98±1.10	22.88±0.96
Palmitoleico (16:1)	0.45±0.03	0.30±0.05	0.87±0.16	0.81±0.08	1.22±0.15	0.70±0.09	0.49±0.07	1.97±0.17	2.12±0.12	2.07±0.08	0.46±0.05	1.76±0.54	2.45±0.56	2.81±0.27
Heptadecanoico (17:0)	0.16±0.09	0.25±0.06	0.28±0.10	0.35±0.14	0.30±0.02	0.39±0.02	0.21±0.11	0.24±0.08	0.55±0.09	0.31±0.01	0.26±0.02	0.27±0.09	0.31±0.03	0.45±0.13
Esteárico (18:0)	13.27±1.08	18.06±1.01	17.04±0.72	19.40±0.63	15.06±0.93	17.27±0.46	16.67±0.32	22.17±1.17	17.30±0.31	15.38±1.50	14.94±0.32	14.95±2.18	24.34±2.01	15.63±2.31
Oleico (18:1)	9.97±1.39	9.73±0.14	8.85±0.75	12.78±0.33	13.60±1.81	10.41±0.64	11.47±0.37	14.15±0.61	20.64±1.31	18.65±1.05	10.23±1.10	15.57±0.08	23.71±1.11	17.19±0.42
Linoleico (18:2)	16.11±2.30	17.46±1.12	18.87±1.0	16.71±0.59	16.31±1.94	17.87±0.55	17.44±1.75	12.83±1.0	12.52±0.33	13.75±2.32	16.12±0.65	13.03±0.53	4.56±0.42	13.37±1.42
Linolénico (18:3)	0.12±0.05	0.07±0.01	0.06±0.01	0.08±0.04	0.06±0.01	0.10±0.04	0.12±0.04	0.10±0.01	0.28±0.13	0.12±0.03	0.05±0.01	0.20±0.06	0.036±0.14	0.23±0.12
Araquídico (20:0)	0.12±0.06	0.05±0.001	0.09±0.04	0.27±0.10	0.17±0.06	0.19±0.09	0.16±0.08	0.57±0.11	0.25±0.07	0.30±0.12	0.15±0.02	0.46±0.14	0.32±0.05	0.32±0.08
Eicosaenoico (20:1)	0.09±0.03	0.10±0.02	0.12±0.05	0.31±0.18	0.18±0.02	0.10±0.05	0.15±0.08	0.44±0.07	0.37±0.22	0.37±0.04	0.61±0.21	0.52±0.11	1.33±0.27	0.44±0.09
Araquidónico (20:4)	35.28±4.09	29.03±0.27	26.58±1.26	22.62±0.57	23.57±6.50	23.06±2.05	24.50±1.57	21.06±0.36	9.82±1.03	15.53±2.36	30.22±2.0	18.03±3.25	6.26±1.65	15.35±1.51
EPA (20:5)	0.52±0.12	0.87±0.19	0.99±0.11	0.62±0.36	0.725±0.60	1.03±0.47	0.88±0.08	0.69±0.08	3.20±0.55	0.82±0.35	0.64±0.07	4.48±1.36	1.16±0.07	1.0±0.26
Erúcico (22:1)	0.08±0.02	0.08±0.01	0.13±0.03	0.08±0.01	0.14±0.05	0.61±0.38	0.06±0.01	0.25±0.08	1.57±0.20	1.80±0.57	0.03±0.01	0.24±0.07	0.40±0.07	0.40±0.04
Lignocérico (24:0)	0.46±0.05	1.11±0.25	1.94±0.28	1.27±0.26	1.71±0.06	1.33±0.21	1.78±0.30	2.71±0.08	1.57±0.20	1.80±0.57	1.39±0.09	1.54±0.30	2.42±0.80	2.01±0.21
DHA (22:6)	1.92±0.21	3.32±0.50	4.27±0.68	2.51±0.29	2.43±0.19	3.73±0.42	3.85±0.51	3.50±0.31	2.07±0.23	1.94±0.71	4.15±0.35	2.95±1.33	2.97±0.37	2.83±0.57
NI	0.89±0.63	0.73±0.19	1.11±0.11	1.84±0.46	1.38±0.67	1.53±0.53	2.41±0.61	6.31±1.55	1.95±0.61	303.1.90	1.56±0.40	4.39±3.39	1.29±0.70	3.90±1.40
Saturados	34.56±0.88	38.32±1.12	38.14±1.49	41.63±0.63	40.39±2.79	40.86±1.05	38.60±0.31	39.52±0.65	46.64±0.66	42.64±3.03	35.93±0.40	40.50±1.86	55.51±0.45	42.48±3.48
Insaturados	64.55±1.30	60.95±0.99	60.75±1.52	56.52±1.09	58.24±2.80	57.61±0.90	58.96±0.80	54.17±1.74	51.41±1.08	54.32±4.82	62.52±0.58	55.11±4.23	43.19±0.48	53.62±2.78
I/S	1.87±0.08	1.59±0.07	1.60±0.10	1.36±0.05	1.45±0.17	1.41±0.06	1.53±0.03	1.37±0.06	1.10±0.04	1.28±0.21	1.74±0.03	1.36±0.15	0.78±0.01	1.27±0.16

I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosahexaenoico; NI, no identificado; I/S, índice de fluidez (ácidos grasos insaturados sobre ácidos grasos insaturados). $n = 3$, se realizaron 3 inyecciones en el cromatógrafo de gases.



Tabla 4. Composición de ácidos grasos (mol%) de diferentes secciones del tumor y el tejido normal de riñón de ratas inducidas a diabetes tipo 2 de 6 meses de edad, con suplementación diaria de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (STZ ω -3CL 7ds 6m)

Ácidos grasos	Rata 1	Rata 2		Rata 3					Rata 4				
	I	I	III	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Mirístico (14:0)	0.34±0.02	0.84±0.04	0.40±0.01	0.67±0.02	1.72±0.27	0.83±0.11	1.66±0.22	0.66±0.15	0.64±0.14	0.67±0.14	0.72±0.16	1.37±0.03	0.47±0.03
Pentadecanoico (15:0)	0.16±0.01	0.31±0.03	0.33±0.03	0.19±0.01	0.57±0.26	0.33±0.19	0.40±0.04	0.22±0.02	0.41±0.16	0.21±0.06	0.19±0.04	0.39±0.08	0.38±0.06
Palmitico (16:0)	27.89±0.79	22.96±2.06	20.31±1.30	19.36±0.49	27.69±0.50	19.88±1.22	25.57±3.36	21.73±1.47	21.76±0.89	20.59±1.38	22.13±0.53	22.89±0.48	23.13±1.17
Palmitoleico (16:1)	0.25±0.16	0.85±0.51	1.78±1.31	0.81±0.22	2.61±0.27	0.91±0.11	2.04±0.96	0.72±0.14	0.52±0.10	1.15±0.72	0.86±0.12	2.41±0.30	0.56±0.13
Heptadecanoico (17:0)	0.50±0.12	0.34±0.02	0.31±0.23	0.27±0.05	0.55±0.17	0.21±0.11	0.40±0.05	0.20±0.09	0.40±0.15	0.34±0.07	0.31±0.10	0.32±0.14	0.54±0.05
Esteárico (18:0)	27.76±1.74	18.18±1.24	17.15±1.16	10.63±0.29	23.01±1.10	19.36±0.96	17.64±1.69	20.18±0.60	19.07±0.79	16.35±1.24	17.14±0.67	18.48±1.04	19.54±1.01
Oleico (18:1)	7.42±1.29	16.06±2.73	11.84±1.23	25.56±0.59	19.33±1.38	13.28±1.87	17.02±2.02	12.39±0.73	9.80±0.67	15.53±0.30	17.53±1.22	19.56±0.33	10.30±1.21
Linoleico (18:2)	6.94±0.60	10.60±1.08	16.49±0.36	23.62±0.31	5.97±0.96	13.37±0.15	9.17±0.63	12.60±0.89	11.17±0.60	16.78±1.36	8.02±0.65	7.14±0.59	15.15±0.72
Linolénico (18:3)	ND	ND	0.16±0.03	0.45±0.07	0.37±0.21	0.11±0.03	ND	0.21±0.09	0.60±0.20	0.19±0.08	0.32±0.06	0.25±0.12	0.15±0.02
Araquídico (20:0)	0.98±0.04	0.18±0.04	0.04±0.01	0.08±0.01	0.47±0.22	0.22±0.07	ND	0.26±0.03	1.49±0.29	0.10±0.01	0.20±0.01	0.43±0.09	0.03±0.001
Eicosaenoico (20:1)	4.07±0.46	0.29±0.02	0.10±0.03	0.27±0.01	0.61±0.21	0.17±0.03	ND	0.34±0.13	1.22±0.21	0.11±0.03	0.19±0.03	0.36±0.14	0.11±0.01
Araquidónico (20:4)	16.49±2.36	18.0±4.95	17.0±1.22	13.18±0.35	8.20±3.65	22.75±1.89	14.89±1.43	21.97±2.86	24.90±4.66	21.99±2.44	21.57±2.27	16.26±0.55	16.21±0.5
EPA (20:5)	0.54±0.31	1.86±1.41	0.97±0.15	0.68±0.34	1.82±0.58	0.73±0.31	1.89±0.84	0.54±0.13	0.37±0.07	0.47±0.16	0.31±0.17	0.36±0.25	1.24±0.23
Erúcico (22:1)	ND	ND	ND	0.03±0.01	0.62±0.05	0.13±0.05	0.81±0.28	0.18±0.07	0.28±0.11	0.19±0.16	0.25±0.07	0.55±0.01	0.04±0.01
Lignocérico (24:0)	1.78±0.11	2.08±0.46	2.40±0.40	0.93±0.11	1.72±0.71	2.01±0.17	1.60±0.34	2.22±0.09	1.86±0.58	1.46±0.14	1.75±0.26	1.48±0.22	2.0±0.45
DHA (22:6)	3.24±0.51	3.56±0.36	1.02±0.14	2.45±0.10	4.41±0.29	4.74±0.39	6.92±1.07	4.51±0.40	3.54±0.18	3.05±0.48	4.29±0.16	4.34±0.54	9.04±1.22
NI	1.63±1.31	3.87±1.0	1.02±0.14	0.83±0.62	0.50±0.23	0.98±0.52	ND	ND	1.97±0.27	0.84±0.21	4.21±1.0	3.39±1.15	1.09±0.23
Saturados	59.43±1.67	44.90±2.66	40.95±0.43	32.12±0.75	55.72±1.56	42.84±0.73	47.27±2.27	45.46±1.91	45.63±2.80	39.71±1.03	42.45±1.12	45.36±1.31	46.11±1.20
Insaturados	38.94±0.93	51.40±1.67	58.04±0.57	67.05±0.65	43.95±1.86	56.18±0.79	52.73±2.27	53.46±1.56	52.40±3.02	59.45±1.19	53.34±1.75	51.24±2.31	52.80±1.03
I/S	0.6±0.03	1.15±0.10	1.42±0.03	2.09±0.06	0.79±0.05	1.31±0.04	1.12±0.10	1.18±0.08	1.15±0.14	1.50±0.07	1.26±0.07	1.13±0.08	1.15±0.05

I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosahexaenoico; NI, no identificado; I/S, índice de fluidez (ácidos grasos insaturados sobre ácidos grasos saturados). *n* = 3, se realizaron 3 inyecciones en el cromatógrafo de gases.



Analizando de forma aislada el ácido araquidónico en la sección I existe una diferencia de 0.49 y 2.2 entre el tejido renal sin desarrollo de tumor mayor que el tejido renal con desarrollo de tumor en los grupos STZ ω -3CL 3ds 3m (Figura 13) y STZ ω -3CL 7ds 6m (Figura 15). Y menor (7.33%) en el grupo STZ ω -3CL 7ds 3m (Figura 14). No se tiene diferencia entre el entre el tejido renal sin desarrollo de tumor y el tejido renal con desarrollo de tumor en el grupo STZ ω -3CL 1ds 6m debido a que todos los animales de este grupo presentaron desarrollo de tumor. En el análisis de este mismo ácido graso en las diferentes secciones del tumor se observó que hay una correlación positiva entre el tiempo y el tratamiento para la sección II, una menor concentración en el grupo esquema de 1 día 6 meses (5.39%, Figura 12), un aumento a los 7 días 6 meses (22.16%, Figura 15) y se mantiene la misma concentración en los tratamientos de 3 meses (19.5% en promedio, Figura 13 y Figura 14). En las secciones IV y V se observa que a mayor dosificación de AG ω -3CL menor concentración de ácido araquidónico en los animales de 3 meses en cambio este resultado en los animales de 6 meses.

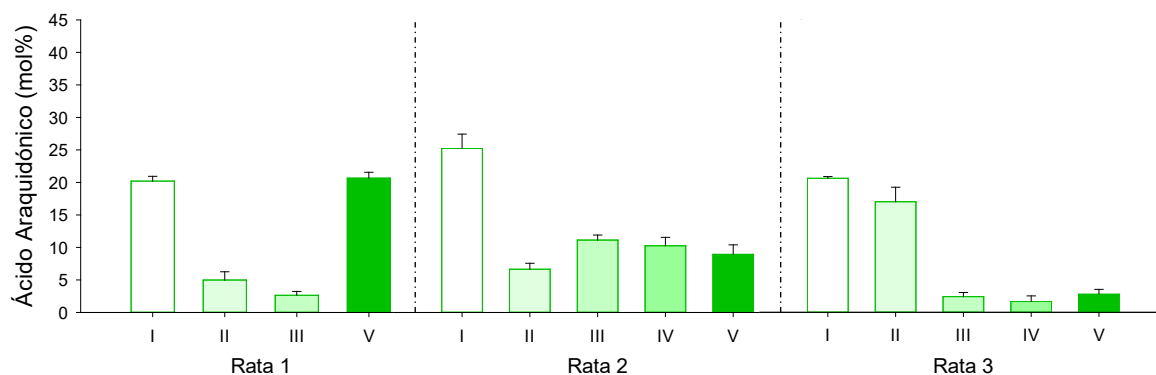


Figura 12. Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga, un día a la semana, 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



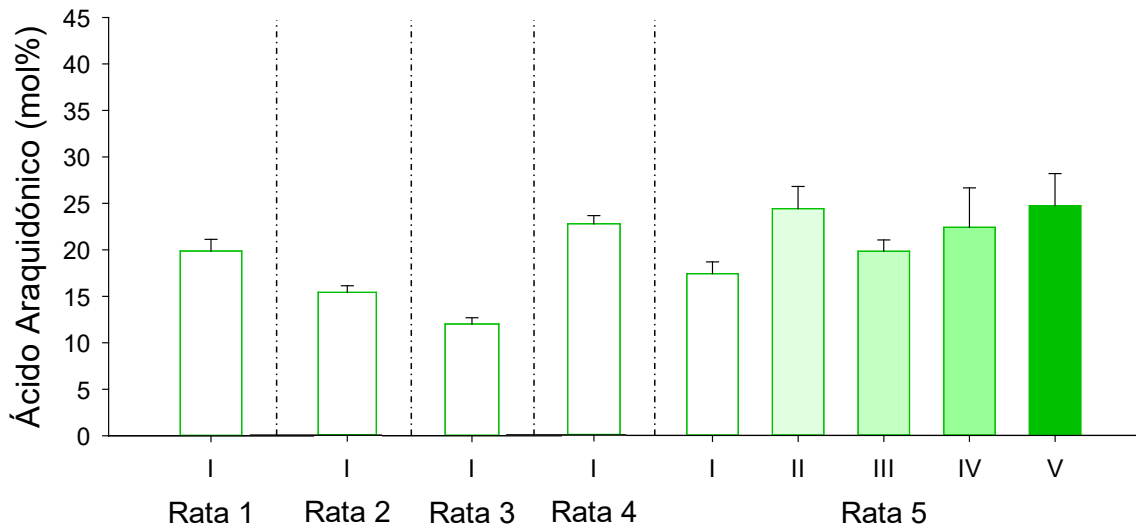


Figura 13. Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

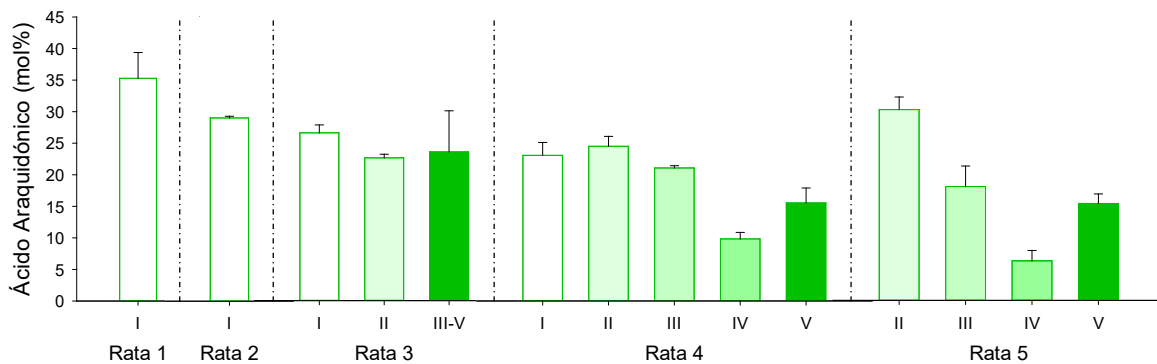


Figura 14. Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



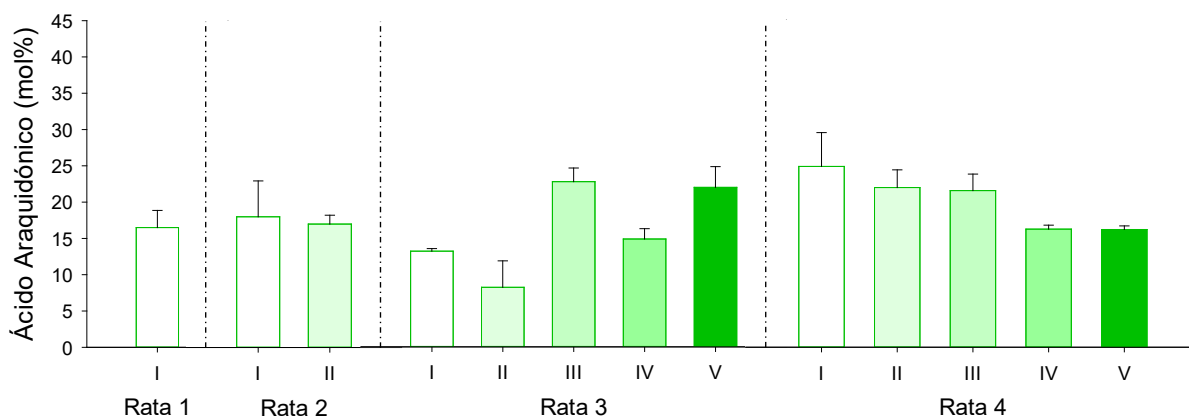


Figura 15. Ácido araquidónico (mol%) de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



A partir de los datos obtenidos en las Tablas 1, 2, 3 y 4, se realizó un índice para obtener indicios de la actividad de las ácido graso desaturadas. El índice de conversión de los ácidos grasos palmítico y esteárico a sus correspondientes ácidos grasos monoinsaturados (Figuras 16-23) se ve disminuido en los animales que recibieron un esquema de dosificación mayor (7 días por semana) comparado con aquellos con menor dosificación por semana (1 y 3 días) independientemente del tiempo de tratamiento (meses).

El análisis del índice de conversión del ácido palmítico a palmitoleico (P/P) en los grupos STZ ω -3CL 7ds 3m (Figura 18) y STZ ω -3CL 7ds 6m (Figura 19) son de 6.07 y 7 veces menor, respectivamente, comparado con el grupo STZ ω -3CL 3ds 3m (0.07 P/P; Figura 17) en el tejido renal cuando no presenta tumor. Sin embargo, no existe diferencia en este parámetro cuando el tejido presenta tumor. En la sección del tejido de transición (II) se puede observar que existe un incremento de 2.3 y 1.4 veces en los tratamientos de 6 meses de duración (Figura 16 y Figura 19) respecto a los de 3 meses (0.03 P/P; Figura 17 y 18), en la parte externa del tumor (III) se puede observar que existe una disminución de 0.01 y 0.02 en los esquemas de 1 y 7 días a los 6 meses (Figura 16 y 19) comparado con los tratamientos a los 3 meses (Figura 17 y 18), en la sección IV se observa un incremento de hasta 0.05 IP/P en el tratamiento de 7 días 3 meses y los de 6 meses, por último en la sección V observamos un incremento de 0.07 P/P en el tratamiento de 7 días 3 meses y de 0.03 en el tratamiento de 1 día 6 meses.



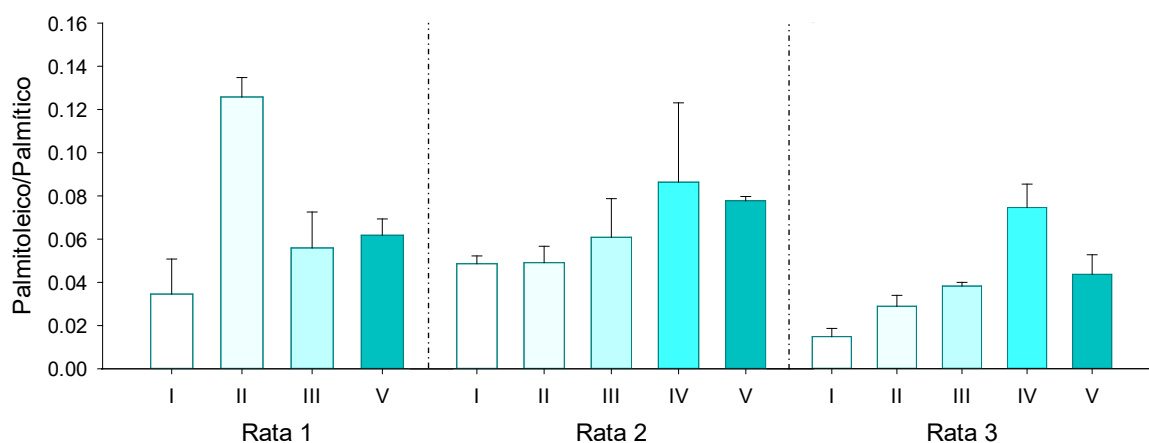


Figura 16. Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

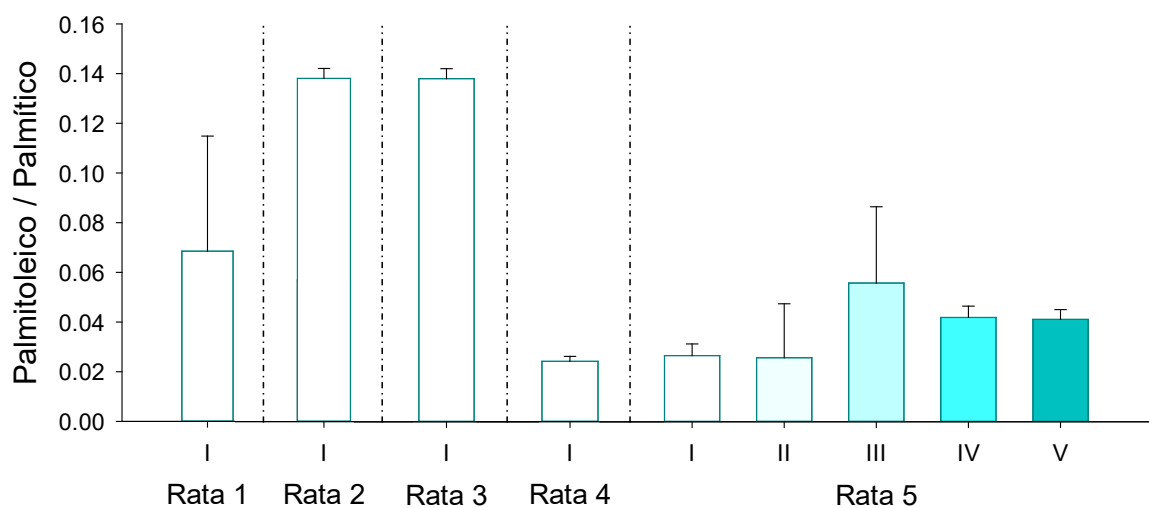


Figura 17. Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



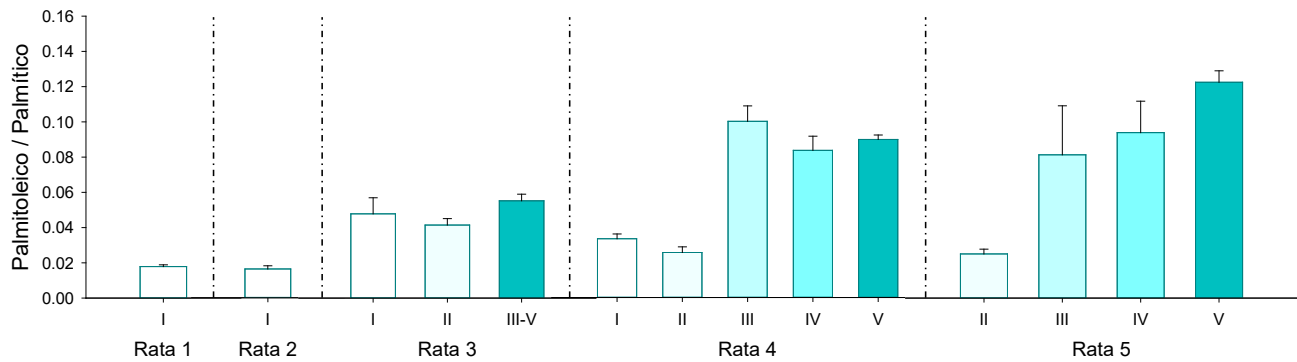


Figura 18. Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

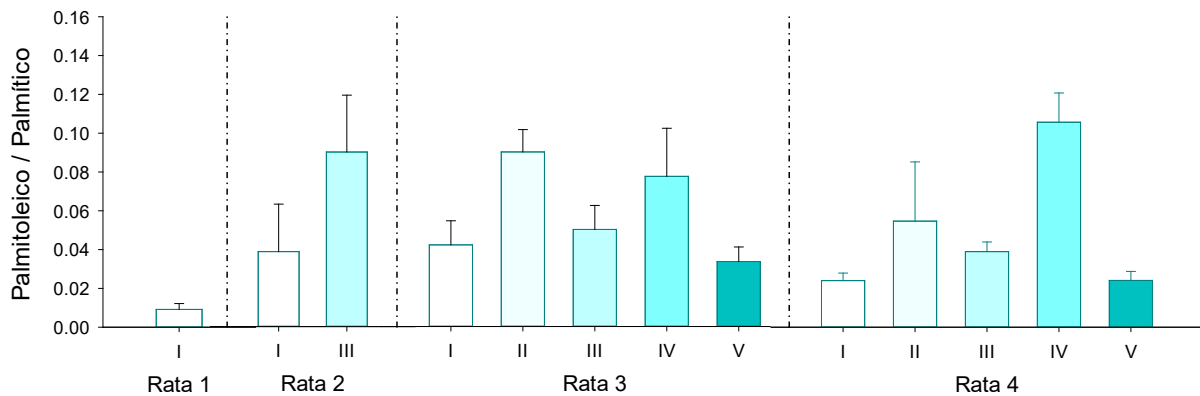


Figura 19. Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



El índice de conversión del ácido esteárico a oleico (E/O) en el tejido renal sin presencia de tumor (I) disminuye hasta 5.4 veces en los animales con un esquema de suplementación de AG ω -3CL 7 días por semana respecto a aquellos individuos que fueron suplementados únicamente 3 días por semana. Los resultados obtenidos en los riñones que presentaron tumor muestran una disminución de 2.4 veces entre el tratamiento con 3 y 7 días a los 3 meses y de 2.1 veces entre el tratamiento con 7 y 1 días a los 6 meses. En todos los casos existe un incremento del índice E/O en el tejido normal que desarrolló el tumor. En el caso de las diferentes secciones del tumor se encontró que en las secciones de la II a la V se presenta una mayor conversión de E/O en los animales con un tratamiento de mayor tiempo de duración. Analizando los datos por periodo de duración de tratamiento se puede observar que los individuos a los 3 meses el grupo de 3 días tiene una mayor conversión mientras que en los de 6 meses el grupo de 7 días es el que presenta un mayor índice de conversión.

Es importante señalar que uno de los individuos (rata 3) perteneciente al grupo STZ ω -3CL 7ds 3m (Figura 22) presenta características similares a la sección III de los individuos del grupo STZ ω -3CL 7ds 6m en su composición de ácidos grasos saturados e insaturados (Tabla 3), a la sección V (índice P/P; Figura 16) y IV índice E/O; Figura 20) del grupo STZ ω -3CL 1ds 6m y un índice de fluidez muy parecido a los individuos del grupo STZ ω -3CL 7ds 6m (Tabla 4), respecto al ácido araquidónico se encuentra representado por los individuos de su mismo grupo (Figura 14).



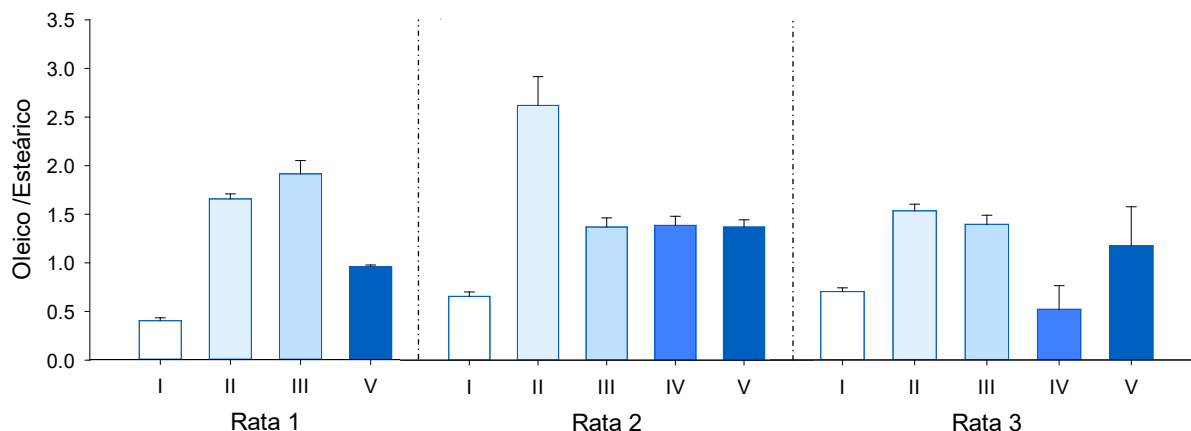


Figura 20. Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

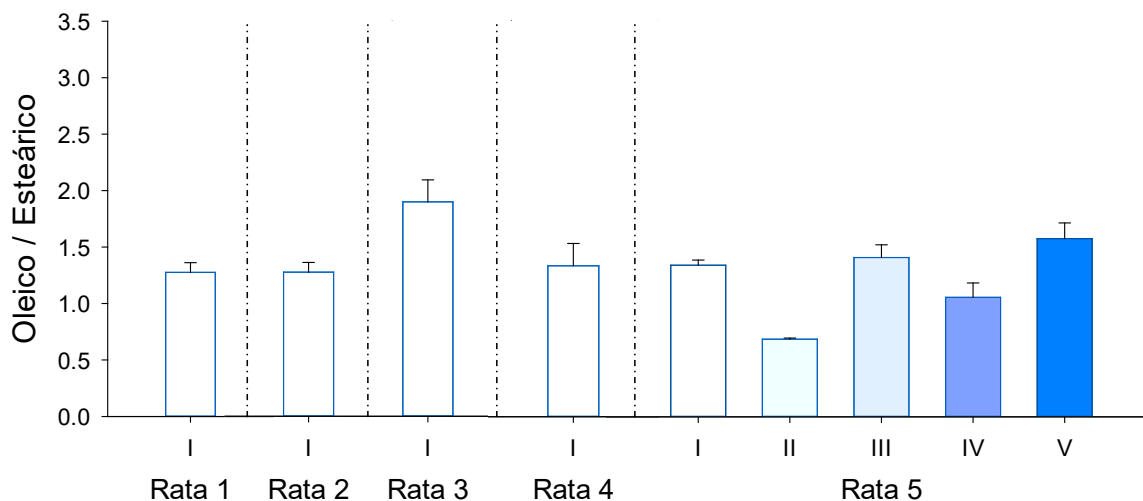


Figura 21. Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



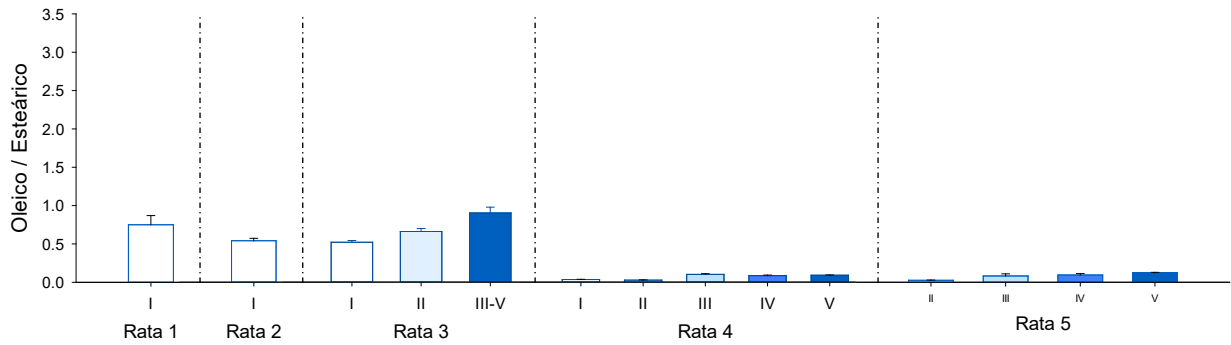


Figura 22. Índice de conversión de ácido esteárico a oleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

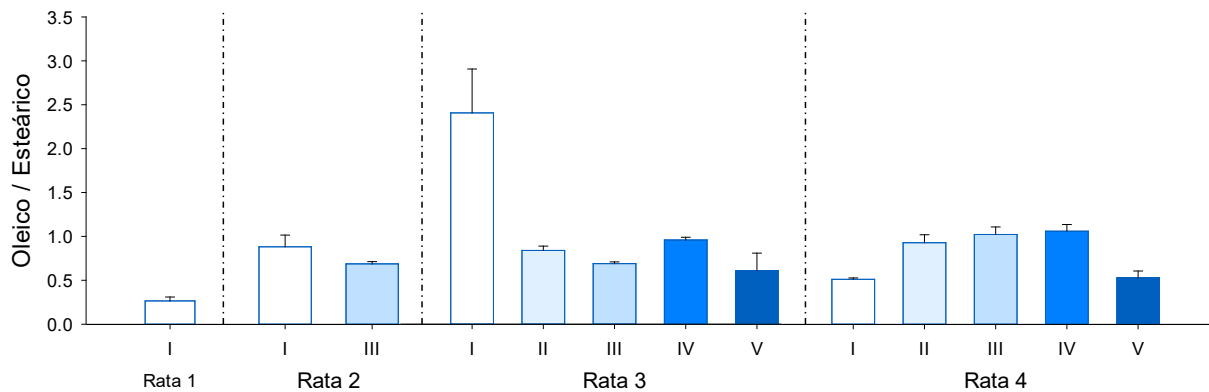


Figura 23. Índice de conversión de ácido palmítico a palmitoleico en ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de seis meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



Polarización de fluorescencia

Los resultados de la polarización de fluorescencia con el monitor fluorescente DPH son explicados como una relación inversamente proporcional a la fluidez lipídica, es decir, a mayor polarización de fluorescencia del DPH menor es la fluidez lipídica. En los riñones que no desarrollaron tumor (I) no presentan diferencia en la fluidez lipídica en la sección I de aquellos animales que sí desarrollaron tumor. En la sección I se observa que aquellos animales que no presentaron desarrollo de tumor presentan mayor polarización en comparación con aquellos animales que sí desarrollaron tumor renal. Por otro lado, se puede observar que la fluidez lipídica del tejido de transición (II) y de las diferentes secciones en las que se dividió el tumor renal (III, IV y V) es mayor (hasta 0.078) en los grupos STZ ω -3CL 1ds 6m (Figura 24) y STZ ω -3CL 7ds 6m (Figura 27), en comparación con los grupos STZ ω -3CL 3ds 3m (Figura 25) y STZ ω -3CL 7ds 3m (Figura 26).



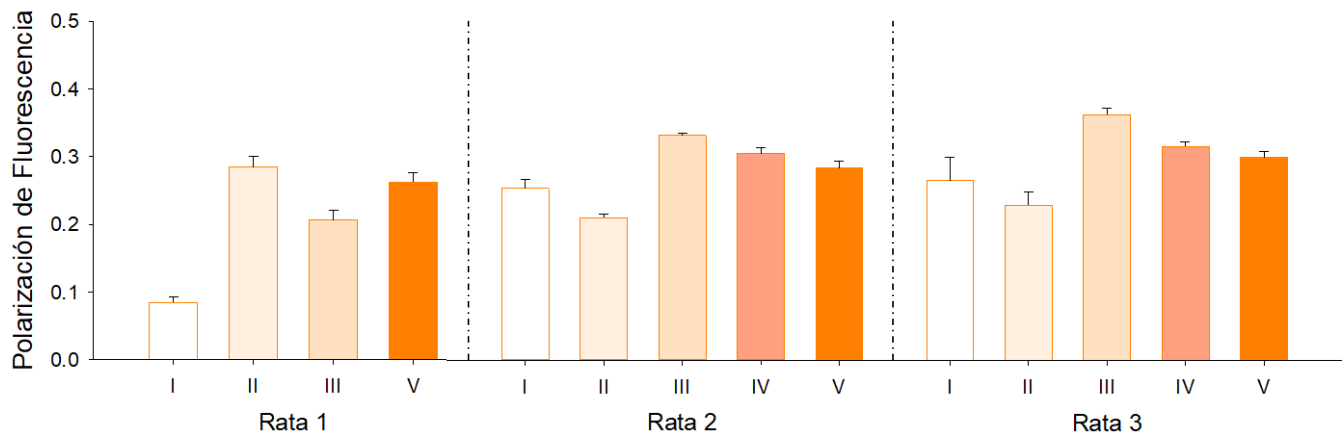


Figura 24. Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga un día a la semana de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 1ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

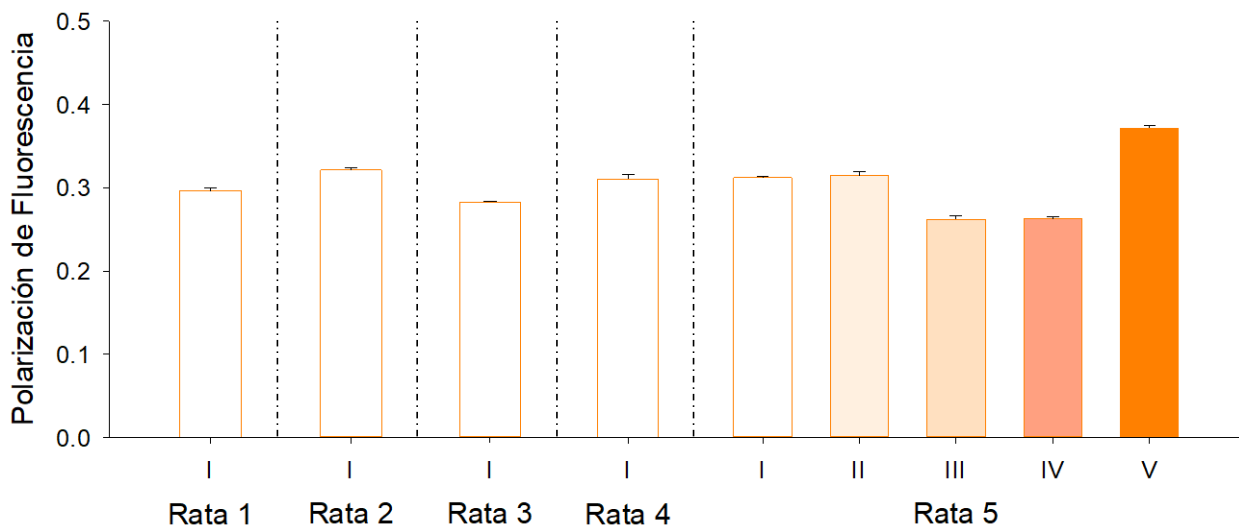


Figura 25. Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga tres días a la semana de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 3ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



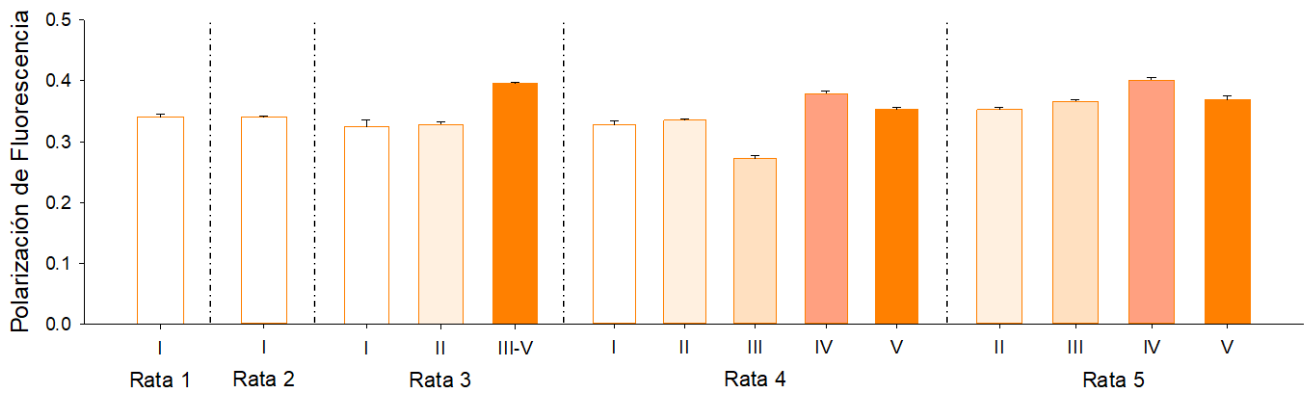


Figura 26. Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 3 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 3m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.

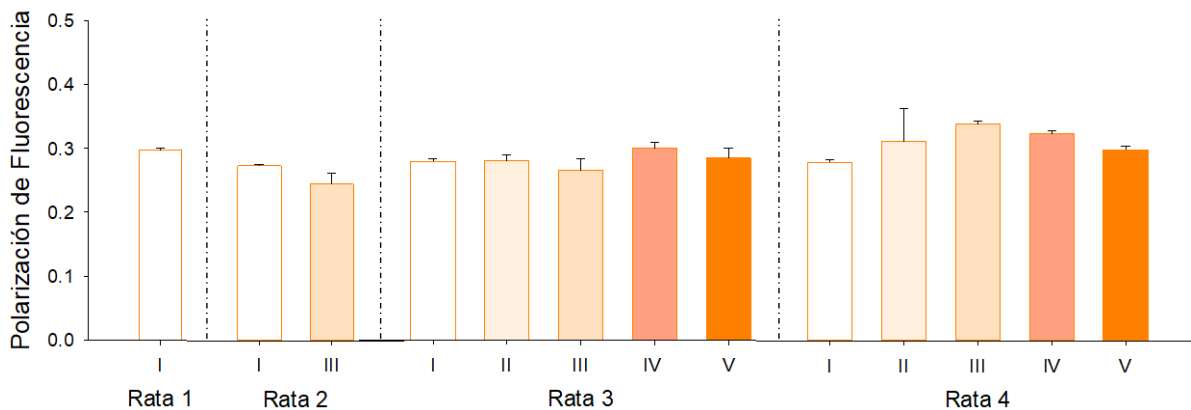


Figura 27. Polarización de Fluorescencia de ratas inducidas a diabetes tipo 2 y dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga de 6 meses de edad (STZ ω -3CL 7ds 6m). I, tejido normal; II, tejido de transición; III, parte externa del tumor; IV, parte media del tumor; V, parte interna del tumor.



DISCUSIÓN

Modelo

En el presente estudio se trabajó con un modelo de tumor renal inducido mediante la administración de STZ (125 mg/kg) vía intraperitoneal en ratas de la cepa Wistar de 48 horas de edad. La literatura señala que existe un modelo de tumor renal en ratas inducidas a diabetes mellitus con el uso de STZ con dosis de entre 20 y 65 mg/kg. El uso de esta toxina había sido utilizado de manera frecuente para la inducción de diabetes en roedores (Islam y Loots, 2009); sin embargo, en 1967 Arison y Faudale encontraron de manera fortuita que esta molécula ocasionó el desarrollo de tumores renales en el 55% de los animales inducidos a diabetes con lo que se inició la indagación de los efectos carcinogénicos de la STZ en ratas (Mauer *et al.*, 1974; Kazumi *et al.*, 1978). Diversos autores han reportado que la STZ genera tumor renal en hasta el 56% de la población inducida a diabetes con dosis de 65 mg/kg. Otros estudios realizados con la finalidad de desarrollar tumor renal en ratas sugieren que dosis menores a 30 mg/kg no tienen efecto en el desarrollo del tumor (Arison y Feudale, 1967; Mauer *et al.*, 1974; Kazumi *et al.*, 1978; Chiu-Lan *et al.*, 2010; Vinerean *et al.*, 2011); sin embargo, Horton *et al.* (1977) reportan una incidencia de tumor renal en el 42% de la población expuesta con una dosis de 25 mg/kg. Cabe destacar que en el desarrollo del presente estudio no se observó generación de tumor en riñón ni en otros órganos en ratas únicamente inducidas a diabetes tipo 2, es decir, en aquellos animales que no recibieron suplemento de AG ω -3CL; en cambio, sí se observó desarrollo tumoral de hasta en el 50% de la población inducida a DMT2 cuando recibieron el suplemento de AG ω -3CL, este fenómeno probablemente esté asociado a la estimulación que éstas moléculas ejercen en la regulación genética y la síntesis de proteínas de algunas células previamente estimuladas para el desarrollo de cáncer (Vicinguerra *et al.*, 2009). Asimismo, se ha observado que los AG ω -3 tienen un efecto positivo en la síntesis y liberación de la insulina en modelos de diabetes tipo 2 en ratas (Flachs *et al.*, 2014), por lo que probablemente uno de los factores de interés en modelos de este tipo debería de enfocarse al estudio de esta hormona.



La dosis de STZ utilizada en este trabajo para la inducción de diabetes fue 1.9 veces mayor que la dosis máxima utilizada en los modelos de inducción a tumor renal con STZ en ratas adultas (>2 meses de edad), las cuales desarrollaron los tumores (de 4 a 220 mm) a los 8 meses después de inducidas. Es importante señalar que el desarrollo de los tumores en los animales suplementados con AG ω -3CL, en el presente estudio, se observan desde los 3 meses de edad de 0.6 hasta 3.8 cm.

Se deduce que el desarrollo de los tumores en este modelo está relacionado con factores como el sexo (8.3% hembras y 38% machos) (Mauer *et al.*, 1974), la dosis utilizada de STZ (Arison y Feudale, 1967; Mauer *et al.*, 1974; Kazumi *et al.*, 1978; Horton *et al.*, 1977; Chiu-Lan *et al.*, 2010; Vinerean *et al.*, 2011), la edad de inducción (>2 meses) (Arison y Feudale, 1967; Mauer *et al.*, 1974; Kazumi *et al.*, 1978; Horton *et al.*, 1977; Chiu-Lan *et al.*, 2010; Vinerean *et al.*, 2011) 48 hrs (el presente trabajo), la cepa de ratas (Sprague Dawley 38-46%, Wistar 14-42%, Lewis strain 8.3-29%) y el periodo post inducción (>8 meses) (Arison y Feudale, 1967; Mauer *et al.*, 1974; Kazumi *et al.*, 1978; Horton *et al.*, 1977; Chiu-Lan *et al.*, 2010; Vinerean *et al.*, 2011) y menor a 6 meses (el presente trabajo), la vía de administración (i.v, i.p) y la glicemia (Tabla 5). Además de los anteriores factores inherentes a la fisiología del individuo existen los factores externos como el uso de agentes moduladores de la generación de diabetes como nicotidamida y la picolinamida (Kazumi *et al.*, 1978) que inhiben el desarrollo de tumores o los AG ω -3CL que lo estimulan como se observa en los resultados del presente trabajo.



Tabla 5. Incidencia de tumor renal

Autores	Cepa de ratas	n	Peso (g)	Sexo	Edad (meses)	Dosis de STZ (mg/kg)	Vía	Glucosa (mg/dL)	Porcentaje de generación de tumor (%)	Tiempo de generación de tumor (meses)	Tamaño del tumor (mm)
Arison y Feudale, 1967	Holtzman	20	NE	NE	NE	50	NE	NE	55%	>8	4 a 5
Mauer <i>et al.</i> , 1974	Sprague-Dawley	29	100	♂ - ♀	1	65	i.v.	>250	38	>8	NE
	Lewis strain	36							8.3		
		45							29		
Kazumi <i>et al.</i> , 1978	Wistar	11	180-200	♂	1	30	i.v.	>200	0	-	-
		12				40			0	-	-
		10				50			0	-	-
		17				65			0	-	-
		22				65 + nicotinamida (500 mg/kg)			14	> 10	NE
		14				65 + picolinamida (250 mg/kg)			0	-	-
Horton <i>et al.</i> , 1977	Wistar	80	300	♂	3	25	i.v.	NE	42	3 a 14	5 - 220
Chiu-Lan <i>et al.</i> , 2010	Sprague-Dawley	48	80-100	♂	1	50	i.p.	220	46	>7	NE
Vinerean <i>et al.</i> , 2011	Wistar-Furth	32	200	♂	1	65	i.v.	400	56	>7	>5

NE, no especificado; ♂ macho; ♀, hembras; i.v, intravenosa; i.p. intraperitoneal



Peso

El crecimiento físico se define como el aumento en el número y tamaño de las células que componen los tejidos (Enesco y LeBlond, 1962). Los parámetros fisiológicos que ayudan a evaluar el crecimiento son la talla y el peso, los cuales además se utilizan como signo de probable enfermedad cuando se encuentran un cuartil por arriba o abajo de la media (Farré, 2012). Los datos obtenidos en el presente estudio se pueden interpretar como un déficit en el crecimiento y/o desarrollo de los animales en estudio; sin embargo, se debe puntualizar que los animales que generaron tumores renales (en diferentes etapas de desarrollo) tienen una menor ganancia de peso (aproximadamente de 70 g) comparadas con los animales que no desarrollan tumor.

Es importante recordar que los animales del presente estudio recibieron diferentes esquemas de suplementación con AG ω -3CL, por lo que, haciendo una comparación de los resultados obtenidos y lo señalado en la literatura se deduce que los AG ω -3CL tienen un efecto positivo en la ganancia de peso de los individuos diabéticos que no desarrollaron tumor, en cambio, se observa que estos AG generan un retraso en el crecimiento de los individuos con tumor renal. Si se compara el peso de animales sanos contra animales diabéticos (Vicenteño, 2018) se obtiene como resultado una menor ganancia de peso (100 g), mismo que concuerda con los datos reportados para individuos diabéticos tanto en humanos como en otras especies de mamíferos (Holzapfel, 2019).

Cabe destacar que existen diversas patologías que cursan con estados catabólicos severos, como son: el síndrome nefrótico, el síndrome metabólico, la insuficiencia hepática, la desnutrición y el cáncer. Dentro de las patologías secundarias reportadas en animales diabéticos se encuentran por lo menos dos de las antes mencionadas, en el presente estudio encontramos que el 100% de los individuos cursaron con nefropatía diabética, el 50% con tumor renal y por lo menos el 60% con algún problema de tipo hepático (hígado graso y esteatosis), además de un estado de desnutrición grado 2, todas estas alteraciones reportadas por diversos autores (Ortiz-Avila *et al.*, 2017; García-Berumen *et al.*, 2019). El cáncer es una de



las patologías que presenta el mayor índice catabólico (impulsada por desregulación metabólica, es decir, un aumento en el catabolismo de lípidos y proteínas), si a este factor se suma los problemas derivados de la diabetes se tendrá como resultado individuos con pobre crecimiento en las etapas de desarrollo (infancia-adolescencia) como las ratas de 3 meses o pérdida de peso en etapas adultas, parecidas a las ratas de 6 meses del presente estudio, derivadas de una desnutrición aguda (DMT2) y una gran demanda energética debida a la proliferación celular de los tumores (Bruggeman *et al.*, 2016).

Concentración de Glucosa en Sangre

La glucosa es una molécula regulada por la insulina; en patologías como la DMT2 esta hormona presenta alteraciones en su función lo que tiene como consecuencia un incremento anormal de las concentraciones de glucosa en sangre (>100 mg/dL; ADA, 2010). Las glicemias de las ratas DMT2 del presente estudio son 4.3 veces más altas en comparación con lo reportado en la literatura para ratas normoglicémicas (95 mg/dL, Avendaño, 2019). Un punto a destacar es que a los animales de este estudio se les suplementó AG ω -3CL en diferentes esquemas de dosificación sin que este tratamiento tuviese efectos benéficos en la regulación de la glicemia como se ha observado con ácidos grasos omega 3 de cadena corta (Vicenteño, 2018; Avendaño, 2019; Guzmán, 2020). Existe evidencia clínica que apoya la asociación positiva entre el desarrollo de cáncer y la alteración en la regulación de la glucosa sanguínea Hou *et al.*, (2017) y Han *et al.*, (2011) reportan que las concentraciones de glucosa sanguínea por arriba de los 200 mg/dL propician la proliferación celular en neoplasias. En el presente estudio se encontró que existe una asociación entre el desarrollo de neoplasia en riñón de ratas diabéticas suplementadas con ácidos grasos de cadena larga con variables como: concentración de glucosa sanguínea (>113 mg/dL), esquema y duración de tratamiento (20% STZ ω -3CL 3ds 3m, 60% para los grupos STZ ω -3CL 7ds 3m, STZ ω -3CL 1ds 6m y STZ ω -3CL 7ds 6m). Se debe destacar que la mayor presentación de neoplasias se da en individuos con glicemias por arriba de



200 mg/dL, 100% mayor concentración que en animales DTM2 sin desarrollo de tumor.

Curva de Tolerancia a la Glucosa

De manera general esta prueba evalúa la capacidad que tiene un individuo para metabolizar la glucosa desde un tiempo cero hasta dos horas después de la ingesta, haciendo una medición de la glicemia cada 30 minutos. De acuerdo a lo establecido en la literatura el pico máximo se presenta durante los primeros 30 minutos y posteriormente dicha concentración deberá disminuir. Este estudio se realiza principalmente para diagnosticar prediabetes (etapas iniciales de la diabetes) o diabetes, si los valores en ayuno son entre 100-124 mg/dL y 140-198 mg/dL, respectivamente, o si exceden los 126 y 200 mg/dL al término de la prueba, (ADA, 2010; Phillips, 2012). El comportamiento observado en los valores de glicemia de las ratas en estudio durante la prueba de la CTG demuestran que efectivamente se trata de individuos con diabetes tipo 2 (Anexo 1), ya que de acuerdo a lo anteriormente mencionado los valores alcanzados a los 30 minutos en el 100% de los individuos se encuentran por arriba del valor límite marcado como normal (120 mg/dL) después de la ingesta con un regreso paulatino y un área bajo la curva 70% mayor que en que en los individuos normales sin alcanzar el valor basal a los 120 minutos.



Estudio Histopatológico

La literatura señala que la STZ es uno de los fármacos más utilizados en la inducción de neoplasias en ratas. Este fármaco tiene una eficiencia de hasta el 60% en la inducción de tumor renal (Tabla 5) en animales adultos inducidos a diabetes tipo 2, a los cuales, además, en unos estudios se les tiene que dar tratamiento con inhibidores de la acción de la STZ como la nicotinamida para disminuir el daño causado y permitir la sobrevivencia de los individuos dando así la oportunidad de que se desarrolle el tumor. Sin embargo, no existen reportes del desarrollo de este mismo modelo en animales neonatos inducidos a diabetes tipo 2 con este mismo fármaco. En el presente trabajo se probó que la administración de la STZ a una dosis de 125 mg/kg de peso es eficaz para el desarrollo de la diabetes tipo 2 durante la edad adulta, sin embargo el desarrollo de tumor renal no se presentó en todos los individuos sometidos a este tratamiento sino sólo en aquellos que además recibieron un esquema de suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga, en estos animales la presencia de tumores, así como el desarrollo y tipo de los mismos depende no sólo de la administración de la STZ sino además de la suplementación de los AG ω 3-CL y el esquema en el que se administra a los animales. Se debe señalar que la mayoría de los tumores encontrados y el estudio histopatológico de los mismos coincide con lo reportado por López *et al.*, (2008). Es importante señalar que el perfil de ácidos grasos de los diferentes tumores de animales suplementados con omega 3 de cadena larga muestra un incremento en la concentración de ácido oleico señalado como posible estimulador de las vías de proliferación celular, con lo que se sospecha que si bien es cierto la STZ al formar aductos en el material genético es el factor predisponente para el desarrollo tumoral, el factor desencadenante del desarrollo y crecimiento del tumor es el incremento en la concentración de algunos ácidos grasos, los cuales provienen de la dieta de los animales, como es el caso de los individuos del presente trabajo.



Composición de ácidos grasos

De manera general, se observa que los ácidos grasos insaturados más abundantes en el tejido y el tumor renal son el oleico y el araquidónico. De manera particular existe un aumento de hasta 3 veces en la concentración del ácido oleico en el tejido neoplásico (secciones II, III, IV y V) en comparación con el tejido no tumoral (I). En el estudio realizado en cultivo de células de RCC por Liu et al., (2013) se establece que a mayor concentración de ácido oleico hay mayor progresión de células neoplásicas, fenómeno que deriva de la estimulación del receptor membranal GPR40 durante la incorporación del ácido oleico y que tiene como consecuencia la activación de los señalizadores de proliferación celular PI3K, ILK y AKT. Otro mecanismo asociado a la proliferación celular estimulada por el ácido oleico es la pérdida del gen supresor de tumores PTEN. La expresión de PTEN tiene como consecuencia la inhibición de la vía PI3K-AKT mediante la defosforilación de moléculas intermediarias; sin embargo, se ha observado que a mayor concentración de ácido oleico en hepatoma humano existe una disminución de la actividad de PTEN (Vinciguerra et al., 2009). Aunque no se ha establecido la relación de PTEN y OA en RCC, se sabe que PTEN también se expresa en riñón por lo que lo anteriormente mencionado podría ser una explicación a la proliferación de células renales.

En el análisis del ácido araquidónico se observa que hay una menor concentración (hasta 7.6 veces) en el tejido neoplásico (secciones II, III, IV y V) en comparación con el tejido no tumoral (I). En la literatura se señala que el AA es precursor de eicosanoides (Pérez *et al.*, 1998) los cuales intervienen en los procesos inflamatorios de patologías como en la diabetes mellitus (Wang *et al.*, 2019) y en la proliferación de células de RCC (Siddiqi *et al.*, 2018). La posible disminución del ácido araquidónico en el tejido neoplásico de los individuos en estudio se atribuye al grado de desarrollo del tumor (Matsuyama y Yoshimura, 2008), en consecuencia el análisis de cada una de las secciones del tejido tumoral corresponde con lo encontrado por Siddiqi *et al.*, (2018) donde una proliferación activa presenta mayor concentración de AA (sección externa del tumor III), mientras que las zonas del



tumor con avanzado estado de necrosis o focos de fibrosis (análisis histológico) presentan concentraciones más bajas de este ácido graso.

El alargamiento y desaturación de AG se realiza a través de la acción de enzimas como el complejo FAS y las esteroil-CoA desaturasas (SCD). Éstas últimas se encargan de formar el doble enlace en la posición 9 de los ácidos palmítico y esteárico para producir ácidos grasos monoinsaturados (Santos y Schulze, 2012). En el presente estudio se observa que el índice de conversión de P/P y O/E es mayor (0.6 veces) en el tejido neoplásico (secciones II-V) en comparación con en el tejido no tumoral (I). Los resultados encontrados en el presente estudio pueden estar asociados a la sobreexpresión de las enzimas SCD hipótesis abordada por Von Roemeling y col., (2013) en un estudio donde se utilizaron células de RCC y encontraron que efectivamente estas moléculas se encuentran en mayor concentración en este tipo de neoplasias.

Polarización de Fluorescencia

Se ha reportado en la literatura que las membranas aisladas de células neoplásicas como: colon (Tavolari *et al.*, 2012; Kaur y Sanyal, 2010), hígado (Nakazawa y Iwaizumi, 1989), de mama (Zeiseg *et al.*, 2007) y de ovario (Oommen *et al.*, 2016) presentan alteraciones en sus propiedades fisicoquímicas como es el aumento de la fluidez membranal. Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio donde la fluidez lipídica, medida mediante la polarización de fluorescencia del DPH, aumenta en el tejido neoplásico (secciones de la II-V) en comparación con el tejido no tumoral (I); sin embargo, en algunos individuos este cambio no es tan evidente e incluso los datos muestran un comportamiento inverso (STZ w-3CL 3ds 3m). Estas diferencias podrían estar asociadas a: la composición de ácidos grasos de los tejidos en estudio (Anexo 2), el grado de desarrollo del tumor o el estado de descomposición de los tejidos y la consecuente liberación de moléculas como malondialdehído y formación de lipoperóxidos. Por otro lado, la fluidez membranal puede ser alterada por factores externos como son las especies



reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). Cairns y col. (2011) han establecido que el aumento de ROS es una característica indispensable para el desarrollo y supervivencia de células neoplásicas debido a que inducen la expresión de genes como HIF 1 y VEGF. En células del RCC se ha presentado un aumento en la actividad de GHS, además se ha concluido que alguna alteración en la síntesis de esta enzima provoca aumento en la concentración de ROS y daño por lipoperoxidación, que en consecuencia podría alterar a los fosfolípidos que componen a las membranas biológicas cambiando el arreglo de las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos (Miess *et al.*, 2018). Por lo que se recomienda analizar la lipoperoxidación de las membranas de células neoplásicas en posteriores estudios.

Asimismo, aunque se ha establecido que el DPH es un monitor fluorescente que sigue la dinámica y comportamiento de las cadenas acilo de las membranas biológicas (Martíñon, 2019) hay que tomar en consideración que el DPH se ubica dentro del núcleo hidrofóbico de los liposomas (Figura 28) con lo que la información obtenida es solo de esta parte, por lo que se recomienda utilizar otros monitores como: el trimetil amonio difenil hexatrieno (TMA-DPH) y el dipirenil propano (DPiP) para obtener información más completa acerca del comportamiento de los lípidos y/o membranas de las células neoplásicas.



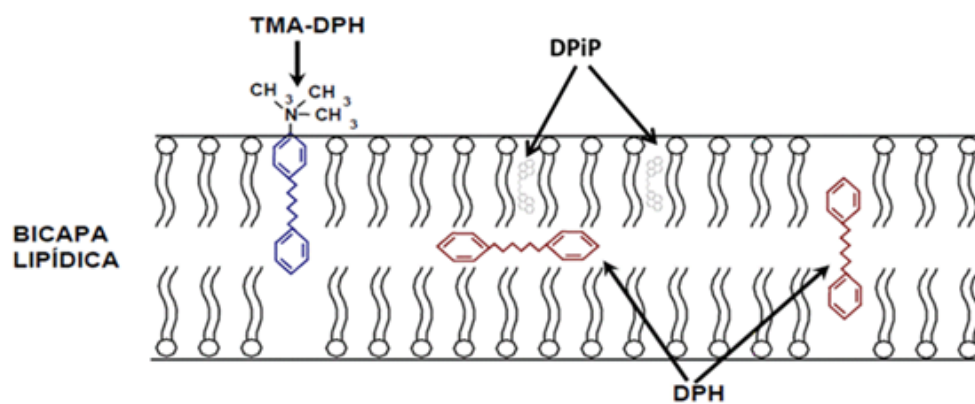


Figura 28. Esquema de la localización preferencial de los monitores fluorescentes. TMA-DPH trimetil amonio difenil hexatrieno; DPiP, dipirenil propano; DPH, difenil hexatrieno. Tomada de Figueroa-García, 2013.



CONCLUSIONES

- ✓ Se generó un modelo de diabetes tipo 2 en ratas neonatas de la cepa Wistar con un 90% de eficiencia y glicemias de entre los 97 a 600 mg/dL.
- ✓ La inducción de diabetes mellitus tipo 2 con STZ (125 mg/kg) en ratas neonatas de la cepa Wistar y los ácidos grasos omega 3 de cadena larga tienen efectos carcinogénicos (tumor renal) en el 50% de la población.
- ✓ Se observó que los animales que desarrollaron tumor renal presentaron menor ganancia de peso.
- ✓ Se observó que los animales que tuvieron mayor desarrollo de tumor renal presentaron mayor concentración de glucosa sanguínea (>200 mg/dL).
- ✓ Se observó que a mayor grado de desarrollo de neoplasia en riñón existe un cambio importante en la composición de ácidos grasos en comparación con el tejido no tumoral, existiendo un incremento de hasta 4.5 veces en el perfil del ácido oleico y una disminución de hasta 0.6 veces en el ácido araquidónico.
- ✓ El aumento del índice de conversión de las desaturasas de los grasos palmítico/palmitoleico y esteárico/oleico en el tumor renal se relaciona con el aumento de expresión de estas enzimas.
- ✓ El crecimiento tumoral presenta mayor fluidez lipídica en animales que recibieron dosificación de ácidos grasos omega 3 de cadena larga durante mayor tiempo.
- ✓ El estudio histopatológico de los tejidos demuestra el desarrollo de carcinoma renal de células blancas en riñón de ratas Wistar inducidas a diabetes tipo 2.



LITERATURA CITADA

1. American Diabetes Association (ADA). (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 33 (1): 62-69.
2. Arison, R. N., Feudale, E. L. (1967). Induction of renal tumour by streptozotocin in rats. *Nature*, 214(5094), 1254-1255.
3. Avendaño, B. K. A. 2019. Comparación del efecto de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga y corta durante el desarrollo inicial de la diabetes. Tesis Profesional para obtener el título de Bióloga. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Bartlett, G. R. (1959). Phosphorus assay in column chromatography. *J biol chem*, 234(3), 466-468.
5. Beld, J., Lee, D. J., Burkart, M. D. (2015). Fatty acid biosynthesis revisited: structure elucidation and metabolic engineering. *Molecular BioSystems*, 11(1), 38-59.
6. Bernardino de la Serna, J., Schütz, G. J., Eggeling, C., Cebecauer, M. (2016). There is no simple model of the plasma membrane organization. *Frontiers in cell and developmental biology*, 4, 106.
7. Brahmkhatri, V. P., Prasanna, C., Atreya, H. S. (2015). Insulin-like growth factor system in cancer: novel targeted therapies. *BioMed research international*.
8. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
9. Bruggeman, A. R., Kamal, A. H., LeBlanc, T. W., Ma, J. D., Baracos, V. E., & Roeland, E. J. (2016). Cancer cachexia: beyond weight loss. *Journal of oncology practice*, 12(11), 1163-1171.
10. Cairns, R. A., Harris, I. S., Mak, T. W. (2011). Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer*, 11(2), 85-95.



11. Castro-González, M. I. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27(3), 128-136.
12. Chabner, B. A., Roberts, T. G. (2005). Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5(1), 65-72.
13. Chen, L., Li, H., Gu, L., Ma, X., Li, X., Gao, Y., Bao, X. (2015). The impact of diabetes mellitus on renal cell carcinoma prognosis: a meta-analysis of cohort studies. *Medicine*, 94(26).
14. Chiu-Lan, H., Peng, C. C., Cheng, Y. M., Lin, L. Y., Ker, Y. B., Chang, C. H., Peng, R. Y. (2010). Quercetin and ferulic acid aggravate renal carcinoma in long-term diabetic victims. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(16), 9273-9280.
15. Dupont, J., Pierre, A., Froment, P. (2003). The insulin-like growth factor axis in cell cycle progression. *Horm Metab Res*. 35:740–750.
16. Enesco, M., LeBlond, C. P. (1962). Increase in cell number as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. *Development*, 10(4), 530-562.
17. Farré, R. (2012). Evaluación del estado nutricional (dieta, composición corporal, bioquímica y clínica). Carbajal A, Martínez C, coordinadores. *Manual práctico de nutrición y salud. Conceptos generales*. Madrid: Kellogg España S. L, 109-18.
18. Figueroa-García, M. C. 2013. Análisis de las Alteraciones Morfológicas y Funcionales por Peroxidación de Lípidos de la Membrana Mitocondrial de la Placenta en Ratas Gestantes inducidas a Diabetes Mellitus Tipo 2 con STZ. Tesis de doctorado. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Veterinario y Zootecnia.
19. Flachs, P., Rossmeisl, M., Kopecky, J. (2014). The effect of n-3 fatty acids on glucose homeostasis and insulin sensitivity. *Physiological research*, 63, S93
20. Folch, J., Lees, M., Stanley, G. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226(1), 497-509.



21. Forsythe, J. A., Jiang, B.H., Iyer, N. V., Agani, F., Leung, S. W., Koos, R. D., Semenza, G. L. (1996) Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 16, 4604–4613.
22. Frese, K. K., Tuveson, D. A. (2007). Maximizing mouse cancer models. *Nature Reviews Cancer*, 7(9), 654-658.
23. Friederich, M., Hansell, P., Palm, F. (2009). Diabetes, oxidative stress, nitric oxide and mitochondria function. *Current diabetes reviews*, 5(2), 120-144.
24. Fuentes, N. R., Kim, E., Fan, Y. Y., Chapkin, R. S. (2018). Omega-3 fatty acids, membrane remodeling and cancer prevention. *Molecular aspects of medicine*, 64, 79-91.
25. Furman, B. L. (2015). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current protocols in pharmacology*, 70(1), 5-47.
26. Furuta, E., Pai, S. K., Zhan, R., Bandyopadhyay, S., Watabe, M., Mo, Y.Y., Hirota, S., Hosobe, S., Tsukada, T., Miura, K. (2008) Fatty acid synthase gene is up regulated by hypoxia via activation of Akt and sterol regulatory element binding protein. *Cancer Res* 68, 1003–1011.
27. Galeotti, T., Borrello, S., Minotti, G., Masotti, L. (1986). Membrane Alterations in Cancer Cells: The Role of Oxy Radicals a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 488(1), 468-480.
28. García-Berumen, C. I., Ortiz-Avila, O., Vargas-Vargas, M. A., del Rosario-Tamayo, B. A., Guajardo-López, C., Saavedra-Molina, A., Cortés-Rojo, C. (2019). The severity of rat liver injury by fructose and high fat depends on the degree of respiratory dysfunction and oxidative stress induced in mitochondria. *Lipids in health and disease*, 18(1), 1-11.
29. Gárciga-Cardoso, F., Licea-Puig, M. (2012). Relación entre la diabetes mellitus y el cáncer. *Revista Peruana de Epidemiología*, 16(2), 69-75.
30. Gengenbacher, N., Singhal, M., Augustin, H. G. (2017). Preclinical mouse solid tumour models: status quo, challenges and perspectives. *Nature Reviews Cancer*, 17(12), 751.
31. Goodridge, A. G. (1991). Fatty acid synthesis in eucaryotes. In *New comprehensive biochemistry*. 20, 111-139.



32. Grau, P. W. (2011). El factor HIF-1 inducido por la hipoxia y la sensibilidad al oxígeno. Rol del hierro intracelular. *Acta Médica Peruana*, 28(3), 163-168.
33. Grunberger, D., Haimovitz, R., Shinitzky, M. (1982). Resolution of plasma membrane lipid fluidity in intact cells labelled with diphenylhexatriene. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 688(3), 764-774.
34. Gruys, M. E., Back, T. C., Subleski, J., Wiltrout, T. A., Lee, J. K., Schmidt, L., Wiltrout, R. H. (2001). Induction of transplantable mouse renal cell cancers by streptozotocin: in vivo growth, metastases, and angiogenic phenotype. *Cancer research*, 61(16), 6255-6263.
35. Habib, S. L., Liang, S. (2014). Hyperactivation of Akt/mTOR and deficiency in tuberin increased the oxidative DNA damage in kidney cancer patients with diabetes. *Oncotarget*. 5:2542–2550.
36. Han L, Ma Q, Li J. (2011). High glucose promotes pancreatic cancer cell proliferation via the induction of EGF expression and transactivation of EGFR. *PLoS One*; 6: e27074.
37. Hanahan, D., Weinberg, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell*. 100(1), 57-70.
38. Hanahan, D., Wagner, E. F., Palmiter, R. D. (2007). The origins of oncomice: a history of the first transgenic mice genetically engineered to develop cancer. *Genes & development*, 21(18), 2258-2270.
39. Hausser, H. J., Brenner, R. E. (2005). Phenotypic instability of Saos-2 cells in long-term culture. *Biochemical and biophysical research communications*, 333(1), 216-222.
40. Holzapfel, C. (2019). Update on weight loss in persons with type 2 diabetes mellitus. *MMW Fortschritte der Medizin*, 161(11), 52-56.
41. Horton, L., Fox, C., Corrin, B., Sönksen, P. H. (1977). Streptozotocin-induced renal tumours in rats. *British Journal of Cancer*, 36(6), 692-699.
42. Hou Y, Zhou M, Xie J. (2017). High glucose levels promote the proliferation of breast cancer cells through GTPases. *Breast Cancer (Dove Med Press)*; 9:429–36.



43. Hsieh, J. J., Purdue, M. P., Signoretti, S., Swanton, C., Albiges, L., Schmidinger, M., Ficarra, V. (2017). Renal cell carcinoma. *Nature reviews Disease primers*, 3, 17009.
44. Huang, C. Y., Ju, D. T., Chang, C. F., Reddy, P. M., Velmurugan, B. K. (2017). A review on the effects of current chemotherapy drugs and natural agents in treating non-small cell lung cancer. *Biomedicine*, 7(4).
45. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2019. Características de las defunciones registradas en México durante 2018. Comunicado de prensa núm.538/19. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2019/EstSocio demo/DefuncionesRegistradas2019.pdf>
46. Islam, M. S., Loots, D. T. (2009). Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 31(4), 249.
47. Kaur, J., Sanyal, S. N. (2010). Alterations in membrane fluidity and dynamics in experimental colon cancer and its chemoprevention by diclofenac. *Molecular and cellular biochemistry*, 341(1-2), 99-108.
48. Kazumi, T., Yoshino, G., Fujii, S., Baba, S. (1978). Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male Wistar rats. *Cancer Research*, 38(7), 2144-2147.
49. Kemp, C. J. (2015). Animal models of chemical carcinogenesis: driving breakthroughs in cancer research for 100 years. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015(10).
50. Kuhajda, F. P. (2000). Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. *Nutrition*, 16(3), 202-208.
51. Kuhajda, F. P. (2006). Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway. *Cancer Res.* 66, 5977–5980.
52. Liu, Z., Xiao, Y., Yuan, Y., Zhang, X., Qin, C., Xie, J., Wang, X. (2013). Effects of oleic acid on cell proliferation through an integrin-linked kinase signaling pathway in 786-O renal cell carcinoma cells. *Oncology Letters*, 5(4), 1395-1399.



53. López, J. I., Ugalde, A., Zhou, M. (2008). Carcinomas renales con células claras. *Revista Española de Patología*, 41(3), 169-182.
54. Los, D. A., Murata, N. (2004). Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1666(1-2), 142-157.
55. Martiñon, R. D. A. 2019. Efecto de los ácidos grasos omega-3 sobre la actividad mitocondrial hepática de ratas con Diabetes Mellitus Tipo 2. Tesis Profesional para obtener el título de Bióloga. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
56. Matsuyama, M., Yoshimura, R. (2008). Relationship between arachidonic acid pathway and human renal cell carcinoma. *OncoTargets and therapy*, 1, 41.
57. Mauer, S. M., Lee, C. S., Najarian, J. S., Brown, D. M. (1974). Induction of malignant kidney tumors in rats with streptozotocin. *Cancer Research*, 34(1), 158-160.
58. Medes G, Thomas A., Weinhouse S (1953) Metabolism of neoplastic tissue. IV. A study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices in vitro. *Cancer Res* 13, 27–29.
59. Meng, X., Riordan, N. H., Riordan, H. D., Mikirova, N., Jackson, J., González, M. J. Trinidad, W. C. (2004). Cell membrane fatty acid composition differs between normal and malignant cell lines. *Puerto Rico health sciences journal*, 23(2), 103-106.
60. Metallo, C. M., Gameiro, P. A., Bell, E. L., Mattaini, K. R., Yang, J., Hiller, K., Jewell, C. M., Johnson, Z. R., Irvine, D. J., Guarente, L. (2011). Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature* 481, 380–384
61. Merchant, T. E., Gierke, L. W., Meneses, P., Glonek, T. (1990). Phospholipid Profiles of Neoplastic Human Breast Tissues. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 51(1-4), 404-404.



62. Meza-Junco, J., Montaña-Loza, A., Aguayo-González, A. (2006). Bases moleculares del cáncer. *Revista de investigación clínica*, 58(1), 56-70.
63. Miess, H., Dankworth, B., Gouw, A. M., Rosenfeldt, M., Schmitz, W., Jiang, M., Peck, B. (2018). The glutathione redox system is essential to prevent ferroptosis caused by impaired lipid metabolism in clear cell renal cell carcinoma. *Oncogene*, 37(40), 5435-5450
64. Morrison, W. R., Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol. *Journal of lipid research*, 5(4), 600-608.
65. Nagle, J. F., Tristram-Nagle, S. (2000). Structure of lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 1469(3), 159-195.
66. Nakazawa I, Iwaizumi M. (1989). A role of the cancer cell membrane fluidity in the cancer metastases: an ESR study. *Tohoku J Exp Med*. 157(3):193–198
67. NOM-062-ZOO-1999, N. O. M., LA PRODUCCION, E. T. P. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
68. Oommen, D., Dodd, N. J., Yiannakis, D., Moyeed, R., Jha, A. N. (2016). Linking genotoxicity and cytotoxicity with membrane fluidity: a comparative study in ovarian cancer cell lines following exposure to auranofin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 809, 43-49.
69. Owens, B. (2016). Kidney cancer. *Nature*, 537(7620), S97.
70. Ortiz-Avila, O., Figueroa-García, M.F, García-Berumen, C. I., Calderón-Cortés, E., Mejía-Barajas, J. A., Rodríguez-Orozco, A. R., Mejía-Zepeda, R., Saavedra-Molina, A., Cortés-Rojo, C. (2017). Avocado oil induces long-term alleviation of oxidative damage in kidney mitochondria from type 2 diabetic rats by improving glutathione status. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 49(2), 205-214.
71. Pérez Ruiz, A. O., Padrón, C., Valencia Fernández, V., Sanjurjo Gámez, V., Iliástigui Ortueta, T. (1998). Biosíntesis de los productos del ácido araquidónico y su repercusión sobre la inflamación. *Revista Cubana de Estomatología*, 35(2), 56-61.



72. Phillips, P. J. (2012). Oral glucose tolerance testing. *Australian family physician*, 41(6), 391.
73. Plascencia-Nieto, ESS. 2006. Regulación de la COX-2 por el NaCl en la Macula Densa de la Diabetes Mellitus inducida en ratas. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencias con especialidad en farmacología. México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Superior de Medicina. Sección de Estudios de Posgrado e Investigación.
74. Petan, T., Jarc, E., Jusović, M. (2018). Lipid droplets in cancer: guardians of fat in a stressful world. *Molecules*, 23(8), 1941.
75. Psutka, S. P., Stewart, S. B., Boorjian, S. A., Lohse, C. M., Tollefson, M. K., Cheville, J. C. Thompson, R. H. (2014). Diabetes mellitus is independently associated with an increased risk of mortality in patients with clear cell renal cell carcinoma. *The Journal of urology*, 192(6), 1620-1627.
76. Ramzi, S. C., Kumar, V., Collins, T. (2000). *Patología estructural y funcional*. Sexta edición. España: Editorial Mc Graw Hill Interamericana. P 277-287.
77. Rezende, R. B., Drachenberg, C. B., Kumar, D., Blanchaert, R., Ord, R. A., Ioffe, O. B. Papadimitriou, J. C. (1999) Differential diagnosis between monomorphic clear cell adenocarcinoma of salivary glands and renal (clear) cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 23, 1532–1533.
78. Rodrigues, C. M., Solá, S., Castro, R. E., Laires, P. A., Brites, D., Moura, J. J. (2002). Perturbation of membrane dynamics in nerve cells as an early event during bilirubin-induced apoptosis. *Journal of lipid research*, 43(6), 885-894.
79. Sandoval-Muñiz, R. D. J., Vargas-Guerrero, B., Flores-Alvarado, L. J., Gurrola-Díaz, C. M. (2016). Glucotransportadores (GLUT): Aspectos clínicos, moleculares y genéticos. *Gaceta médica de México*, 152(4), 547-557.
80. Santos, C. R., Schulze, A. (2012). Lipid metabolism in cancer. *The FEBS journal*, 279(15), 2610-2623
81. Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annual review of food science and technology*. 9, 345-381.



82. Siddiqi, A., Saidullah, B., Sultana, S. (2018). Anti-carcinogenic effect of hesperidin against renal cell carcinoma by targeting COX-2/PGE2 pathway in Wistar rats. *Environmental toxicology*, 33(10), 1069-1077.
83. Sok, M., Šentjurc, M., Schara, M., Stare, J., Rott, T. (2002). Cell membrane fluidity and prognosis of lung cancer. *The Annals of thoracic surgery*, 73(5), 1567-1571.
84. Swinnen, J. V. (2003). Fatty acid synthase drives the synthesis of phospholipids partitioning into detergent-resistant membrane microdomains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 302, 898–903.
85. Swinnen, J. V., Brusselmans, K. Verhoeven, G. (2006). Increased lipogenesis in cancer cells: new players, novel targets. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 9, 358–365.
86. Tavolari, S., Munarini, A., Storci, G., Laufer, S., Chieco, P., Guarnieri, T. (2012). The decrease of cell membrane fluidity by the non-steroidal anti-inflammatory drug Licofelone inhibits epidermal growth factor receptor signalling and triggers apoptosis in HCA-7 colon cancer cells. *Cancer letters*, 321(2), 187-194.
87. Teicher, B. A. 2010. Tumor models in cancer research. USA: Springer Science & Business Media. Second edition. 682 p.
88. Trujillo, M. C. B., Tovar, A. P. (2008). Óxido nítrico: implicaciones fisiopatológicas. *Revista Colombiana de Anestesiología*, 36(1), 45-52.
89. Underwood, W., Anthony, R. (2013). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Retrieved on March, 30(2020), 2020-01.
90. Uscanga-Yépez, J., Gonzalez-Oyervides, R., Olvera-Posada, D., Góngora-Cortéz, J., Barrera-Juárez, E. (2018). Repercusión de la diabetes tipo 2 en la clasificación TNM de pacientes con cáncer renal. *Revista Mexicana de Urología*, 78(1), 1-8.
91. Vicenteño, M. U. A. 2018. Análisis de diferentes dosis de ácidos grasos omega 3 (alfa-linolénico) en fantasmas de eritrocitos de ratas inducidas a diabetes tipo 2. Tesis Profesional para obtener el título de Bióloga. Los Reyes



Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

92. Vinciguerra, M., Carrozzino, F., Peyrou, M., Carlone, S., Montesano, R., Benelli, R., Foti, M. (2009). Unsaturated fatty acids promote hepatoma proliferation and progression through downregulation of the tumor suppressor PTEN. *Journal of hepatology*, 50(6), 1132-1141.
93. Vinerean, H. V., Gazda, L. S., Hall, R. D., Smith, B. H. (2011). Streptozotocin is responsible for the induction and progression of renal tumorigenesis in diabetic Wistar-Furth rats treated with insulin or transplanted with agarose encapsulated porcine islets. *Islets*, 3(4), 196-203.
94. Voet, D., Voet, J. G. (2006). *Bioquímica*. México: Ed. Médica Panamericana. (1176 pp.).
95. Von Roemeling, C. A., Marlow, L. A., Wei, J. J., Cooper, S. J., Caulfield, T. R., Wu, K., Copland, J. A. (2013). Stearoyl-CoA desaturase 1 is a novel molecular therapeutic target for clear cell renal cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 19(9), 2368-2380.
96. Wang, M., Wang, Y., Xie, T., Zhan, P., Zou, J., Nie, X., Dai, Y. (2019). Prostaglandin E₂/EP₂ receptor signalling pathway promotes diabetic retinopathy in a rat model of diabetes. *Diabetologia*, 62(2), 335-348
97. Wiktorowska-Owczarek, A., Berezinska, M., Nowak, J. Z. (2015). PUFAs: structures, metabolism and functions. *Adv Clin Exp Med*, 24(6), 931-41.
98. Yoshii Y, Furukawa T, Yoshii H, Mori T, Kiyono Y, Waki A, Kobayashi M, Tsujikawa T, Kudo T, Okazawa H. (2009) Cytosolic acetyl-CoA synthetase affected tumor cell survival under hypoxia: the possible function in tumor acetyl-CoA/acetate metabolism. *Cancer Sci* 100, 821–827.
99. Zelenko, Z., Gallagher, E. J. (2014). Diabetes and cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 43(1), 167-185.
100. Zeisig, R., Koklič, T., Wiesner, B., Fichtner, I., Sentjurč, M. (2007). Increase in fluidity in the membrane of MT3 breast cancer cells correlates with enhanced cell adhesion in vitro and increased lung metastasis in NOD/SCID mice. *Archives of biochemistry and biophysics*, 459(1), 98-106.



ANEXOS

Anexo 1. Curvas de tolerancia a la Glucosa a diferentes tiempos

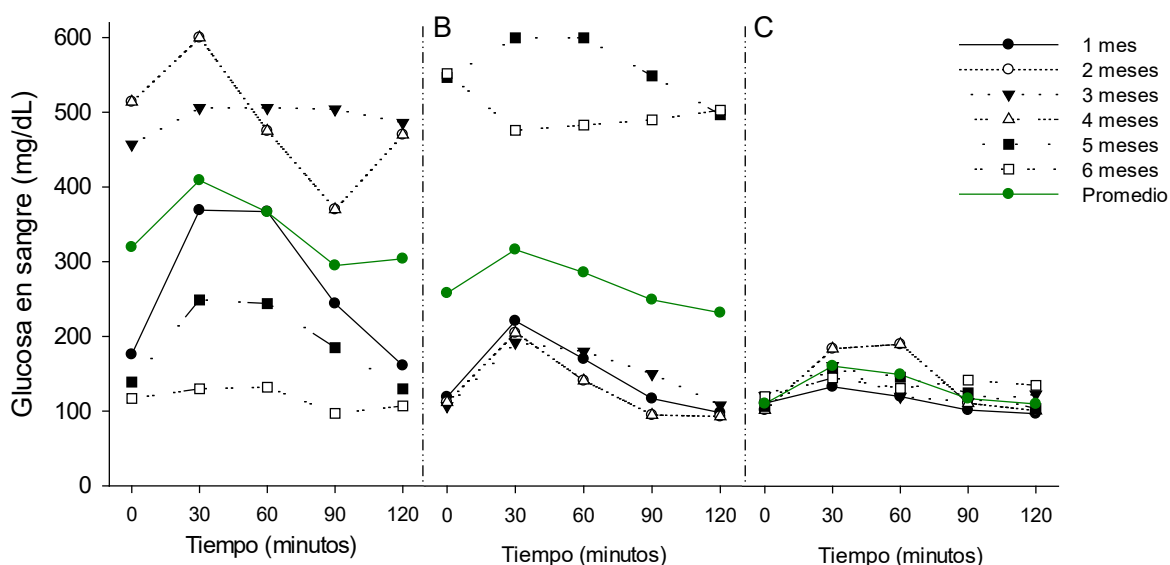


Figura 29. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 1 día por semana a diferentes tiempos (de 1 a 6 meses de edad). A) Rata 1; B) Rata 2; C) Rata 3. En negro se presentan los valores individuales y en verde el promedio general.

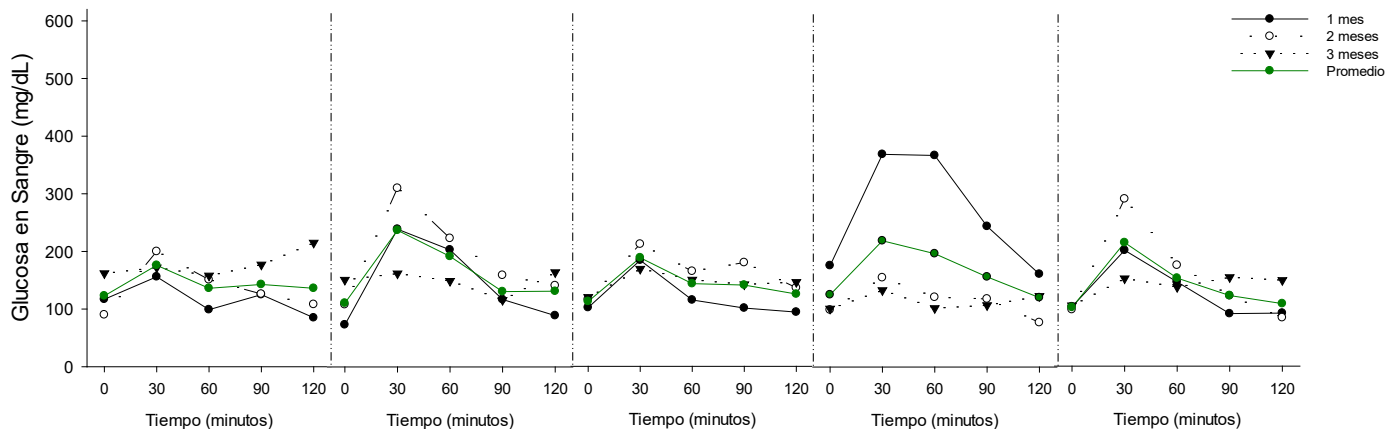


Figura 30. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 día por semana a diferentes tiempos (de 1 a 3 meses de edad). A) Rata 1; B) Rata 2; C) Rata 3; D) Rata 4; E) Rata 5. En negro se presentan los valores individuales y en verde el promedio.



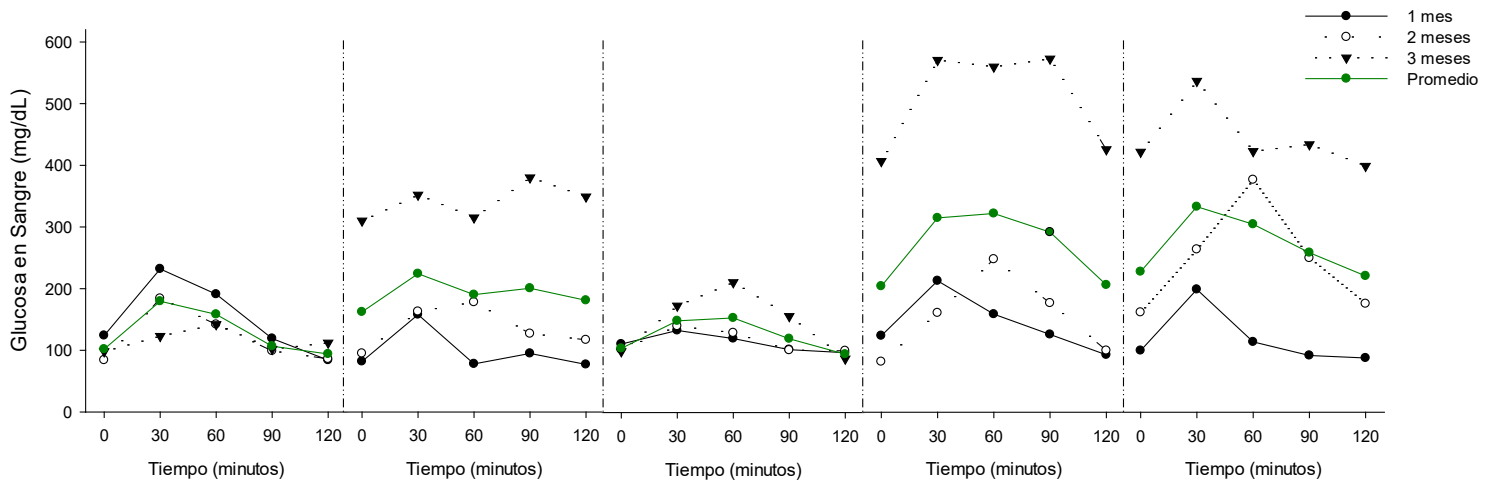


Figura 31. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 a diferentes tiempos (de 1 a 6 meses de edad). A) Rata 1; B) Rata 2; C) Rata 3; D) Rata 4; E) Rata 5. En negro se presentan los valores individuales y en verde el promedio.

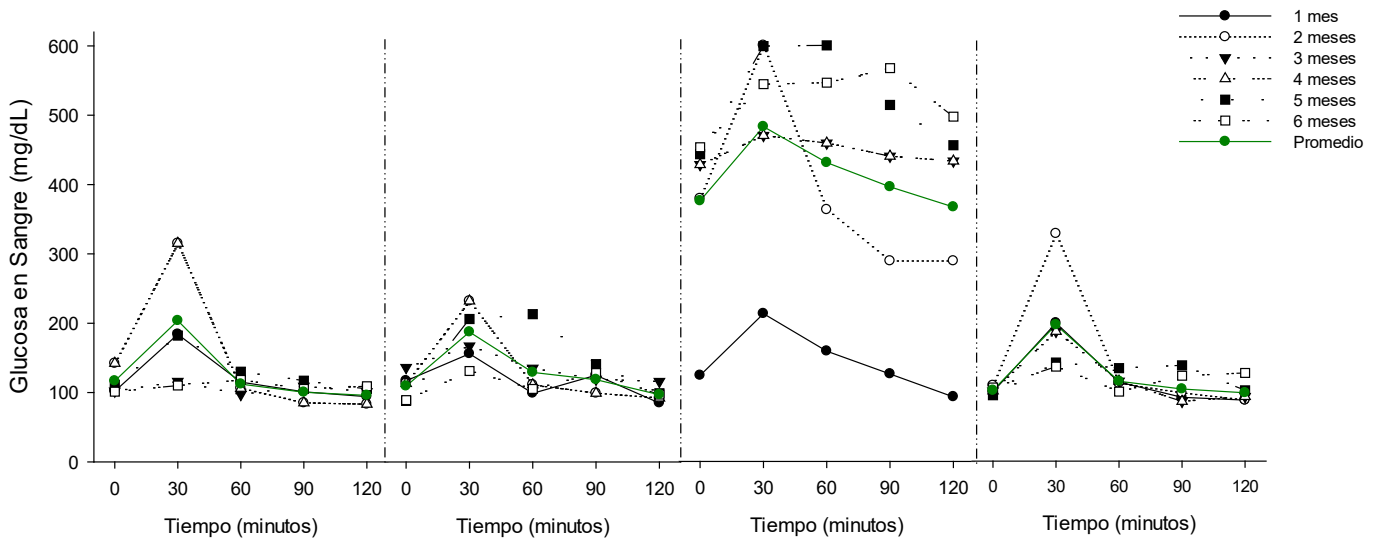


Figura 32. Curvas de Tolerancia a la Glucosa de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas diariamente con ácidos grasos omega 3 de cadena larga 3 a diferentes tiempos (de 1 a 6 meses de edad). A) Rata 1; B) Rata 2; C) Rata 3; D) Rata 4. En negro se presentan los valores individuales y en verde el promedio.



Anexo 2. Comparación del índice de fluidez y polarización de fluorescencia

Grupo 1. Ratas de 6 meses de edad con suplementación de AGPI ω -3 1 día por semana.

Con el objeto de analizar la relación entre la composición química de los ácidos grasos de los lípidos de las diferentes secciones del riñón, en la Figura 24 se presenta una comparación entre el índice de fluidez representado por el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S) y la fluidez lipídica reportada por el monitor fluorescente DPH a través de la polarización de fluorescencia. Los resultados se presentan por cada rata, ya que, hasta el momento han mostrado comportarse completamente diferente entre cada individuo a pesar de haber recibido el mismo tratamiento. En cada gráfica se representa con una línea discontinua la tendencia general de los datos de esa(s) rata(s). En el caso del índice de fluidez (I/S), una línea positiva significa una tendencia a aumentar la fluidez de los lípidos que componen las membranas biológicas. En el caso del DPH, una línea de tendencia positiva significa una disminución de la fluidez lipídica, y, por el contrario, una línea de tendencia negativa significa un aumento de la fluidez lipídica. De manera general, en la figura 23 se aprecia que las ratas 2 (C y D) y 3 (E y F) tienen una tendencia a disminuir el cociente I/S y aumentar la polarización de fluorescencia, lo cual significa que ambos datos son coherentes y consistentes. Sin embargo, la rata 1 (A y B) indica un aumento de la fluidez por el cociente I/S, pero una disminución de la fluidez por la polarización de fluorescencia. Es decir que el desarrollo de los tumores no fue igual en todas las ratas de este grupo, pese a recibir el mismo tratamiento y por consecuencia, las propiedades fisicoquímicas de cada una de ellas parece única.



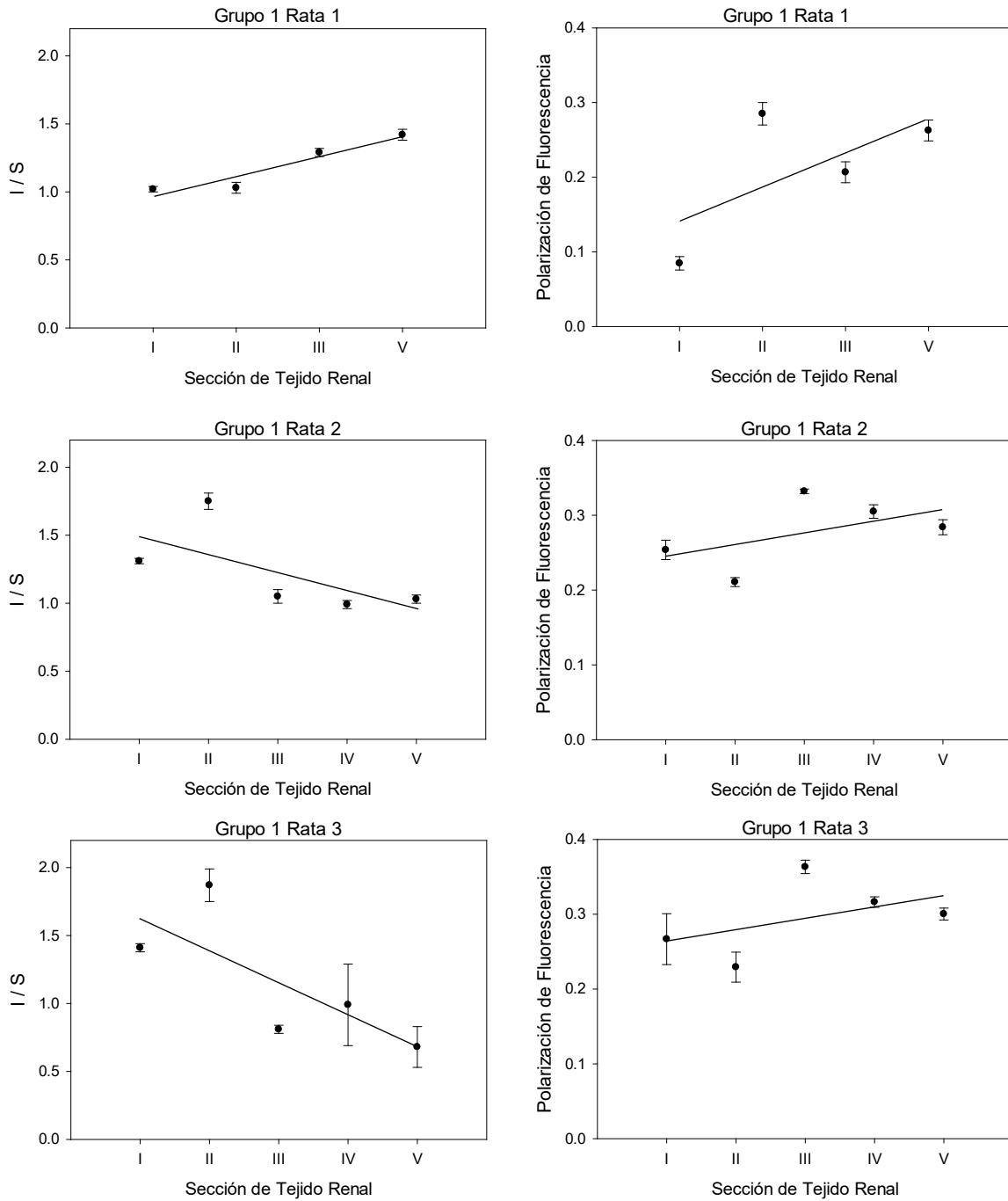


Figura 33. Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 1 día a la semana (STZ ω -3CL 1ds 6m).



Grupo 2. Ratas de 3 meses de edad con suplementación de AGPI ω -3 3 días por semana.

Para analizar la relación entre la composición química de los ácidos grasos de los lípidos de las diferentes secciones del riñón, en la Figura 25 se presenta una comparación entre el índice de fluidez representado por el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S) y la fluidez lipídica reportada por el monitor fluorescente DPH a través de la polarización de fluorescencia. Al igual que el grupo anterior, los resultados se presentan por cada rata, debido que han presentado comportamientos diferentes entre cada individuo a pesar de haber recibido el mismo tratamiento. En cada gráfica se presenta una línea discontinua que representa la tendencia general de los datos de esa(s) rata(s). Para el índice de fluidez (I/S), una línea positiva implica un aumento de la fluidez de los lípidos que componen las membranas biológicas. Caso contrario con el DPH, ya que una línea de tendencia positiva significa una disminución de la fluidez lipídica. De manera general, en la figura 24 se aprecia que el tejido normal (I) de las 5 ratas (A y B) tiende a aumentar la fluidez por el cociente de I/S y disminuir la polarización de fluorescencia, lo que nos indica que, aunque es el mismo tejido, cada rata tiene un comportamiento diferente. En el caso de la rata 5 (C y D), el índice de fluidez se mantiene relativamente constante y la polarización aumenta, significando que los datos no son coherentes y consistentes.



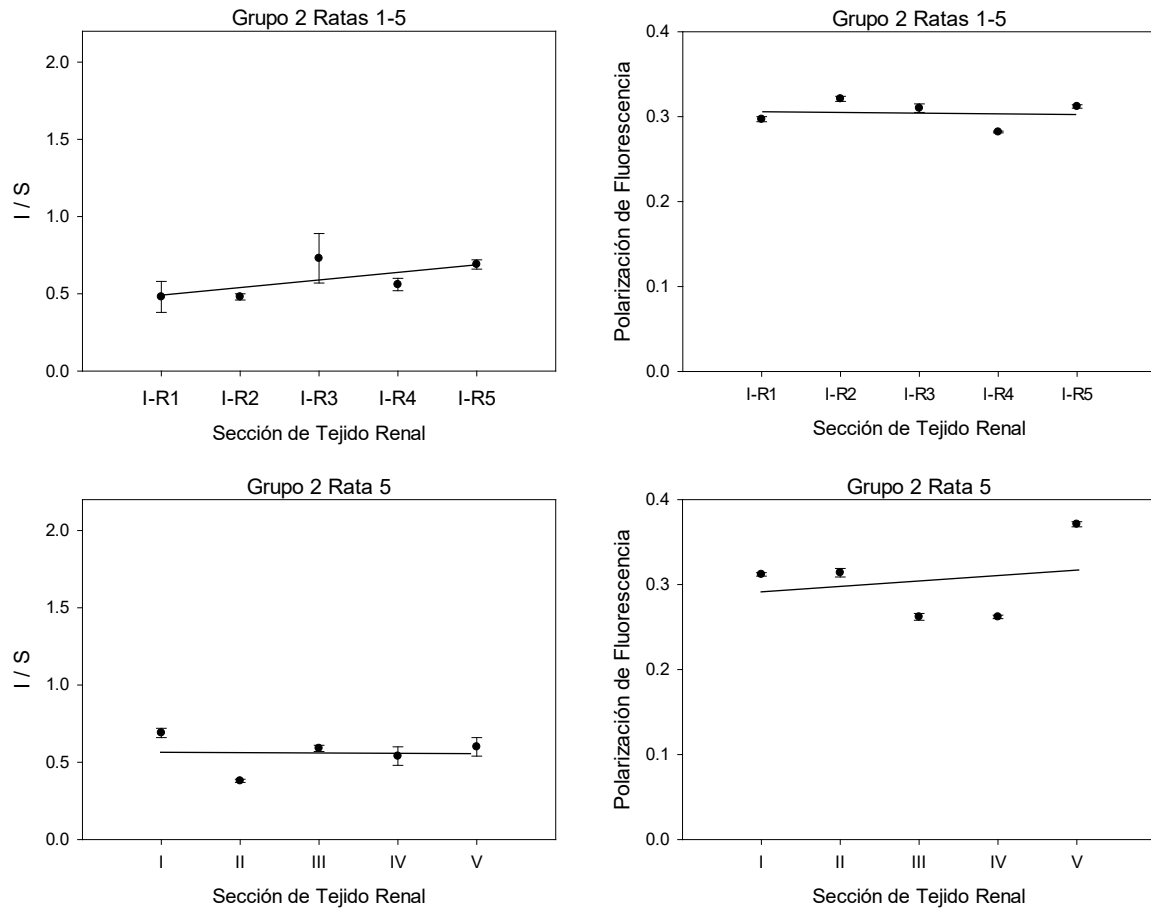


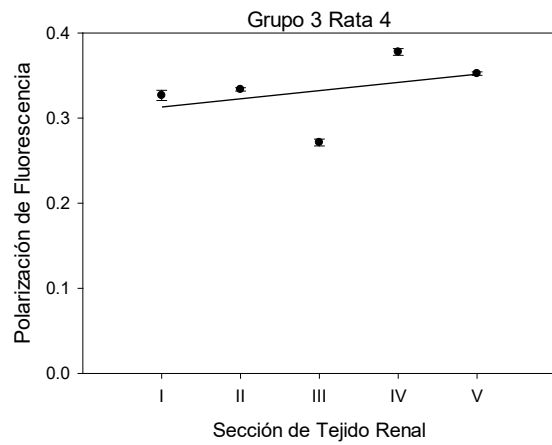
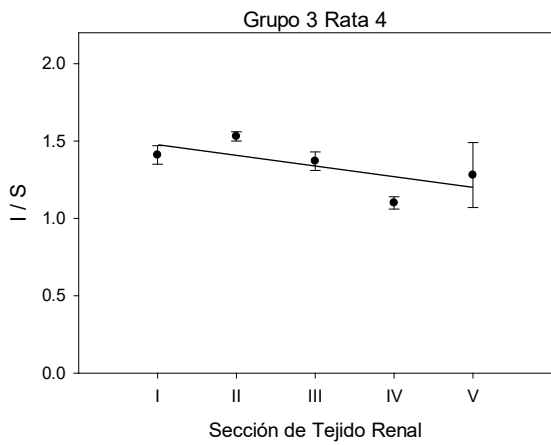
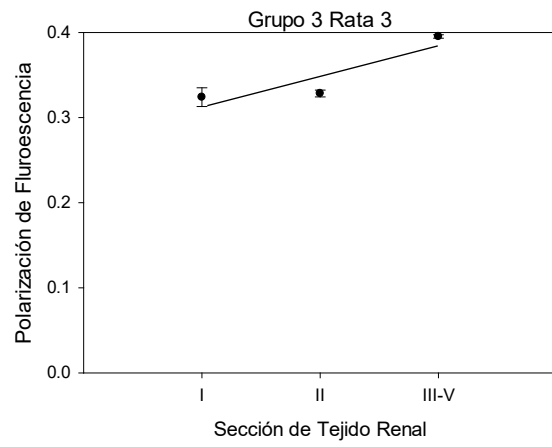
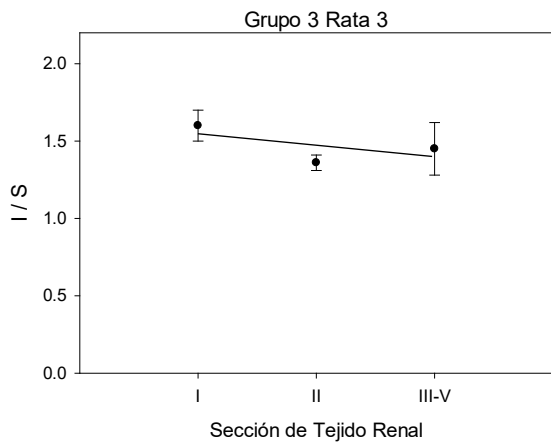
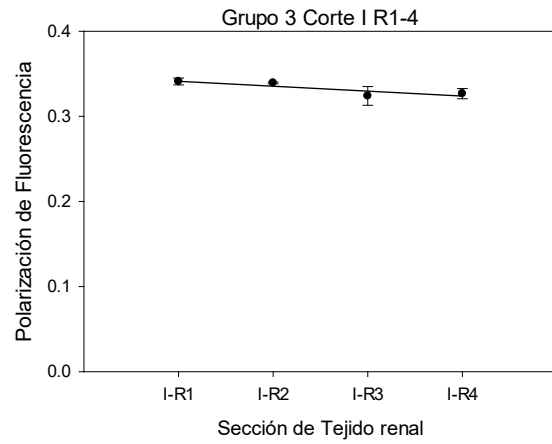
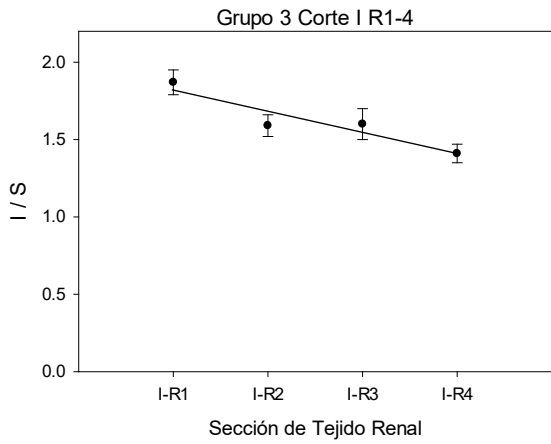
Figura 34. Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 3 días a la semana (STZ ω -3CL 3ds 3m).



Grupo 3. Ratas de 3 meses de edad con suplementación diaria de AGPI ω -3

Para analizar la relación entre la composición química de los ácidos grasos de los lípidos de las diferentes secciones del riñón, en la Figura 26 se presenta una comparación entre el índice de fluidez representado por el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S) y la fluidez lipídica reportada por el monitor fluorescente DPH a través de la polarización de fluorescencia. Al igual que en los grupos anteriores, los resultados se presentan por cada rata. En cada gráfica se presenta una línea discontinua que representa la tendencia general de los datos de esa(s) rata(s). Para el índice de fluidez (I/S), una línea positiva implica un aumento de la fluidez de los lípidos que componen las membranas biológicas. Caso contrario con el DPH, ya que una línea de tendencia positiva significa una disminución de la fluidez lipídica. En la figura 25 se presenta esta relación, se observa que el tejido normal (I) de las 4 ratas (A y B) es diferente, ya que desde la rata 1 a la 4 tiende a disminuir la fluidez por el cociente de I/S y la polarización de fluorescencia, lo que nos indica que aumenta la fluidez, estos datos son inconsistentes y nos refleja que cada rata tiene un comportamiento diferente. En cambio, para las ratas 3 (C y D), 4 (E y F) y 5 (G y H) presentan un comportamiento coherente, ya que tienden a disminuir la fluidez por el cociente I/S y a aumentar la polarización de fluorescencia.





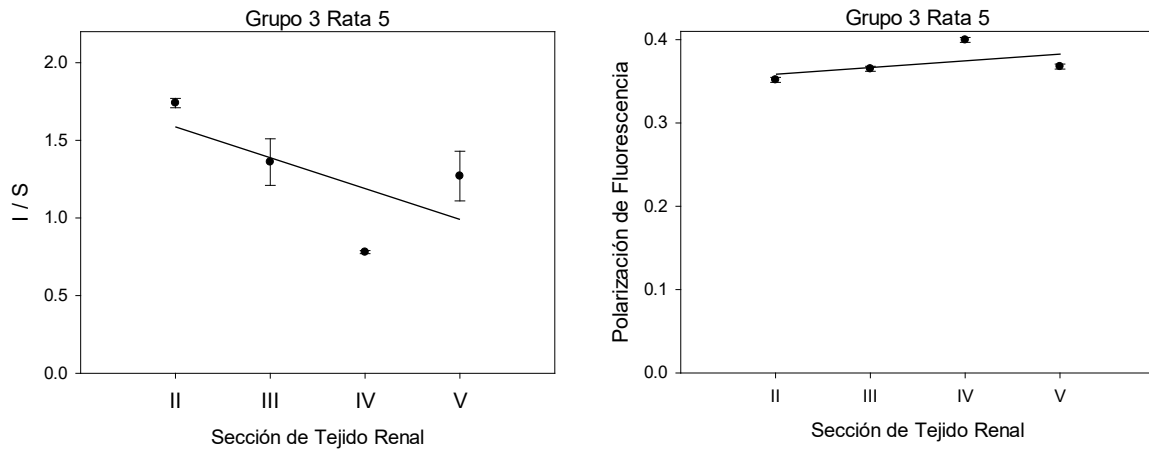


Figura 35. Comparación entre el índice de fluidez (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 3 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 7 días a la semana (STZ ω -3CL 3ds 7m).

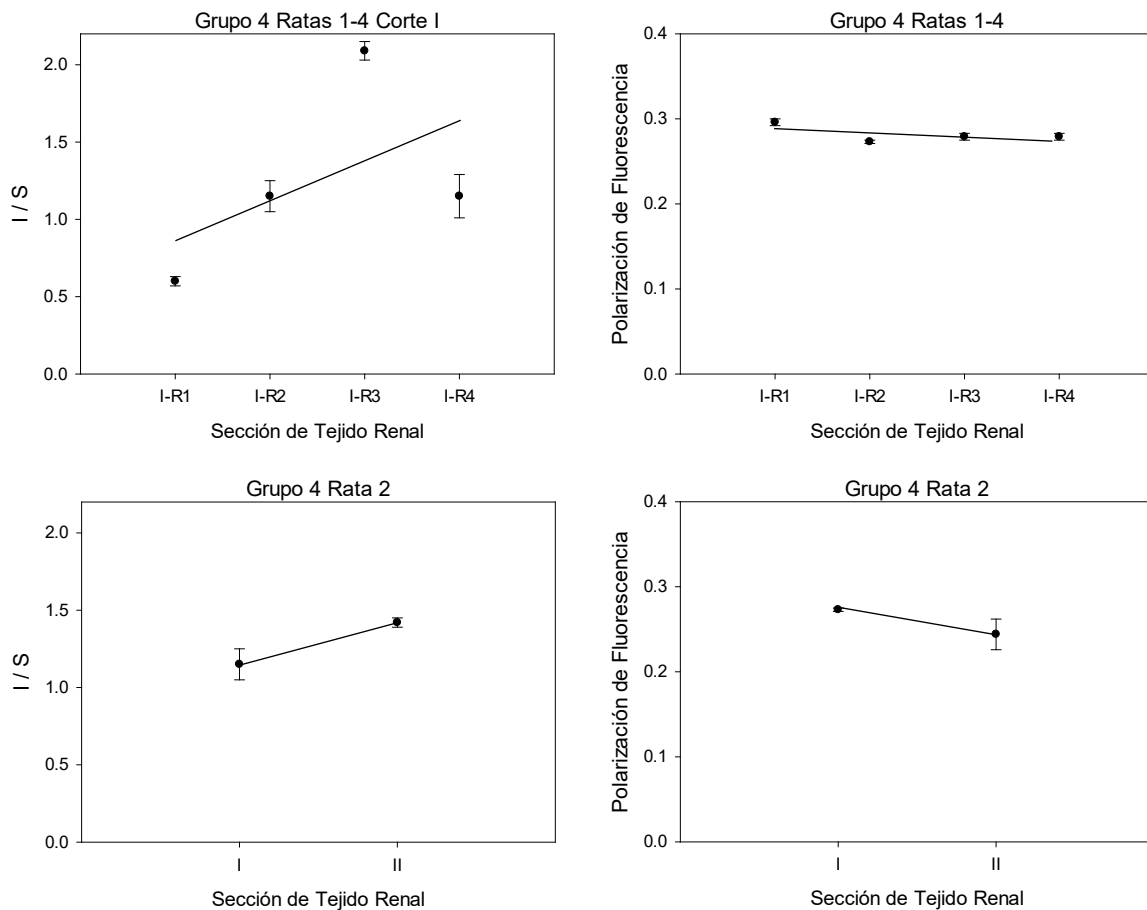


Grupo 4. Ratas de 6 meses de edad con suplementación diaria de AGPI ω -3

Para analizar la relación entre la composición química de los ácidos grasos de los lípidos de las diferentes secciones del riñón, en la Figura 27 se presenta una comparación entre el índice de fluidez representado por el cociente de ácidos grasos insaturados sobre saturados (I/S) y la fluidez lipídica reportada por el monitor fluorescente DPH a través de la polarización de fluorescencia. Al igual que en los grupos anteriores, los resultados se presentan por cada rata. En cada gráfica se presenta una línea discontinua que representa la tendencia general de los datos de esa(s) rata(s). Para el índice de fluidez (I/S), una línea positiva implica un aumento de la fluidez de los lípidos que componen las membranas biológicas. Caso contrario con el DPH, ya que una línea de tendencia positiva significa una disminución de la fluidez lipídica.



Por ello, en la figura 26 se presenta esta comparación, el tejido normal (I) de las 4 ratas (A y B) es diferente, ya que desde la rata 1 a la 4 tiende a disminuir la fluidez por el cociente de I/S y aumentar la polarización de fluorescencia, lo que nos indica cada rata tiene un comportamiento diferente aun siendo el mismo tejido y sometidas a las mismas condiciones. En cambio, para las ratas 2 (C y D), 3 (E y F) y 4 (G y H) tienden a disminuir la fluidez por el cociente I/S y a aumentar la polarización de fluorescencia, desde la parte normal (I) hasta la parte interna del tumor (V). Esto nos demuestra que los datos son consistentes y coherentes.



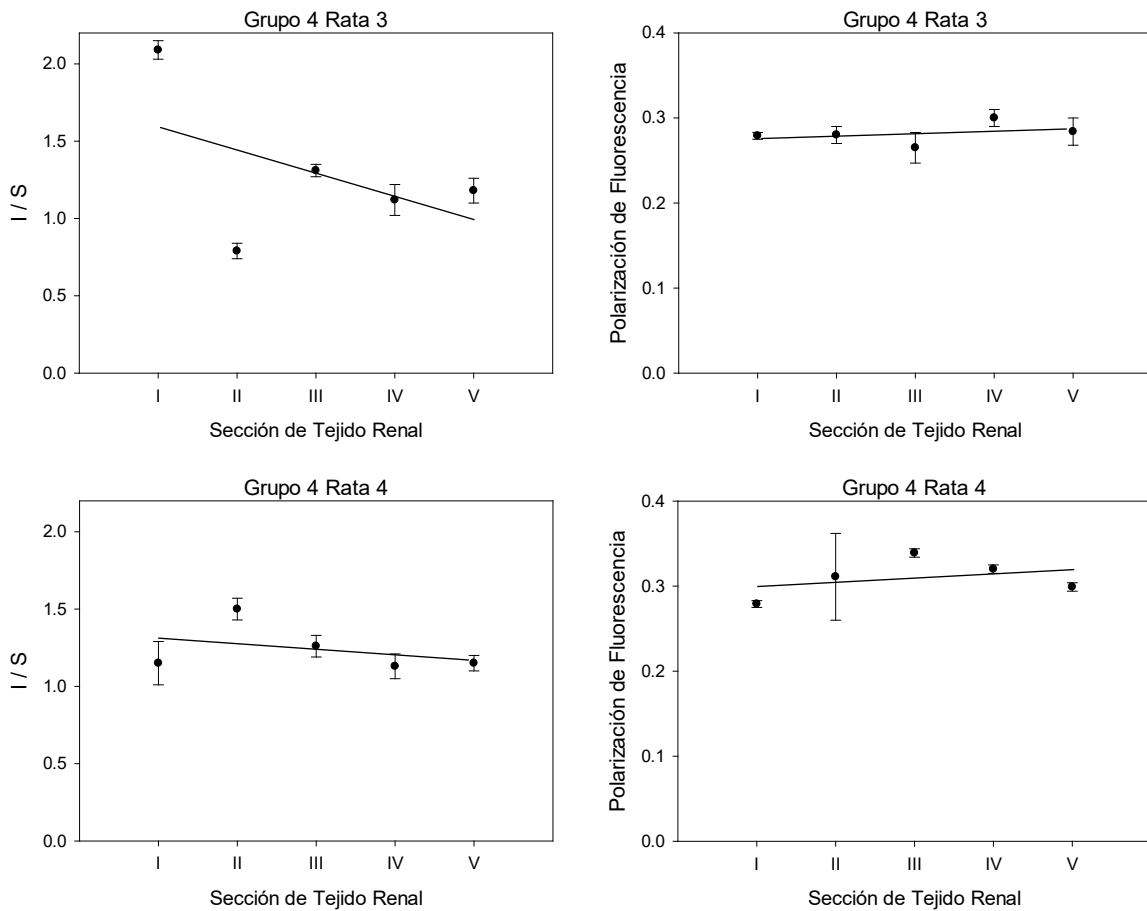


Figura 36. Comparación entre el índice de fluidéz (I/S) y la polarización de fluorescencia del DPH de ratas diabéticas de 6 meses de edad, dosificadas con ácidos grasos omega 3 7 días a la semana (STZ ω -3CL 7ds 6m).

