



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Ácidos Grasos Omega 3 En Ratas Wistar Lactantes:
Efecto Sobre La Composición De Ácidos Grasos De
Hígado Y Cerebro**

TESIS

Que para obtener el título de:

Biólogo

Presenta:

Raymundo Coate Camacho

Director de Tesis: Dr. Ricardo Mejía Zepeda



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México 2019



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

Este trabajo se realizó en el laboratorio 4 de la Unidad de Biomedicina de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala bajo la dirección del Dr. Ricardo Mejía Zepeda.

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM IN-215917-3.

A los miembros del comité

Dra. Ma. Del Consuelo Figueroa García

Dr. Martín Palomar Morales

Dr. Luis Arturo Baiza Gutman

Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro

Gracias por todos sus comentarios, correcciones y paciencia.

Dedicatorias

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme una educación gratuita y de calidad.

A mis asesores el Dr. Ricardo y la Dra. Consuelo, maestros y ejemplo a seguir. Gracias por las enseñanzas y por darme la oportunidad de trabajar con ustedes aprendiendo algo nuevo cada día.

Especialmente a mi familia por todo su apoyo, gracias ma y pa por todo su esfuerzo para darnos estudio y no permitir que dejáramos las cosas a medias. Esto es por y para ustedes.

Gracias.

Índice

ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE TABLAS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
Los lípidos	8
Clasificación	9
Ácidos grasos	9
• Ácidos grasos saturados	11
• Ácidos grasos insaturados	11
Ácidos grasos esenciales	12
Digestión y Metabolismo de los ácidos grasos	13
• Triglicéridos simples	13
• Triglicéridos mixtos	14
Digestión	14
Metabolismo: oxidación y biosíntesis de los ácidos grasos	17
• β-oxidación de los ácidos grasos	17
• Biosíntesis de los ácidos grasos	17
Formación de ácidos grasos poliinsaturados a partir de AL y ALA	18
Los lípidos y las estructuras celulares: Membrana celular	20
Mitocondrias	21
Membranas mitocondriales	22
• Membrana externa	22
• Membrana interna	22
Radicales libres	22
Impacto de los ácidos grasos en la salud	23
ANTECEDENTES	29
JUSTIFICACIÓN	34

HIPÓTESIS	35
OBJETIVOS	36
El objetivo general	36
Objetivos particulares	36
MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
Animales de experimentación.....	37
Lineamientos de Bioética	37
Determinación del peso corporal.....	37
• Determinación de la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos	37
• Curva de tolerancia a la glucosa (CTG)	38
• Obtención de órganos.....	38
• Obtención de mitocondrias de hígado	38
• Control respiratorio	39
• Transesterificación	40
• Cromatografía de gases.....	41
• Cuantificación de malón-di-aldehído en mitocondrias (lipoperoxidación).....	42
• Análisis estadístico.....	43
RESULTADOS.....	44
Curva de tolerancia a la glucosa	45
Concentración de colesterol y triglicéridos en sangre.....	46
Peso de los órganos	47
Parámetros morfométricos del cerebro	48
Composición de ácidos grasos en tejido: hígado.....	49
Composición de ácidos grasos de mitocondrias hepáticas	53
Composición de ácidos grasos de tejido cerebral	56
Control respiratorio y lipoperoxidación en mitocondrias de hígado.....	58
DISCUSIÓN.....	60
Modelo de estudio	61
Ganancia de peso	62
Glucosa sanguínea	63
Curva de Tolerancia a la Glucosa	64

Concentración sanguínea de Triglicéridos y Colesterol.....	65
Peso de los órganos de ratas lactantes con y sin adición de ácidos grasos omega3	66
Proporción cerebro-masa corporal (PCMC) y cociente de encefalización (EQ)	67
Composición de ácidos grasos en tejido y mitocondrias de hígado.....	71
Composición de ácidos grasos cerebro	74
Función mitocondrial y concentración de malondialdehído (MDA) en mitocondrias	76
CONCLUSIONES	78
ANEXO	79
REFERENCIAS	83

ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidónico
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ALA	Ácido Linolénico
ARN (RNA)	Ácido Ribonucleico
ATP	Adenosín Trifosfato
CoA	Coenzima A
CR	Control Respiratorio
DHA	Ácido Docosaheptaenoico
DPA	Ácido Docosapentaenoico
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
FAD	Flavín Adenín Dinucleótido
FADH ₂	Flavín Adenin Dinucleótido reducido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad (High Density Lipoproteins)
LA	Ácido Linoleico
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad (Low Density Lipoproteins)
MDA	Malondialdehído
NAD ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleótido
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Reducido
OMS (WHO)	Organización Mundial de la Salud
PPARs	Receptores Activados Por Proliferadores De Peroxisoma
ω -3 (n-3)	Ácido Graso Omega 3
ω -6 (n-6)	Ácido Graso Omega 6
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Esquema de centrifugación para obtención de mitocondrias.....	39
Tabla 2 Composición del medio de respiración para mitocondrias.	40
Tabla 3 Peso de los órganos de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3. .	48
Tabla 4 Densidad, peso y concentración de proteína en cerebro de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.....	49
Tabla 5 Composición de ácidos grasos (mol%) tejido-hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos ω-3 durante la lactancia.....	52
Tabla 6 Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos ω-3 durante la lactancia.....	55
Tabla 7 Composición de ácidos grasos (mol%) tejido-cerebro de ratas suplementadas con ácidos grasos ω-3 durante la lactancia.....	57
Tabla 8 Índice de encefalización de ratas suplementadas con ácidos grasos omega 3 (alfa linolénico) durante la lactancia.....	71
Tabla 9 Análisis de la composición de ácidos grasos de la formula láctea NAN Optipro, etapa 1. No. Lote: 8022477610. Fecha caducidad: 30/abril/2019 (a); información nutrimental del producto (b).	79
Tabla 10 Composición de ácidos grasos del alimento de las ratas madre (Rivera, 2014).	80
Tabla 11 Composición del suplemento de ácidos grasos omega 3 (FLAX SEED oil GNC). .	80
Tabla 12 Datos de ratas lactantes: Peso de los organismos y peso de los órganos.	81
Tabla 13 Datos de ratas lactantes: Parámetros sanguíneos, control respiratorio y formación de malon-di-aldehído.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema del ácido graso Alfa-Linolénico.	11
Figura 2 Digestion de ácidos grasos.....	16
Figura 3 Biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados.....	19
Figura 4 Membrana celular.	21
Figura 5 Peso corporal y concentración de glucosa en sangre de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.....	45
Figura 6 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.....	46
Figura 7 Concentraciones de colesterol y triglicéridos en sangre de ratas suplementadas con ácidos grasos omega 3 (Alfa linolénico) durante la lactancia.....	47
Figura 8 Respiración mitocondrial y lipoperoxidación en mitocondrias hepáticas de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.....	59

RESUMEN

El sector de la población constituido por los infantes lactantes es el que se encuentra mayormente expuesto a los productos que contienen grandes cantidades de Ácidos Grasos Omega 3 (ω -3), especialmente por fórmulas lácteas y suplementos alimenticios. Esta situación tiene origen en las supuestas propiedades benéficas para el desarrollo neurocognitivo que se le atribuyen a estos lípidos, contexto en el cual son ampliamente recomendados. Actualmente los ω -3 son consumidos de forma, hasta cierto punto, excesiva lo cual demuestra la importancia de estudiar sus efectos más allá de los beneficios. **Objetivo:** Analizar la incorporación y que efecto tienen los ω -3 en las membranas mitocondriales, verificar la presencia y acción de los mismos en tejido cerebral y hepático así como su efecto en la ganancia de peso, peso de los órganos internos y también su acción en parámetros fisiológicos como la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre. **Metodología.** Se obtuvieron 12 ratas macho y 12 hembras recién nacidas, 6 de cada sexo fueron tratadas con una dosis oral diaria de ω -3 en forma de aceite de linaza como fuente de ácido linolénico (125 mg/kg de peso) durante 30 días ajustando la dosis al peso del animal diariamente. Para evaluar la utilización de la glucosa se realizó la curva de tolerancia a la glucosa, se mantuvo en ayuno a los animales durante 8 horas y posteriormente se administraron 3 g de dextrosa por kg de peso en un volumen final de 0.5mL, se determinó la concentración de glucosa antes de la suplementación con dextrosa y cada 30 minutos posteriores a esta, se continuo la evaluación hasta llegar a los 120 minutos. Los animales se sacrificaron al mes de edad con una sobredosis de pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso) y se colectaron los órganos internos incluyendo cerebro. Se obtuvo una muestra de sangre por punción en la cola para determinar la concentración de triglicéridos, colesterol y glucosa con un equipo Accutrend de Roche©. Se extrajeron mitocondrias de hígado por centrifugaciones diferenciales. La composición de ácidos grasos de las muestras de tejidos (hepático y cerebral) y mitocondrias hepáticas fue determinada con cromatografía de gases en un equipo Clarus 500 de Perkin Elmer con detector de ionización de flama. Se midió la lipoperoxidación en mitocondrias con la técnica de TBARS observando la concentración de malondialdehído. La respiración mitocondrial se midió en una cámara de vidrio a 37°C (en constante agitación) con medio de respiración adicionando una solución de mitocondrias hepáticas y ADP, se midió el consumo de oxígeno con un electrodo tipo Clark el cual registraba los datos en un equipo de cómputo. **Resultados:** Se observaron diferencias en el

peso y concentración de glucosa de las ratas hembra, las suplementadas con ω -3 presentan un peso 19.7% inferior a su control, y diferencia estadística en las concentraciones de glucosa. La concentración de glucosa se mantiene en un rango de 80 a 100 mg/dL en todos los grupos. Los pesos de los órganos no mostraron diferencias estadísticas más que en riñones al comparar entre hembras y machos y en cerebros siendo los cerebros de ambos grupos de hembras más pesados que los de los machos control. En animales con suplemento de ω -3 se observan diferencias en la composición de ácidos grasos de tejidos cerebral, hígado y mitocondrias hepáticas. Se registró mayor lipoperoxidación en el caso de machos con ω -3 mostrando diferencia estadística con el grupo control macho y control hembra. **Conclusión:** La administración crónica de ácido linolénico (ω 3) en ratas lactantes tienen efectos puntuales en parámetros morfológicos y fisiológicos. Existen diferencias en las composiciones de ácidos grasos de hígado, cerebro y mitocondrias hepáticas de hembras y machos que podrían estar ligadas al consumo de ω 3. El consumo excesivo de ω -3 tiene un efecto en el aumento de la lipoperoxidación; esta situación puede tener efectos en la respiración mitocondrial.

ABSTRACT

The sector of the population consisting of nursing infants is the mostly exposed to products that contain large amounts of Omega 3 Fatty Acids (ω -3), especially from infant formulas and food supplements. This situation has its origin in the supposed beneficial properties for the neurocognitive development that are attributed to these lipids, context in which they are widely recommended. Currently the ω -3 is consumed in a way, to some extent, excessive which demonstrates the importance of studying their effects beyond the benefits. **Objective:** To analyze the incorporation and effect of ω -3 on mitochondrial membranes, verify the presence and action of these in brain and liver tissue as well as their effect on weight gain, weight of internal organs and also their action in physiological parameters such as the concentration of glucose, cholesterol and triglycerides in blood. **Methodology:** We obtained 12 male rats and 12 newborn females, 6 of each sex were treated with a daily oral dose of ω -3 in the form of flaxseed oil as a source of linolenic acid (125 mg / kg of weight) for 30 days adjusting daily the dose to the weight of the animal. To evaluate the glucose utilization, the glucose tolerance curve was carried out, the animals were fasted for 8 hours and subsequently 3 g of dextrose per kg of weight were administered in a final volume of 0.5mL glucose concentration before dextrose supplementation and every 30 minutes after dextrose supplementation, the evaluation was continued until 120 minutes. Animals were sacrificed at one month of age with an overdose of sodium pentobarbital (40 mg / kg body weight) and internal organs including brain were collected. A blood sample was obtained by puncture in the tail to determine the concentration of triglycerides, cholesterol and glucose with an Accutrend team from Roche©. Liver mitochondria were extracted by differential centrifugations. The fatty acid composition of tissue samples (hepatic and cerebral) and liver mitochondria was determined with gas chromatography on a Perkin Elmer Clarus 500 device with flame ionization detector. The lipoperoxidation in mitochondria was measured with the TBARS technique observing the concentration of malondialdehyde. Mitochondrial respiration was measured in a glass chamber at 37 ° C (in constant agitation) with breathing medium adding a solution of liver mitochondria and ADP, the oxygen consumption was measured with a Clark electrode which recorded the data in a computer equipment. **Results:** Differences were observed in the weight and glucose concentration of female rats, those supplemented with ω -3 had a weight 19.7% lower than their control, and statistical difference in glucose concentrations. The

glucose concentration is maintained in a range of 80 to 100 mg / dL in all groups. Organ weights showed no statistical differences more than in kidneys when comparing females and males and in brains being the brains of both groups of females heavier than those of control males. In animals supplemented with ω -3, differences in the fatty acid composition of brain tissue, liver and liver mitochondria are observed. Higher lipoperoxidation was recorded in the case of males with ω -3 showing statistical difference with the male control group and female control. **Conclusion:** Chronic administration of linolenic acid (ω -3) in lactating rats has specific effects on morphological and physiological parameters. There are differences in fatty liver, brain and mitochondrial fatty acid compositions of females and males that could be linked to the consumption of ω -3. Excessive consumption of ω -3 has an effect on the increase in lipoperoxidation; this situation may have effects on mitochondrial respiration.

INTRODUCCIÓN

La nutrición es uno de los factores de mayor importancia en el desarrollo, a través de la historia los seres humanos han variado sus hábitos alimenticios de tal modo que es difícil imaginar la evolución sin incluir este elemento clave (Simopoulos, 2001). Al igual que las demás formas de vida en la tierra, el humano tiene la necesidad de adquirir nutrientes con el fin de extraer energía, regular procesos metabólicos y agregar complementos a su estructura para así continuar su ciclo de vida. Las fuentes nutrimentales son múltiples y variadas desde los carbohidratos, proteínas y lípidos seguidos por subproductos de estas mismas biomoléculas (Voet, 2006).

Los suplementos alimenticios y los nutraceuticos (alimentos con propiedades benéficas más allá de su acción nutrimental) son algunos alimentos o sus componentes nutricios que aportan algún beneficio a la salud, ya sea como medio de prevención en el desarrollo de un padecimiento o como tratamiento del mismo (Valenzuela *et al.*, 2014). Son generalmente obtenidos a partir de alimentos y se comercializan en forma concentrada de algún compuesto, hipotéticamente bioactivo derivado de un alimento, dentro de una matriz (alimenticia o no) y presentado en forma de: píldoras, polvos, homogenizados u otras (Birute *et al.*, 2009), en dosis que exceden a aquellas que pueden ser obtenidas en forma natural de los alimentos. Estos productos no requieren contar con registro sanitario de la COFEPRIS para su comercialización, los fabricantes y/o distribuidores únicamente requieren del llamado “*Aviso de funcionamiento*” por lo que no se requiere presentar receta médica para su compra. En el rubro de este tipo de alimentos se encuentran los ácidos grasos omega 3 ($\omega 3$), a los cuales se les atribuyen efectos benéficos en el tratamiento y prevención de padecimientos de tipo crónico degenerativo como: cáncer, obesidad, hipertensión o trastornos cardiovasculares, además del retraso del envejecimiento o el desarrollo de las capacidades cognitivas y emocionales de los individuos (Valenzuela *et al.*, 2014; Innis, 2007).

Los lípidos

A diferencia de otras biomoléculas, clasificar a los lípidos como un sólo grupo con características homogéneas es sumamente complicado debido a que tienen gran diversidad funcional y

estructural. A pesar de esto, los lípidos comparten una serie de “similitudes” que ayudan a agruparlos. En general se caracterizan por ser moléculas apolares (dependiendo de su composición), están constituidos principalmente de átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, son solubles en solventes orgánicos como el cloroformo, cetona o benceno, en menor medida en metanol y muy poco solubles en agua. Debido a que poseen una gran diversidad estructural se les puede encontrar ejerciendo distintas funciones, las más importantes son: almacenamiento de energía, señalización y formación de membranas (Toporek, 1986; Voet, 2006; Koolman y Röhm, 2012). Es posible fraccionarlos utilizando distintas técnicas de cromatografía.

Clasificación

Una de las clasificaciones más utilizadas para los lípidos es la que encasilla estos compuestos en dos grandes grupos dependiendo de la complejidad de su estructura, en algunos casos se ha propuesto el uso de los términos “saponificable” o “no saponificable”, sin embargo, la más aceptada es la que los limita a simples y compuestos (Barco, 2006).

-Lípidos simples: Son todos aquellos ésteres formados a partir de la unión entre un alcohol con uno o más ácidos grasos. En este grupo se encuentran los triglicéridos (mono y diglicéridos), los esteroides y los esteroides (Wade y Simek, 2017).

-Lípidos compuestos: Al igual que los lípidos simples, los lípidos compuestos están formados por la unión de un alcohol y uno o varios ácidos grasos. En este caso la molécula adquiere mayor complejidad ya que el éster (ácido graso + alcohol) se encuentra unido a una tercera molécula. Algunos de los representantes más conocidos son los fosfolípidos (de gran importancia para este estudio), glucolípidos y los distintos tipos de lipoproteínas por mencionar sólo algunos (Barco, 2006).

Ácidos grasos

Los ácidos grasos se caracterizan por tener una cadena hidrocarbonada generalmente no ramificada y de tamaño variable siguiendo una secuencia de números pares (de 2 a 24 carbonos),

esta cadena forma una región apolar en la molécula. También se les conoce como ácidos carboxílicos ya que la cadena de átomos de carbono se encuentra anclada a un grupo carboxilo (–COOH) dándole carácter ácido y polar, este carbono se cuenta como el primero de la cadena (Barco, 2006).

La suma de estas características da como resultado una molécula anfipática, cuya afinidad por el agua deriva directamente del largo de su cadena hidrocarbonada, así como del grado de insaturación; entre más extensa (más átomos de carbono) y menos dobles enlaces contenga (insaturaciones) mayor carácter hidrofóbico tendrá la molécula. Por el contrario, si la cadena hidrocarbonada es corta la molécula será dominada por el grupo carboxilo (ácido) generando una molécula polar y afín al agua, que puede llegar a ser disuelta en medios polares (Toporek, 1986). La mayoría de los ácidos grasos están esterificados y formando parte de otros lípidos más complejos, en el caso de las membranas biológicas se encuentran esterificados con alcoholes (glicerol, esfingosina o colesterol) y en muchas ocasiones con un segundo grupo, el más común, un grupo fosfato. Es poco usual encontrar ácidos grasos libres no esterificados (Barco, 2006).

En la naturaleza, es habitual encontrar a los ácidos grasos con uno o más dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada, es decir, insaturados; estos dobles enlaces (la mayoría de las veces) se encuentran en posición *cis* lo cual brinda a la molécula una “curvatura” que permite abarcar una mayor superficie y por ende brindar mayor movimiento a la membrana, se sabe que una membrana abundante en ácidos grasos insaturados es más fluida que una con ácidos grasos saturados (Audesirk *et al.*, 2012).

Con el fin de diferenciar estas moléculas se planteó el uso de una nomenclatura basada en abreviaciones, aunque no se rechaza el uso de nombres “comunes” con los que fueron designados muchos de los ácidos grasos más importantes puesto que son más fáciles de recordar (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009).

En términos simples, las reglas de abreviación son las siguientes: el número antes de los dos puntos (:) es la cantidad de carbonos que contiene la molécula y el número siguiente a los puntos es la totalidad de dobles enlaces. Algunos especialistas sugieren agregar el tipo de enlace que se está presentando marcando con una letra minúscula posterior al número de insaturaciones *c* (Cis)

o *t* (Trans), es recomendable señalar en que átomo de carbono de la cadena se inician las dobles ligaduras, por lo que se emplea Δ seguida del número del átomo de carbono donde ocurre el doble enlace contando desde el extremo del grupo carboxilo, cuyo átomo de carbono será el número 1, no debe confundirse con el carbono α que es el primer carbono de la cadena hidrocarbonada, (Mathews *et al.*, 2013), un ejemplo es el ácido graso alfa-linolénico (ALA) (Figura 1).

- **Ácidos grasos saturados:** Estos ácidos grasos no presentan dobles enlaces en la cadena hidrocarbonada. Se les denomina saturados debido a que dos de los enlaces de cada carbono de la cadena están ocupados (saturados) por átomos de hidrógeno, el carbono terminal tiene 3 hidrógenos. Estos ácidos grasos se diferencian entre ellos únicamente por el número de átomos de carbono, es decir, la longitud de la cadena hidrofóbica, generalmente son moléculas muy estables y con un punto de fusión muy alto (Wade y Simek, 2017).
- **Ácidos grasos insaturados:** Se caracterizan por tener dobles enlaces entre algunos átomos de la cadena hidrocarbonada, por lo que en estos puntos no se encuentran saturados por átomos de hidrogeno como en el caso de los saturados, por lo que a estas uniones (dobles ligaduras) de les denomina “insaturaciones” (Wade y Simek, 2017), como se observa en las posiciones 3, 6 y 9 de la nomenclatura ω en la figura 1.

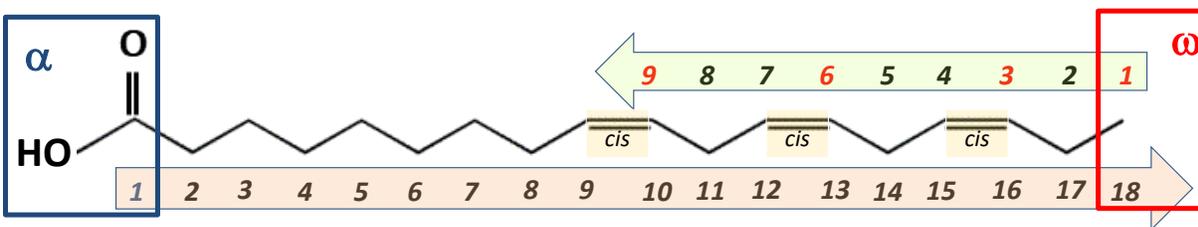


Figura 1 Esquema del ácido graso Alfa-Linolénico.

<p style="text-align: center;">C=18</p> <p style="text-align: center;">Enlaces Cis = carbón α 9, 12, 15</p> <p style="text-align: center;">Insaturaciones = carbón ω 3, 6, 9</p>
--

Estos ácidos grasos se pueden clasificar dependiendo del número de insaturaciones presentes en la molécula:

Monoinsaturados: Tienen un único doble enlace.

Poliinsaturados: Tienen dos o más dobles enlaces, generalmente, en posición *Cis*.

El número de insaturaciones presentes en la cadena así como su longitud, afectan directamente el punto de fusión de la molécula, por lo que a mayor longitud y número de dobles enlaces mayor será la inestabilidad de la molécula con respecto al incremento de la temperatura del ambiente en el que se encuentre y mayor será su susceptibilidad a la oxidación no enzimática (Mathews *et al.*, 2013; Wade y Simek, 2017).

Además de las anteriores clasificaciones los ácidos grasos también se clasifican de acuerdo a las necesidades del consumo de éstos en la dieta de los individuos como esenciales y no esenciales, debido que algunos de ellos no son sintetizados por las células de los animales.

Ácidos grasos esenciales

Son ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que no pueden ser biosintetizados por las células de algunos animales como el humano, es necesario su consumo en la dieta para completar los requerimientos nutrimentales. Para identificarlos es necesario utilizar una nomenclatura similar a la IUPAC, en esta se toma como carbono principal al llamado “carbono omega”, este carbono es el último de la cadena y contando desde este hacia adelante se espera encontrar una insaturación la cual dicta el grupo al que pertenece el ácido graso, es decir, omega 3, 6 ó 9 (Figura 1) (Mathews *et al.*, 2013).

Los principales ácidos grasos esenciales son: Ácido Linoleico de la serie Omega 6 y Ácido alfa-linolénico de la serie omega 3; a partir de estos ácidos grasos el organismo humano es capaz de sintetizar otros de gran importancia metabólica y estructural, si bien estas transformaciones ocurren en el organismo algunos de los productos suelen ser insuficientes o no tener el efecto

esperado por lo que deben ser consumidos en la dieta, por ejemplo, el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) que son derivados del ALA pero siguen siendo considerados esenciales ya que es insuficiente su síntesis a partir de ALA (Mathews *et al.*, 2013).

Digestión y Metabolismo de los ácidos grasos

Los ácidos grasos obtenidos a partir del alimento o por biosíntesis, tienen distintas funciones en el organismo, entre las que se encuentran: modificación de algunas de las propiedades físico-químicas de las membranas celulares (Fluidez, permeabilidad), almacenamiento energético, sirven como cofactores o forman parte de ciertas hormonas e intervienen en la señalización celular (Alberts *et al.*, 2002).

Los ácidos grasos son moléculas altamente energéticas, almacenadas por el organismo en el tejido adiposo en forma de triglicéridos (Mathews *et al.*, 2013; Toporek, 1986), de donde son metabolizados (oxidados) en caso de emergencia o deficiencia de otras formas energéticas de fácil acceso como la deficiencia de glucosa. Es importante señalar que la energía almacenada por gramo de lípido es 2 veces mayor que los carbohidratos y la producción de la misma a través de la oxidación de los ácidos grasos es 6 veces más por mol a la obtenida de la hidrólisis del glucógeno (Mathews *et al.*, 2013) y 2 veces más que la extraída de la glucólisis (FAO/FINUT, 2012). Algunos órganos como el corazón y el hígado basan su producción de energía (80%) de la oxidación de los lípidos.

Los lípidos presentan una gran diversidad de estructuras y funciones que hacen complicado situarlos en un panorama generalizado de su metabolismo y usos en el organismo (Toporek, 1986). Es importante señalar que los triglicéridos suelen agruparse de acuerdo a su estructura: Simples y mixtos.

- **Triglicéridos simples:** Los ácidos grasos esterificados con el glicerol son del mismo tipo e iguales entre sí, por ejemplo, 3 ácidos grasos palmíticos unidos a un glicerol formarían tripalmitoilglicerol. Este tipo de moléculas son difíciles de encontrar (Barco, 2006).

- **Triglicéridos mixtos:** Estas moléculas presentan 3 tipos distintos de ácidos grasos (incluso saturados e insaturados en el mismo compuesto) unidos al glicerol. Son los más abundantes y suelen ser nombrados dependiendo del carbono al que estén unidos los ácidos grasos (Voet, 2006).

Durante la digestión y transporte de los ácidos grasos, su composición química (moléculas polares) representa un problema ya que dificulta su movilidad a través de los diferentes tejidos.

Digestión

La digestión comienza con la hidrólisis de los triglicéridos y se requiere de la coordinación entre funciones gástricas e intestinales, donde las enzimas (lipasas), hormonas y sales biliares juegan un importante papel (Salfate, 2006). Este proceso inicia en la boca donde la lipasa lingual hidroliza los enlaces éster primarios de los triglicéridos de cadena corta, el producto de esta ruptura de enlaces junto con la degradación de carbohidratos y proteínas forman el bolo alimentario (figura 2a), el cual viaja a través del esófago hasta el estómago donde una segunda enzima, la lipasa gástrica, continua la hidrólisis de estas moléculas que pueden ser tanto triglicéridos como diacilgliceroles y monoacilgliceroles (Barco, 2006) (figura 2b). Algunos ácidos grasos de menos de 10 átomos de carbono son solubles en el jugo gástrico, por lo que son absorbidos y transportados desde el estómago hasta el hígado a través de la vena porta (Valenzuela *et al*, 2002). En el estómago, el bolo alimenticio se convierte en una masa de consistencia pastosa llamada *quimo*, este cambio es causado por las contracciones del estómago y el jugo gástrico junto con la pepsina que sirve para hidrolizar proteínas (Barco, 2006).

Para realizar la correcta digestión y absorción de los lípidos es necesario neutralizar la acidez de los ácidos grasos por lo que el quimo es transportado en partes a través del duodeno. Una vez que el *quimo* entra por completo al intestino éste envía señales para la liberación de la bilis, esta sustancia está compuesta de ácidos biliares que actúan como detergentes (emulsificación) sobre las gotas de lípidos que se hallan en el *quimo*, lo que sirve para que las lipasas puedan actuar sobre los lípidos de forma efectiva. Otro órgano comprometido en la digestión de los lípidos es el páncreas el cual participa secretando una mezcla (jugo pancreático) de enzimas (lipasas) que

reaccionan con los lípidos catalizando la hidrólisis de los ácidos grasos dejando como producto de esta reacción 2-monoacilglicéridos que son nuevamente hidrolizados para formar ácidos grasos libres (Salfate, 2006) (figura 2c).

En el intestino delgado, los ácidos grasos libres de cadena larga y el 75 % de los 2-monoacilglicéridos serán absorbidos por las células de la mucosa intestinal, el resto seguirá un proceso de isomerización para una completa degradación. Los ácidos grasos de cadena corta son absorbidos en el intestino y enviados a través de la vena porta hacia el hígado (Valenzuela *et al.*, 2002).

Una vez que las distintas formas de lípidos ingresan a las células del epitelio intestinal, en el retículo endoplásmico de estas células se realiza una reesterificación de los monoglicéridos con ácidos grasos libres formando triglicéridos. Concluida esta reesterificación, los triglicéridos (y otros lípidos) se combinan con apolipoproteínas formando estructuras conocidas como quilomicrones que ayudan al desplazamiento de los lípidos a través del ambiente acuoso. Los quilomicrones son transportados a través de los vasos linfáticos hacia el torrente sanguíneo, una vez en circulación los quilomicrones se adhieren al tejido periférico donde, por acción de la enzimática (lipoproteína lipasa) “vacían” su contenido lipídico y este es absorbido por las células. El quilomicron, ahora inactivo, se dirige al hígado para ser metabolizado terminando su función (Errico *et al.*, 2013) (figura 2d).

Una parte importante del metabolismo de lípidos es la que corresponde a las lipoproteínas y los lípidos endógenos: El hígado sintetiza lipoproteínas de muy baja densidad (nombradas así gracias a que adquieren una mayor concentración de lípidos principalmente triglicéridos, colesterol y fosfolípidos dando lugar a una menor densidad a la del ambiente acuoso que las rodea) estas tienen como misión llevar ácidos grasos a los tejidos endotelial y adiposo transformándose en lipoproteínas de densidad intermedia; estas últimas se desplazan hasta el hígado donde se convierten en lipoproteínas de alta densidad (al pasar su contenido lipídico al tejido la densidad de la lipoproteína aumenta) encargadas de llevar colesterol (OMS/FAO, 2003).

Las lipoproteínas de alta densidad tienen por objetivo recuperar y trasladar colesterol que liberan las células, este colesterol se esterifica y se acumula en el interior de la lipoproteína de alta densidad, posteriormente se dirigirá al hígado donde será metabolizado y el colesterol eliminado por la bilis y las heces (Errico *et al.*, 2013).

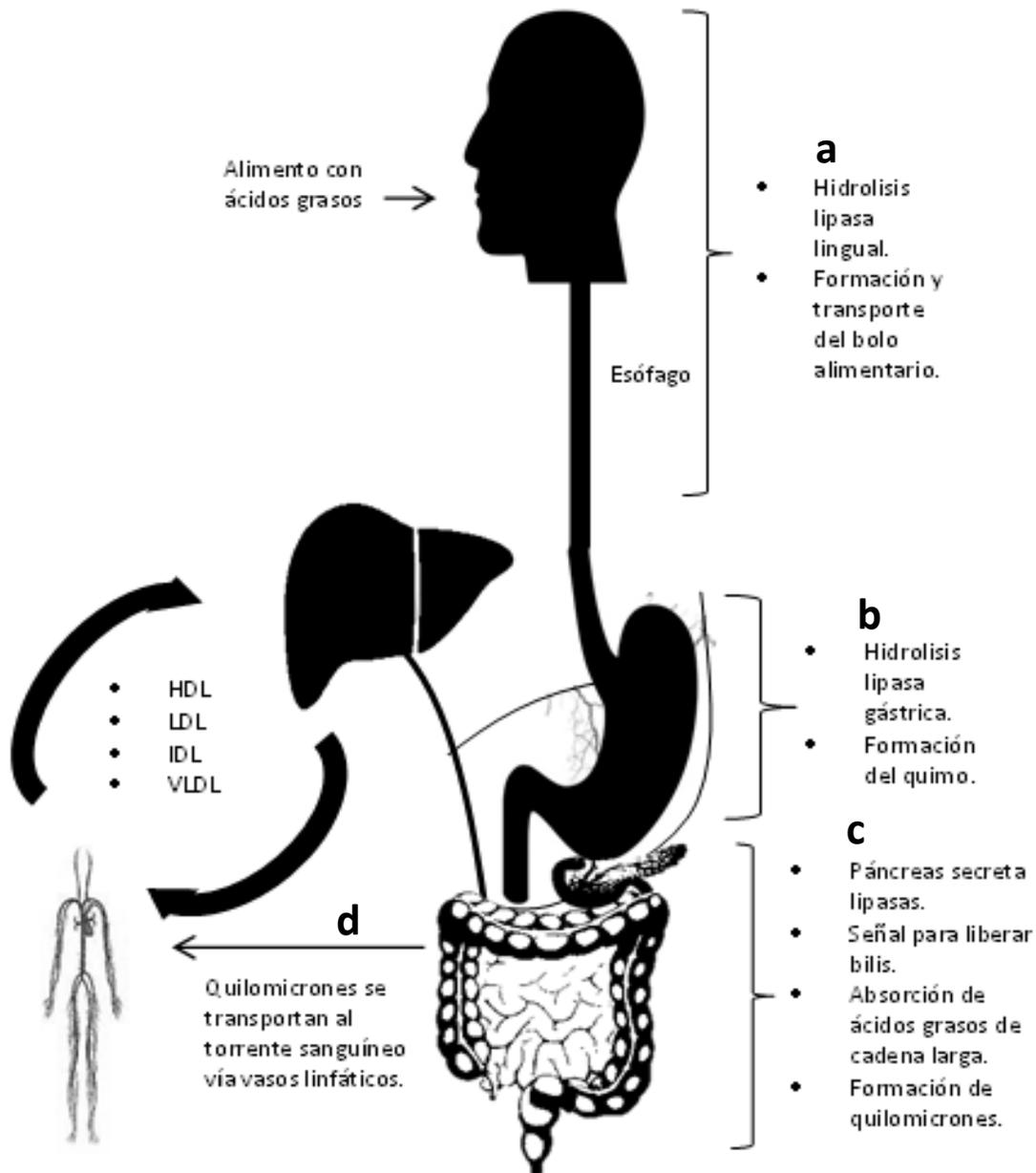


Figura 2 Digestión de ácidos grasos

Metabolismo: oxidación y biosíntesis de los ácidos grasos

β -oxidación de los ácidos grasos

Una vez que los ácidos grasos son hidrolizados por la lipoproteína lipasa y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) regresan al hígado, los ácidos grasos ingresan a las células por difusión simple y son dirigidos hacia las mitocondrias donde serán metabolizados por β -oxidación con el objetivo de producir una gran cantidad de intermediario metabólico acetil-CoA. La vía catabólica denominada β -oxidación consiste en degradar los átomos de la cadena hidrocarbonada de dos en dos a partir de su extremo carboxilo realizando cortes entre el carbono α y β a partir de una secuencia de reacciones (oxidación, hidratación, oxidación y tiólisis) reguladas por enzimas; cada segmento de dos carbonos liberado de la cadena formara un acetil-CoA (Mathews *et al.*, 2013). Cabe mencionar que el procedimiento descrito aplica únicamente para ácidos grasos saturados. Para la β -oxidación de los ácidos grasos insaturados se requieren 2 enzimas extras; una isomerasa (cambia los enlaces *cis* a *trans*) y una reductasa (elimina los dobles enlaces *trans*) (Garrido *et al.*, 2005; Koolman y Röhm, 2012). Posteriormente estas moléculas de acetil-CoA entran al Ciclo de Krebs que también se lleva a cabo en la matriz mitocondrial, para iniciar esta ruta metabólica es necesario recurrir a moléculas de NAD^+ y FAD utilizándolas como coenzimas que al final del proceso darán lugar a NADH y FADH_2 que son clave en la cadena respiratoria y bombeo de protones (Salfate, 2006).

Biosíntesis de los ácidos grasos

Se puede decir que la biosíntesis de ácidos grasos es el proceso inverso de la β -oxidación y tiene como finalidad agregar fragmentos de 2 carbonos hasta formar un ácido graso (Mathews *et al.*, 2013), esta vía anabólica, a diferencia de la β -oxidación, tiene lugar en el citosol y se requiere de

reacciones de condensación, reducción, deshidratación y nuevamente reducción en un ciclo que se repite 7 veces hasta formar palmitato. El proceso comienza con una molécula de acetil CoA que sale de la matriz mitocondrial unida a citrato, una vez en el citosol la acetil-CoA se libera del citrato gracias a una enzima liasa y el gasto de una molécula de ATP (formando también oxaloacetato y ADP), posteriormente la acetil-CoA se convierte en malonil-CoA gracias a una carboxilasa, ATP y CO₂, el malonil-CoA a través de reacciones enzimáticas (condensación, reducción, deshidratación y reducción) da lugar a ácido palmítico (Voet, 2006).

El ácido palmítico puede ser elongado o desaturado por acción enzimática (elongasas y desaturasas) dependiendo de la demanda celular, en el caso de desaturarse da lugar a ácido palmitoleico en cambio si el organismo lo requiere y es elongado se obtiene ácido esteárico; en este estudio se observó la acción del ALA en grupos de ratas lactantes por lo que es importante señalar la esencialidad de los ácidos grasos ω -3, por lo tanto es necesario saber cómo algunas plantas (fuente principal de ALA) logran sintetizarlo; el ácido esteárico puede desaturarse para formar ácido oleico (un ω -9), en este punto sólo las plantas pueden desaturar el ácido oleico para transformarlo en ácido linoleico (LA) que a su vez se convierte en ALA que da lugar a EPA y como producto final al DHA, sin embargo el camino principal que sigue el LA es su desaturación pasando a ácido gamma-linolénico que tiene como producto principal final el ácido araquidónico (AA) (Mathews *et al.*, 2013).

Formación de ácidos grasos poliinsaturados a partir de AL y ALA

La síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se realiza en las células hepáticas a partir de ácidos grasos precursores ya sea de la serie n-6 u n-3 (Rodríguez-Cruz, 2005). Los principales precursores son el LA (ω -6) y el ALA (ω -3) llamados también ácidos grasos esenciales. El LA da como producto final ácido araquidónico (AA) esto se logra a partir de elongaciones y desaturaciones; por su parte el ALA deriva en EPA y finaliza su metabolismo en DHA, estos productos intermediarios se les conoce como eicosanoides (AA y EPA) y docosanoides (DHA) (Valenzuela *et al.*, 2011)(figura 3).

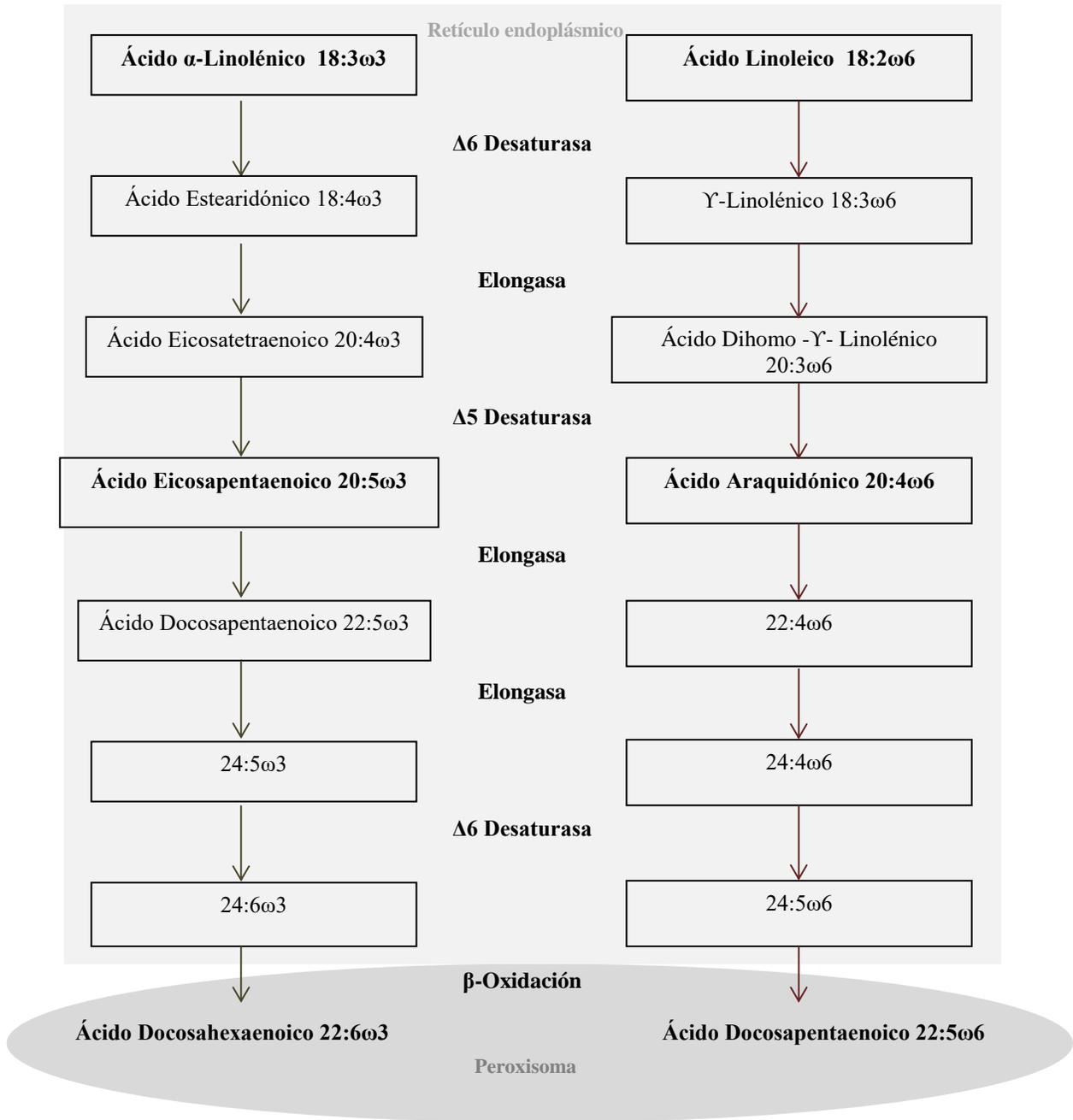


Figura 3 Biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados.

Los lípidos y las estructuras celulares: Membrana celular

Las membranas celulares son elementos de gran importancia para la vida, sin estas estructuras la célula no existiría, incluso la vida como la conocemos podría no ser ya que se perdería la individualidad y los límites definidos que son necesarios para desarrollar ciertas actividades útiles para la existencia de los seres vivos. Las membranas biológicas mantienen una estructura básica en común; están compuestas por una capa de lípidos y proteínas cohesionados entre sí por interacciones no covalentes. Las membranas son estructuras dinámicas en constante movimiento que varían sus propiedades físicas dependiendo principalmente de sus componentes químicos (perfil lipídico de ácidos grasos saturados e insaturados, colesterol y su contenido de proteínas) y factores físicos como la temperatura. Las membranas tienen la capacidad de deformarse sin comprometer su estructura original. Estas estructuras son bicapas lipídicas que tienen como principio el hecho de que los fosfolípidos que las componen al verse rodeados de un medio polar optan por agruparse contraponiendo sus grupos polares hacia el ambiente acuoso y concentrando las cadenas hidrófobas en el centro, al tener otro fosfolípido exactamente al contrario de su posición se genera lo que conocemos como bicapa, esta se deforma de tal modo que su estructura finita y plana tiende a deformarse en una esfera con medio acuoso tanto fuera como dentro de la misma. Esta característica le brinda a la bicapa lipídica su carácter relativamente impermeable. Hipotéticamente, si la membrana fuera completamente impermeable la célula se vería imposibilitada para interactuar con los compuestos y moléculas del medio sin los cuales moriría; por ello tiene proteínas ancladas a ella las cuales tienen distintas funciones entre las que destacan crear canales y ser receptores de sustancias útiles (Alberts *et al.*, 2002; Gonzales, 2013)(figura 4).

Los ácidos grasos obtenidos en la dieta o por biosíntesis, poseen distintos efectos en el organismo entre los que destacan: la modificación de ciertas propiedades físicas de las membranas celulares como la fluidez; la cual se describe como la facilidad con la que las moléculas que componen esta estructura se desplazan de un lado a otro sobre la misma (Alberts *et al.*, 2002). Cuando existe una gran concentración de ácidos grasos insaturados tenemos una membrana lipídica con una mayor fluidez, a este estado se le denomina “líquido-cristalino”, caso contrario al que se presentaría con una acumulación similar de ácidos grasos saturados, la diferencia radica en la libertad de

movimiento que tienen las moléculas y el espacio que existe entre las mismas, sintetizando el concepto, hablamos de que la fluidez está directamente relacionada al número de dobles enlaces presentes en las colas hidrocarbonadas de los ácidos grasos. Esta modificación físico-química en las membranas biológicas de las células y orgánulos como la mitocondria, puede afectar el desempeño de sus funciones (Van-Meer *et al.*, 2008).

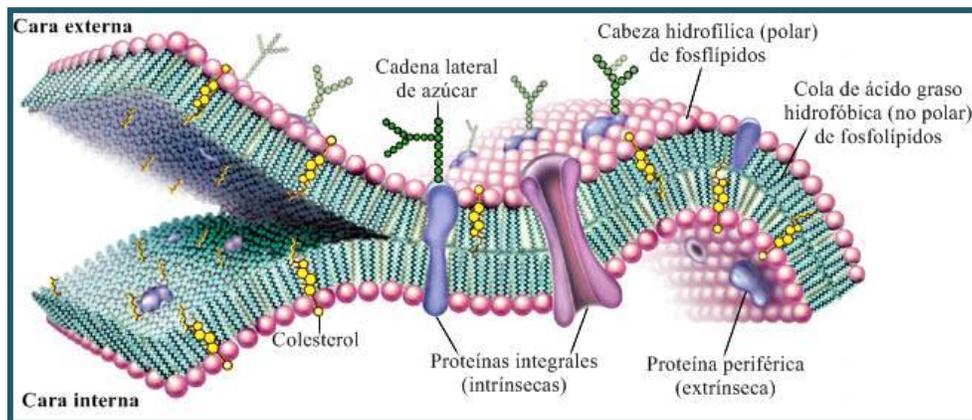


Figura 4 Membrana celular.

Fuente de la imagen: <https://4.bp.blogspot.com/-2rWBHeJmxjM/WaRkRYfpCnI/AAAAAAAAWZw/mDILANmBfckNZ115FUsjmCsn7dFAjX-4wCLcBGAs/s1600/Celula%2BMembrana%2Bcelular.jpg>

Mitocondrias

Las mitocondrias son organelos celulares descritos como cilindros muy parecidos a las bacterias, en los cuales es fácil observar (con las técnicas apropiadas) que está formada por una membrana externa y una interna. Las mitocondrias miden entre 0.5 y 1 μm de longitud, poseen su propio ADN, ARN y ribosomas, lo que permite la formación de proteínas independientes del ADN nuclear; el número de mitocondrias que existen dentro de una célula varía dependiendo de las necesidades energéticas y tipo de operación de la misma, una célula puede tener entre 1000 a 2000 mitocondrias aunque algunas otras células como los hepatocitos pueden llegar a concentrar más de 2000 de estos organelos (Alberts *et al.*, 2002; Gómez-Poyou y Nuñez, 2012). Sin las mitocondrias la célula dependería completamente de la glucólisis, la cual muestra una producción energética bastante ineficaz que difícilmente podría sostener la actividad celular. Es importante aclarar que en este organelo se lleva a cabo el ciclo de Krebs, β -oxidación de los ácidos grasos, respiración mitocondrial y fosforilación oxidativa, vías metabólicas encargadas de producir la

mayor parte de la energía requerida por la célula, a través del rompimiento de moléculas y posterior formación de donadores de electrones como NADH y FADH₂ (Alberts *et al.*, 2011), estas rutas metabólicas se desarrollan en la matriz mitocondrial y membrana interna las cuales contienen una gran cantidad (concentración y variedad) de enzimas específicas para la realización de las rutas metabólicas mencionadas (Bender *et al.*, 2004).

Membranas mitocondriales

Las membranas mitocondriales comparten características de estructura y función con la membrana de la célula y otros organelos diferenciándose en sus distintas composiciones tanto de ácidos grasos como de proteínas y las funciones que realizan:

- **Membrana externa:** Se tiene una gran cantidad de porinas que permiten la entrada por difusión pasiva de elementos provenientes del citosol generando así que el espacio intermembranal tenga prácticamente la misma composición química que el medio interno celular (Bender *et al.*, 2004).
- **Membrana interna:** En esta membrana la cantidad de proteína es mucho mayor a la membrana externa, el 75% del peso total de esta corresponde a proteínas. En la membrana interna sólo es permeable a CO₂, O₂ y H₂O; para permitir el paso de moléculas de mayor tamaño o con carga como el ATP, ácidos grasos de cadena larga o Ca²⁺ es necesario recurrir a proteínas llamadas transportadores que controlan y permiten dicho transporte. La membrana interna presenta un número de invaginaciones (también llamadas “crestas”) que varían dependiendo del trabajo respiratorio que requiere la célula, esto se debe a que las proteínas responsables de la cadena de transporte de electrones y fosforilación oxidativa están incrustadas en esta membrana (Alberts *et al.*, 2011).

Radicales libres

Los radicales libres son aquellas moléculas o átomos solitarios que contienen un electrón desapareado o libre en el último orbital, esta situación genera inestabilidad y en consecuencia una

gran reactividad, estas moléculas o átomos inestables captan electrones de moléculas o átomos vecinos de forma inespecífica, una vez que el radical libre ha conseguido tomar un electrón ajeno la molécula estable que se lo ha cedido se convierte en un nuevo radical libre, creándose así una reacción en cadena que afecta todo tipo de biomoléculas estructurales y energéticas de importancia clave en la célula como los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Becerril, 2016). Nuestro organismo produce estos compuestos altamente reactivos de forma constante como consecuencia del metabolismo, los organelos que más radicales libres producen son las mitocondrias, cuando existen concentraciones normales de estos átomos y moléculas el organismo es capaz de eliminarlos vía antioxidantes (Avello y Suwalsky, 2006).

Impacto de los ácidos grasos en la salud

La capacidad de los ácidos grasos para desarrollar e influir en múltiples tareas del organismo, ha sido estudiada y demostrada a través de múltiples estudios en el campo de la lipidómica, que van desde observar el comportamiento de estas moléculas en la célula hasta comprender su influencia en el desarrollo de enfermedades y el impacto de estas en la salud (Van-Meer, 2005). Hoy en día el consumo cotidiano de estas moléculas por las poblaciones en diversas partes del mundo debería estar concatenada a la preocupación del efecto que puedan tener en la salud de los individuos que procurando una mejor vida la ponen en riesgo al consumirlos de forma equivocada, ya que si bien es cierto que existe información acerca de los beneficios que causan también la hay de los posibles efectos adversos.

Existe una gran cantidad de estudios en los que se pretende mostrar los efectos positivos que tienen los ácidos grasos omega 3 en los individuos, este fenómeno ha generado un pensamiento colectivo que confiere a estas grasas propiedades casi milagrosas y se cree que el consumo de las mismas es inocuo, por lo que la población las utiliza aun cuando no padecen los problemas para los cuales es recomendado su uso. El constante consumo de estas sustancias forma parte de una cultura de consumo y estilo de vida en la que los alimentos funcionales y/o nutracéuticos son la fuente de “*Inteligencia, salud, belleza y juventud*”, por lo que su excesiva producción, distribución, venta y consumo no han sido cuestionados o señalados como un riesgo para la salud.

Un claro ejemplo es el creciente fenómeno de consumo excesivo de ácidos grasos omega 3 en los Estados Unidos, donde el 10% de los adultos consumen suplementos que contienen este ácido graso argumentando los efectos benéficos en la disminución de la concentración de colesterol en sangre y la prevención de problemas cardiacos. El 10% de las personas proclives al consumo frecuente de estos suplementos lo son por prescripción médica. Los factores que favorecen el aumento en el consumo de estos ácidos grasos, aun cuando no se cuenta con información suficiente de sus posibles efectos en la salud son el bajo costo (comparado con una consulta y un régimen alimenticio especializado), la publicidad que se hace de ellos en medios masivos y principalmente de persona a persona (Grey y Bollard, 2014).

El estudio de los ácidos grasos insaturados ha dado pie a la atribución de propiedades benéficas a estas moléculas, como aquellos donde se ha encontrado que una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados aumenta las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y disminuye las concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL) así como la disminución de las concentraciones de triglicéridos en el torrente sanguíneo (Rasmussen *et al.*, 2006).

Los ácidos grasos derivados del metabolismo de ALA (ω -3) y AL (ω -6) cumplen importantes funciones en el organismo, el ejemplo más conocido es el de la función de los productos finales del metabolismo de ALA: el EPA y el DHA los cuales están relacionados con la activación de los receptores activados por proliferadores de peroxisoma (PPARs) logrando inhibir la producción de proinflamatorios (Li *et al.*, 2005), diferenciación y proliferación de los adipocitos así como favorecer la acción de la insulina teniendo un efecto inmediato en la utilización de la glucosa (Zarate *et al.*, 2005).

Diversos estudios muestran resultados alentadores con respecto a estos ácidos grasos y su utilidad para prevenir y combatir distintas enfermedades y síndromes, como: cardiopatías y asma (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009), cáncer, diabetes (Nasiff-Hadad y Meriño-Ibarra, 2003), artritis reumatoide, enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas (Morales *et al.*, 2012). Sin embargo, los efectos benéficos del consumo de ácidos grasos omega 3 están sujetos a controversia, debido a que no existen resultados concluyentes asociados a una mejoría en las

enfermedades para las cuales se recomienda su uso (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009) o en la prevención de las mismas (Messori *et al.*, 2013).

Mucho se ha hablado de los beneficios del consumo de los ácidos grasos, pero no se mencionan los riesgos que se corren de su consumo en exceso. Por ejemplo, el riesgo que se corre con el consumo de las grasas trans (ácidos grasos insaturados con enlaces “trans” obtenidos, en su mayoría, de forma artificial) involucrados en la aparición de enfermedades cardiovasculares, diabetes (de Souza *et al.*, 2015) e incluso aumentan el riesgo de padecer cáncer (Chavarro *et al.*, 2008). Estos macronutrientes sintéticos representan un problema de salud pública y debido a ello ha sido necesario crear una legislación para que disminuya su concentración en los alimentos procesados, incluso, se ha llegado a prohibir por completo su venta (Stender *et al.*, 2006). Otro de los problemas que conlleva el excesivo consumo de ácidos grasos es la acumulación de grasa en el tejido adiposo, traducido como obesidad, lo cual es uno de los principales focos rojos para la salud pública. Esta situación en la que existe desbalance energético, puede generar problemas cardiacos, síndromes metabólicos e incluso (en sus casos más extremos) incapacitar a las personas impidiendo su libre desplazamiento (OMS/FAO, 2003).

Existe un creciente interés, científico-comercial, por conocer cuál de los tres ácidos grasos poliinsaturados esenciales o también llamados omega 3 (ALA, EPA o DHA) aportan mayores beneficios a la salud y por ende más ingresos a las empresas alimentarias y farmacéuticas. Es importante señalar que las fuentes naturales para la obtención de estos ácidos grasos, por un lado, EPA y DHA de origen animal (peces) y por el otro ALA de origen vegetal no siempre es asequible; sobre todo las fuentes del EPA y DHA, ya que la dificultad de obtener los recursos marinos y la dificultad de su distribución en las distintas regiones incrementa su costo y obstaculiza la disponibilidad de estos en el mercado. Por otra parte las fuentes artificiales, de acuerdo a algunos estudios, conllevan un riesgo a la salud ya que muchos de ellos pueden estar contaminados con sustancias tóxicas derivadas de los procesos de una extracción inadecuada (solventes orgánicos) y/o contaminación ambiental (metales pesados) (Domingo *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2014). Sin embargo, los rigurosos procesos de purificación utilizados en la manufactura del aceite de pescado reducen el riesgo de oxidación (Vitamina E), hipervitaminosis o su exposición a contaminantes del ambiente (Bays, 2007).

Evidentemente la tecnología y los procesos de industrialización avanzan día con día y actualmente se producen ácidos grasos sintéticos, hay quien insiste en que estos no tienen la misma calidad que tienen los naturales, lo que lleva al planteamiento de nuevas preguntas ¿natural o artificial? o si lo natural es viable desde el punto de vista ecológico y económico (Kent, 2014).

La adición de ácidos grasos omega 3 a los alimentos es una práctica constante en la actualidad. Las fórmulas lácteas para infantes y los complementos alimenticios para adultos mayores son las que contienen las mayores cantidades de este macronutriente en su composición. Esto se debe a que es en estas etapas de la vida de los individuos donde se han reportado las mayores cargas nutricias y los mejores beneficios en el consumo de estos ácidos grasos (Sanz *et al.*, 2012). Entre los beneficios se mencionan, en infantes, una mejor respuesta inflamatoria durante enfermedades de tracto respiratorio a través un aumento en las síntesis de eicosanoides sintetizados a partir de los ácidos grasos omega 3 y 6 (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009). Se sabe que algunos de los eicosanoides sintetizados a partir del LA (ω -6) resultan ser moléculas proinflamatorias que pueden poner en riesgo los mecanismos de defensa de los individuos, estudios realizados para estudiar si los ácidos grasos omega 3 son antagónicos a los efectos adversos a estas moléculas no han revelado aún una respuesta eficaz, sin embargo no se descarta su posible utilidad por lo que es indispensable seguir investigando acerca de ellos (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009). Derivado de la controversia que existe entre los distintos resultados de los efectos de estos ácidos grasos la Organización Mundial de la Salud (OMS) advierte sobre posibles problemas derivados del consumo de estos nutrientes pero sugiere realizar más estudios con el propósito de puntualizar estos posibles efectos negativos (WHO, 2011). Además de lo anterior se sugiere también que el consumo de estos ácidos grasos en niños ayuda a un mejor desarrollo del sistema nervioso central, con un incremento en la función cognitiva, esto es, todos aquellos procesos relacionados con el pensamiento como son: la memoria, el razonamiento, el desarrollo del lenguaje, la resolución de problemas o la toma de decisiones, además de la maduración del sistema inmune y el crecimiento. Todo lo anterior avalado por estudios y pruebas psicométricas desarrolladas en infantes de entre 0 y 16 años de edad, alimentados con dosis adecuadas de ácidos grasos omega 3

(DHA), donde los niños obtienen mejores resultados que aquellos a los que no se les proporcionaron las dosis recomendadas (Aguirre, 2008; Bernabe-García *et al.*, 2012).

Por otro lado se tiene información de que una deficiente o excesiva ingesta de ácidos grasos provenientes del aceite de pescado puede provocar problemas en el desarrollo de los infantes (Church *et al.*, 2009). Para estudiar las posibles repercusiones de la falta o abuso en el consumo de los ácidos grasos omega 3 se han realizado diversos estudios en modelos animales (hembras en gestación) donde se ha observado que el consumo excesivo de omega 3 provoca que las crías nazcan con bajo peso, crecimiento anormal, aumento en la mortalidad pre y post natal, hipoplasias cerebral y disminución de la concentración de ácido araquidónico (AA) en sangre, además de presentar problemas en el desarrollo del cerebro y la retina (Church *et al.*, 2009).

En el caso de infantes que consumen fórmulas enriquecidas en forma excesiva con omega 3, se ha observado que estos tienen un crecimiento anormal y dificultades en el habla así como otras complicaciones muy parecidas a las encontradas en los modelos animales. Estudios realizados en ratas para dilucidar si el aporte de ácidos grasos en la leche materna proviene del alimento consumido por la hembra durante la etapa de lactancia (Church *et al.*, 2008) o de las reservas del tejido adiposo (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009) concluyen que los ácidos grasos contenidos en la leche provienen principalmente de las reservas energéticas de la madre durante la gestación.

Las investigaciones en el área de nutrición recomiendan que el consumo de ácido graso ω -3 debe ser mayor que el de ω -6 para equilibrar los efectos adversos de este último (Simopoulos, 2011). Se sabe que las dietas occidentales de la primera mitad del siglo XX contenían una proporción 1-5:1 (ω -6/ ω -3), en la actualidad esta proporción ha llegado hasta 20:1, por lo que se sugiere incrementar el consumo de los omega 3. Curiosamente, la ingesta de ambos ácidos grasos puede considerarse excesiva hablando en términos energéticos y estructurales, fenómeno similar al observado con el consumo de azúcares (Lefkothea-Stella *et al.*, 2009; Blasbalg *et al.*, 2011), algunos investigadores están en desacuerdo con esto e insisten en que el consumo de omega 3 en la población adulta de países desarrollados es mucho menor a la recomendada (Blondeau, 2016).

Cabe destacar que no se han establecido todavía los límites entre la mínima y la máxima concentración en la ingesta de ω -6 y ω -3 ya sea en la dieta o con suplementos, y no existe un consenso en cuanto a la concentración adecuada de estos macronutrientes para las fórmulas nutricionales. Es necesario enfatizar que debido a factores como: sexo, edad, estado nutricional, estado fisiológico y estado salud-enfermedad se necesita ajustar la cantidad de ácidos grasos omega 3 en la dieta de forma individual. Existe información donde se recomienda como una concentración segura y eficaz hasta 3 gramos por día, aunque aún no existe evidencia que demuestre que esta cantidad es la adecuada (Sanz *et al.*, 2012).

ANTECEDENTES

El uso de los complementos alimenticios o suplementos dietéticos, así como de los nutraceuticos es una práctica que se ha venido implementando desde hace ya varias décadas. Existen argumentos, no bien fundamentados, que afirman que el uso de ácidos grasos omega 3, tanto de cadena larga como corta, favorece el desarrollo del cerebro en niños y por ende incrementa las capacidades cognitivas y el desarrollo social de los mismos (Rapoport *et al.*, 2007; Innis, 2007; Perng *et al.*, 2015)

Desde 1929 los estudios realizados por George y Mildred Burr demuestran la importancia de los lípidos en la dieta, ya que en sus ensayos con ratas privadas del consumo de grasas observaron alteraciones físicas y metabólicas en estos animales (Burr y Burr, 1929). Debemos recordar que el descriptor grasa era en ese entonces utilizado en forma general para referirse a aquellas moléculas hidrofóbicas, las cuales únicamente era posible agrupar de acuerdo a sus características fisicoquímicas a temperatura ambiente, por lo que se les clasificaba como grasas, mantecas o aceites (Quillet, 1982). En esa época se conocía la existencia de los ácidos grasos, sin embargo, no se les daba importancia como componentes de la dieta de los individuos, fue hasta 1932 cuando Burr y Burr, demuestran la importancia de estas moléculas como componentes esenciales, cuando al adicionar uno de los ácidos grasos omega 6 de cadena larga, el LA, en la dieta los efectos negativos de la privación de grasa se revertían (Burr y Burr, 1930). Posteriormente en estudios realizados por estos mismos investigadores se llegó a la conclusión de que otro de los ácidos grasos poliinsaturados, esta vez uno de los omega 3; el ALA, forma parte de los ácidos grasos esenciales, pero que además tiene acción competitiva con el LA (Burr *et al.*, 1932). Los estudios antes mencionados fueron desarrollados en modelos animales (rata) por lo que existía la interrogante de: si estos ácidos grasos eran esenciales en la dieta de los humanos. Tiempo después Holt (1957) realizó estudios en niños a los cuales se les privaba de grasa en la dieta obteniendo como resultado una pobre ganancia de peso y alteraciones en la piel de los infantes, revirtiendo estos problemas con la suplementación de grasas en la dieta (Holt, 1957). Seis años más tarde Hansen (1963) realiza observaciones en niños a los cuales se les privó de ciertos ácidos grasos haciendo evidente la necesidad del consumo de ALA y LA (Hansen *et al.*, 1963). Estos

hallazgos no fueron algo espontaneo ya que desde el año de 1900 se investigaba acerca del efecto que podría tener el consumo de ciertos alimentos en la salud de los individuos, algunos de los resultados sugerían que se podía subsistir sin el consumo de grasas; sin embargo estudios posteriores demostraron que la metodología empleada durante los experimentos tenía ciertas fallas, una de las más importantes es el hecho de que la dieta utilizada no era libre de ácidos grasos ya que las técnicas utilizadas para la extracción de grasa no eran lo suficientemente eficientes (Spector y Kim, 2015). Previo a las investigaciones ante mencionadas los ácidos grasos eran considerados como simples fuentes de energía los cuales podían ser sustituidos por el consumo diario de carbohidratos, ideas que a la luz de las evidencias mostradas no eran correctas (Linecker *et al.*, 2015).

Para el año de 1970 los científicos daneses Hans Olaf Bang y Jørn Dyerberg realizan un estudio prospectivo en una población esquimal “los Inuit” de la cual se conocía que su alimentación se basaba en el consumo de carne, con un alto contenido de lípidos y una baja incidencia de enfermedades cardiacas en comparación con los ciudadanos daneses. Los resultados obtenidos sugieren que la ingesta del EPA participaba en la prevención de este padecimiento (Bang y Dyerberg 1971; Dyerberg *et al.*, 1978; Linecker *et al.*, 2015).

Derivado de estas y muchas otras investigaciones los ácidos grasos omega 3 toman un papel protagónico en la prevención y/o control de enfermedades asociadas a alteraciones del metabolismo en las últimas décadas del siglo XX. Dicho protagonismo se extiende hasta nuestros días, donde la morbilidad y la mortalidad derivada de enfermedades como: la diabetes, el síndrome metabólico (Nasiff-Hadad y Meriño-Ibarra, 2003), el estrés y los problemas cardiacos incrementan de forma exponencial (Mostad *et al.*, 2006).

Además de lo anterior existe el interés, de las industrias farmacéuticas por demostrar (y comercializar) los efectos benéficos que los ácidos grasos omega 3 tienen no sólo en la salud, sino también en desarrollo del cerebro, durante el desarrollo fetal o en la infancia (Coletta *et al.*, 2010).

Estos ácidos grasos son recomendados de forma recurrente por médicos, entrenadores y nutriólogos apoyándose en estudios científicos donde se han observado resultados alentadores en modelos animales y ensayos clínicos desarrollados en pacientes con o sin enfermedades crónicas como la diabetes o las cardiopatías (Nasiff-Hadad y Meriño-Ibarra, 2003); sin embargo, también se ha sugerido que el exceso en el consumo de estos ácidos grasos puede llegar a perjudicar la salud, un ejemplo de ello es el estudio realizado por Church y col (2009), donde las crías de ratas que consumían ácidos grasos de forma crónica durante la gestación tenían crecimiento anormal y pobre desarrollo cognitivo.

Los ácidos grasos no sólo forman parte estructural de las membranas biológicas; también tienen funciones fundamentales como señalizadores y sus efectos fisiológicos son muchos (Valenzuela *et al.*, 2011). Existe evidencia de que los ácidos grasos omega 3 alteran la composición de lípidos de las membranas de distintas células ocasionando cambios fisicoquímicos de la misma, uno de ellos es la fluidez membranal la cual puede incrementar o disminuir de acuerdo a la cantidad de estos ácidos grasos en su estructura (Coronado *et al.*, 2006). Estos cambios pueden verse reflejados en los tejidos u órganos completos y afectar la salud de los individuos, uno de los mejores ejemplos es el daño causado por el acúmulo en exceso de grasas en hígado, el cual es básicamente la central metabólica, ocasionando una disminución en las funciones de almacén de energía en forma de glucógeno, filtración de los desechos tóxicos y alteración en la producción del colesterol (componente estructural de las membranas) (Franciscus y Highleyman, 2012).

Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 tienen un importante papel en la estructura y función del cerebro y que es, después del tejido adiposo, el de mayor concentración de lípidos en el organismo, donde los ácidos grasos no tienen una función energética (Bourre, 2004). Se ha discutido ampliamente el papel de los ácidos grasos omega 3 (especialmente el DHA) en el desarrollo neurocognitivo de los infantes y los efectos que puede desencadenar la deficiencia de estos (Coronado *et al.*, 2006) sin embargo no se ha estudiado a fondo qué ocurre cuando la cantidad de omega 3 ingerida es desproporcionada o no se administra en cantidades adecuadas.

Es importante señalar que el camino de la investigación acerca de los efectos de la inclusión o no de los lípidos en la dieta de los individuos no se limita a la simple suplementación de estos en la

misma. Hay un profundo interés en el entendimiento del metabolismo y los mecanismos de acción a través de los cuales los ácidos grasos son capaces de prevenir o generar enfermedades. Esto se comprueba al revisar los estudios realizados por Menard y col (1998), Lin y Salem (2007), Church y col (2009), Grey y Bolland (2014), Pérez y col (2010), en los cuales se busca entender la importancia de la concentración de algunos ácidos grasos poliinsaturados en la biosíntesis y utilización de los lípidos, así como su uso y distribución en el organismo, sus efectos a corto y largo plazo y los cambios que estos generan en las membranas biológicas.

Investigaciones relacionadas con el consumo del ALA, se centran en la cantidad necesaria para la elongación y desaturación de este ácido graso en la producción del DHA y la reutilización del mismo en la síntesis de lípidos, así como su distribución en el organismo. Para la dilucidación de estas preguntas se utilizó ALA marcado radioactivamente llegando a la conclusión de que una gran parte de este ácido graso es utilizado en la síntesis de otros ácidos grasos mediante mecanismos de fragmentación y que este no es permeable a través de la barrera hematoencefálica, conclusión derivada de la ausencia del ácido graso marcado en el cerebro (Menard *et al.*, 1998). Otras investigaciones donde se administra ALA junto con el LA (marcados con deuterio) muestran que el 75% de estos ácidos grasos son catabolizados o excretados, el 16% de ALA y el 18% de LA se encuentra distribuido en distintos tejidos; principalmente el adiposo, la piel y el músculo. Únicamente el 6% de ALA fue elongado y desaturado a EPA y DHA, los cuales fueron encontrados principalmente en el músculo y el tejido adiposo (Lin y Salem, 2007).

Por otro lado se ha demostrado el efecto tóxico de los ácidos grasos omega 3 en modelos animales con ratas gestantes, donde un exceso en el consumo de estos ácidos grasos ocasionó una pobre ganancia de peso, pérdida de la audición o hiperacusia en los hijos (Church *et al.*, 2009).

Es importante señalar que las investigaciones realizadas para dilucidar los beneficios que el consumo de ácidos grasos causan en la salud, no aportan evidencia suficiente para considerarlos como realmente benéficos cuando son administrados no como componentes de una dieta balanceada sino como suplementos o nutraceuticos lo que es posible verificar en el meta-análisis de datos realizado por Grey y Bolland en el 2014 donde se concluye que la mayor parte de la investigación realizada en esta área no es contundente para afirmar que estos ácidos grasos

benefician la salud de los individuos y sin embargo toda esta información influye en el comportamiento de las poblaciones ocasionando que haya un mayor consumo de los ácidos grasos omega 3 (Grey y Bolland, 2014).

JUSTIFICACIÓN

El uso frecuente de los ácidos grasos omega 3 ya sea como suplementos o complementos alimenticios o en forma de nutracéuticos incrementa cada día más, este fenómeno se debe en gran medida a la promoción que la industria farmacéutica realiza a través de la oferta mediática de los medios publicitarios, exaltando las propiedades benéficas que estos ácidos grasos tienen apoyados en estudios clínicos los cuales muchas veces carecen de evidencia científica, cualitativa y crítica. En dichos estudios se muestran datos no concluyentes que pueden ser engañosos y que lejos de orientar de manera adecuada a la población la confunden. De igual modo la promoción de productos como los ω -3 que supuestamente incrementan las capacidades neurocognitivas es un grave problema que se ha acentuado en las últimas décadas. Productos que ofrecen una mejor salud y un aumento en el coeficiente intelectual es el común en los establecimientos naturistas, las farmacias y porque no, en la venta por internet, donde se ofertan como productos que resuelven la vida de los consumidores. Se tiene evidencia de que un exceso en el consumo de estos ácidos grasos lejos de beneficiar y/o mejorar la salud de los individuos pueden causar un efecto indeseable pues en muchos casos se ha observado que son generadores de alteraciones en el metabolismo. Es por ello que es sumamente importante, no solo probar, sino además comprobar con evidencia científica sus mecanismos de acción, sus efectos fisiológicos y sus posibles daños o beneficios a la salud.

HIPÓTESIS

La suplementación de ácidos grasos omega 3 tiene efectos en el peso, concentraciones de glucosa, colesterol y triglicéridos así como en el metabolismo de ratas lactantes. Esto tendría origen en el cambio en los perfiles de ácidos grasos de mitocondrias hepáticas, tejido hepático y cerebro.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar los efectos de la suplementación de ácidos grasos omega 3 de cadena corta en la composición de ácidos grasos de hígado y cerebro de ratas de ambos sexos durante la etapa de lactancia, así como los cambios que estos generan en el metabolismo mitocondrial.

Objetivos particulares:

- Analizar la composición de ácidos grasos en cerebro, hígado y mitocondrias hepáticas en ratas de ambos sexos suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena corta durante la lactancia.
- Evaluar la actividad de mitocondrias de hígado a través de la medición del consumo de oxígeno en ratas de ambos sexos suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena corta durante la lactancia.
- Obtener las características morfométricas de órganos de ratas de ambos sexos suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena corta durante la lactancia.
- Establecer el perfil metabólico de ratas de ambos sexos suplementadas con ácidos grasos omega 3 de cadena corta durante la lactancia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación

Se utilizaron 24 ratas Wistar (12 hembras y 12 machos) lactantes (0 a 30 días), con las cuales se formaron 4 grupos (n 6): machos control, machos con tratamiento, hembras control y hembras con tratamiento. El tratamiento consistió en la administración oral diaria de 125 mg/kg de peso corporal de aceite de linaza como fuente de ácido linolénico ($\omega 3$) / kg de peso corporal durante 30 días.

Lineamientos de Bioética

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

Determinación del peso corporal

El peso de los animales se midió todos los días durante el tratamiento con la finalidad de ajustar la dosis de aceite de linaza, para lo cual se utilizó una balanza digital de mesa de la marca Komdox.

Determinación de la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos

Al término del tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción en la punta de la cola, para la determinación de la concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol mediante la utilización de tiras reactivas y un equipo Acutrend de Roche©.

Curva de tolerancia a la glucosa (CTG)

Con la finalidad de evaluar la utilización de la glucosa se realizó la CTG la cual consiste en la administración oral de 3 g de dextrosa/kg de peso corporal en un volumen final de 0.5 mL. Para la realización del procedimiento se mantuvo en ayuno de 8 horas a los animales. Se determinó la concentración de glucosa sanguínea antes de la administración de la solución de dextrosa y cada 30 minutos después hasta llegar al minuto 120.

Obtención de órganos

Al término del tratamiento los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico 40 mg/kg de peso vía inyección intraperitoneal. Se realizó incisión quirúrgica sobre la línea media abdominal y corte del diafragma para exposición del corazón, seguido de ello se realizó exsanguinación por punción cardíaca con la finalidad de drenar el volumen total de sangre de los órganos de interés. Se resecaron los órganos (hígado, cerebro, corazón, riñón, páncreas, tiroides y testículo) para su pesado y posterior procesamiento.

Obtención de mitocondrias de hígado

Se homogenizó el tejido en medio H (de 1 a 10 ml por gramo de tejido), el cual contiene 0.07 M de sacarosa, 0.21 M de manitol, 20 mM de HEPES, albumina bovina libre de ácidos grasos al 0.05 %, con un pH final de 7.4. La obtención de las mitocondrias se realizó mediante centrifugación diferencial del homogenado.

El homogenado de hígado se sometió a un esquema de centrifugación de tres pasos (Tabla 1), posteriormente la pastilla final se resuspendió en 0.5 mL de medio H y se determinaron proteínas mediante la técnica de Bradford (1976).

Tabla 1 Esquema de centrifugación para obtención de mitocondrias.

Paso	rpm	Temperatura	Tiempo (minutos)	Indicaciones especiales
1	2500	4 °C	10	Obtener sobrenadante
2	7500	4 °C	10	Obtener pastilla Incubar 30 minutos con albumina al 0.5%
3	9000	4 °C	10	Obtener pastilla con mitocondrias

Control respiratorio

Las mitocondrias obtenidas se colocaron en medio de respiración (Tabla 2) dentro de una cámara de vidrio con capacidad de 1.4 mL, la cual está acoplada a un sistema de circulación que mantiene la temperatura a 37 °C. Se colocaron 1500 µL del medio de respiración posteriormente se adicionó la muestra en una concentración de 500 µg/mL de proteína. Finalmente se adiciona el ADP a 100 mM manteniendo agitación moderada. La velocidad del consumo de oxígeno se midió utilizando un electrodo de Clark el cual esta acoplado a un sistema electrónico para el registro de los datos.

El control respiratorio es el resultado del cociente del consumo de oxígeno de los estados 3 y 4, mismos que se obtienen del valor de la pendiente de los valores graficados en cada uno de estos estados.

$$CR = \frac{Edo\ 3}{Edo\ 4}$$

Dónde:

- ✓ CR Control Respiratorio
- ✓ Edo 3 Valor de la pendiente de la velocidad de consumo de oxígeno en el estado 3.
- ✓ Edo 4 Valor de la pendiente de la velocidad de consumo de oxígeno en el estado 4.

Tabla 2 Composición del medio de respiración para mitocondrias.

Sustrato	Concentración	pH
Succinato	10 mM	
Sacarosa	250 mM	
MgCl ₂	10 mM	
Fosfato (H ₃ PO ₄)	10 mM	7
EGTA	1 M	
Albúmina	0.10%	7

Transesterificación

Para esta prueba se manejó el protocolo descrito por Morrison y Smith (1964) con ligeras modificaciones. Se tomaron 50 µL de muestra (tejido cerebral, tejido hepático o mitocondrias hepáticas según fuera el caso) y fueron depositados en un vial de 4ml, después se agregó 1000 µL de trifluoruro de boro (BF₃) al 14% en metanol, posteriormente se puso en atmósfera de nitrógeno una vez que el vial estuvo cerrado y debidamente etiquetado se colocó durante 30

minutos a ebullición en baño maría; pasado este tiempo el frasco fue retirado del baño maría y puesto a temperatura ambiente con el fin de enfriarlo. Una vez a temperatura ambiente, se agregaron 2000 μL de hexano y 1000 μL de agua esto con el propósito de separar la parte no polar (metil ésteres) de la parte polar (contaminantes), inmediatamente esta mezcla fue centrifugada a 1000 RPM / 1 min. Terminada esta centrifugación se recuperó la parte no polar de la muestra (parte superior del frasco) y se traspasó con ayuda de una pipeta Pasteur a un segundo vial previamente etiquetado, posteriormente se evaporó el exceso de hexano utilizando nitrógeno gaseoso, el frasco fue cubierto con aluminio (para evitar la descomposición de los metil-ésteres por exposición a la luz) y se almacenó a -20°C .

Cromatografía de gases

La composición de ácidos grasos de las mitocondrias hepáticas, tejido hepático, tejido cerebral y una fórmula láctea para humanos, fue determinada por cromatografía de gases. Se usó un equipo Clarus 500 de Perkin Elmer, equipado con detector de ionización de flama (FID) y controlado por computadora. Se utilizó una columna Omegawax de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y recubrimiento interno de 0.25 mm. El programa de temperaturas utilizado para la separación de los ácidos grasos en la columna fue el siguiente: se inició la inyección a 180°C por 5 minutos, se hizo una rampa de 5°C por minuto hasta llegar a 240°C y así se mantuvo por otros 18 minutos para completar un tiempo total de 35 minutos. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 250°C . Los tiempos de retención de los ácidos grasos fueron determinados por inyección de metil ésteres estándares de ácidos grasos. Los estándares fueron adquiridos de Sigma-Chemical Company (Saint Louis, MO). Para la inyección de la muestra los metil-esteres se suspendieron en 50 μL de hexano, se homogenizó y se inyectaron 4 μL en el equipo mencionado, cada muestra fue procesada por triplicado. El contenido de cada ácido graso se obtuvo por integración de las áreas bajo la curva de cada uno de los picos y los resultados se presentan en mol%.

En el caso del tejido cerebral se requirió del método de extracción de lípidos desarrollado por Folch y col (1957), con algunas modificaciones. En este caso se pesaron 100 mg de tejido cerebral (se tomó parte del hemisferio cerebral derecho) el cual fue puesto en un homogenizador

Potter-Elvehjem y posteriormente se le agregaron 3000 μL de una mezcla de cloroformo:metanol (2:1), se homogenizó el tejido durante 3 minutos manteniendo el homogenizador en baño de hielo y una vez obtenido un líquido de color marrón claro, se procedió a depositarlo a través de un embudo de vidrio cubierto con un filtro de papel (previamente desengrasado con cloroformo) a una probeta de cristal. Ya en la probeta se agregó agua (20% del volumen de cloroformo:metanol), y se mezcló bien. El contenido de la probeta se depositó en un tubo de ensaye para ser centrifugado a 1000 RPM por 2 min, se observó que la muestra mantenía dos fases, polar y no polar, a continuación se extrajo la fase polar que en este caso era la capa superior del tubo de ensaye; el resto de la muestra, la fase no polar, fue depositado en viales para después evaporar el exceso de cloroformo con nitrógeno, el frasco debía estar rotulado para ser almacenado. La muestra fue transesterificada con el método de Morrison y Smith, 1964 (previamente descrito) se resuspendieron los metil ésteres de tejido cerebral en 100 μL de hexano de los cuales se tomaron 4 μl y se inyectaron en el equipo de cromatografía de gases.

Cuantificación de malón-di-aldehído en mitocondrias (lipoperoxidación)

La determinación de la concentración de malondialdehído se realizó mediante la reacción del ácido tiobarbitúrico. Para la determinación de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico, a 1mL de solución de mitocondrias se añadieron 2 mL de solución de KCl al 1.15% (pH7.4). La solución se mezcló con una solución de dodecil sulfato de sodio a 0.4%, ácido acético al 7.5% ajustado a pH 3.5 con NaOH, y una solución de ácido tiobarbitúrico al 0.3%. Se añadió a la mezcla hidroxitolueno butilado al 0.01% para evitar la auto-oxidación de la muestra. La mezcla se calentó a 100°C durante 60 minutos. Después de enfriar la mezcla, se añadieron 5mL de una solución de n-butanol:piridina (15:1) en agua destilada, se centrifugó a 1600g durante 10 minutos. Se separó la fase de butanol con centrifugación ligera durante 5 minutos y se leyó en un espectrofotómetro a 535 nm. El resultado se expresó en nmoles de malondialdehído por miligramo de proteína mitocondrial.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de las medidas de tendencia central: promedio μ (\bar{x}) y desviación estándar σ de los datos obtenidos para ver su distribución. Así mismo la prueba de Shapiro-Wilk para probar normalidad de los datos. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni con un intervalo de confianza de 0.95 ($p < 0.05$) en el programa SigmaPlot 13 (2017). Los resultados se presentan como gráficos o tablas.

RESULTADOS

Las mediciones de peso corporal, concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol se realizaron al finalizar el tratamiento con ácidos grasos omega 3.

Peso corporal: En la figura 5 (a) se puede observar que el peso de los machos entre el grupo control (68.00 ± 4.10 g) y el suplementado con omega 3 (60.00 ± 7.60 g) no existe diferencia estadística. Respecto a las hembras (Figura 5-b) se puede observar una diferencia estadística entre las ratas control (67.50 ± 5.50 g) y tratamiento, (54.20 ± 5.70 g) diferencia que en términos porcentuales sería del 19.7%.

Concentración de glucosa en sangre: En la figura 5-b se puede observar que la concentración de glucosa sanguínea de las ratas lactantes, tanto hembras como machos, ya sea con o sin suplemento de ácidos grasos omega 3, se encuentra en un rango de 80 a 100 mg/dL. En el caso de los lactantes machos control registraron una glicemia promedio de 67.00 ± 3.74 mg/dL en contraste con el grupo tratamiento que mostró 58.00 ± 7.87 mg/dL. Es importante destacar que la concentración de glucosa en sangre entre los grupos de hembras muestra diferencia estadística ($p < 0.05$), siendo mayor (20%) el valor de este parámetro en los animales del grupo control (101.0 ± 3.69 mg/dL) que el suplementado (81.00 ± 8.00 mg/dL). Comparando los resultados de machos contra hembras no se observan diferencias significativas.

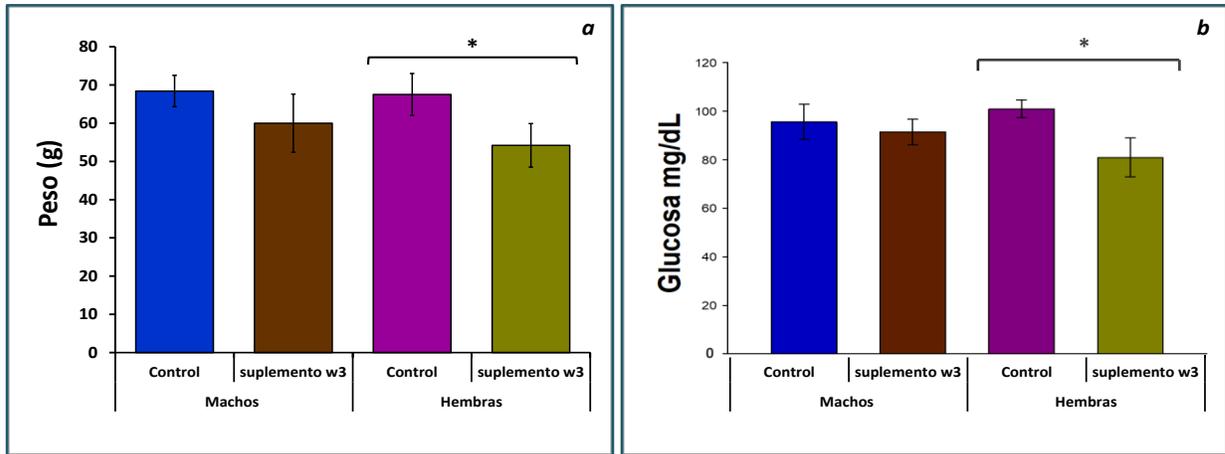


Figura 5 Peso corporal y concentración de glucosa en sangre de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3. * $p < 0.05$, $n=6$

Curva de tolerancia a la glucosa

En la curva de tolerancia a la glucosa (figura 6) se observa un incremento de la concentración de glucosa en sangre de entre el 8.5 y el 28 % en los grupos de estudio siendo la mayor concentración observada 127.2 mg/dL en el grupo de machos con suplemento de ácidos grasos omega 3. En todos los grupos se alcanza el valor basal a 60 minutos después de la administración oral de dextrosa.

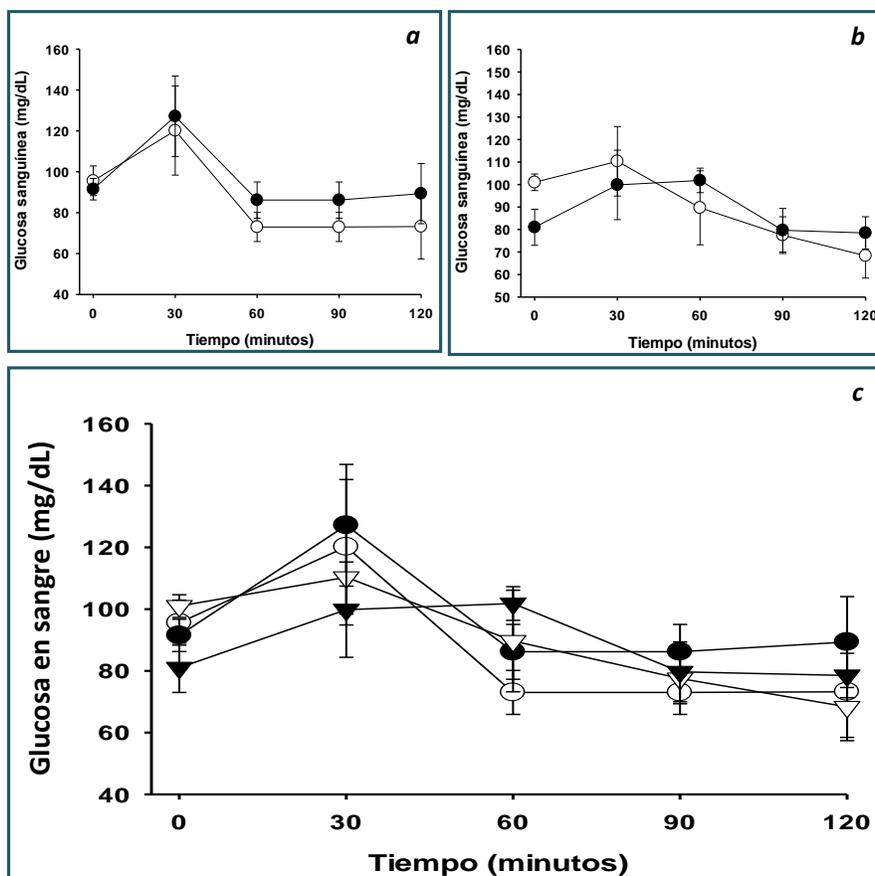


Figura 6 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.

Contraste entre machos (a), contraste en el grupo de las hembras (b) y contraste entre los grupos de machos y hembras, con y sin suplementación de ácidos grasos omega 3.

Grupo control (círculo blanco) y grupo suplementado (círculo negro) en figura a y b. Machos control (círculo blanco), machos suplementados (círculo negro), hembras control (triángulo blanco) y hembras suplementadas (triángulo negro) en figura c. n=6

Concentración de colesterol y triglicéridos en sangre

Los resultados obtenidos para la concentración de colesterol en sangre no muestran diferencia estadística entre controles y tratamientos (figura 7 a), al comparar entre machos control y hembras control se tiene una diferencia estadística siendo la concentración en hembras 4% mayor que en machos. Por otro lado el análisis de los triglicéridos tampoco marca una diferencia estadística significativa ni entre tratamientos ni entre sexos; pero hay un claro aumento; superior al 30 % de la concentración en los grupos de animales suplementados (Figura 7 b).

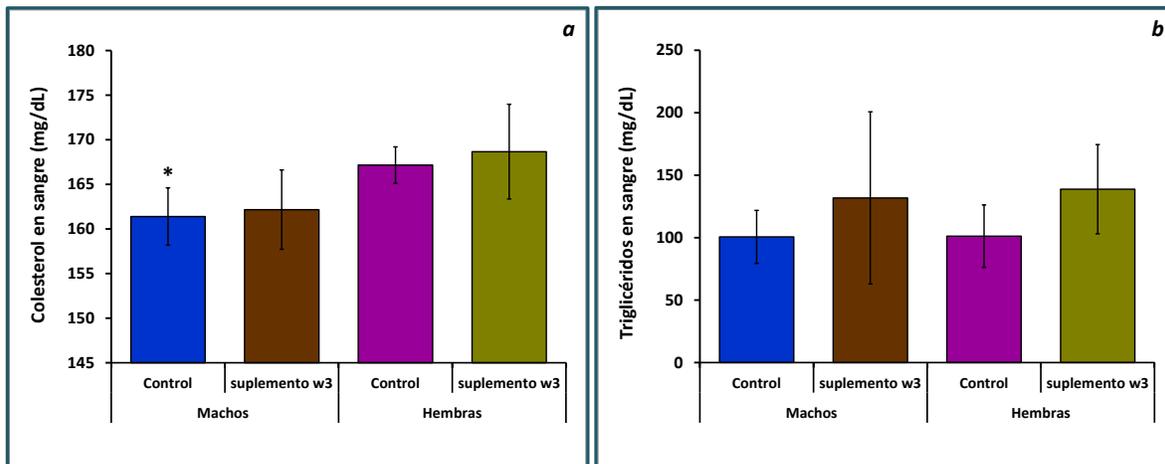


Figura 7 Concentraciones de colesterol y triglicéridos en sangre de ratas suplementadas con ácidos grasos omega 3 (Alfa linolénico) durante la lactancia. *Diferencia estadística entre control macho y control hembra $p < 0.05$, $n=6$

Peso de los órganos

Uno de los parámetros más estudiados para evaluar el crecimiento y desarrollo de los individuos es el peso de los órganos. En el presente estudio se puede observar que el peso del hígado en machos control es de 2.6 ± 0.2 g y en machos tratamiento 2.3 ± 0.4 g, en hembras control 2.9 ± 0.2 g y hembras tratamiento 3.0 ± 0.4 g sin mostrar diferencia estadística significativa en ningún caso (Tabla 4). Con respecto a los riñones podemos ver diferencias estadísticas entre las hembras de ambos grupos y el grupo control de machos. En el páncreas únicamente las hembras tratamiento tienen diferencias con los machos control.

Respecto al corazón y tiroides no se encontraron diferencias estadísticas en el peso de estos órganos entre tratamientos; sin embargo se puede observar que el peso de los órganos es mayor en las hembras que en los machos en ambos grupos.

Tabla 3 Peso de los órganos de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.

	Machos		Hembras	
	Control	$\omega 3$	Control	$\omega 3$
Hígado (g)	2.6 ± 0.2	2.3 ± 0.4	2.9 ± 0.2	3.0 ± 0.4
Corazón (g)	0.3 ± 0.02	0.3 ± 0.03	0.33 ± 0.01	0.36 ± 0.03
Riñón(X2) (g)	0.32 ± 0.03	0.28 ± 0.03	$0.36 \pm 0.02^{**}$	$0.35 \pm 0.03^{**}$
Páncreas (g)	0.33 ± 0.03	0.36 ± 0.06	0.42 ± 0.07	$0.42 \pm 0.04^*$
Tiroides (g)	0.2 ± 0.01	0.19 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.22 ± 0.03

*Diferencia estadística con control macho, **Diferencia estadística con macho tratamiento $p < 0.05$ n=6

Parámetros morfométricos del cerebro

La medición de algunos parámetros morfométricos ayuda a comprender el desarrollo anatómico de este órgano y se puede emplear en la explicación de algunos cambios en la conducta y cognición de los individuos: en el presente estudio se evaluaron el peso, la densidad y la concentración de proteína en este órgano.

La medición del peso del cerebro de los animales de estudio tiene como resultado un mayor peso (27.3 %) en los machos con suplemento de ALA (1.43 ± 0.30 g) que los animales del grupo control (1.13 ± 0.06 g; $P < 0.05$), mientras que los resultados de este parámetro en hembras no mostraron diferencia estadística. Si se comparan los resultados utilizando como variable independiente el sexo de los animales se observa que el peso del cerebro es 500 mg más pesado (45.5 %) en las hembras en los grupos control (1.60 ± 0.06 g) comparado con el de los machos control (1.13 ± 0.06), conservándose esta tendencia (100 mg, 7.1%) en los grupos suplementados con ALA (Tabla 5).

El análisis de la densidad de masa cerebral (DMC) demuestra que existe una alteración en los animales (machos y hembras) sometidos al tratamiento sin mostrar diferencias significativas entre estos grupos y el control (Tabla 5).

Respecto a la concentración de proteína, se puede observar que en los animales suplementados este parámetro es mayor en hembras (158.9 % en hembras; $p < 0.05$), si se analiza este mismo parámetro tomando como referencia el sexo de los animales los resultados muestran que el cerebro de los machos tiene una mayor concentración de proteína (4.22 ± 1.52 mg) que el de las hembras (4.11 ± 2.96 mg) sin diferencia estadística; sin embargo, en los grupos suplementados los resultados son inversos siendo mayor (125.4 %) la concentración de proteína en cerebro de las hembras (10.64 ± 1.12 mg) que la de los machos (4.72 ± 0.34 mg), $p < 0.05$ (Tabla 5).

Tabla 4 Densidad, peso y concentración de proteína en cerebro de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.

	<i>Machos</i>		<i>Hembras</i>	
	<i>Control</i>	<i>$\omega 3$</i>	<i>Control</i>	<i>$\omega 3$</i>
Peso (g)	1.1 ± 0.06	$1.43 \pm 0.3^*$	$1.6 \pm 0.06^*$	$1.52 \pm 0.1^*$
DMC (g/cm)³	2.2 ± 0.4	2.33 ± 0.82	2.00 ± 0.63	2.5 ± 0.55
Proteína (mg)	4.22 ± 1.52	4.72 ± 0.34	4.11 ± 2.96	$10.64 \pm 1.12^*$

DMC; densidad de Masa Cerebral, * Diferencia estadística con control macho, $P < 0.05$, n=6

Composición de ácidos grasos en tejido: hígado

En la tabla 6 se presentan los resultados de la composición de ácidos grasos de tejido hepático, donde el análisis de cada uno de los ácidos grasos muestra que hay una mayor concentración del ácido mirístico (saturado) en las hembras y una diferencia de hasta 116% entre hembras y machos. Es importante señalar que la diferencia entre sexos es en favor de

las hembras con un promedio de 32 mol% más que los machos. Los resultados obtenidos en el caso del ácido palmítico muestran un incremento del contenido de este ácido graso en los machos sometidos a tratamiento, este aumento es del 27% en comparación con el grupo de machos control y al comparar entre sexos encontramos que la diferencia entre el grupo de machos tratamiento y el de hembras control es del 34.88%. Por otra parte el ácido esteárico muestra diferencias únicamente entre sexos, el grupo de machos control tienen una concentración 38% mayor que el grupo control de hembras, el grupo de machos tratamiento tiene 49.57% más concentración que el grupo de hembras control y 32% más que el grupo de hembras con tratamiento. El ácido araquídico muestra una tendencia a aumentar en los animales con suplemento de ω -3, los machos con tratamiento tienen 233% más concentración que su grupo control y el grupo control de hembras. Ácido lignocérico muestra un aumento en su concentración del 20% en los machos con tratamiento en relación a su grupo control.

Respecto del contenido de ácidos grasos monoinsaturados los cambios observados son: en el caso del ácido miristoleico se tiene un incremento del 42 % en los machos con tratamiento y una diferencia de 136 % entre sexos en los grupos control. Con el ácido palmitoleico se tiene una diferencia del 158% entre las hembras del grupo control y los machos del mismo grupo; en el caso del ácido oleico existe una disminución del 54 % en los machos del grupo tratamiento en comparación con su control, los datos obtenidos al comparar entre sexos indican una diferencia de 208% entre las hembras control y los machos tratamiento, así como una diferencia de 157% entre machos tratamiento y hembras tratamiento.

Los ácidos grasos poliinsaturados tienden a disminuir en el tejido hepático de los animales que han sido suplementados con ALA, en el caso del ácido araquidónico (AA) no presenta diferencia estadística significativa cuando comparamos controles y tratamiento, sin embargo cuando se compara entre sexos encontramos que la concentración en machos control es 30% mayor comparada con las hembras control y 49% mayor con respecto a las hembras tratamiento, situación que se repite en el caso de machos con tratamiento donde su concentración es 50% mayor comparada con las hembras tratamiento. Por otro lado la

concentración de EPA es 74% mayor en las hembras tratamiento con respecto a su control y no muestra diferencias significativas en el caso de machos, al comparar entre sexos observamos diferencias estadísticas entre las hembras tratamiento y los dos grupos de machos. El DHA muestra diferencias únicamente entre sexos siendo las concentraciones en machos (tanto control como tratamiento) mayores que las de hembras. En el índice de insaturados sobre saturados tenemos que los machos con suplemento de ALA tienen un índice menor que el de su grupo control e incluso menor al de los grupos de hembras.

Tabla 5 Composición de ácidos grasos (mol%) tejido-hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos ω -3 durante la lactancia.

	MACHOS		HEMBRAS	
	Control	ω -3	Control	ω -3
Mirístico	0.30 ± 0.07 c	0.33 ± 0.09 c	0.61 ± 0.11 a,b	0.65 ± 0.15 a,b
Miristoleico	0.19 ± 0.04 b, c	0.46 ± 0.16 a	0.45 ± 0.19 a	0.67 ± 0.45
Palmítico	21.85 ± 1.35 b	27.76 ± 2.72 a,c	20.58 ± 1.51 b	23.52 ± 3.56
Palmitoleico	0.51 ± 0.06 c	0.57 ± 0.48	1.32 ± 0.54 a	0.91 ± 0.35
Estearico	21.31 ± 1.58 c	23.11 ± 1.86 c,d	15.36 ± 3.61 a	17.45 ± 2.61 b,c
Oleico	17.09 ± 1.07 b,c	7.87 ± 4.20 a,c,d	24.26 ± 4.91 a,b	20.24 ± 4.70 b
Linoleico	12.90 ± 1.88	12.89 ± 1.43	15.45 ± 1.47	14.58 ± 2.30
Gama linoleico	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01		0.08 ± 0.05
Linolénico	0.07 ± 0.05 c,d	0.13 ± 0.04 c,d	0.33 ± 0.09 a,b,d	0.60 ± 0.18 a,b,c
Araquídico	0.09 ± 0.04 b	0.30 ± 0.12 a, c	0.09 ± 0.09 b	0.22 ± 0.12
Araquidónico	14.55 ± 0.72 c,d	14.17 ± 2.89	11.12 ± 2.00 a	9.75 ± 2.62 a
EPA	0.41 ± 0.11 c,d	0.51 ± 0.35 d	0.71 ± 0.18 a,d	1.24 ± 0.37 a,c
Behenico	0.17 ± 0.11	0.21 ± 0.12	0.23 ± 0.13	0.28 ± 0.23
Erúcico		0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01 d	0.19 ± 0.06 b,c
Lignocérico	0.80 ± 0.05 b	0.96 ± 0.13 a	0.89 ± 0.12	0.83 ± 0.25
DHA	9.18 ± 1.50 c,d	8.46 ± 1.65 d	6.03 ± 0.89 a	5.79 ± 1.53 a,b
NI	2.87 ± 0.28	2.43 ± 0.44	2.88 ± 1.14	3.25 ± 0.56
Insaturados (I)	54.94 ± 7.04	45.25 ± 5.78	60.17 ± 10.64	54.06 ± 12.61
Saturados (S)	44.52 ± 10.26	52.68 ± 12.18	37.77 ± 5.56	42.96 ± 6.93
I/S	1.23 ± 0.11 b	0.86 ± 0.12 a,c,d	1.59 ± 0.34 b	1.26 ± 0.32 b

DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico, NI: no identificado, I/S: índice de ácidos grasos insaturados sobre saturados (Índice de Fluidez), Sub índices a,b,c,d; p < 0.05 ; a: Diferencia con Control macho, b: Diferencia con ω -3 macho, c: Diferencia con control hembra, d: Diferencia con ω -3 hembra p < 0.05; n=6

Composición de ácidos grasos de mitocondrias hepáticas

En la composición de ácidos grasos de las mitocondrias obtenidas de hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos omega 3 se observan diferencias puntuales en algunos ácidos grasos saturados, siendo el ácido mirístico el que presenta las mayores variaciones; en machos no observamos diferencias estadísticas y en hembras es el grupo tratado el que presenta un aumento de 39% con respecto a su control. Al comparar entre sexos encontramos que el grupo de machos control tiene una concentración de este ácido graso 78% mayor que las hembras control (Tabla 7).

El ácido palmítico (el ácido saturado con mayor presencia), en el caso de las hembras tratamiento, presenta un aumento del 22% con respecto a las hembras control. Al comparar entre sexos encontramos que los machos control tienen una mayor concentración que las hembras control en 22% y de 17% al comparar machos tratamiento con hembras control (Tabla 7).

En el análisis de los ácidos grasos monoinsaturados comparando entre sexos observamos que existe una mayor concentración de ácido graso miristoleico en las hembras; en el caso de las hembras control estas tienen una concentración 26 veces mayor que el grupo de machos control y 5 veces mayor que el grupo con tratamiento, situación semejante se presentó con las hembras tratamiento cuya concentración es igualmente superior a ambos grupos de machos (Tabla 7).

Por otro lado el contenido de ácidos grasos poliinsaturados es más abundante en mitocondrias de hígado de ratas suplementadas con ω -3; el ALA en machos tratamiento presenta un aumento del 111% con respecto a su grupo control, esto se repite en hembras tratamiento donde sus concentraciones son 312% mayores al del grupo hembras control. La comparación entre sexos muestra la misma tendencia que con sus controles; el grupo de machos tratamiento tiene una concentración 137.5% mayor que las hembras control, las hembras tratamiento aumentaron 177% más que los machos control. El EPA muestra un aumento en los macho tratamiento de 152% con respecto a los machos control; en hembras tratamiento podemos ver un aumento del 157% sobre el grupo hembras control, la comparación entre sexos indica una diferencia entre el grupo hembras tratamiento con un aumento del 429% sobre el grupo machos control. El DHA muestra

diferencias únicamente entre el grupo de machos tratamiento y el grupo de hembras control siendo el primero 41% mayor que el segundo (Tabla 7).

Tabla 6 Composición de ácidos grasos (mol%) de mitocondrias de hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos ω -3 durante la lactancia.

	MACHOS		HEMBRAS	
	Control	ω -3	Control	ω -3
Mirístico	0.41 ± 0.05 c	0.27 ± 0.14	0.23 ± 0.05 d,a	0.32 ± 0.05 c
Miristoleico	0.01 ± 0.01 c,d	0.05 ± 0.02 c,d	0.26 ± 0.04 a,b	0.29 ± 0.09 a,b
Palmítico	19.28 ± 1.35 c	18.45 ± 1.06 c	15.75 ± 1.45 a,b,d	19.25 ± 1.01 c
Palmitoleico	0.65 ± 0.28	0.55 ± 0.33	0.71 ± 0.26	0.63 ± 0.21
Esteárico	19.7 ± 2.00	19.94 ± 0.34	20.61 ± 1.00	19.65 ± 2.28
Oleico	11.09 ± 2.54	11.43 ± 2.65	13.57 ± 3.82	11.57 ± 1.80
Linoleico	13.13 ± 1.88	14.19 ± 0.76	14.27 ± 2.04	15.47 ± 2.40
Gama linoleico	0.07 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02
Linolénico	0.09 ± 0.04 b,d	0.19 ± 0.05 a,c	0.08 ± 0.03 b,d	0.25 ± 0.08 a,c
Araquídico	0.16 ± 0.14	0.23 ± 0.20	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.05
Araquidónico	16.86 ± 2.63	16.16 ± 1.95	16.22 ± 2.24	15.72 ± 2.41
EPA	0.17 ± 0.03 b	0.43 ± 0.19 a	0.35 ± 0.11 d	0.90 ± 0.55 a,c
Behenico	0.11 ± 0.05	0.24 ± 0.13	0.17 ± 0.07	0.23 ± 0.08
Erúxico	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.03
Lignocérico	0.90 ± 0.35	1.22 ± 0.15	0.87 ± 0.08	1.00 ± 0.15
DHA	11.63 ± 2.85	14.03 ± 1.79 c	9.90 ± 0.53 b	10.5 ± 1.18
NI	5.04 ± 4.06	2.63 ± 0.52	3.32 ± 2.39	3.86 ± 1.27
Insaturados (I)	54.24 ± 6.86	57.28 ± 7.06	55.49 ± 6.87	55.46 ± 6.88
Saturados (S)	40.56 ± 9.28	40.35 ± 8.97	37.68 ± 8.68	40.56 ± 8.68
I/S	1.34 ± 0.21	1.42 ± 0.08	1.47 ± 0.17	1.37 ± 0.16

DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico, NI: no identificado, I/S: índice de ácidos grasos insaturados sobre saturados (Índice de Fluidéz), Sub índices a,b,c,d; p < 0.05 ; a: Diferencia con Control macho, b: Diferencia con ω -3 macho, c: Diferencia con control hembra, d: Diferencia con ω -3 hembra p < 0.05; n=6.

Composición de ácidos grasos de tejido cerebral

Contrario a lo ocurrido en tejido hepático en el tejido cerebral no se encontraron tantas diferencias en la composición de ácidos grasos entre las ratas tratadas y sus controles ni tampoco entre machos y hembras; en algunas mediciones no se observan diferencias debido a las desviaciones estándar: sin embargo el programa de análisis estadístico SigmaPlot nos revela diferencias en algunos casos; al comparar por sexo las concentraciones de ácido behénico encontramos que los machos tratamiento tienen 46% menos concentración de este ácido graso que las hembras control (Tabla 8). El ácido erúico (monoinsaturado) presenta una disminución del 66% en los machos sometidos a tratamiento en comparación con el grupo de machos control, si comparamos entre sexos obtenemos que las hembras control tienen 80% menos concentración que los machos control y las hembras tratamiento 62% menos que los machos control.

Los ácidos grasos poliinsaturados mostraron algunas diferencias puntuales; el ALA presenta un aumento del 80% en ratas macho con tratamiento con respecto a su control, las ratas hembra control presentan una concentración 80% mayor en comparación con los machos control. Un dato interesante es que la presencia de ALA no se registró en las ratas hembra con tratamiento.

Al comparar la concentración de ácido araquidónico (AA) entre sexos tenemos una diferencia del 31% entre las hembras tratamiento sobre el grupo de machos con tratamiento. Se esperaba un aumento en DHA sin embargo muestra únicamente una tendencia hacia dicho aumento sin diferencias significativas entre tratamientos y controles.

El cociente de insaturados sobre saturados (I/S) muestra un aumento en las hembras del grupo tratamiento del 29% con respecto a su control, del 39% comparado con el grupo control de machos y del 31% comparado con el grupo de machos tratamiento.

Tabla 7 Composición de ácidos grasos (mol%) tejido-cerebro de ratas suplementadas con ácidos grasos ω -3 durante la lactancia

	MACHOS		HEMBRAS	
	Control	ω -3	Control	ω -3
Mirístico	0.35 ± 0.10	0.45 ± 0.06	0.35 ± 0.04	0.33 ± 0.11
Miristoleico	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.03 ± 0.03	0.12 ± 0.10
Palmítico	29.17 ± 0.94	28.59 ± 1.10	29.61 ± 1.75	26.93 ± 2.51
Palmitoleico	0.82 ± 0.25	0.46 ± 0.25	0.86 ± 0.26	0.83 ± 0.36
Esteárico	17.55 ± 2.68	17.77 ± 1.53	16.90 ± 1.65	15.84 ± 1.60
Oleico	18.32 ± 0.80	20.27 ± 3.77	19.35 ± 2.19	20.75 ± 3.21
Linoleico	0.67 ± 0.26	0.78 ± 0.09	0.74 ± 0.12	0.78 ± 0.15
Gama linoleico	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.02	
Linolénico	0.10 ± 0.02 b, c	0.18 ± 0.001 a	0.18 ± 0.07 a	
Araquídico	0.89 ± 0.64	0.39 ± 0.16	0.67 ± 0.24	
Araquidónico	10.13 ± 2.00	10.38 ± 1.24 d	11.58 ± 1.73	13.68 ± 1.62 b
EPA	0.91 ± 0.62	0.35 ± 0.29	0.47 ± 0.23	0.42 ± 0.10
Behenico	0.33 ± 0.11	0.20 ± 0.07 c	0.37 ± 0.10 b,d	0.21 ± 0.08
Erúxico	0.49 ± 0.17 b,c,d	0.17 ± 0.05 a	0.10 ± 0.07 a	0.19 ± 0.13 a
Lignocérico				
DHA	10.52 ± 2.58	11.92 ± 1.70	12.76 ± 2.89	15.04 ± 2.53
NI	9.58 ± 2.63	8.63 ± 1.62	7.46 ± 3.09	7.47 ± 1.85
Insaturados (I)	42.88 ± 7.44	44.60 ± 7.42	46.11 ± 7.28	53.65 ± 8.34
Saturados (S)	48.22 ± 4.54	47.40 ± 2.93	47.90 ± 12.46	43.31 ± 11.62
I/S	0.89 ± 0.13 d	0.94 ± 0.07 d	0.96 ± 0.13 d	1.24 ± 0.12 a,b,c

DHA: ácido docosahexaenoico, EPA: ácido eicosapentaenoico, NI: no identificado, I/S: índice de ácidos grasos insaturados sobre saturados (Índice de Fluidéz), NSD: No Se Detectó, Sub índices a,b,c,d; p < 0.05 ; a: Diferencia con Control macho, b: Diferencia con ω -3 macho, c: Diferencia con control hembra, d: Diferencia con ω -3 hembra p<0.05;n=6.

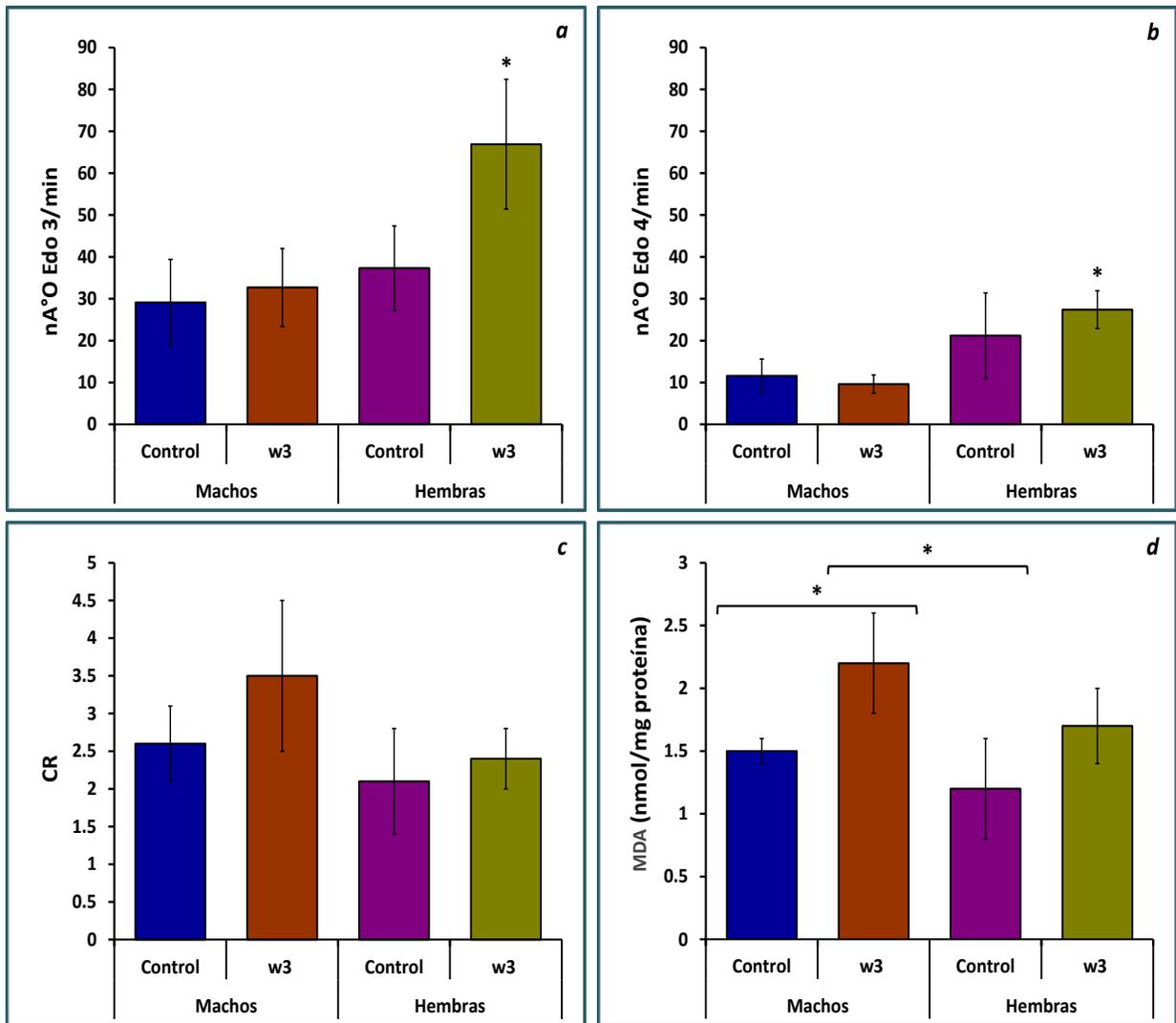
Control respiratorio y lipoperoxidación en mitocondrias de hígado.

El análisis del consumo de oxígeno mitocondrial es indispensable en el entendimiento del metabolismo celular, por lo que en el presente estudio se midió y cuantificó este parámetro encontrando que el consumo de oxígeno en el estado 3 en el grupo de hembras tratamiento aumenta un 79.45 % con respecto a su grupo control (Figura 8 a).

En el estado 4; analizando los datos por la variable sexo se observa que el consumo de oxígeno en el estado 4 es 136% mayor en hembras del grupo tratamiento comparadas con el grupo de machos control y 185% mayor que el grupo de machos tratamiento (Figura 8 b).

Los datos obtenidos del análisis del control respiratorio señalan que no hay diferencias estadísticas significativas cuando los animales son suministrados con ω -3 (Figura 8 c).

Un método indirecto para analizar la lipoperoxidación en tejido es la cuantificación de los productos de esta reacción, uno de los más utilizados es la cuantificación de malondialdehído. El análisis de los datos de este parámetro reporta un incremento de hasta el 46.7 % en la producción de MDA en el tejido hepático de los machos suplementados con ω -3 con respecto a su control, al comparar entre sexos encontramos que la diferencia entre los machos con tratamiento y las hembras control es del 83% (Figura 8 d).



Consumo de oxígeno en el estado 3 (a), consumo de oxígeno en el estado 4 (b), control respiratorio (c) y concentración de malondialdehído (MDA) (d). * $p < 0.05$, $n=6$.

Figura 8 Respiración mitocondrial y lipoperoxidación en mitocondrias hepáticas de ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos omega 3.

DISCUSIÓN

En la actualidad existe un grave problema de nutrición en el mundo; por un lado el exceso en la carga calórica en los países industrializados y por el otro la falta de alimento en los países con escasos recursos o en situación emergente (Iturbide, 1998), donde la malnutrición se caracteriza por un bajo aporte calórico y proteico, y un nulo aporte de diversos nutrimentos que son esenciales para el desarrollo y la vida humana (Ayala-Gaytán *et al.*, 2015; FAO, 2016). Una buena alimentación o alimentación balanceada es la base de un buen desarrollo y una mejor salud en la población infantil (Gil *et al.*, 2006). Se sabe que la nutrición del infante comienza con una buena nutrición de la madre durante el embarazo y la lactancia y se continúa durante la etapa infantil (Hernández *et al.*, 2003) que va de los 12 meses a los 5 años de vida (Kleinman, 2014). La alimentación adecuada (en cantidad y calidad) asegura una buena salud ya que estimula el desarrollo de un sistema inmune eficiente, previene las complicaciones durante el embarazo y el parto, reduce el riesgo de enfermedades no transmisibles de tipo crónico degenerativo como: diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, entre otras (Mostad *et al.*, 2006).

Las cifras estimadas, de acuerdo a la UNISEF y la OMS durante el 2017, de niños menores de 5 años que padecen desnutrición en el mundo son alarmantes, ya que señalan que 178 millones de infantes sufren desnutrición crónica (baja talla para la edad), y que derivado de esta deficiente nutrición 3.5 millones de niños mueren en esta etapa de la vida (Blak *et al.*, 2008). En México 1.5 millones de niños padecen de un deficiente aporte de nutrientes, este fenómeno se acentúa en zonas marginadas de las grandes ciudades, así como en las poblaciones indígenas y la región sur del país (Hernández *et al.*, 2003) un exceso en la carga calórica en las zonas urbanas (ENSANUT, 2016).

Además de lo anterior cabe señalar que hace ya más de 50 años que los gobiernos han implementado medidas para prevenir la desnutrición infantil a través del uso de complementos o suplementos alimenticios sin bases científicas que justifiquen estas acciones. México, es uno de los países integrantes de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Programa Mundial de Alimentos, que busca a través de la implementación

de Programas Nacionales como: México Sin Hambre, “*garantizar la seguridad alimentaria y la nutrición de los 7.01 millones de mexicanos que hoy viven en condición de pobreza extrema, y contribuir al ejercicio pleno de su derecho a la alimentación*” pero también se encuentra en la lista de los países que permiten el enriquecimiento nutricional de los productos alimentarios de infantes con suplementos o nutraceuticos, que no han sido debidamente estudiados y de los cuales se desconocen sus beneficios y posibles efectos adversos.

Modelo de estudio

Existen diversos modelos en animales para evaluar los efectos de los ácidos grasos omega 3 desde diferentes perspectivas, la gran mayoría de ellas en machos adultos, en los que factores como: desarrollo, crecimiento o etapa fisiológica (hormonal), no influyen sobre las variables de estudio. Sin embargo, es importante señalar que se requieren estudios que aporten información acerca de los efectos, ya sean benéficos o adversos, de estos ácidos grasos en las diferentes etapas de vida de los individuos, así como la forma en la que estas moléculas afectan a cada uno de los sexos. Por ello el modelo utilizado para la realización del presente estudio son ratas de ambos sexos, de 30 días de edad (lactancia), las cuales permanecieron con sus madres hasta una semana posterior al destete.

Los animales fueron suplementados con una dosis de 125 mg de ácido alfa linolénico / kg de peso, administrado vía oral mediante el uso de una micro pipeta. La dosis utilizada se calculó con base en la dosis recomendada para humanos (31.25 mg/kg de peso) y el factor metabólico de la especie (4), como se indica en la fórmula:

$$31.25 \text{ (mg)} \times 4 = 125 \text{ (mg)}$$

La ventaja de la utilización de un modelo donde se incluyen tanto hembras como a machos es la obtención de datos que evidencien si la respuesta entre ambos sexos, es diferente o no. Por otro lado, el estudio del consumo de ácidos grasos omega 3 en un modelo de animales lactantes obedece a la realidad moderna donde las fórmulas lácteas son suplementadas con

estos ácidos grasos (anexo 1) y se administran suplementos alimenticios a infantes, exista o no la necesidad real de hacerlo (anexo 2). Es importante reconocer que entre los grupos vulnerables o a los que se recomienda el consumo crónico o no regulado de estas sustancias están: los bebés prematuros, las personas de la tercera edad, mujeres en gestación, pacientes con problemas cardíacos, cáncer o enfermedades crónicas degenerativas como diabetes, síndrome metabólico, o pacientes psiquiátricos (Kim *et al.*, 2014). Además de lo anterior, los ácidos grasos omega 3 se han estudiado como factores de desarrollo cognitivo durante la etapa infantil y derivado de ello se ofertan como una promesa para el incremento de las capacidades intelectuales en los niños. Es obligatorio señalar que la promesa de una mejora en la inteligencia deriva únicamente de estudios de tipo clínico (Aguirre, 2008), en los cuales no se integra evidencia fisiológica, anatómica o bioquímica que explique los efectos psicosociales y cognitivos encontrados.

Ganancia de peso

El peso es uno de los parámetros más utilizados para evaluar el estado nutricional de los infantes, este puede ser valorado a través de diversos parámetros como la valoración cuantitativa de la desnutrición, en la cual se consideran los valores obtenidos del porcentaje de peso de referencia (Peso/Peso ideal) a través de la valoración global objetiva (Ravasco *et al.*, 2010). En el presente estudio se tomó como peso ideal el peso de los animales del grupo control. De acuerdo con el peso de referencia (figura 4a), los resultados muestran que los grupos tratados con ácidos grasos omega 3 presentan un índice considerado como desnutrición leve, tanto en machos (0.86) como en hembras (0.91) lo que sugiere una pobre ganancia de peso del 12% en machos (sin diferencia estadística significativa) y 19.7% en hembras asociada a estados carenciales o deficiencia aislada de nutrientes ya sea por disminución de la ingesta o pérdida de los mismos. El ALA es recomendado para la pérdida y el control de peso corporal (Perng *et al.*, 2015). Existen reportes que sugieren que el consumo de este ácido graso en cantidades superiores a las recomendadas puede ocasionar el incremento del tejido adiposo, ya que el excedente de ALA se va a almacenar en este tejido como reserva energética (Morales *et al.*, 2012). Evidentemente este efecto no se observó en el modelo utilizado; fenómeno posiblemente atribuible a la edad de los

individuos, ya que durante la etapa de desarrollo y la lactancia la demanda energética es mucho mayor que la de los individuos adultos (Cossio-Bolaño *et al.*, 2012, Cossio-Bolaño *et al.*, 2013).

Glucosa sanguínea

La concentración de glucosa sanguínea, de los grupos en estudio, se encuentra dentro de los parámetros considerados como normales en ratas adultas (81 a 101 mg/dL). Estudios realizados por Pérez y col (2010), sugieren que la concentración de glucosa en sangre en individuos lactantes se encuentra en un rango de 90 a 102 mg/dL; por otro lado Figueroa-García (2013) señala que la glucemia en ratas recién nacidas y hasta los 15 días de edad se encuentra en un rango de 70 a 90 mg/dL, cabe destacar que en dicho estudio se usaron únicamente ratas hembra. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran glucemias en un rango de 81 a 101 mg/dL, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las hembras tratamiento y su respectivo control ($p < 0.05$); los resultados obtenidos sugieren un incremento en la concentración de insulina en los individuos de los grupos tratados con ALA, lo que estaría provocando una constante incorporación de la molécula en los tejidos periféricos y una disminución de esta en sangre. Se sabe que, en individuos en crecimiento, y aún más en etapa de lactación, la demanda energética es alta, por lo que el consumo de alimentos de aporte calórico elevado es indispensable para mantener la homeostasis de la glucemia (Davis y Morris, 1993). Uno de los mecanismos a través de los cuales los ácidos grasos omega 3 generan disminución del peso corporal es la regulación del consumo voluntario a través de la sensación de saciedad (Parra *et al.*, 2008), fenómeno atribuido a que la ingesta de omega 3 disminuye la síntesis y liberación de leptina (Wang *et al.*, 2002). Esta saciedad o disminución de ingesta de alimentos podría ser una de las principales causas de disminución de la glucemia en infantes (Kyu-Bong *et al.*, 2014) y probablemente la causa de las concentraciones de glucosa sanguínea observadas en las ratas de los grupos adicionados con ALA (Burnol *et al.*, 1983).

Curva de Tolerancia a la Glucosa

La curva de tolerancia a la glucosa es una prueba útil en el estudio del metabolismo de los carbohidratos. Se fundamenta en la pérdida del control de la capacidad para la utilización de la glucosa en diversas enfermedades que cursan con hiperglicemia. Esta prueba se caracteriza por el fallo en el transporte de la glucosa hacia el interior de las células, sobre todo en aquellas que requieren de insulina, ocasionando que la concentración de glucosa en sangre se mantenga por arriba de las concentraciones consideradas como normales, durante periodos de tiempo prolongados (Girbés-Borrás, 2008).

Esta prueba también es útil en el estudio de la utilización de los carbohidratos cuando se quiere probar la eficacia de ciertos fármacos como coadyuvantes en la absorción de la glucosa o en el estudio de los efectos de ciertos nutraceuticos (suplementos o complementos) o alimentos funcionales sobre la glicemia (Wolever y Jenkins, 1986).

En las diferentes líneas de investigación desarrolladas por el Dr. Mejía Zepeda R (2006-2018) en animales diabéticos tipo 2 y sus respectivos controles, a los que se les ha suplementado con ácidos grasos omega, en diversos esquemas y durante periodos de tiempo que van de 0 a 6 meses, se ha observado que la administración crónica de los ácidos grasos omega 3 generan estados de hiperglicemia compatibles con intolerancia a la glucosa, síndrome de resistencia a la insulina y posiblemente diabetes tipo 2 en individuos sanos, por lo que un estudio completo del efecto de estas moléculas en animales en etapa de lactación siempre debe incluir pruebas que evalúen la homeostasis de la glucosa. Es por ello que en el presente trabajo se utilizó esta prueba como método de valoración de los posibles cambios metabólicos ocasionados por la administración de los ácidos grasos omega 3 a individuos durante la etapa de lactación; encontrando que el área bajo la curva, calculada mediante la prueba de los polígonos, en los animales del grupo control es 3.2 % mayor en hembras, sin embargo este efecto cambia cuando se administran los omega 3 y el resultado es 8.6 % mayor en los machos.

Concentración sanguínea de Triglicéridos y Colesterol

En el análisis de la concentración de triglicéridos en sangre (Figura 6) no mostró diferencias estadísticas. Las anomalías presentadas en los animales sometidos al tratamiento en contraste con su control se explica debido a la movilización de los ácidos grasos para la obtención de energía en los grupos adicionados y se correlaciona en forma positiva ($R=0.99$) con la pobre ganancia de peso, lo que indica un estado catabólico de los animales debido al gasto metabólico de la etapa de vida. Se sabe que, durante los estados de estrés, para la conservación de la homeostasis, el organismo es capaz de implementar ciclos de retroalimentación negativa que conduzcan a un estado de equilibrio entre la degradación y uso de los productos energéticos (Martínez y Paredes, 2007). Esto es, pese a que hay un mayor aporte de productos energéticos (ALA), los cuales son energéticamente menos valiosos que los ácidos grasos saturados, el organismo no puede echar mano de ellos debido a la retroalimentación negativa de la hormona insulina, la cual está siendo inhibida por la constante síntesis y liberación de la misma, mecanismo derivado de la estimulación constante de los PPAR's γ (gama) en las células beta pancreáticas, lo que a su vez provoca el incremento de glucagón, el cual estimula la movilización de las reservas energéticas del hígado y la lipólisis en el tejido adiposo (Calder, 2011; Janani y Ranjitha-Kumari, 2015).

Una investigación a cargo de De-Lorgeril y col (1994), nos muestra que una dieta que incluye gran cantidad de ALA no reduce la concentración de triglicéridos ni de colesterol en sangre; este estudio se realizó en adultos de ambos sexos con una edad menor a 70 años que habían sufrido un evento de ataque al miocardio. Ferrier y col (1995), observaron que un alimento (huevo) enriquecido con ALA no aumenta la concentración de triglicéridos ni de colesterol en sangre. Por otro lado, en la investigación realizada por Djousse y col (2003), se presentan datos de hombres y mujeres los cuales muestran una tendencia a la baja en las concentraciones de triglicéridos en sangre cuando se consume ácido Linolénico. La investigación de Vijaimohan y col (2006), muestra que el aceite de semillas de linaza controla las concentraciones de colesterol y triglicéridos cuando los animales son alimentados con una dieta rica en grasas.

Por otro lado, el análisis de la concentración sanguínea de colesterol no muestra diferencia estadística entre grupos, lo cual es contrario a otras investigaciones donde se observa un descenso de este parámetro tanto en concentración sanguínea como en tejidos a raíz de una dieta con ALA (Garg y Clandinin, 1992). Este fenómeno probablemente se deba a que las ratas lactantes no sintetizan hormonas esteroideas en la misma cantidad que una rata adulta por lo que la cantidad de colesterol no cambia; la concentración de hormonas se controla por su tasa de síntesis lo que a su vez se rige por señales cerebrales, manteniendo así concentraciones similares en las ratas lactantes sin importar su sexo (Mathews *et al.*, 2013). En humanos recién nacidos la concentración de colesterol no parece estar influenciada por la dieta materna por lo cual se podría descartar como un factor de cambio (Badruddin *et al.*, 1990).

Peso de los órganos de ratas lactantes con y sin adición de ácidos grasos omega3

El peso de los órganos es un parámetro importante que describe el estado nutricional y metabólico del órgano en particular y de los individuos en general (Bailey *et al.*, 2004). Este parámetro es utilizado generalmente como criterio de daño o anomalía durante la necropsia y aporta evidencia de estados patológicos en los cuales el tamaño de los órganos suele estar aumentado [hipertrofia (esteatosis hepática) o hiperplasia (neoplasias, infecciones virales)] (Robbins, 1987) o disminuido [atrofia (isquemia, infecciones, quietes) (Rubin y Farber, 1992) o hipoplasia (insuficiencia renal crónica, insuficiencia hepática, desnutrición)] (Lucena-Romero, 2001). Las anomalías o desviaciones del patrón normalmente esperado del parámetro en estudio (peso de los órganos) pueden generarse por diferentes causas; estos cambios son derivados de la respuesta adaptativa de los individuos a modificaciones internas (fisiológicos, enfermedad) o externas (ambiente, alimentación).

En el caso del incremento en el peso del páncreas y riñones en hembras con respecto a los machos estos fenómenos podrían estar asociados a eventos metabólicos derivados de la administración crónica de los omega 3.

Es importante señalar que uno de los eventos más importantes involucrados en la evolución del ser humano es el desarrollo del cerebro (incremento de masa cefálica), el cual está directamente asociado a la cantidad (número) de neuronas que posee y ésta a “*la facultad de la mente que permite aprender, entender, razonar, tomar decisiones y formarse una idea determinada de la realidad*” (RAE, 2017), eventos que en su conjunto se definen como inteligencia. En el presente estudio se puede observar que el peso del cerebro de los machos del grupo adicionado con ALA es mayor (27.2%) que el de los animales control, circunstancia que se puede considerar como capacitante para tener un mayor desarrollo intelectual, se deben considerar que esto aplicaría en humanos donde un mayor tamaño del cerebro podría indicar una mayor capacidad intelectual, pero en un individuo en condiciones completamente distintas este resultado podría significar otra cosa; con respecto al incremento de la masa cerebral de las ratas otros fenómenos de tipo fisicoquímico, como la densidad, podrían explicar el incremento de la masa cefálica como en el caso que nos ocupa, ya que si bien es cierto que el peso del órgano es mayor en los machos tratados con ALA, la densidad de este órgano puede variar, modificando de forma sustancial los resultados y la interpretación de los mismos, como se verá más adelante. Por otro lado, existe una diferencia de esta variable entre sexo, siendo mayor el peso (31.2%) de este órgano en las hembras control con respecto a los machos control lo cual nos indica que el tratamiento si podría tener efectos en este aspecto.

Proporción cerebro-masa corporal (PCMC) y cociente de encefalización (EQ)

La proporción cerebro-masa corporal, es una proporción entre el peso del cerebro y el peso del cuerpo, con la cual se puede hacer la estimación hipotética de la inteligencia de un animal. Esta proporción se calcula multiplicando el cociente del peso del cerebro entre el peso corporal por el factor 100 (formula 1).

$$PCMC = \frac{PC1}{PC2} \times 100$$

Formula 1: PCMC = Proporción cerebro-masa corporal, PC1 = peso del cerebro, PC2 = peso corporal.

La encefalización es una medida del grado de desarrollo del cerebro y se calcula utilizando la ecuación formulada por Jerison en 1973.

$$EQ = \frac{\text{Peso del cerebro}}{0.12 (\text{Peso corporal})^{0.67}}$$

Una de las principales razones por las cuales se realizó el presente estudio es la gran cantidad de información encontrada, no sólo científica sino también comercial, acerca de las propiedades benéficas que tienen los ácidos grasos omega 3 en el desarrollo cognitivo de infantes (Coronado *et al.*, 2006), su participación en el tratamiento de enfermedades psiquiátricas (esquizofrenia) (Valenzuela *et al.*, 2011), enfermedades degenerativas del sistema nervioso central (Parkinson, alzheimer, epilepsia) (Tapia, 2005; Bazan, 2009) y trastornos de la conducta (hiperactividad, déficit de atención o ansiedad) (Tapia, 2005).

Es importante señalar que los animales del presente estudio son considerados como animales totalmente sanos, lo cual implica que no presentan ninguna enfermedad o trastorno, por lo que únicamente se estimaron aquellos parámetros que tienen que ver con el aumento en las capacidades cognitivas o inteligencia evaluados a través de criterios anatómicos como son: la proporción cerebro-masa corporal y el cociente de encefalización (Boddy *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos de la variable proporción cerebro / masa corporal (PCMC) muestran un menor índice en los animales de los grupos control; 45.5 % (machos) y 19.3% (hembras) ($p < 0.05$). Es importante señalar que el PCMC es menor en los machos (44.2 %, controles y 18.3%, suplementados con ω -3) en comparación con las hembras. Esto sugiere que el desarrollo del cerebro es mayor en los animales que recibieron ALA y que el cerebro de las hembras se desarrolla con mayor rapidez que el de los machos. Es posible que este simple hallazgo haga suponer que los animales suplementados con omega 3 tendrán una mejor respuesta cognitiva que aquellos que no fueron adicionados; sin embargo, es importante señalar que existen otros parámetros que se pueden utilizar con el fin de dilucidar esta hipótesis. En este caso la densidad del cerebro es uno de los parámetros que

se emplearon para saber si en realidad la PCMC, se debe efectivamente a un incremento en la masa cefálica o es un fenómeno derivado de algún otro factor no considerado en el estudio. Por lo que se realizó el análisis de la densidad del cerebro mediante el método de Arquímedes; el cual consiste en hundir el órgano en un volumen conocido de agua y medir los cm^3 del líquido desplazado dentro de un contenedor graduado. El cálculo de la densidad se realiza mediante la fórmula matemática para el cálculo de la densidad de los cuerpos:

$$D = \frac{M}{V}$$

Donde D= densidad, M= masa y V= volumen.

Como ya se vio anteriormente el peso del cerebro es mayor en los grupos de animales suplementados con ALA; sin embargo, el análisis de la densidad de este órgano muestra que este parámetro es menor (5.9%, machos y 25%, hembras) en estos grupos que la de los animales del grupo control. Por otro lado existe una diferencia de esta variable entre sexo, siendo mayor la densidad (56.8%) de este órgano en las hembras (0.88 D) respecto a los machos (0.5 D). Recordemos que la densidad es la relación existente entre la masa y el volumen de un cuerpo, por lo que ésta depende de los componentes tanto sólidos como líquidos del mismo. Una característica importante del cerebro es la gran cantidad de lípidos que contiene, mismos que han sido estudiados como la posible causa de las capacidades cognitivas de los seres humanos (Bourre, 2004), una de las hipótesis que se estudian desde hace ya mucho tiempo respecto a la inteligencia, en relación a los ácidos grasos que compone al cerebro, es la capacidad de mielinización, ya que de esta característica depende la velocidad de la conducción nerviosa; variable asociada a la capacidad de respuesta (Miller, 1994). De acuerdo a Crawford (1992) la capacidad sináptica entre neuronas genera el desarrollo de complejos patrones celulares (hoy conocidos como mapas mentales), esto a través de la transferencia de la información de las terminaciones nerviosas sensoriales (gracias a las vainas de mielina en los axones) de las células nerviosas las que a su vez transmiten la información a otras neuronas (Crawford, 1992). Sin embargo, el desarrollo de estos mapas mentales, los cuales se han asociado al tamaño del cerebro, no depende únicamente de la eficiente transmisión del impulso nervioso o la comunicación entre las

neuronas, sino de la densidad de neuronas (número de neuronas) y el número de uniones entre ellas (sinapsis), esto explica la gran inteligencia de cerebros pequeños, por lo que el tamaño del cerebro cobra importancia sólo si el número de neuronas y uniones sinápticos es equivalente.

Por otra parte el estudio del índice de encefalización muestra que a pesar de que los grupos adicionados con omega 3 tienen una mejor proporción cerebro masa corporal, esta no está en relación con el grado de inteligencia, ya que los resultados obtenidos sugieren que sólo en los machos se correlacionan estas variables ($R=0.89$) con un EQ 20% menor en el grupo control, mientras que en las hembras el grado de asociación es muy bajo ($R=0.68$) con un EQ 11.7 mayor en los animales del grupo control. Además de lo anterior al comparar los resultados entre machos y hembras se encontró que las hembras tanto del grupo control (40%) como del grupo con omega 3 (3%) tienen un mejor EQ que los machos (Herculano-Houzel, 2007).

Una de las características del cerebro de la rata es su rápido crecimiento durante la lactancia, donde hay una sustancial síntesis de ARN, ADN y proteínas (Gottlie *et al.*, 1977) lo que explicaría el incremento en la densidad de los cerebros de los animales del grupo adicionado con ácidos grasos omega 3. Uno de los efectos de los omega 3 es la estimulación de la insulina la cual participa, no sólo en la incorporación de la glucosa en el tejido adiposo y el muscular, sino también en la proliferación celular (Aizenman y De Vellis, 1986).

Tabla 8 Índice de encefalización de ratas suplementadas con ácidos grasos omega 3 (alfa linolénico) durante la lactancia.

	<i>Machos</i>		<i>Hembras</i>	
	<i>Control</i>	<i>ω3</i>	<i>Control</i>	<i>ω3</i>
CPC/PC	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.005	0.024 ± 0.002	0.03 ± 0.005
PCMC	1.65 ± 0.10 a	2.4 ± 0.55 b	2.38 ± 0.23 c	2.84 ± 0.46 d
EQ	0.55 ± 0.03 a	0.66 ± 0.14 b	0.77 ± 0.02 c	0.68 ± 0.04 d
IDMC/EQ	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.3	1.1 ± 0.2

CPC/PC Cociente entre el peso del cerebro y el cuerpo, PCMC Proporción masa cefálica y peso del cuerpo, EQ Índice de encefalización, DMC Densidad masa cefálica, IDMC/EQ Índice de la densidad cefálica y la encefalización.
Sub índice $p < 0.05$. $n=6$

La información acerca de los efectos de los ácidos grasos omega 3 en infantes (humanos y ratas) está enfocada a la evaluación de los beneficios que estas moléculas tienen en el desarrollo cognitivo; sin embargo, gran parte de esta información se enfoca en la estimación de parámetros subjetivos como: habilidad y destreza (Catalan *et al.*, 2002), en ninguno de los documentos científicos y/o académicos revisados se aborda el análisis fisiológico o bioquímico de las diferencias encontradas en los individuos de estudio y sus posibles efectos en el desarrollo del cerebro y/o cognición. En el presente estudio se evalúan algunos parámetros bioquímicos y fisicoquímicos; relacionados con la integridad de las membranas y la producción de energía, las cuales afectan directamente la transmisión del impulso nervioso y con ello el desarrollo anatómico-cognitivo de los sujetos, como son: composición de ácidos grasos, control respiratorio mitocondrial y lipoperoxidación.

Composición de ácidos grasos en tejido y mitocondrias de hígado

Es importante analizar la composición de ácidos grasos en el hígado cuando se está estudiando la importancia que estos tienen en el desarrollo del sistema nervioso ya que del buen funcionamiento de este órgano depende la economía energética del sistema en su totalidad. Uno de los primeros cambios que se observan en individuos con problemas

metabólicos es la alteración de los parámetros fisiológicos del hígado, derivado ello del acúmulo de grasa en el parénquima del órgano (Comós y Valles, 2011)

En los resultados de mitocondrias se puede observar que el tratamiento con ácidos grasos omega 3 parece tener efecto en la composición de ácidos grasos de las mismas, las mitocondrias de las ratas lactantes presentaron diferencias puntuales en determinados ácidos grasos como: aumento en la concentración de ALA (del 111% en los machos y del 212% en las hembras con tratamiento), y EPA (del 152% en los macho con omega 3). Las concentraciones de DHA no mostraron diferencias entre los grupos tratados y los controles lo cual concuerda con la literatura, donde se menciona que la elongación y desaturación de DHA a partir de ALA es deficiente (entre el 0.05 - 4% de ALA logra transformarse en DHA) (Brenna *et al.*, 2009; Morales, 2012; Eraso *et al.*, 2014).

La composición de ácidos grasos en las membranas biológicas es importante ya que de ella dependen distintos fenómenos que pueden afectar el trabajo realizado por la estructura sub celular a la cual envuelven; en el caso de las mitocondrias, uno de los organelos más abundantes de la célula, la composición de sus membranas es fundamental para mantener en función uno de los sistemas más importantes para la vida eucarionte: la cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa (Alberts, 2011).

Partiendo de la hipótesis de que los ácidos grasos poliinsaturados pueden modificar la función y composición de las membranas mitocondriales, Barzanti y col (1994), encontraron que una dieta rica en omega 3 y 6 modifican la composición de ácidos grasos de mitocondrias de hígado, corazón y cerebro así como la actividad de ciertas enzimas de interés energético y de transporte como los complejos citocromo y la ATPasa (bomba sodio-potasio) llegando a la conclusión de que la modificación en la actividad de estas y la concentración de ácidos grasos insaturados y saturados puede influir en la homeostasis estructural del organelo. En el presente trabajo se observaron cambios en la concentración de ALA y EPA, lo cual concuerda con la literatura en la cual una dieta con omega 3 provee los suficientes ácidos grasos de esta familia para mantener concentraciones constantes de los mismos en tejidos y membranas mitocondriales (Herbst *et al.*, 2014), de igual forma, los

posibles efectos de estas modificaciones en los ácidos grasos de las membranas sobre las proteínas y enzimas mitocondriales podrían explicarse de manera parcial con los resultados observados en las pruebas de lipoperoxidación y respiración mitocondrial ya que a la par del tratamiento con omega 3 se observó el aumento de la concentración de malondialdehído así como una tendencia al aumento de la respiración mitocondrial (Figura 7 c y d) tanto en machos como en hembras. En esta investigación el cociente entre insaturados sobre saturados (I/S) no muestra diferencias significativas, las diferencias puntuales de ciertos ácidos grasos no parecen afectar la composición total de esta estructura; es interesante ver el aumento coordinado de dos parámetros: lipoperoxidación y una correcta respiración mitocondrial. Se ha determinado que aun cuando existe una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno, producto de una dieta rica en ácidos grasos omega 3, esto no afecta las funciones de las mitocondrias; puede decirse que las membranas mitocondriales no están siendo dañadas por estos y por ende la respiración mitocondrial se lleva a cabo sin contratiempos (Herbst *et al.*, 2014).

El hígado está compuesto en un 80% por hepatocitos que son células especializadas que contienen una gran cantidad de mitocondrias que, como ya se ha discutido, realizan la fosforilación oxidativa y la oxidación de ácidos grasos (entre otras rutas energéticas de interés). El hígado además de ser el órgano más grande del cuerpo humano, guarda relación con el metabolismo de ácidos grasos incluidas las elongaciones y desaturaciones de los precursores ALA y LA lo cual lo convierte en un órgano de interés para la investigación de los ácidos grasos (Osorio, 2000). En este tejido se pueden observar diferencias entre los tratamientos; se presentó un incremento del 81.81% en la concentración de ALA y del 74.64% en el EPA en hembras con suplementación de omega 3. El índice de insaturados sobre saturados indica que existe un decaimiento en la cantidad de ácidos grasos insaturados en los animales macho con ALA, en el caso de machos el índice es 30% menor en los animales con tratamiento.

En este estudio al tener una dieta basada en el exceso de ALA difícilmente podríamos observar un efecto de competencia entre las enzimas elongasas (Elov-2 y Elov-5) y desaturasas (Δ -5 y Δ -6) entre ALA y LA cómo se describe en otras investigaciones donde

el consumo de omega 6 es mayor. En la investigación de Smink y col (2012), se utilizaron cerdos a los cuales se alimentó con una dieta con exceso de ALA, encontrando que este ácido graso en tejido hepático tiene un aumento de aproximadamente un 1060% independientemente de la cantidad de LA que también le fue suministrada, al mismo tiempo se observa el incremento en la concentración de EPA pero no en DHA lo cual concuerda con los resultados obtenidos en las hembras, posiblemente se deba a que la actividad de las enzimas $\Delta 5$ -desaturasa y $\Delta 6$ -elongasa está regulada de acuerdo a la cantidad de ALA y LA consumidos además de la deficiente síntesis de DHA a partir de ALA.

Es interesante el hecho de que los cambios en las concentraciones de omega 3 ocurrieron sólo en hembras y que los machos con tratamiento presentaron una mayor cantidad de ácidos grasos saturados que insaturados.

Se encontraron cantidades bajas de ALA en los modelos de estudio por lo que posiblemente la mayoría de estos ácidos grasos hayan sido movilizados hacia el tejido adiposo donde se almacenarían como reserva energética (Lin y Salem, 2007).

Las alteraciones en hígado pueden generar problemas ya que este órgano al estar ligado a la movilización y metabolismo de los ácidos grasos estaría expuesto a cualquier modificación derivada de la dieta, en este contexto es importante determinar qué efectos tienen los ácidos grasos omega 3 sobre el tejido hepático.

Composición de ácidos grasos cerebro

Como ya se había mencionado el cerebro está compuesto esencialmente por lípidos (Leyva-Rendón, 2011), de los cuales los ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) son de suma importancia para el desarrollo anatómico y cognitivo del órgano. La composición de los ácidos grasos puede variar en el tejido cefálico dependiendo de la edad (aumenta durante el desarrollo y disminuye con el envejecimiento), el estado de salud (nutrición) y la dieta de los individuos. Como se puede observar en la tabla 8 la composición de ácidos grasos en cerebro varía entre los animales que recibieron ácidos grasos de cadena larga durante la

lactancia y los animales del grupo control, se puede observar una tendencia al aumento de los ácidos grasos insaturados en las hembras del grupo experimental. Sin embargo al analizar los ácidos grasos insaturados más importantes (por sus efectos bioquímicos y fisiológicos) se encontró que el DHA es el más abundante (24.53%; Machos-control, 26.72%; Machos-omega-3, 27.67%; Hembras-control y 27.97%; Hembras-omega-3), es importante señalar que este ácido graso n-3 también ha sido reportado como el más abundante en el cerebro de los mamíferos (Crawford, 1992), algunos autores señalan que tanto las células de la glía como las epiteliales tienen la capacidad de sintetizar este ácido graso a partir del ALA y otros precursores, este hecho es de suma importancia para el presente estudio ya que el suplemento que se administró a los animales del grupo experimental es justamente el ALA (Jicha y Markesbery, 2010). Algunas de las funciones fisiológicas más importantes que tienen que ver con la composición de los ácidos grasos son: mantener la fluidez de las membranas y la integridad de la función neuronal, producción del mediador neural neuroprotectina D1, derivada del DHA, que tiene como función junto con este ácido graso mantener la integridad de la membrana, además de intervenir en procesos de señalización para las proteínas apoptóticas de la familia de las Bcl-2, disminuyendo su actividad o inactivándolas. También se ha señalado que el DHA disminuye la activación de los mediadores de la inflamación en cerebro (Lukiw y Bazan 2008). Respecto al ácido araquidónico (AA) se puede apreciar que existe una mayor concentración en el cerebro de las hembras lo que corresponde al 25%, en ambos casos, del total de los insaturados, siendo 18% más abundante en el cerebro de las que recibieron ALA comparadas con su control. En estudios realizados en ratas suplementadas con aceite de pescado durante la gestación se ha observado una disminución de la concentración del ácido araquidónico y el tocoferol durante el desarrollo posnatal de los hijos (Amusquivar *et al.*, 2000).

Respecto a la concentración del EPA se puede observar que en los animales que recibieron el suplemento de ALA la concentración de este ácido grasos es menor con una tendencia del 61.5%; machos y 10.63%; hembras respecto al grupo control (sin diferencia estadística). Es importante señalar que estos ácidos grasos, además de estar implicados en los procesos de inflamación, son componentes estructurales de las membranas celulares;

por lo que, a mayor abundancia mayor fluidez de la membrana. Este efecto se puede comprobar con los resultados de los cocientes de ácidos grasos insaturados sobre saturados, donde los grupos adicionados tienen un mayor índice (5.6%; machos y 29.16%; hembras).

Por otro lado en el análisis de los ácidos grasos saturados se puede observar que el más abundante en todos los tratamientos es el palmítico (60%), seguido del esteárico (35 a 37%), siendo el de menor concentración el mirístico (0.72 a 0.99%). Diversos autores señalan que el consumo de aceites de pescado incrementa la concentración de EPA y DHA y disminuye la de AA en los fosfolípidos de las membranas de los glóbulos rojos durante el crecimiento de los niños (Koletzko y Braun, 1991; Carlson *et al.*, 1993).

Función mitocondrial y concentración de malondialdehído (MDA) en mitocondrias

Uno de los parámetros más estudiados para entender la fisiopatología de diversos síndromes y enfermedades asociadas a alteraciones metabólicas es la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO's), las cuales son un producto del metabolismo celular que en condiciones normales forman parte de algunas vías de señalización, pero en condiciones patológicas incrementa su producción ocasionando el llamado estrés oxidante, en el cual la concentración de ERO's es superior a la capacidad de los sistemas antioxidantes lo que ocasiona que los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas estén más expuesto a peroxidación (Kaïs y Al-Gubory, 2012) y, derivado de ello se altere la fluidez de las membranas (Dobretsov *et al.*, 1977).

En los resultados del presente estudio se observa un incremento en la concentración de MDA en mitocondrias de hígado de animales (hembras; 41.6 % y machos; 46.6%) suplementados con omega 3 durante la etapa de lactancia. Se sabe que el incremento de MDA en el tejido sugiere una menor fluidez de las membranas derivado de la peroxidación de los lípidos (mayor rigidez) que las componen. La importancia fisiológica de las modificaciones en las propiedades físicas de las membranas reside en su relación con numerosas funciones celulares, incluyendo la actividad de enzimas asociadas a estas,

transporte y procesos de transducción de señales. Diversos estudios realizados en modelos animales han relacionado una disminución de la fluidez de las membranas asociado al incremento de MDA (Laganier *et al.*, 1990, Dobretsov *et al.*, 1977).

CONCLUSIONES

- La administración crónica de ácidos grasos omega 3 de cadena corta en ratas lactantes tiene efectos puntuales en los parámetros morfológicos (peso corporal, peso de órganos) o fisiológicos (glucosa, triglicéridos, colesterol) en ratas lactantes.
- La administración de ω -3 modifica la concentración de ciertos ácidos grasos sin que esto tenga efectos sustanciales (aparentemente) en la composición general de ácidos grasos en mitocondrias y/o tejido hepático en lactantes.
- Existe un efecto demostrable matemáticamente de que hay diferencia no sólo en la composición de ácidos grasos de hígado, sino también del tejido cerebral entre hembras y machos en la etapa de lactación cuando son suplementados con ácidos grasos ω -3.
- La producción de especies reactivas de oxígeno y el aumento en el cociente respiratorio en ratas lactantes suplementadas con ácidos grasos ω -3 se asocian positivamente sin evidencia de una diferencia entre sexos.

ANEXO

Tabla 9 Análisis de la composición de ácidos grasos de la fórmula láctea NAN Optipro, etapa 1. No. Lote: 8022477610. Fecha caducidad: 30/abril/2019 (a); información nutrimental del producto (b).

a		b			
Ácido graso	Mol%	Composición media	Por 100 g de polvo	Por 100 kcal	Por porción reconstituida (4,3 g de polvo +30 ml de agua)
Decanoico	0.47	Energía (kcal)	522	100	22
Laurico	11.27	Proteínas (g)	9,5	1,8	0,41
Mirístico	4.77	Grasas totales (g)	27,7	5,3	1,2
Miristoleico	0.01	Ácido linoléico (g)	4,1	0,79	0,18
Pentadecanoico	0.05	Ácido alfa-linolénico (mg)	518	98,8	22,1
Palmitico	23.73	DHA (mg)	32,0	6,1	1,4
Palmitoleico	0.61	ARA (mg)	32,0	6,1	1,4
Heptadecanoico	0.04	Hidratos de carbono disponibles (g)	58,7	11,2	2,5
Estearico	1.49	Azúcares totales (g)	58,7	11,2	2,5
Oleico	36.86	Lactosa (g)	58,7	11,2	2,5
Linoleico	17.32	Humedad (g)	2,0	0,38	-
Linolénico	1.15	Minerales (cenizas) (g)	2,0	0,38	0,09
Araquídico	0.96	Sodio (mg)	210	40	9
Araquidónico	0.17	Potasio (mg)	640	123	27,4
EPA	0.04	Cloro (mg)	360	69,0	15,4
Behenico	0.13	Calcio (mg)	325	62,2	13,9
DHA	0.31	Fósforo (mg)	170	32,6	7,3
NI	0.06	Magnesio (mg)	45,0	8,6	1,9
Ins (I)	56.47	Hierro (mg)	5,3	1,0	0,23
Sat (S)	42.91	Cobre (mcg)	400	76,6	17,1
I/S	1.32	Zinc (mg)	5,3	1,0	0,23
		Yodo (mcg)	115	22,0	4,9
		Manganeso (mcg)	100	19,2	4,3
		Selenio (mcg)	10,4	2,0	0,44
		Vitamina A (mcg E.R.)	450	86,2	19,3
		Vitamina D (mcg)	7,2	1,4	0,31
		Vitamina E (mg E.T.)	8,5	1,6	0,36
		Vitamina K (mcg)	43,0	8,2	1,8
		Vitamina C (mg)	85,0	16,3	3,6
		Vitamina B1 (mcg)	610	117	26,1
		Vitamina B2 (mcg)	800	153	34,2
		Niacina (mg)	4,0	0,77	0,17
		Vitamina B6 (mcg)	390	72,8	16,3
		Acido fólico (mcg)	62,0	11,9	2,7
		Acido pantoténico (mg)	4,1	0,79	0,18
		Vitamina B12 (mcg)	1,6	0,31	0,07
		Biotina (mcg)	14,0	2,7	0,60
		Colina (mg)	85,0	16,3	3,6
		Inositol (mg)	59,0	11,3	2,5
		Taurina (mg)	35,0	6,7	1,5
		L-carnitina (mg)	7,9	1,5	0,34
		nucleótidos (mg)	12,0	2,3	0,51

Una porción = 1 medida de NAN 1 (4,3 g de polvo + 30 ml de agua)
Un litro = 128 g de polvo + 900 ml de agua

INFORMACIÓN NUTRICIONAL

Ingredientes: Suero de leche, Oleína de palma, Leche descremada, Aceite de palma kernel, Lactosa, Aceite de canola, Aceite de maíz, Minerales (Citrato de calcio, Hidróxido de potasio, Cloruro de potasio, Cloruro de magnesio, Cloruro de calcio, Sulfato ferroso, Sulfato de zinc, Sulfato de cobre, Sulfato de manganeso, Yoduro de potasio, Hidróxido de calcio, Selenato de sodio), Concentrado de proteína de suero de leche, Maltodextrina, Aceite de pescado (Fuente de DHA), Emulsionante (Lecitina de soya SIN 322), L-Fenilalanina, Vitaminas [Vitamina C (Ascorbato de sodio), Vitamina E (D,L- Alfa tocoferil acetato), Niacina (Vitamina PP), Pantotenato de calcio, Vitamina B1 (Mononitrato de tiamina), Vitamina A (Acetato de retinol), Vitamina B6 (Hidrocloruro de piridoxina), Vitamina B2 (Riboflavina), Ácido fólico, Vitamina K1 (Filoquinona), Biotina, Vitamina D3 (Colecalciferol), Vitamina B12 (Cianocobalamina)], Aceite vegetal de Mortierella alpina (Fuente de ARA), Regulador de acidez (Ácido cítrico SIN 330), Taurina, L-Histidina, Inositol, Nucleótidos, Antioxidante (Palmitato de ascorbilo SIN304i, Concentrado de tocoferoles mixtos SIN307b), Cultivo de probiótico (Lactobacillus reuteri) y L-Carnitina.

Tabla 10 Composición de ácidos grasos del alimento de las ratas madre (Rivera, 2014).

Ácido graso	Mol %
Mirístico	2.2 ± 0.5
Palmítico	18.4 ± 2.1
Palmitoleico	3.7 ± 0.5
Esteárico	4.3 ± 0.3
Oleico	23.6 ± 0.9
Linoleico	39.4 ± 1.9
γ-Linoleico	3.3 ± 0.1
Linolénico	0.4 ± 0.1
Araquídico	0.1 ± 0.1
Araquidónico	0.2 ± 0.2
EPA	2.1 ± 0.7
DHA	1.6 ± 0.3
NI	0.7 ± 0.2

Tabla 11 Composición del suplemento de ácidos grasos omega 3 (FLAX SEED oil GNC).

Ácido graso	Mol %
Palmítico	4.6
Esteárico	2.4
Oleico	15.4
Linoleico	14.5
Linolénico	63.2

Tabla 12 Datos de ratas lactantes: Peso de los organismos y peso de los órganos.

Rata	Tratamiento	Sexo	Peso total	Hígado	Cerebro	Corazón	Riñón		Testículo		Páncreas	Tiroides
							I	D	I	D		
L1	Control	Macho	72.0	2.58	1.23	0.31	0.30	0.33	0.28	0.32	0.36	0.21
L2	Control	Macho	63.0	2.25	1.10	0.31	0.31	0.30	0.27		0.32	0.21
L3	Control	Macho	73.0	2.77	1.08	0.30	0.31	0.28	0.25	0.25	0.33	0.18
L4	Control	Macho	67.0	2.81	1.13	0.28	0.31	0.33	0.20		0.28	0.21
L5	Control	Macho	67.0	2.56	1.10	0.32	0.38	0.35	0.28	0.28	0.36	0.21
L6	ω -3	Macho	50.0	1.95	1.02	0.30	0.27	0.25	0.20	0.03	0.35	0.22
L7	ω -3	Macho	69.0	2.08	1.23	0.30	0.31	0.32	0.27	0.26	0.33	0.20
L8	ω -3	Macho	69.0	2.66	1.42	0.28	0.23	0.25	0.16		0.30	0.18
L9	ω -3	Macho	59.0	2.72	1.93	0.35	0.30	0.32	0.23		0.40	0.17
L10	ω -3	Macho	57.0	2.03	1.43	0.35	0.26	0.28	0.23		0.31	0.16
L11	ω -3	Macho	56.0	2.65	1.53	0.33	0.30	0.33	0.26	0.28	0.45	0.22
L12	Control	Hembra	77.0	2.81	1.51	0.33	0.33	0.33			0.36	0.22
L13	Control	Hembra	65.0	2.75	1.68	0.35	0.36	0.37			0.38	0.23
L14	Control	Hembra	69.0	2.81	1.61	0.33	0.40	0.38			0.52	0.23
L15	Control	Hembra	63.0	3.28	1.58	0.33	0.38	0.37			0.38	0.23
L16	Control	Hembra	69.0	2.81	1.61	0.33	0.37	0.35			0.50	0.16
L17	Control	Hembra	62.0	3.03	1.58	0.33	0.35	0.31			0.38	0.23
L18	ω -3	Hembra	59.0	2.63	1.63	0.38	0.37	0.40			0.48	0.26
L19	ω -3	Hembra	59.0	3.43	1.43	0.38	0.33	0.32			0.43	0.21
L20	ω -3	Hembra	46.0	3.03	1.65	0.38	0.38	0.36			0.43	0.23
L21	ω -3	Hembra	56.0	2.83	1.43	0.36	0.33	0.33			0.40	0.23
L22	ω -3	Hembra	57.0	3.66	1.43	0.35	0.33	0.31			0.38	0.21
L23	ω -3	Hembra	48.0	2.56	1.53	0.30	0.36	0.38			0.40	0.18

Tabla 13 Datos de ratas lactantes: Parámetros sanguíneos, control respiratorio y formación de malondialdehído.

Rata	Tratamiento	Sexo	Glucosa	Chol	TG	Curva de tolerancia a la glucosa					Control respiratorio			MDA
						0	30	60	90	120	nA°O EDo3/min	nA°O Edo4/min	CR	
L1	Control	Macho	105.00	165.00	88.00	105.00	86.00	70.00	70.00	67.00	26.13	13.07	2.00	1.6
L2	Control	Macho	92.00	164.00	90.00	92.00	146.00	71.00	71.00	101.00	16.80	5.60	3.00	1.4
L3	Control	Macho	100.00	161.00	128.00	100.00	126.00	84.00	84.00	70.00	44.80	14.93	3.00	1.4
L4	Control	Macho	86.00	157.00	79.00	86.00	118.00	75.00	75.00	62.00	26.13	9.33	2.80	1.4
L5	Control	Macho	95.00	160.00	118.00	95.00	125.00	65.00	65.00	66.00	31.73	14.93	2.13	1.5
L6	ω-3	Macho	90.00	162.00	227.00	90.00	127.00	90.00	90.00	110.00	33.60	9.33	3.60	2.1
L7	ω-3	Macho	101.00	165.00	70.00	101.00	116.00	93.00	93.00	85.00	48.53	11.20	4.33	2.5
L8	ω-3	Macho	94.00	164.00	96.00	94.00	104.00	72.00	72.00	102.00	33.60	7.47	4.50	2.3
L9	ω-3	Macho	89.00	157.00	212.00	89.00	140.00	79.00	79.00	70.00	22.40	13.07	1.71	2.5
L10	ω-3	Macho	87.00	168.00	100.00	87.00	159.00	88.00	88.00	90.00	33.60	9.33	3.60	2.5
L11	ω-3	Macho	88.00	157.00	86.00	88.00	117.00	95.00	95.00	79.00	24.27	7.47	3.25	2.5
L12	Control	Hembra	102.00	170.00	99.00	102.00	118.00	110.00	80.00	72.00	22.40	7.47	3.00	1.6
L13	Control	Hembra	102.00	167.00	75.00	102.00	114.00	74.00	74.00	69.00	28.00	9.33	3.00	1.4
L14	Control	Hembra	100.00	165.00	128.00	100.00	109.00	100.00	86.00	80.00	39.20	28.00	1.40	1.0
L15	Control	Hembra	107.00	165.00	70.00	107.00	133.00	100.00	85.00	76.00	44.80	31.73	1.41	0.6
L16	Control	Hembra	99.00	167.00	128.00	99.00	88.00	86.00	76.00	57.00	41.07	24.27	1.69	1.4
L17	Control	Hembra	96.00	169.00	107.00	96.00	100.00	68.00	64.00	56.00	48.53	26.13	1.86	1.0
L18	ω-3	Hembra	83.00	172.00	136.00	83.00	112.00	97.00	86.00	75.00	59.73	24.27	2.46	1.3
L19	ω-3	Hembra	85.00	172.00	106.00	85.00	116.00	101.00	88.00	88.00	44.80	22.40	2.00	2.2
L20	ω-3	Hembra	94.00	174.00	102.00	94.00	91.00	110.00	90.00	76.00	76.53	26.13	2.93	1.5
L21	ω-3	Hembra	76.00	162.00	125.00	76.00	100.00	97.00	73.00	86.00	74.67	28.00	2.67	1.5
L22	ω-3	Hembra	72.00	162.00	182.00	72.00	106.00	107.00	66.00	77.00	87.73	35.47	2.47	2.0
L23	ω-3	Hembra	76.00	170.00	182.00	76.00	74.00	99.00	75.00	69.00	57.87	28.00	2.07	1.8

REFERENCIAS

Aizenman Y., De Vellis J. 1986. Brain neurons develop in a serum and glial free environment: effects of transferrin, insulin, insulin-like growth factor-I and thyroid hormone on neuronal survival, growth and differentiation. *Brain Research*. 4(161):32-42.

Aguirre M.P. 2008. Acción del omega 3 en el embarazo y la lactancia. (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.

Alberts B. 2002. *Biología Molecular de la Célula*. 5ª ed. España: Omega. 1728 p.

Alberts B. 2011. *Introducción a la Biología Celular*. España: Médica Panamericana. 900 p.

Amusquivar E., Ruperez F.J., Barbas C. Herrera E. 2000. Low arachidonic acid rather than tocopherol is responsible for the delayed postnatal development in offspring of rats fed fish oil instead of olive oil during pregnancy and lactation. *Journal of Nutrition*. 130:2855–2865.

Audesirk T., Audesirk G., Byers B.E. 2015. *Biología: La vida en la tierra con fisiología*. 9ª ed. Ciudad de México, México: Pearson. 1000 p.

Avello M., Suwalsky M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. 494:161-172.

AVMA Guidelines on Euthanasia. 2007. Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia. American Association of Zoo Veterinarians. 1-39.

Ayala-Gaytán E.A., Díaz Durán-Hernández A. 2015. Infraestructura, ingreso y desnutrición infantil en México. *Salud Pública de México*. 57(1):22-28.

Bailey S.A, Zidell R.H., Perry D.W. 2004. Relationships Between Organ Weight and Body/Brain Weight in the Rat: What Is the Best Analytical Endpoint?. *Toxicologic Pathology*. 32:448–466.

Bang H.O, Dyerberg J. 1971. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast eskimos. *The Lancet*. 1:1143-1145.

Barco J.R. 2006. *Los Lípidos: entre el bien y el mal*. Colombia: Universidad de Caldas.

Bazan N.G. Neuroprotectin D1-mediated anti-inflammatory and survival signaling in stroke, retinal degenerations, and Alzheimer's disease. *Journal of Lipid Research*. 50:400-5

Barzanti V., Battino M., Baracca A., Cavazzoni M., Cocchi M., Noble R., Maranesi M., Turchetto E., Lenaz G. 1994. The effect of dietary lipid changes on the fatty acid composition and function of liver, heart and brain mitochondria in the rat at different ages. *British Journal of Nutrition*. 71:193-202.

Bays H. E. 2007. Safety Considerations with Omega-3 Fatty Acid Therapy. *The American Journal of Cardiology*. 99:35-43

Becerril T.A. 2016. Efecto De La Suplementación De Ácidos Grasos Omega-3 Sobre El Estrés Oxidativo En Pacientes Con Distrofia Muscular Duchenne/Becker (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, CD.MX., México.

Bender A. D., Botham M. K., Granner K. D., Keeley W. F., Kennelly J. P., Mayes P. A., Murray K. R., Rand L. M., Rodwell W. V., Weil A. P. 2004. *Harper Bioquímica Ilustrada*. 16^a ed. Ciudad de México, México: Manual Moderno. 751 p.

Bernabe-García M., Villegas-Silva R., López Alarcón M. 2012. Ácido docosahexaenoico y ácido araquidónico en neonatos: ¿el aporte que reciben es suficiente para cubrir sus necesidades?. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 69:337-346

Biruete G.A., Juárez H.E., Sierio O.E., Romero V.R., Silencio B.J.L. 2009. Los nutraceuticos. Lo que conviene saber. *Revista Mexicana de Pediatría*. 76(3):136-145

Black E.R., Allen L.H., Bhutta Z.A., Caulfield L.E., Onis M., Ezzati M., Rivera J. 2008. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*. 371(9608):19-25.

Blasbalg L.T., Hibbeln R.J., Ramsden E.C., Majchrzak F.S., Rawlings R.R. 2011. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *The Medical Journal of Clinical Nutrition*. 93:950-962.

Blondeau N. 2016. The nutraceutical potential of omega-3 alpha-linolenic acid in reducing the consequences of stroke. *Biochimi*. 120:49-55

Bourre J. M. 2004. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty Acids) in the brain at various ages and during ageing. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*. 8(3):163-174.

Boddy A.M., McGowen M.R., Sherwood C.C., Grossman L.I., Goodman M.G., Wildman D.E. 2012. Comparative analysis of encephalization in mammals reveals relaxed constraints on anthropoid primate and cetacean brain scaling. *Journal of Evolutionary Biology*. 25:981-994.

Badruddin S., Lalani R., Khurshid M., Molla A., Qureshi R., Khan M. 1990. Serum cholesterol in neonates and their mothers a pilot study. *Journal of Pakistan Medical Association*. 40:108.

Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248–54.

Brenna J.T., Salem Jr. N., Sinclair A.J., Cunnane S.C. 2009. Alfa linolenic acid supplementation and conversión to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 80:85-91.

Burnol A.F., Leturque A., Ferre P., Girard J. 1983. Glucose metabolism during lactation in the rat: quantitative and regulatory aspects. *American Journal of Physiology*. 245(4): 351-358.

Burr G.O., Burr M.M. 1929. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *The Journal of Biological chemistry*. 82:345–67.

Burr G.O., Burr M.M. 1930. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition *The Journal of Biological chemistry*. 86:587-621.

Burr G.O., Burr M.M., Miller E.S. 1932. On the fatty acids essential in nutrition. *The Journal of Biological chemistry*. 97:1-9.

Calder C.P. 2011. Mechanism of Action of (n-3) Fatty Acids. *The journal of nutrition*. 142:592-599.

Carlson S.E., Werkman S.H., Pepples J.M. 1993. Arachidonic acid status correlates with first year growth in preterm infants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90:1073–1077.

Catalan J., Moriguchi T., Slotnick B., Murthy M., Greiner R. S., Salem N, Jr. 2002. Cognitive defects in docosahexaenoic acid-deficient rats. *Behavioral Neuroscience*. 116:1022-1031.

Chavarro J.E., Stampfer M.J., Campos H., Kurth T., Willett W.C., Ma J. 2008. A Prospective Study of Trans-Fatty Acid Levels in Blood and Risk of Prostate Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 17(1):95 – 101.

Church M.W., Jen K. L.C., Anumba J.I, Adams B.R., Jackson D.A., Hotra J.W. 2009. Excess omega-3 fatty acid consumption by mothers during pregnancy and lactation caused shorter life span and abnormal ABRs in old adult offspring. *Neurotoxicology and Teratology*. 30: 171–181.

Church M.W., Jen K.L.C., Dowhan L.M., Adams B.R., Hotra J.W. 2008. Excess and deficient omega-3 fatty acid during pregnancy and lactation cause impaired neural transmission in rat pups. *Neurotoxicology and Teratology*. 30: 107–117.

COFEPRIS 2015. Alerta por la proliferación de anuncios de productos “Milagro” para supuestamente bajar de peso en redes sociales. Recuperado de: <https://www.anafarmex.com.mx/wp-content/uploads/2015/01/15012015-2.pdf>

Coletta M.J., Bell, S.J., Roman A.S. 2010. Omega-3 Fatty Acids and Pregnancy. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*. 3(4):163-171.

Comós J.B., Valles M.M. 2011. Obesidad y síndrome metabólico. *Asociación Española de Pediatría. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Pediatría*. 1:228-35.

Coronado H.M., Vega y León S., Gutiérrez T. R., García F. B., Díaz G. G. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 nutrición, bioquímica y salud. *Facultad de Ciencias de la UNAM*. 25(3):72-79.

Cossio-Bolaños M.A., Gómez-Campos R., Pilco-Quesad S., Lancho-Alons J.L., De Arruda M. 2012. Propuesta de una ecuación lineal para valorar la velocidad de crecimiento somático a partir de la masa corporal de ratas machos Wistar. *Anales de la Facultad de Medicina*. 73(2):93-100.

Cossio-Bolaños M.A., Gómez C.R., Vargas V.R., Tadeu H.F.R., De Arruda M. 2013. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutrición Hospitalaria*. 28(6):2151-2156.

Crawford M.A. 1992. The Role of Dietary Fatty Acids in Biology: Their Place in the Evolution of the Human Brain. *Nutrition Reviews*. 50(4):3-11.

Davis B., Morris T. 1993. Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. *Pharmaceutical Research*. 10(7):1093-1094.

De Lorgeril M., Renaud S., Mamelle N., Salen P., Martin J. L., Monjaud I., Guidollet J., Touboul P., Delaye J. 1994. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *The Lancet*. 343: 1454-1459.

De Souza R.J., Mente A., Maroleanu A., Cozma A.I., Ha V., Kishibe T., Uleryk E., Budyłowski P., Schünemann H., Beyene J., Anand A.A. 2015. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 1-16.

Diccionario de la Lengua Española (RAE) 2019. Recuperado de: <http://dle.rae.es/?id=LqtyoaQLqusWqH>

Djousse L., Hunt, S.C., Arnett D.K., Province M.A., Eckfeldt J.H., Ellison R.C. 2003. Dietary Linolenic Acid Is Inversely Associated With Plasma Triacylglycerol: The National Heart, Lung, And Blood Institute Family Heart Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 78:1098–1102.

Dobretsov G.E., Borschevskaya T.A., Petrov V.A., Vladimirov Yu.A. 1977. The Increase Of Phospholipid Bilayer Rigidity After Lipid Peroxidation. *FEBS Letters*. 84(1):125-128.

Domingo L.J., Bocio A., Falcó G., Llobet M. J. 2006. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*. 230:219-226.

Dyerberg J., Bang H.O., Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. 1978. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*. 2(8081):117-9.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. 2016. Informe final de resultados. Instituto Nacional de Salud Pública. México.

Eraso M., Gormaz J. G., Domínguez K., Carrasco R., Valls N., Libuy M., Quitral V. 2014. Ácido alfa linolénico y sus efectos en salud: análisis de la evidencia básica, clínica y epidemiológica. Informe técnico. Universidad de Chile Facultad de Medicina. Santiago de Chile.

Errico L.T., Chen X., Martin C.J.M., Julve J., Escolá-Gil J.C., Blanco-Vaca F. 2013. Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clinica e investigación en arteriosclerosis*. 25(2):98-103.

Ferrier L.K., Caston L. J., Leeson S., Squires J., Weaver B. J. Holub B. J. 1995. α -Linolenic acid- and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 62:81-86.

Figuroa G.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). Universidad Nacional Autónoma de México. CD.MX., México.

Folch J., Lee M., Stanley S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*. 226:497-509.

Franciscus A. y Highleyman L. 2012. El VHC y el Hígado. Hepatitis C Support Project. [Consultado 15 de febrero de 2017]. Disponible en: http://hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/El%20h%C3%ADgado.pdf

Garg M.L., Clandinin M.T. 1992. Alpha-linolenic acid and metabolism of cholesterol and long-chain fatty acids. *Nutrition*. 8(3):208-210.

Garrido P.A., Teijon R. M. J., Blanco G. C., Villaverde G. C., Mendoza O. C., Ramirez R. J. 2005. *Fundamentos de Bioquímica Metabólica*. 1ª ed. Ciudad de México, México: Alfa Omega.

- Gil H.A., Uauy D.R., Dalmau S.J. 2006. Bases para una alimentación complementaria adecuada de los lactantes y los niños de corta edad. *Anales de Pediatría*. 65(5):481-495.
- Girbés B.J. 2008. Métodos para la determinación de la sensibilidad a la insulina basados en la sobrecarga oral de glucosa. *Av Diabetol*. 24(4): 296-304.
- Gómez-Poyou M., y José-Nuñez C. 2012. La mitocondria en el centro del universo celular. *Mensaje Bioquímico*. 36:65–81.
- Gonzales H.A. 2013. Consumo De Ácidos Grasos Omega 3 Y Omega 6 Y Su Relación Con La Concentración De Glucosa Sérica En Pacientes Con Diabetes Mellitus Tipo 2 (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Del Estado De México, Toluca, México.
- Gottlie A., Keydar I.K. Epstein H.T. 1977. Rodent Brain Growth Stages: An Analytical Review. *Biol. Neonate*. 32:166-176.
- Grey A., Bolland M. 2014. Clinical Trial Evidence and Use of Fish Oil Supplements. *JAMA Internal Medicine*. 174(3):460-462.
- Hansen E.A., Wiese F.H., Boelsche N.A., Haggard M.E., Adam J.D.D., Davis H. 1963. Role Of Linoleic Acid In Infant Nutrition. *Pediatrics*. 31(1):171-192.
- Herbst E.A.F., Paglialunga S., Gerling C., Whitfield J., Mukai K., Chabowski A., Heigenhauser G.J.F., Spriet L.L., Holloway G.P. 2014. Omega-3 supplementation alters mitochondrial membrane composition and respiration kinetics in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. 592:1341-1352.
- Herculano-Houzel S. 2007. Encephalization, Neuronal Excess, and Neuronal Index in Rodents. *The Anatomical Record*. 290:1280–1287.
- Hernández F.D., Barberena R.C., Camacho P.J.A., Vera L.H. 2003. Desnutrición infantil y pobreza en México. México, D.F. Secretaria de Desarrollo Social.
- Holt L.E. 1957. Dietary Fat Its Role In Nutrition And Human Requirement. *JAMA*. 164(17):1890–1894.
- Innis M.S. 2007. Dietary (n-3) Fatty Acids and Brain Development. *The Journal of Nutrition*. 137:855-859.
- Iturbide G.L., Rodriguez A.R., Gonzalez O.E. 1998. La desnutrición infantil en México: una propuesta de medición. *Economía: Teoría y Práctica*. 9:37-62
- Janani C., Ranjitha Kumari B.D. 2015. PPAR gama gene – A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 9:46-50.
- Jicha G.A., Markesbery W.R. 2010. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer disease. *Clinical Interventions in Aging*. 5:45-61.

Kais H., Al-Gubory. 2012. Mitochondria: omega-3 in the route of mitochondrial reactive oxygen species. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 44:1569-1573.

Kent G. 2014. Regulating fatty acids in infant formula: critical assessment of U.S. policies and practices. *International Breastfeeding Journal*. 9:2.

Kim K.B., Nam Y.A., Kim H.S., Hayes A. W. 2014. α -Linolenic acid: Nutraceutical, Pharmacological And Toxicological Evaluation. *Food and Chemical Toxicology*. 70:163-178.

Kleinman R. 2009. *Pediatric Nutrition Handbook*. American Academic of Pediatrics. Pag. 61-78.

Koletzko B., Braun M. 1991. Arachidonic acid and early human growth: Is there a relation?. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 35:128–131.

Koolman J., Röhm L. 2012. *Bioquímica Humana Texto y Atlas*. 4ª ed. México D.F., México: Médica Panamericana.

Kyu-Bong K., Yoo A.N., Hyung S.K., Wallace H.A., Byung-Mu L. 2014. α -Linoleic acid: Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. *Food and Chemical Toxicology*. 70:163-178.

Laganier S., Yu B.P., Fernandes G. 1990. Studies on membrane lipid peroxidation in omega-3 fatty acid fed autoimmune mice: Effect of vitamin E supplementation, in Antioxidant Nutrients an immune functions. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 262:95-102.

Lefkothea-Stella K., Vlachava M., Noakes S. P., Diaper D. N., Miles A. E., Calder C. P. 2009. Atopy Risk in Infants and Children in Relation to Early Exposure to Fish, Oily Fish, or Long-Chain Omega-3 Fatty Acids: A Systematic Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 41:36-66.

Leyva-Rendón A. 2011. DHA y funcionamiento cerebral: ¿Cuáles son los beneficios?. *Revista Mexicana de Neurología*. 12(6):365-372.

Li H., Ruan X.Z., Powis S.H., Fernando R., Mon W.Y., Wheeler D.C., Moorhead J.F., Varghese Z. 2005. EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2 Cells: Evidence for a PPAR- γ - dependent mechanism. *Kidney International*. 67:867-874.

Lin H.Y., Salem N. 2007. Whole Body Distribution of Deuterated Linoleic and α -linolenic acids and their metabolites in the rat. *Journal of Lipid Research*. 48:2709-2724.

Linecker M., Limani P., Botea F., Popescu I., Alikhanov R., Efanov M., Kim P., Khatkov I., Raptis D. A., Tschuor C., Beck-Schimmer B., Bonvini J., Wirsching A., Kron P.,

Slankamenac K., Humar B., Graf R., Petrowsky H., Clavien P-A. 2015. A randomized, double-blind study of the effects of omega-3 fatty acids (Omegaven™) on outcome after major liver resection. *BMC Gastroenterology*. 15:102.

Lucena-Romero J. 2001. Cuadernos de Medicina Forense N° 26. Seminario Bibliográfico. Pag. 65-69.

Lukiw W.J., Bazan N.G. 2008. Docosaenoic acid and the aging brain. *Journal of Nutrition*. 13(12):2510-2514.

Martínez P.G., Paredes D.N. 2007. Sobre la atrofia de los órganos durante la inanición. *Nutrición Hospitalaria*. 22(1):112-123.

Mathews K.C., Van Holde K.E., Appling R.D., Anthony-Cahill J.S. 2013. *Bioquímica*. 4ª ed. Madrid, España: Pearson Educación. 1376 p.

Menard C.R., Goodman K.J., Corso T.N., Brenna J.T., Cunnane S.C. 1998. Recycling of Carbon into Lipids Synthesized De Novo Is a Quantitatively Important Pathway of α -[U-¹³C] Linolenate Utilization in the Developing Rat Brain. *Journal of Neurochemistry*. 71:2151-2158.

Messori A., Fadda V., Maratea D., Trippoli S. 2013. ω 3 Fatty Acid Supplements for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease: From “No Proof of Effectiveness” to “Proof of No Effectiveness”. *JAMA Internal Medicine*. 173(15): 1466-1467.

Miller E. M. 1994. Intelligence and brain myelination: A hypothesis. *Personality and Individual Differences*. 17(6):803-832.

Morrison R.W. Smith M.L. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research*. 5:600-608.

Mostad I.L., Bjerve K.S., Bjorgaas M.R., Lydersen S., Grill V. 2006. Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 84:540-50.

Morales P.J., Valenzuela B.R., Gonzáles M.D., Gonzáles E.M., Tapia O G., Sanhueza C.J., Valenzuela B.A. 2012. Nuevas Fuentes Dietarias De Ácido Alfa-Linolénico: Una Visión Crítica. *Revista Chilena de Nutrición*. 39(3): 79-87.

Nasiff-Hadad A., y Meriño-Ibarra E. 2003. Ácidos Grasos Omega-3: Pescados de Carne Azul y Concentrados de Aceites de Pescado. *Revista Cubana Medicina*. 42(2):49-55.

Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. SENASICA. Ciudad de México, México. 6 de diciembre de 1999.

Ohkawa H., Oishi N., Yagi K. 1978. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*. 95:351-358.

Organización Mundial de la Salud/Food and Agriculture Organization (OMS/FAO). 2003. OMS, Serie de Informes Técnicos 916. Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO. Organización Mundial de la Salud Ginebra. [Consultado 8 de Febrero del 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/wairdocs/who/ac911s/ac911s00.htm>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Fundación Iberoamericana de Nutrición (FAO/FINUT). 2012. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana, consulta de expertos. Estudio FAO alimentación y nutrición. Ginebra.

Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Panamericana de la Salud. 2017. América Latina y el Caribe: Panorama de la seguridad alimentaria y Nutricional. Sistemas Alimentarios Sostenibles para Poner Fin al Hambre y la Malnutrición. Publicado por: Santiago, Chile 2017.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2016. El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación. Roma.

Osorio J.H. 2000. Metabolismo de los lípidos durante el embarazo. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. 51(2):113-117.

Ouellet M., Emond V., Chen C. T., Julien C., Bourasset F., Oddo S., LaFerla F., Bazinet R.P., Calon F. 2009. Diffusion of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids through the blood-brain barrier: an in situ cerebral perfusion study. *Neurochemistry International*. 55(7): 476-482.

Pérez-Hernández I., Avendaño Y., Mejía R. 2010. Analysis of the membrane fluidity of the erythrocytes ghosts in diabetic spontaneously hypertensive rats. *Acta diabetologica*. 47(1): 47-55.

Parra D, Ramel A, Bandarra N, Kiely M and Martínez JF. 2008. A diet rich in long chain mega-3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. *Appetite*. 51:676-680.

Perng W., Villamor E., Mora-Plazas M., Marin C., Baylin A. 2015. Alpha-linolenic acid (ALA) is inversely related to development of adiposity in school-age children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 69(2): 167-172.

Quillet A. 1982. Nueva enciclopedia autodidactica Quillet. 22ª ed. México D.F., México: Cumbres.

Rapoport S.I., Rao J.S., Igarashi M. 2007. Brain metabolism of nutritionally essential polyunsaturated fatty acids depends on both the diet and the liver. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 77:251-261.

Rasmussen B.M., Vessby B., Uusitupa M., Berglund L., Pedersen E., Riccardi G., Rivellese A.A., Tapsell L., Hermansen K. 2006. Effects of dietary saturated, monounsaturated, and n-3 fatty acids on blood pressure in healthy subjects. *Journal of Clinical Nutrition*. 83(2):221-226.

Ravasco P, Anderson H, Mardones F. 2010. Methods of valuation of the nutritional condition. *Nutrición Hospitalaria*. 25:57-66.

Rivera V.M. 2016. *Uso De Ácidos Grasos Omega Contra El Desarrollo De La Diabetes (Tesis de maestría)*. Universidad Nacional Autónoma de México. CD.MX., México.

Robbins S., Stanley L., Cotran R., Kumar V. 1997. *Manual de patología estructural y funcional*. México:MacGraw-Hill Interamericana.

Rodrigo R., Bächler J.P., Araya J., Prat H., Passalacqua W. 2007. Relationship between (Na + K)-ATPase activity, lipid peroxidation and fatty acid profile in erythrocytes of hypertensive and normotensive subjects. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 303:73-81.

Rodríguez-Cruz M., Tovar A. R., Del Prado M., Torres N. 2005. *Mecanismos Moleculares de Acción De Los Ácidos Grasos Poliinsaturados Y Sus Beneficios En La Salud*. *Investigación Clínica*. 57(3): 457-472.

Rubin E., Farber J. 1992. *Patología. Fundamentos*. México: Médico-Panamericana. 752 pp.

Salfate Q.T.C. 2006. *Ácidos Grasos Omega-3 y Omega-6 en las Raciones Alimenticias del Programa de Alimentación Escolar de la JUNAEB (tesis de licenciatura)*. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Sanz P.A., Marí S.A., García M. K., García G. MdC. 2012. Propuesta de perfil de ácidos grasos omega 3 en nutrición enteral. *Nutrición hospitalaria*. 27(6): 1782:1802.

Simopoulos A.P. 2001. n-3 fatty acids and human health: Defining strategies for public policy. *Lipids*. 36(1): 83-89.

Simopoulos A.P. 2011. Evolutionary Aspects of Diet: The Omega-6/Omega-3 Ratio and the Brain. *Molecular Neurobiolog*. 44:203-215.

Smink W., Gerrits W.J.J., Gloaguen M., Ruiter A., van Baal A. 2012. Linoleic and α -linolenic acid as precursor and inhibitor for the synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in liver and brain of growing pigs. *Animal*. 6:2 262-270.

Spector A.A., Kim H.Y. 2015. Discovery of Essential Fatty Acids. *Journal of Lipid Research*. 56:11-21.

Stender S., Dyerberg J., Astrup A. 2006. Consumer protection through a legislative ban on industrially produced trans fatty acids in foods in denmark. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*. 50(4):155-160.

Tapia S.A.E. 2005. Omega-3 fatty acids supplementation decreases the aggressiveness, hostility and antisocial behavior. *Revista Chilena de Nutrición* 32(2):95-101.

Toporek M. 1986. *Bioquímica*. 3ª ed. México: Interamericana. 523 p.

Valenzuela B.R., Tapia O.G., González E.M., Valenzuela B.A. 2011. Ácidos grasos omega-3 (EPA DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista Chilena de Nutrición*. 38(3):356-367.

Valenzuela B.A., Sanhueza, C.J., Nieto, K.S. 2002. El uso de lípidos estructurados en la nutrición: una tecnología que abre nuevas perspectivas en el desarrollo de productos innovadores. *Revista Chilena de Nutrición* 29(2): 160-115.

Valenzuela B.A., Valenzuela R., Sanhueza J., Morales I.G. 2014. Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?. *Revista chilena de nutrición*. 41(2):198-204.

Van Meer G. 2005. Cellular lipidomics. *European Molecular Biology Organization Journal*. 24:3159-3165.

Van Meer G., Voelker R.D., Feigenson W.G. 2008. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular and Cell Biology*. 9:112-124.

Vijaimohan K., Mallika J., Sabitha K.E., Subramaniyam S., Anandhan C., Shyamala Devi C. S. 2006. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences*. 79:448-454.

Voet D., Voet J.G. 2006. *Bioquímica*. 3ª ed. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Wade G.L., Simek W.J. (2017). *Química Orgánica Volumen 2*. México: Pearson Educación.

Wang H., Storlien L.H., Huang X. 2002. Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 282:1352–1359.

Wolever T.M.S., Jenkins D.J.A. 1986. The use of the glycemic Index in predicting the blood glucose response to mixed meals, *The American Journal of Clinical Nutrition*. 43(1):167-172

World Health Organization (WHO). 2011. Marine oil supplementation during pregnancy. Recuperado de: http://www.who.int/elena/titles/fish_oil_pregnancy/en/.

Zarate A., Saucedo R., Hernández M. 2005. El receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR γ) es un factor de transcripción multigénico de versatilidad metabólica. *Acta Medica*. 3(1):53-54.