



# Efecto de la suplementación de ácidos grasos omega-3 en ratas diabéticas tipo 2: histología del ojo del feto

María del Consuelo Figueroa-García,\* Brenda Paola Romero-Figueroa,\*\* Reyna Lara-Martínez,\*\*\* Luis Felipe Jiménez-García,\*\*\* Ricardo Mejía-Zepeda\*\*\*\*

## RESUMEN

**Introducción:** Se sabe que el crecimiento y desarrollo fetal están directamente relacionados con el estado nutricional de la madre. Bajo condiciones que ponen en compromiso la salud, como la diabetes, se ha sugerido el uso de suplementos para disminuir el riesgo de complicaciones tanto para la madre como para el producto. Uno de los suplementos más recomendados son los ácidos grasos omega-3, los cuales podrían proporcionar beneficios, pero hasta donde se conoce, estos ácidos grasos no han sido completamente investigados; si en realidad pueden prevenir malformaciones o dismadurez en los hijos de madres diabéticas aún está por confirmarse. El objetivo de este estudio fue evaluar las consecuencias de suplementar diariamente ácidos grasos omega-3 durante la gestación en la retina y la córnea de ratas diabéticas y normales. **Material y métodos:** Para esta investigación se usaron 24 ratas Wistar hembras de 48 horas de edad; 12 ratas fueron inducidas a diabetes mediante una inyección intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) (135 mg/kg de peso corporal) en 50 µL de amortiguador de citratos a pH 4.5. Doce ratas sólo fueron inyectadas con 50 µL del amortiguador de citratos (CN). Cada grupo fue dividido en dos; seis animales fueron suplementados con ácidos grasos omega-3 y seis no. A la edad de 16 semanas, las ratas fueron apareadas con machos sanos de la misma estirpe, y a los 19 días de gestación se tomaron las muestras de ojos de los fetos para su análisis histopatológico con dos diferentes métodos de tinción (H-E, tricrómica de Masson). **Resultados:** En las ratas diabéticas, así como en las de control suplementadas con ácidos grasos omega-3, hay un incremento en el grosor de la membrana de Descemet, desarrollo deficiente de la retina y acumulación de lípidos en el humor vítreo. En las ratas diabéticas con suplemento de ácidos grasos omega-3 se aprecia mejor desarrollo de la retina, no hay acumulación de lípidos en el humor vítreo y la queratitis de la córnea es menos evidente. **Conclusiones:** Tanto en las ratas diabéticas como en las normales con suplemento de ácidos grasos omega-3 se observan alteraciones en el desarrollo de la retina de fetos. Aunque hay aparentes efectos benéficos en la retina de hijos de madres diabéticas, el riesgo de producir alteraciones en los hijos de madres saludables deberá ser estudiado a mayor detalle, por lo que se recomienda mayor número de ensayos para un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares a través de los cuales actúan estos ácidos grasos omega-3 para un uso apropiado.

**Palabras clave:** Diabetes, ácidos grasos omega-3, gestación, retinopatía.

## ABSTRACT

**Introduction:** It is known that the fetal growth and development are directly related with the nutritional state of the mother. Under health compromising conditions, as in the diabetes, it is suggested the use of supplements to decrease the risk of complications for the mother as well as for the product. One of the most recommended supplements is the omega-3 fatty acids, which might provide some benefits, but as far as we know, these fatty acids are not fully investigated yet; if they can prevent malformations or dis-maturity in the sons of diabetics is still to be determined. The objective of this study was to

\* Investigador Independiente.

\*\* Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

\*\*\* Laboratorio de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias.

\*\*\*\* Laboratorio 4, Unidad de Investigación en Biomedicina (UBIMED).

Universidad Nacional Autónoma de México.

Recibido: 05/09/2018. Aceptado para publicación: 10/11/2018.



evaluate the histological consequences, in the retina and cornea of fetuses of normal and diabetic rats, of the daily supplement of omega-3 fatty acids during the gestation. **Material and methods:** Twenty four female Wistar rats, of 48 hours-old, were used for this research; 12 rats were induced to diabetes by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) [135 mg/kg of body weight] in 50 µL of citrate buffer at pH 4.5, and 12 were injected with 50 µL of citrate buffer (CN). Each group was divided in two; six animals were supplemented with omega-3 fatty acids and six don't. At 16 weeks-old, the female rats were mated with healthy males, and at 19 days of gestation, the samples of eyes from the fetuses were obtained for the histopathological analysis with two different dying methods (H-E and trichrome Masson). **Results:** In diabetic rats, as well as in control rats supplemented with omega-3 fatty acids, there is an increment in the thickness of the Descemet capsule, poor development of the retina, and lipid accumulation in the vitreous chamber. In diabetic rats with supplement of omega-3 fatty acids there is a better development of the retina, no lipid accumulation in the vitreous chamber, and the keratitis is less evident. **Conclusion:** In this research we found that both, diabetes as well as the supplement of omega-3 fatty acids in normal subjects, drives to alterations in the normal development of fetal retina. Although there are apparent benefits in the retina of sons of diabetic mothers, the risk of producing alterations in the sons of healthy mothers should be studied deeply; we recommend a better understanding of the molecular mechanisms of omega-3 fatty acids for an appropriate use.

**Key words:** Diabetes, omega-3 fatty acids, gestation, retinopathy.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades metabólicas o «epidemia del siglo XXI» son un grupo de patologías que se caracterizan por un desorden en los procesos bioquímicos de las células, los cuales tienen diversas consecuencias en la salud de los pacientes.<sup>1</sup> Estas enfermedades están asociadas con la actividad física del individuo, el estilo de vida, la base genética y representan el principal problema de salud pública en México. Existen esfuerzos a nivel nacional para promover estilos de vida saludables; sin embargo, aún no se ha logrado establecer estrategias idóneas que disminuyan este problema porque, además, son afecciones consideradas complejas al presentarse con múltiples sintomatologías, lo que las hace más difíciles de tratar.<sup>2</sup>

El uso de terapias alternativas en el tratamiento de estos padecimientos, y sobre todo los de tipo metabólico, incrementa cada día más, debido a que para la mayoría de las personas que padecen estas patologías los tratamientos incluyen un cambio en el estilo de vida.<sup>3</sup> Es posible que se piense que un cambio en el estilo de vida es una realidad sencilla; sin embargo, el coste que incluye en las mayoría de los casos (terapia sicológica, pago de medicamentos y dietas adecuadas con programas de ejercicio) es elevado para la gran mayoría de los pacientes,<sup>4</sup> los cuales tienen jornadas de trabajo largas y cansadas y sus presupuestos son inferiores al calculado para este estilo de vida.<sup>5,6</sup> Debido a lo anterior, los pacientes optan por la búsqueda de terapias sencillas, que no impliquen tiempo y que además sean económicas,<sup>7</sup> situación que ha sido resuelta con el uso de los ácidos grasos omega-3.

Dentro del grupo de patologías de mayor costo se encuentran la obesidad, el síndrome metabólico, las

dislipidemias y la diabetes, padecimientos crónico-degenerativos que tienen un origen genético y/o ambiental y una elevada tasa de incidencia y prevalencia. Estos padecimientos son consecuencia del incremento en el consumo de carbohidratos y lípidos, factores de riesgo del desarrollo y/o progresión de las mismas y que, sumado a la conducta sedentaria, repercuten en la salud.<sup>8</sup> Dentro de los productos «alternativos» utilizados como medicamento o cura por la industria farmacéutica y alimentaria se encuentran los ácidos grasos insaturados omega-3, a los cuales se les han atribuido bondades desde el punto de vista terapéutico hasta el nutricio. Pero hablar de los ácidos grasos poliinsaturados es abordar un mundo de mitos y realidades; desde el punto de vista terapéutico, nutricio y hasta el mágico en el que se les ha colocado. Desde principios de la década de 1930, se sabe que estas moléculas lipídicas son indispensables para el buen funcionamiento de los organismos, además de su importancia en el estado fisiocoquímico de sus membranas celulares.<sup>9,10</sup> Hace no más de tres décadas se ha relacionado su consumo con el bienestar y la salud, derivado de las bondades que se les atribuyen, y de las cuales se han estudiado la regulación hormonal del páncreas y la tiroides, su efecto en la síntesis de insulina, además de sus efectos en el bienestar de las membranas celulares.<sup>11,12</sup>

Es importante señalar que uno de los grupos vulnerables que padecen diabetes tipo 2, y que quizás aún no lo saben, son las mujeres en edad reproductiva, las cuales, por consejo médico o no, son proclives al uso de suplementos alimenticios o curas mágicas durante el embarazo.<sup>13</sup> Mucho sabemos acerca de las consecuencias de la diabetes en la edad adulta, pero pocos son los informes que se tienen acerca de este padecimiento durante el de-



sarrollo fetal; incluso se sabe menos de las consecuencias, ya sean favorables o desfavorables del uso de los ácidos grasos omega durante el embarazo. Más aún, sabemos que la diabetes es un síndrome que durante su desarrollo y progresión causa daño a múltiples tejidos, entre ellos el ojo,<sup>14</sup> donde las manifestaciones de este padecimiento son numerosas y complejas, y se caracterizan porque son secundarias a la diabetes; aunque la mayoría son independientes entre sí.<sup>15</sup> En estadios tempranos de la enfermedad se presenta una de las complicaciones más serias de la misma, la microangiopatía, la cual es una consecuencia de las alteraciones del metabolismo<sup>16,17</sup> y afecta varias estructuras del ojo causando uveítis, glaucoma y retinopatía diabética. Esta última es quizás la de mayor relevancia, ya que de forma específica se ve afectada la retina, estructura formada básicamente de tejido nervioso, con la cual es posible la visión.<sup>18</sup> La hiperglucemia provoca fuga vascular y es causa de edema macular y oclusión capilar que se traducen en isquemia crónica en la retina y a su vez en el incremento de factores de crecimiento del endotelio vascular, responsables de la neovascularización (etapa proliferativa).<sup>19</sup> Estos eventos han sido estudiados ampliamente en el adulto, en quien se sabe que la retinopatía diabética es la quinta causa de pérdida de visión en la población mexicana.<sup>20</sup> Es importante señalar que la pérdida de la visión es la sexta causa de discapacidad en el mundo<sup>21</sup> y la segunda en México.<sup>22</sup>

Mucho se sabe de las causas y consecuencias que tienen los cambios metabólicos derivados de la diabetes tipo 2 en el adulto; sin embargo, son pocos los estudios que se han desarrollado en torno a las alteraciones metabólicas y funcionales que la hiperglucemia materna y el consumo de ácidos grasos durante la gestación generan en la etapa embrionaria y fetal. El presente estudio tiene la finalidad de dilucidar cuáles son las consecuencias de la hiperglucemia materna y el consumo de ácidos grasos durante la gestación en el desarrollo del ojo en fetos de ratas sanas y diabéticas tipo 2.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Obtención de animales de experimentación

Se utilizaron 10 ratas Wistar hembras de 16 semanas de edad, con un peso promedio de 250 g, albergadas en forma individual en jaulas de polisulfonato con sistema de microaislamiento, con alimento y agua *ad libitum* y fotoperíodo de 12 horas luz y 12 oscuridad. Se realizó diagnóstico de estro mediante frotis vaginal, las hembras

que resultaron positivas se albergaron toda una noche con machos sanos para su apareamiento, por la mañana se realizó diagnóstico de apareamiento mediante frotis vaginal.

### Animales de experimentación, inducción a diabetes tipo 2

Se seleccionaron ratas hembras de 48 a 72 horas de edad, obtenidas en pares (con lo que cada animal sometido a tratamiento tenía su control de la misma camada) en un sistema completamente aleatorio. A 12 ratas se les indujo diabetes tipo 2 (DT2) mediante la administración vía intraperitoneal de 135 mg de estreptozotocina/kg de peso corporal en 50 µL de amortiguador de citratos a pH de 4.5 y 12 fueron utilizadas como grupo testigo (CN) con la administración de 50 µL del mismo amortiguador. Los animales fueron mantenidos con la madre hasta el destete (cuatro semanas de edad) y posteriormente albergadas en grupos de tres animales en cajas de polisulfonato con microambiente y fotoperíodo de 12 horas luz, 12 horas oscuridad a 22 °C en promedio, con alimento (2040 de Harlan®) y agua *ad libitum*. Se tomó como criterio de inclusión en el grupo tratado que los animales tuvieran una concentración de glucosa sanguínea menor de 200 mg/dL (11.11 mmol/L) en ayuno de ocho horas y menor de 110 mg/dL (6.1 mmol/L) en el grupo testigo. Los animales fueron mantenidos hasta las 16 semanas de edad, siguiendo los lineamientos de bioética marcados en la Norma Oficial Mexicana (NOM 062-ZOO-1999) (13) y al término del estudio los animales fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital sódico, vía intraperitoneal como lo marca la norma.

### Suplementación con ácidos grasos omega-3

Las hembras fueron apareadas con machos sanos siguiendo el mismo esquema que se utilizó con las madres. El 50% de los animales de ambos grupos fue dosificado diariamente por vía oral con 125 µg/kg de peso de aceite de linaza como sustrato de ácido linolénico durante la gestación (de uno a 19 días), al 50% restante se le administró 50 µL de agua. Quedando un total de cuatro grupos control (CN), control con omega-3 (CN-ω3), diabético (DT2) y diabético con omega-3 (DT2-ω3).

### Cuantificación de glucosa

Se determinó glucosa (una vez por semana) a partir de la cuarta semana y hasta las 16 semanas de edad, con un equipo Accutrend® de Roche.



## **Curva de tolerancia a la glucosa**

Se administró una dosis oral de 3 g de sacarosa/kg de peso corporal en un volumen final de 0.5 mL. Para la realización del procedimiento se mantuvo en ayuno de ocho horas a los animales. Se determinó la concentración de glucosa sanguínea antes de la administración de la solución de sacarosa y cada 30 minutos hasta llegar a los 120. Las mediciones se realizaron los días 0, 6, 12 y 18 de la gestación.

## **Cuantificación de triglicéridos y colesterol**

Las cuantificaciones de colesterol y triglicéridos en sangre se realizaron una vez por mes a partir de la cuarta semana hasta la semana 16 con un equipo Accutrend® de Roche.

## **Determinación de la concentración de malondialdehído por el método de reacción al ácido tiobarbitúrico**

Se realizó homogeneizado de hígado de rata, al cual se le adicionó hidroxitolueno butilado (0.01%) para evitar la autooxidación de la muestra, y se cuantificaron la proteínas de la muestra mediante la técnica de Bradford. Se tomaron muestras de homogeneizado con una concentración de proteína de 500 mg para la prueba de ácido tiobarbitúrico, a las cuales se les adicionaron 2 mL de una solución de KCl 1.15% (pH 7.4). Posteriormente, a la mezcla obtenida se le agregó una solución de dodecilsulfato 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%. La mezcla se calentó a 100 °C durante 60 minutos. Después de enfriar la mezcla, se añadieron 5 mL de una solución de n-butanol: piridina (15:1, vol/vol) en agua destilada, se centrifugó a 1,600 g durante 10 minutos. Se separó la fase de butanol con centrifugación ligera durante cinco minutos y se leyó en un espectrofotómetro a 535 nm. El resultado se expresó en nanomoles de malondialdehído por miligramo de proteína mitocondrial.

## **Análisis histológico**

Se obtuvieron cinco fetos (19 día) por hembra en cada grupo ( $n = 30$ ), a los cuales se les disecaron los ojos y se fijaron en una solución de formol al 10%. Se realizaron las técnicas de inclusión en parafina, corte de 15  $\mu\text{m}$  y tinción de hematoxilina-eosina y tricrómica de Masson.

Los cortes se observaron en un microscopio óptico Zeiss modelo Axiostar equipado con un objetivo 40x acromático con apertura numérica 1.25, acoplado a una cámara Canon y programa EOS-1000D.

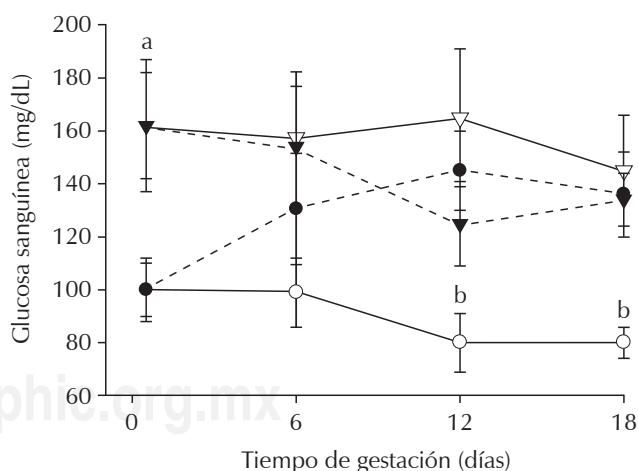
## **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos fueron estudiados por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y prueba de Tukey para identificar diferencias entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

## **RESULTADOS**

### **Perfil metabólico**

La concentración de glucosa sanguínea en ratas durante la gestación se mantiene dentro de rangos normales en los animales del grupo control (80-100 mg/dL), mientras que las diabéticas se encuentran por arriba de los 150 mg/dL a lo largo de la gestación. En los grupos adicionados con ácidos grasos omega-3 se puede observar un incremento en la concentración de glucosa sanguínea de hasta el 22% en el grupo control y una disminución promedio de 21.21% en el grupo de animales diabéticos (Figura 1). Por otro lado, podemos apreciar que la curva de tolerancia se modifica a lo largo de la gestación en



**Figura 1.** Concentración de glucosa sanguínea de ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación.

a =  $p < 0.05$ , CN vs DT; b =  $p < 0.05$ , CN vs CN- $\omega$ 3  $n = 6$ .

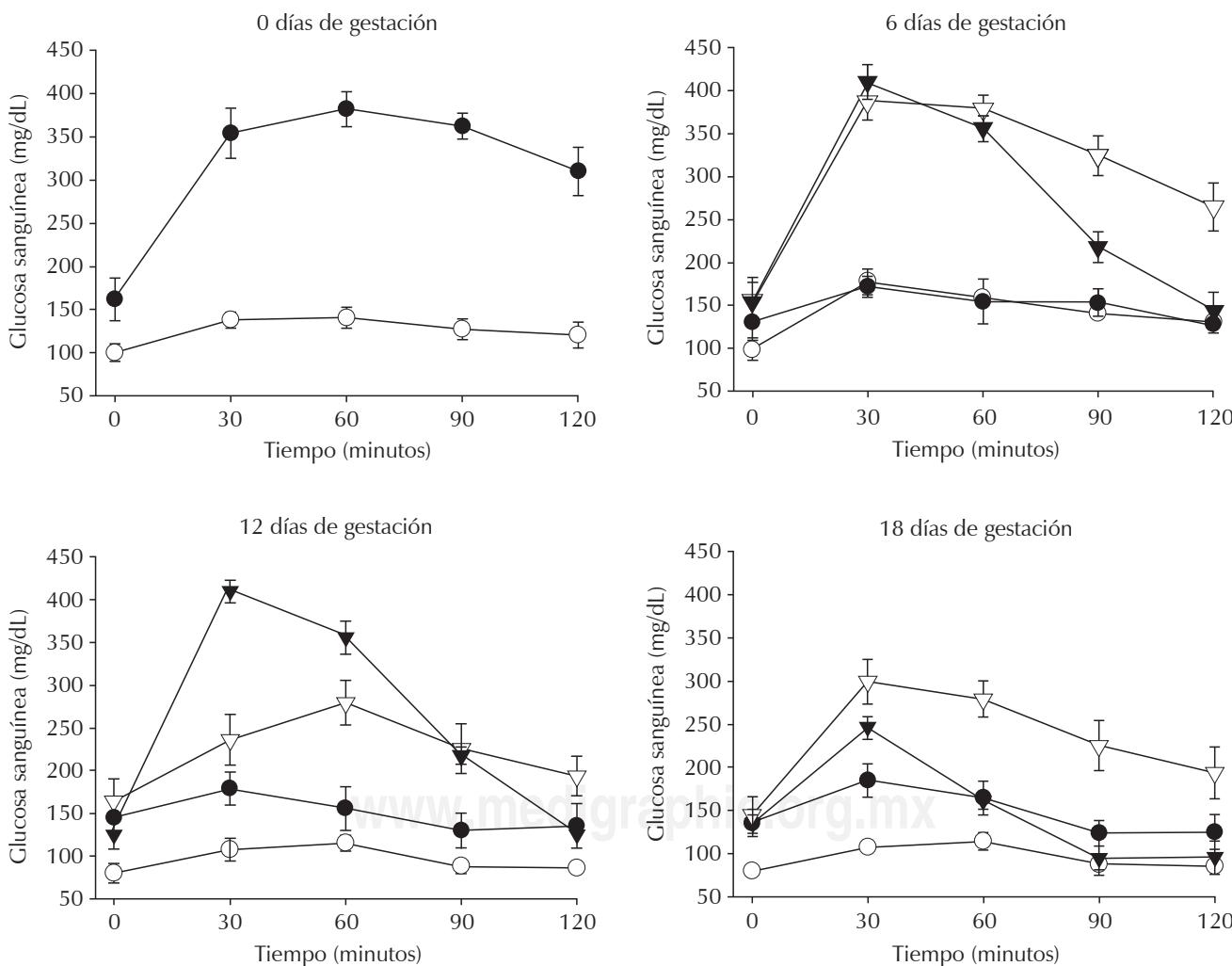
Ratas control (círculos blancos), ratas control suplementadas con ácidos grasos omega-3 (círculos negros), ratas diabéticas (triángulos blancos) y ratas diabéticas suplementadas con ácidos grasos omega-3 (triángulos negros).

todos los casos (Figura 2), incrementándose el área bajo la curva de los animales del grupo control administrados con ácidos grasos y disminuyendo la de los animales diabéticos que recibieron el suplemento de ácidos grasos omega-3. Por otra parte, la concentración de triglicéridos (Figura 3A) tiende a incrementar con la edad gestacional, pero es mayor en los animales de los grupos DT2 y CN- $\omega$ 3. El colesterol (Figura 3B) muestra una tendencia a disminuir conforme avanza la gestación en los grupos control y el grupo diabético con suplemento de ácidos grasos omega-3, se observa un incremento en el grupo de los animales diabéticos. En el peso de los animales se detectó mayor ganancia en el grupo control (83 g), lo que

equivale al 69.2% del CN- $\omega$ 3, 40.1% del DT2 y 22.8% DT2- $\omega$ 3 (Figura 3C).

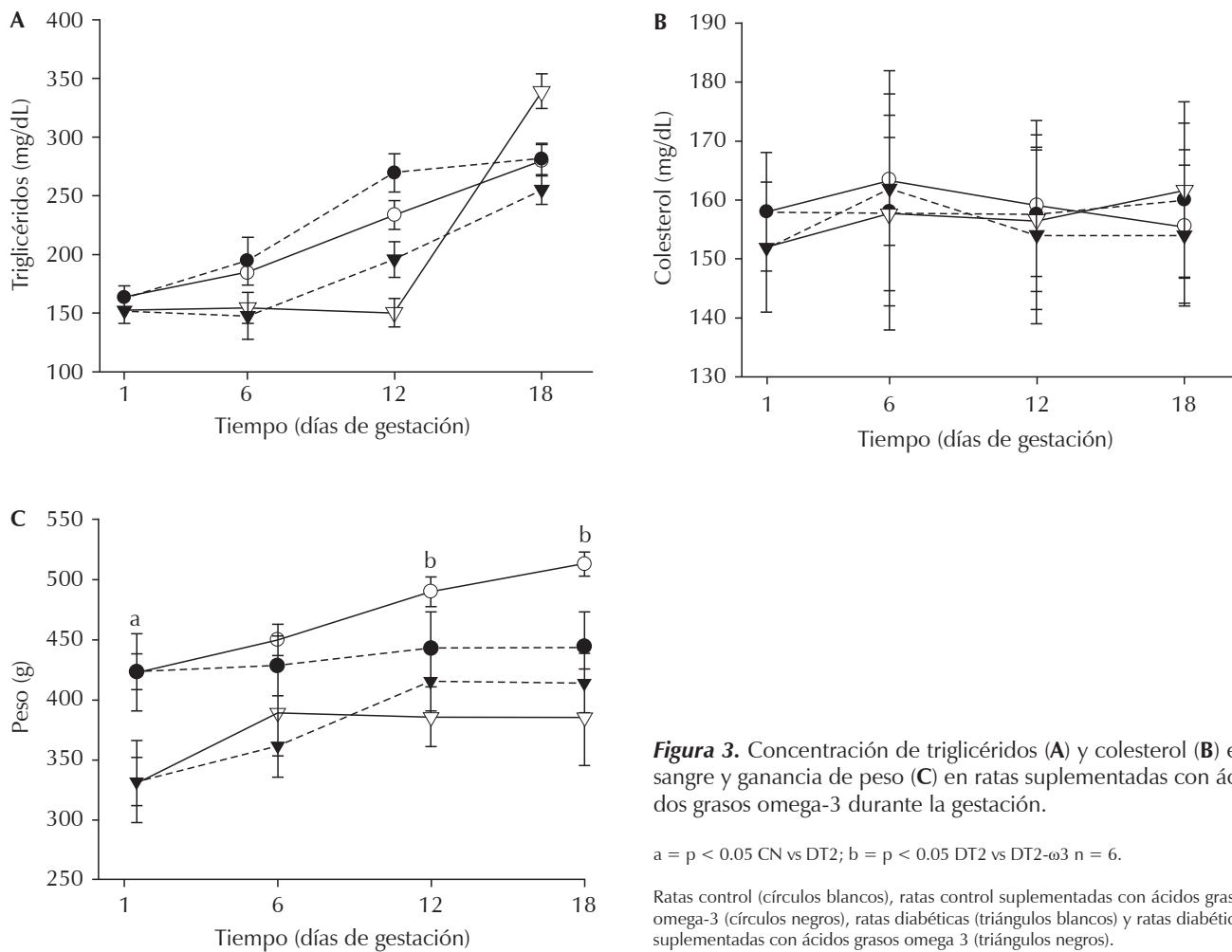
### Cuantificación de malondialdehído

El análisis de la concentración de malondialdehído (MDA) muestra que existe un incremento del 100% en la peroxidación de lípidos de los animales del grupo diabético respecto al control. Asimismo, se puede observar un incremento de hasta tres veces en la producción de MDA en el grupo control con suplementación de omega-3, comparado con el control sin suplemento; por el contrario, la producción de MDA disminuye en un 50% en el grupo



**Figura 2.** Curvas de tolerancia a la glucosa de ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación.

Ratas control (círculos blancos), ratas control suplementadas con omega-3 (círculos negros), ratas diabéticas (triángulos blancos) y ratas diabéticas suplementadas con omega-3 (triángulos negros). n = 6.



**Figura 3.** Concentración de triglicéridos (A) y colesterol (B) en sangre y ganancia de peso (C) en ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación.

a = p < 0.05 CN vs DT2; b = p < 0.05 DT2 vs DT2- $\omega$ 3 n = 6.

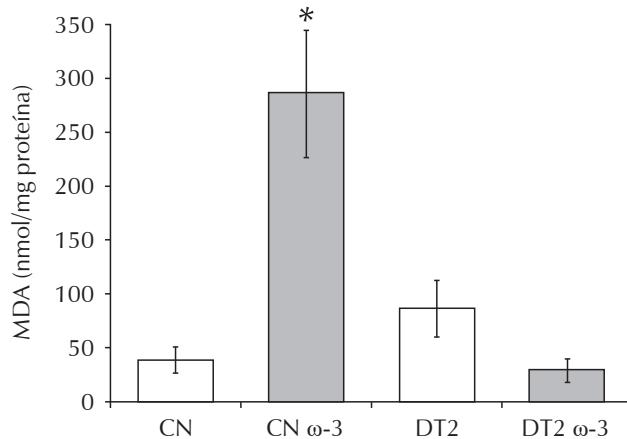
Ratas control (círculos blancos), ratas control suplementadas con ácidos grasos omega-3 (círculos negros), ratas diabéticas (triángulos blancos) y ratas diabéticas suplementadas con ácidos grasos omega 3 (triángulos negros).

de animales diabéticos cuando son suplementados con los ácidos grasos omega-3 (Figura 4).

### Histología

En los animales diabéticos y controles con suplementación de ácidos grasos omega-3 se observa un incremento en el grosor de la membrana de Descemet, queratitis (Figura 5) y acúmulo de lípidos en el humor vítreo (Figura 6A), mientras que en los animales del grupo control no existen cambios o lesiones aparentes. En los animales del grupo diabético con suplemento de ácidos grasos omega-3 no se aprecia acúmulo de lípidos en el humor vítreo y la queratitis de la córnea es menos evidente que en los grupos control con suplementación de ácidos grasos omega-3 y el diabético sin suplementación. Por otra parte, en el estudio histológico de la retina de los animales en el grupo

control no se observan cambios, mientras que en el grupo suplementado con ácidos grasos es evidente el desarrollo deficiente de la retina con pocas células bipolares y ganglionares y falta de desarrollo de las capas de conos y bastones, cambios similares a los observados en el grupo de animales diabéticos, en quienes se puede detectar desarrollo deficiente (Figura 6B) y cambios estructurales como pérdida de la membrana limitante exterior, menor número de células bipolares y ganglionares y desarrollo deficiente de los conos y bastones. Contrariamente, en el grupo de animales diabéticos con suplementación de ácidos grasos hay mejor desarrollo de esta estructura y tanto las capas de conos y bastones como las membranas limitantes externa e interna se encuentran bien definidas con un número de células ganglionares y bipolares parecido a la estructura y desarrollo de los animales del grupo control (Figura 7).



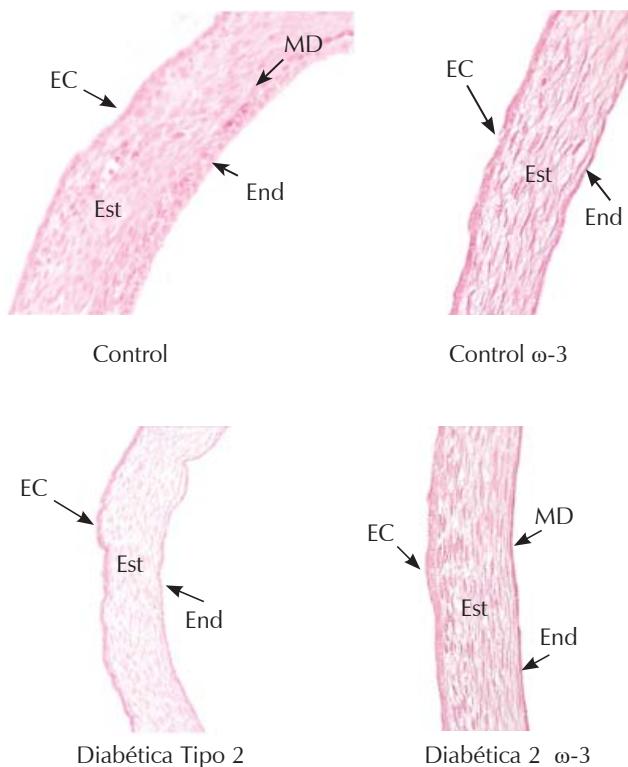
**Figura 4.** Concentración de malondialdehído (MDA) en hígado de ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación. \*  $p < 0.05$ .

## DISCUSIÓN

Para el presente trabajo se generó un modelo de diabetes en ratas Wistar hembras. De acuerdo con los criterios de diagnóstico tanto de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>22</sup> como de la Asociación Americana para la Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés)<sup>23</sup> este síndrome se caracteriza como tipo 2, ya que a lo largo del estudio las concentraciones de glucosa sanguínea de los animales se mantienen por arriba de 140 mg/dL sin exceder 200 mg/dL y durante el desafío a la prueba de tolerancia a la glucosa o curva de tolerancia a la glucosa realizada a los cero, seis, 12 y 18 días de gestación se observa un regreso a la glucemia basal dos horas después de la administración de sacarosa (2 g/kg) vía oral. Es importante señalar que este modelo ya ha sido validado y reportado en hembras por Figueroa GMC et al. (2013).<sup>24</sup>

Existen modelos animales para el estudio del desarrollo fetal en hembras diabéticas; sin embargo, la mayoría de estos modelos utilizan como medio de inducción la estreptozotocina en algún punto de la gestación, con lo que no se garantiza que los hallazgos sean derivados de la hiperglucemia materna, ya que se ha reconocido que el fármaco *per se* puede causar alteraciones en el desarrollo fetal.<sup>25</sup> Por lo anterior, es importante contar con modelos en los cuales la forma de inducción no interfiera con los resultados del estudio y esto se garantiza con un modelo como el desarrollado para este estudio.

El desarrollo embrionario y fetal en ambientes hiper-glucémicos tiene serias consecuencias, en muchos casos los productos presentan malformaciones,<sup>26</sup> la más común



**Figura 5.** Córnea de feto (19 días) de ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación. Corte de 15  $\mu\text{m}$ , tinción H-E, 40x.

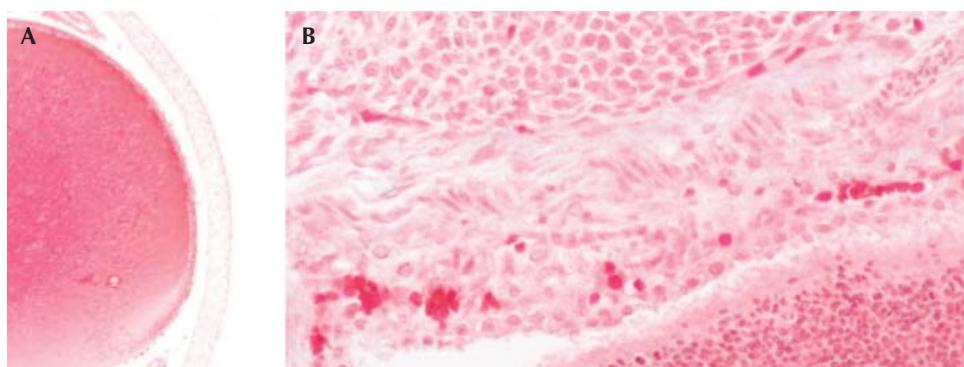
MD = Membrana de Descemet, Est = estroma, End = endotelio, EP = epitelio corneal.

es el síndrome de regresión caudal que se caracteriza por agenesia o hipoplasia del fémur y de las últimas vertebras coxales.<sup>27</sup> En este estudio no se encontró ninguna de las alteraciones descritas en la literatura, este hecho quizás se deba a que en la mayoría de los casos se trabaja con animales con diabetes tipo 1, en los que las glucemias reportadas por diversos autores se encuentran en un rango de 400 a 600 mg/dL,<sup>28-31</sup> mientras que los animales de este trabajo presentan glucemias por debajo de 200 mg/dL, durante el periodo de gestación estudiado.

Se debe recordar que el desarrollo y progresión de la diabetes tipo 1 es distinto al de la tipo 2, desde sus causas hasta el tiempo en que tarda en manifestarse como un problema real para el paciente.<sup>32</sup> Muchas de las manifestaciones clínicas que se presentan en la diabetes tipo 2, en la mayoría de los casos, son evidentes cuando el progreso de la enfermedad ha ocasionado daños severos.<sup>33</sup> Uno de los órganos afectados por la hiperglucemia crónica es el ojo, donde la estructura con mayor daño es la retina.<sup>34</sup>

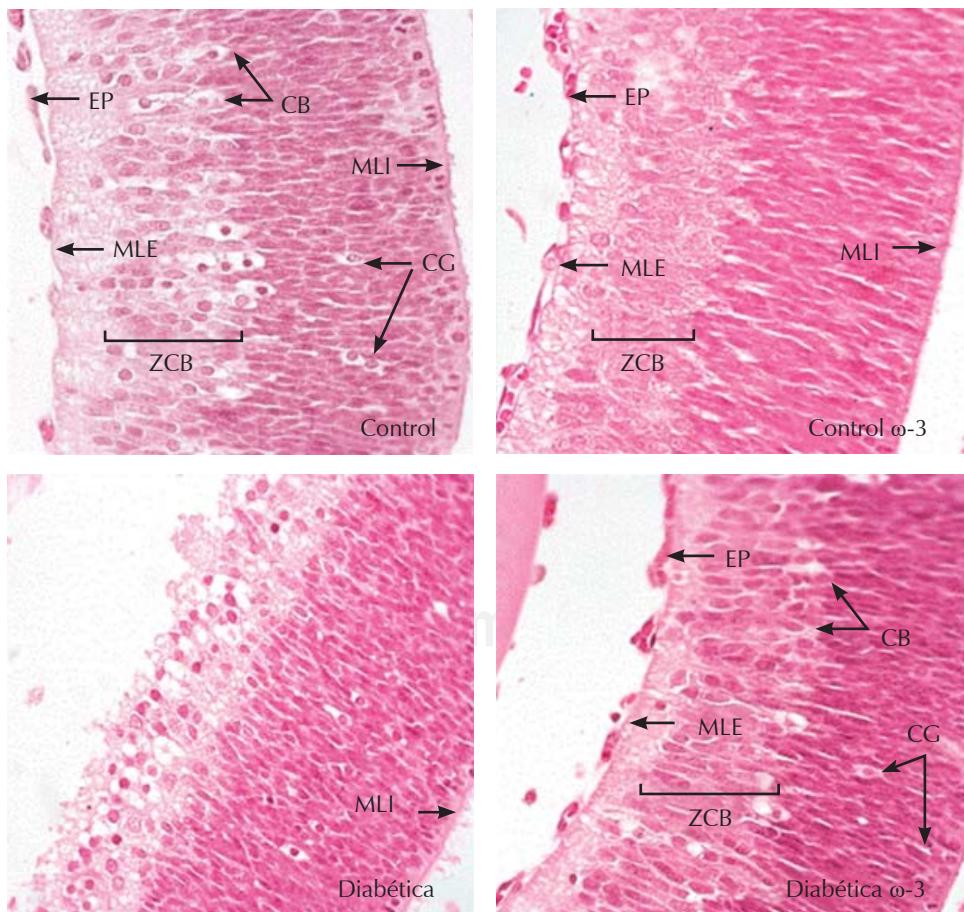
Este grave problema se ha estudiado en pacientes durante la edad adulta, pero no se encontró información acerca de los cambios en esta estructura durante la etapa fetal. La retina es una estructura formada básicamente por células del sistema nervioso central,<sup>35</sup> los informes que se tienen del daño ocasionado por la hiperglucemia en las neuronas sugieren que éste es derivado del incremento en la pro-

ducción de especies reactivas de oxígeno (ERO).<sup>36</sup> En el presente estudio se analizó la producción de MDA como indicador de peroxidación de lípidos de membrana (en la placenta y el hígado de las madres), encontrando que en las hembras diabéticas, así como en las controles a quienes se les administraron los ácidos grasos omega-3 durante la gestación, existe una mayor producción de MDA, lo que



**Figura 6.**

Humor vítreo (**A**) y retina (**B**). Feto (19 días) de ratas suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación. Corte de 15  $\mu$ m, tricrómica de Masson 10x (**A**) y tinción H-E, 40x (**B**).



**Figura 7.**

Retina de feto (19 días) de rata suplementadas con ácidos grasos omega-3 durante la gestación. Corte de 15  $\mu$ m, tinción H-E, 40x.

CB = Células bipolares, CG = células ganglionares, MLI = membrana basal interna, MLE = membrana basal externa, EP = epitelio pigmentado y ZCB = zona de conos y bastones.



sugiere que los hijos de éstas se desarrollan en ambientes con mayor concentración de ERO (datos no mostrados), lo cual se ha asociado a un gran número de procesos de daño en pacientes con diabetes.

Se sabe que el estado nutricional de la madre está directamente relacionado con el crecimiento y desarrollo fetal y que en algunas situaciones de peligro, ya sea para la madre o el producto, se recomienda el uso de suplementos para disminuir el riesgo, como es el caso de la diabetes en sus diferentes manifestaciones.<sup>37</sup> Uno de los suplementos más recomendados son los ácidos grasos omega-3, 6 y 9, los cuales pueden aportar cierto beneficio, aún no bien documentado, en prevención de malformaciones, dismáturez, etc., en los hijos de diabéticas.<sup>38</sup>

La suplementación de ácidos grasos esenciales durante la gestación es sumamente importante para la síntesis de lípidos estructurales durante el desarrollo embrionario y fetal.<sup>39,40</sup> Sin embargo, en la actualidad, se abusa de los suplementos alimenticios (ácidos grasos omega-3, 6 y 9), ya que la mayoría de ellos son recomendados como fuentes de bienestar por médicos y nutriólogos; bajo el slogan *Si no ayudan, tampoco hacen daño*. La pregunta es: ¿Cuánto sabemos en realidad acerca de los efectos adversos de estas sustancias? Los resultados aportados por el presente estudio demuestran que el *tampoco hacen daño* no es tan cierto como parece, ya que en el estudio histológico de diversos órganos y estructuras de fetos de ratas sanas suplementadas con ácidos grasos omega-3 se observa daño, ya sea por retraso en la formación y/o maduración de los órganos o por alteración estructural de los tejidos como es el caso de la retina, en la cual se advierte una clara alteración de esta estructura (falta de desarrollo), en comparación con la de los grupos control. Es importante señalar que el daño ocasionado por la diabetes materna en la misma estructura fetal es muy parecido al encontrado en los animales con suplemento de omega-3, este hallazgo está en correlación con el incremento en la concentración sanguínea de glucosa materna y la producción de especies reactivas de oxígeno (placenta e hígado materno) medidas a través de la producción de malondialdehído, producto de peroxidación de lípidos. Además de lo anterior, se debe recordar que los ácidos grasos en exceso tienen efectos inhibitorios en la actividad de las δ desaturasas 5 y 6<sup>41</sup> encargadas de la de velocidad de conversión de los ácidos grasos insaturados, lo que disminuye la concentración de ácido araquidónico,<sup>42</sup> importante mediador en los procesos de inflamación.<sup>43</sup>

De acuerdo con Cho y Choi (1994),<sup>42</sup> una ingesta excesiva de ácidos grasos poliinsaturados disminuye la capacidad antioxidante e incrementa la susceptibilidad

al daño por estrés oxidativo, condición que ha sido observada en ratas suplementadas con aceite de pescado durante la gestación,<sup>43</sup> en quienes las concentraciones de ácido araquidónico y vitamina E disminuyen y las especies reactivas de oxígeno se incrementan. Por otro lado, se ha detectado que un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en los alimentos incrementa el riesgo de peroxidación de lípidos, los cuales pueden ser tóxicos.<sup>44</sup>

La falta de desarrollo de la retina en fetos de madres diabéticas como en fetos de las madres que recibieron suplemento de omega-3 puede estar asociada con la baja expresión de moléculas como las sirtuinas, implicadas en la regulación de la función del endotelio vascular, el envejecimiento y el desarrollo de enfermedades metabólicas.<sup>45</sup> Se sabe que uno de los principales agentes de retinopatía diabética en el adulto es la hiperglucemia,<sup>46</sup> pero muy poco se ha ahondado en las consecuencias de la hiperglucemia materna en la retina de su progenie. La principal lesión causada por la diabetes en la retina es a nivel de los vasos sanguíneos, los cuales sufren daño endotelial (funcional y/o estructural).<sup>47</sup> Sin embargo, también se ha observado el daño y/o muerte de diferentes tipos celulares como células neurales (ganglionares) y células gliales (Müller, astrocitos y microglia),<sup>48</sup> así como células endoteliales y el pericitos.<sup>49</sup> En un estudio realizado por Tabasi A et al. (2017) para detectar los cambios de las células de Müller en ratas hijas de madres diabéticas usando como marcador del daño la proteína fibrilar glial (GFAP) se encontró que la diabetes gestacional no controlada puede aumentar su expresión y el grosor de la retina.<sup>50</sup>

Uno de los principales hallazgos de la disfunción del endotelio vascular en el desarrollo de la retinopatía diabética en el adulto es la proliferación excesiva de células endoteliales (engrosamiento de la membrana basal de los capilares) inducida por hiperglucemia, lo cual altera la homeostasis de las células endoteliales, cambiando la expresión genética.<sup>51</sup> Además del aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos, que conduce a la disfunción de las células endoteliales, también se presenta la filtración a través de la membrana basal cerrando el circuito de daño.<sup>52</sup> Posiblemente, ésta sea la causa de que la retina de los fetos de madres diabéticas no se haya visto afectada y el patrón histológico sea parecido al de los animales sanos que no fueron suplementados con omega-3. Esta condición puede disminuirse con la ingesta de ácidos grasos omega-3 de cadena larga, ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 ω-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 ω-3).<sup>53</sup> Estudios realizados en ratas diabéticas y normales con y sin la adición de ácidos



grasos omega-3 de cadena corta sugieren una posible regulación de la glucemia en los sujetos con diabetes tipo 2; sin embargo, en animales sanos pueden estar generando desde una intolerancia a la glucosa hasta el desarrollo de diabetes tipos 2.<sup>54</sup>

## CONCLUSIÓN

El tratamiento con ácidos grasos omega-3 en ratas diabéticas aparentemente mejoró el desarrollo de la retina; sin embargo, el riesgo de occasionar alteraciones en los hijos de madres sanas cuando se suplementan ácidos grasos durante la gestación debe ser estudiado con mayor profundidad, ya que los efectos de estas sustancias no han sido completamente analizados, pero existe evidencia de que durante el desarrollo fetal las concentraciones elevadas de glucemia sanguínea y la suplementación con ácidos grasos omega-3 en madres sanas pueden contribuir al desarrollo deficiente de las estructuras del ojo o el daño a éstas debido al incremento en la generación de radicales libres, por lo que se recomienda buscar más evidencias del potencial benéfico o dañino antes de recomendar su uso.

## Agradecimientos

Los autores agradecemos a los técnicos en histología Guadalupe Hiriart Valencia y Erika Liliana Monterrubio Flores del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, por su apoyo en el procesamiento de los tejidos.

## Financiamiento

Trabajo financiado por PAPIIT IN215917.

## REFERENCIAS

- Pereira-Despaigne OL. Diabesity: an epidemic of the XXI century. MEDISAN 2012; 16(2): 295-8.
- García-Hernández JL. ONG's hace un llamado, México le cuesta obesidad 70 mil millones al año. SIN EMBARGO.MX. 2015. Recuperado de: <https://www.sinembargo.mx/04-10-2015/1506486>.
- Romero J. El farmacéutico ante los productos milagro. Trastornos de la conducta alimentaria 2007; 6: 660-7.
- Arredondo A, De Icaza E. Costos de la diabetes en América Latina: evidencias de caso de México. Value in Health 2011; 14: S85-8.
- Miranda NG, Berenice VE y Plata RFI. Calidad de vida en pacientes diabéticos a través del uso de la escala DQOL. An Med Mex. 2017; 62 (3): 172-179.
- Hevia VP. Educación en diabetes. Rev Med Clin Condes 2016; 27(2): 271-6.
- Barraza LM. Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013. México: Funsalud; 2015.
- Romero-Márquez RS, Díaz-Veja G, Romero-Zepeda H. Estilo y calidad de vida de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2011; 49(2): 125-36.
- Kyu-Bong K, Yoon AN, Hyung SK, Wallace HA, Byung-Mu L.  $\alpha$ -Linolenic acid: nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. Food and Chemical Toxicology 2014; 70: 163-78.
- Romero-Candau J. Trastornos de la conducta alimentaria. El farmacéutico ante los productos milagro. Trastornos de la conducta alimentaria 2007; 6: 660-77.
- Valenzuela BR, Tapia OG, González EM, Valenzuela BA. Omega-3 fatty acids (EPA and DHA) and its application in diverse clinical situations. Rev Chil Nutr 2011; 38(3): 356-67.
- Greenberg JA, Bell SJ, Van Ausdal W. Omega-3 fatty acid supplementation during pregnancy. Reviews in Obstetrics and Gynecology 2008; 1(4): 162-9.
- Garzón-Cabrera A. La retinopatía diabética (Capítulo 2). En: Mejoras de algoritmos para detección de microaneurismas sobre angiografías de retina digitalizadas. España: Universidad de Sevilla; 2004.
- Lieth E, Gardner TW, Barber AJ, Antonetti DA. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes. Clinical and Experimental Ophthalmology. 2000; 28: 3-8.
- Triana MME. La hiperglicemia y sus efectos tóxicos. Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía diabética. Rev Cubana Angiol y Cir Vasc 2001; 2(2): 131-41.
- Aliseda D, Berástegui L. Diabetic retinopathy. An Sist Naver 2008; 31(Supl. 3): 23-34.
- Tsilibary EC. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. J Pathol 2003; 200(4): 537-46.
- Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy-ocular complications of diabetes mellitus. World J Diabetes 2015; 6(3): 489-99.
- Muñoz EJE, Quereda-Castañeda, García-García O. Actualización de la retinopatía diabética para médicos de atención primaria: hacia una mejora de la medicina telemática. Medicina de la familia. SEMERGEN 2016; 42(3): 172-6.
- Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1997; 20: 1183-97.
- ADA. Diagnosis and classification diabetes mellitus. Diabetes Care 2014; 37(Supplement 1): S81-90.
- Figueroa GMC, Pérez HIH, Mejía ZR. Characterization of a type 2 diabetes model in female Wistar rats. Rev MVZ Córdoba 2013; 18(Supl): 3699-707.
- Polanco PAC. Efecto de la diabetes materna en el desarrollo fetal de humanos y ratas. Ginecol Obstet Mex 2005; 73: 544-52.
- Mills JL, Baker L, Goldman AS. Malformations in infants of diabetic mothers occur before the seventh gestational week. Implications for treatment. Diabetes 1979; 28(4): 292-3.
- Reece EA, Homko CJ, Wu YK, et al. Metabolic fuel mixtures and diabetic embryopathy. Clin Perinatol 1993; 20(3): 517-32.
- Furman LB. Streptozotocin-Induce diabetic models in mice and rats. Curr Protoc Pharmacol 2016; 70: 5.47.1-20.
- Albersen M, Lin G, Fandel TM, Zhang H, Qiu X, Lin CS, et al. Functional, metabolic, and morphologic characteristics of a novel rat



- model of type 2 diabetes-associated erectile dysfunction. *Urology* 2011; 78(2): 476.e1-8.
- 28. Barbosa SS, Bringhenti SI, Lonzzetti BTC. Animal models of nutritional induction of type 2 diabetes mellitus. *Int J Morphol* 2014; 32(1): 279-93.
  - 29. Goud BJ, Dwarakanath V, Chikka BK. Streptozotocin-A diabetogenic agent in animal models. *IJPDR* 2015; 3(Issue 1): 253-69.
  - 30. Fomusi NJ, Vannacci A, Rastogi S. Insulin resistance, type 1 and type 2 diabetes, and related complications 2017. *J Diabetes Res* 2017; 2017: 1478294.
  - 31. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Medical Journal* 2012; 27(4): 269-73.
  - 32. Bronson-Castain K, Bearse MA, Neuville J, Jonasdottir S, King-Hooper B, Barez S, et al. Adolescents with type 2 diabetes: early indications of focal retinal neuropathy, retinal thinning and venular dilation. *Retina* 2009; 29(5): 618-26.
  - 33. Yau WYJ, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012. Recuperado de: <https://doi.org/10.2337/dc11-1909>.
  - 34. Loh KP, Hong S, De Silva R, Tan BKH, Zhu YZ. Oxidative stress: apoptosis in neuronal injury. *Current Alzheimer Research* 2006; 3(Issue 4): 327-37.
  - 35. Viana M, Herrera E, Bonet B. Teratogenic effects of diabetes mellitus in the rat. Prevention by vitamin E. *Diabetologia* 1996; 39: 1041-6.
  - 36. Coletta JM, Bell SJ, Roman AS. Omega-3 fatty acids and pregnancy. *Reviews in Obstetrics & Gynecology* 2003; 3(4): 163-71.
  - 37. Foreman-van Drongelen MMHP, Van Houwelingen AC, Kester ADM, Hasaart THM, Blanco CE, Hornstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants, status at birth and its influence on postnatal levels. *J Pediatr* 1995; 126: 611-8.
  - 38. Clandinin MT, Chappell JE, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues. *Early Hum Dev* 1981; 5: 355-66.
  - 39. Larqué E, Gil-Sánchez A, Prieto-Sánchez MT, Koletzko B. Omega-3 fatty acids, gestation and pregnancy outcomes. *BJN* 2012; 107(Suppl 52): S77-84.
  - 40. Tosi F, Sartori F, Guarini P, Olivieri O, Martinelli N. Delta-5 and delta-6 desaturases: crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. In: Camps J (Eds.). *Oxidative stress and inflammation in non-communicable diseases - molecular mechanisms and perspectives in therapeutics. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 824. Springer, Cham; 2014.
  - 41. Sirisha A, Aruna M, Sameena P. Role of omega 3 fatty acids on pregnancy outcome. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 2017; 6(12): 5396-400.
  - 42. Cho SH, Choi Y. Lipid peroxidation and antioxidant status is affected by different vitamin E levels when feeding fish oil. *Lipids* 1994; 29: 47-52.
  - 43. Viana M, Aruoma Ol, Herrera E, Bonet B. Oxidative damage in pregnant diabetic rats and their embryos. *Free Rad Biol Med* 2000; 29: 1115-21.
  - 44. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(Suppl.): 715S-25.
  - 45. Guarente L, Franklin H, Epstein L. Sirtuins, aging, and medicine. *N Engl J Med* 2001; 364: 2235-44.
  - 46. Varma P, Torres M, Peña F, Klein R, Azen S. Prevalence of diabetic retinopathy in adult Latinos: The Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology* 2004; 111(Issue 7): 1298-306.
  - 47. Otro Kornell A, Dedorsson I, Johansson B, Wickstro CP, Ludvigsson J, Tuvelmo T, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in children and adolescents with IDDM. A population-based multicentre study. *Diabetologia* 1997; 40: 307-10.
  - 48. Lorenzi M, Gerhardinger C. Early cellular and molecular changes induced by diabetes in the retina. *Diabetologia* 2001; 44: 791-804.
  - 49. Feenstra DJ, Yego EC, Mohr S. Modes of retinal cell death in diabetic retinopathy. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013; 4: 298.
  - 50. Tabasi A, Ghafari S, Mehdizadeh M, Shekari MA, Golalipour MJ. Gestational diabetes influences retinal Muller cells in rat's offspring. *Iran J Basic Med Sci* 217; 20(2): 216-21.
  - 51. Cagliero E, Maiello M, Boeri D, Roy S, Lorenzi M. Increased expression of basement membrane components in human endothelial cells cultured in high glucose. *J Clin Invest* 1988; 82: 735-8.
  - 52. Ciulla TA, Amador AG, Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care* 2003; 26(9). Disponible en: <https://doi.org/10.2337/diacare.26.9.2653>
  - 53. Shen J, Shen S, Das UN, Xu G. Effect of essential fatty acids on glucose-induced cytotoxicity to retinal vascular endothelial cells. *Lipids in Health and Disease* 2012; 11: 90-100.
  - 54. Vicenteño-Monrroy UA, Mejía-Zepeda R (Dir.). *Análisis de diferentes dosis de ácidos grasos omega 3 (alfa-linolénico) en fantasmas de eritrocitos de ratas inducidas a diabetes tipo 2* [Tesis Licenciatura]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México; 2018.

**Solicitud de sobretiros:**

Ricardo Mejía Zepeda  
Avenida de los Barrios Núm. 1,  
Col. Los Reyes Iztacala, C.P. 54090,  
Tlalnepantla, Estado de México, México.  
Tel: 5623-1138  
Correo electrónico: rmejia@unam.mx