

Efectos del consumo de aceite de pescado sobre indicadores de síndrome metabólico en ratas obesas IIMb/Beta

Marta Posadas¹, Gilda Revelant², Verónica Labourdette¹, María Rosa Venezia²,
Darío Marinozzi², María Isabel Zingale², María Catalina Olguin².

¹Cátedra de Biología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.

²Área Bromatología y Nutrición. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.
Universidad Nacional de Rosario. Santa Fé - Argentina.

RESUMEN. Existe consenso científico acerca de la necesidad de cambiar hábitos de alimentación y aumentar la actividad física como estrategias para prevenir y paliar la epidemia de sobrepeso y obesidad. En este estudio se evaluaron los efectos de dietas isocalóricas e isolipídicas, con diferente calidad de lípidos, sobre algunos indicadores de síndrome metabólico en ratas de la línea IIMb/Beta de 70 días de edad. Este modelo murino manifiesta obesidad acompañada de hipertriacilglicerolemia y resistencia insulínica desde la pubertad y desarrolla diabetes tipo 2 en la adultez. Se suministraron durante 90 días tres dietas formuladas según AIN-93 (American Institute of Nutrition-93) *ad libitum*: Dieta AIN con aceite de girasol como fuente de lípidos; Dieta JB con grasa bovina (reemplazando al aceite de girasol) y Dieta JBn-3 con grasa bovina más ácidos grasos poliinsaturados n-3 provenientes de aceite de pescado. Los animales que consumieron la dieta JBn-3 manifestaron disminución ($p<0,05$) en algunos indicadores de síndrome metabólico como la hiperinsulinemia, la hipertriacilglicerolemia y el depósito de lípidos totales, colesterol y triacilglicérols hepáticos. Si bien se requieren más estudios, se confirma la validez de las intervenciones dietarias para el abordaje de la obesidad y sus comorbilidades recomendadas por los organismos internacionales.

Palabras clave: AGPI n-3, síndrome metabólico, ratas obesas.

SUMMARY: Effects of fish oil consumption on metabolic syndrome parameters in obese IIMb / Beta rats. There is scientific consensus about the importance of changing dietary habits and increasing physical activity for the prevention and treatment of obesity and its co-morbidities. The effects of isocaloric and isolipidic diets with different type of fat on symptoms of the metabolic syndrome in 70 days old IIMb/Beta rats were evaluated. This murine model develops obesity, hypertriacilglycerolemia and insulin resistance since puberty, progressing to type 2 diabetes in adulthood. Three diets formulated according to AIN-93 (American Institute of Nutrition-93) were offered *ad libitum* during 90 days: Diet AIN with sunflower oil; Diet JB with bovine fat (replacing sunflower oil) and Diet JBn-3 with bovine fat and PUFA n-3 from fish oil. The group fed JBn-3 diet showed diminution ($p<0,05$) on several of the clinical manifestations of the metabolic syndrome, such as: hyperinsulinemia, hypertriacilglycerolemia and hepatic total lipids, cholesterol and triacylglycerols. Although more research is required, the study supports the beneficial effects of dietary approaches on obesity and its co-morbidities.

Key words: PUFA n-3, metabolic syndrome, obese rats.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el sobrepeso y la obesidad se encuentran entre los principales factores de riesgo de enfermedad y muerte a nivel mundial; cada año fallecen alrededor de 3,4 millones de personas

adultas por esta causa. Además, gran parte de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), tanto en países de altos como en los de medianos y bajos ingresos, se asocian al exceso de peso, como el caso de la diabetes (44%), las

cardiopatías isquémicas (23%) y ciertos tipos de cánceres (entre el 7% y el 41%) (1). En Argentina los resultados de la 3ra Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (ENFR) del año 2013 son contundentes: se detectó una prevalencia de sobrepeso de 37,1%, valor que se mantuvo constante con respecto a la 2da ENFR, de 2009, pero mayor que en la 1ra ENFR de 2005 (34,4%). Con respecto a la obesidad: 20,8% en 2013, siendo este valor 15,6% mayor que el registrado en 2009 (2).

Los organismos internacionales involucrados en el estudio y la promoción de la salud han coincidido en recomendar cambios en los hábitos alimentarios como paso fundamental para prevenir y paliar esta pandemia (3). Las propuestas incluyen: disminución de la ingesta de azúcares, grasas saturadas y sal y aumento en el consumo de frutas, vegetales y grasas insaturadas; es destacable la recomendación de incorporar a la dieta alimentos naturales y productos alimenticios con compuestos bioactivos, los así llamados “alimentos funcionales”.

Entre los compuestos con actividad biológica cuyos efectos han demostrado ser beneficiosos para la salud se cuentan los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (AGPI n-3) cuyas formas más representativas en los alimentos son el eicosapentaenoico (20:5 n-3 o EPA), el docosahexaenoico (22:6 n-3 o DHA) y el alfa linolénico (18:3 n-3 o α -ALA). Los AGPI n-3 EPA y DHA se encuentran en pescados y algunos tipos de algas mientras que el α -ALA proviene de fuentes vegetales (4,5). Las primeras investigaciones acerca de la relación entre el consumo elevado de AGPI n-3 y la menor incidencia de enfermedades cardiovasculares (ECV) datan de los años 70 y fueron llevados a cabo en poblaciones esquimales del norte de Groenlandia (6). Desde esos primeros hallazgos, numerosos estudios han evaluado las respuestas provocadas por la incorporación a la dieta de AGPI n-3 en diferentes lapsos y dosis, concluyendo en

la mayoría de ellos, que los efectos diferían según que los síndromes evaluados fueran de tipo agudo o crónico (7).

Algunos trabajos refieren a la eventual acción protectora de los AGPI n-3 frente a las agresiones que suponen las recientes modificaciones en los patrones alimentarios, tales como el consumo excesivo de bebidas azucaradas y de alimentos ultraprocesados.

La acción preventiva de los AGPI n-3 sobre las ECV y otras enfermedades crónicas como el síndrome metabólico (SM) y la diabetes tipo2 (DMT2) ha sido reportada en animales de experimentación en los que dichas alteraciones metabólicas fueron inducidas.

Los AGPI n-6 y n-3 son relevantes para la composición y la fluidez de las membranas de la célula y para una óptima función de ésta. Además actúan como precursores de los eicosanoides y docosanoides involucrados en la regulación de la inflamación, la inmunidad y la agregación plaquetaria (8). Mientras la familia n-6 promueve el aumento de productos pro inflamatorios derivados del ácido araquidónico, los AGPI n-3 EPA y DHA -ya sea sintetizados de modo endógeno o provenientes de la dieta- dan lugar a productos que ejercen efectos benéficos en los ya mencionados procesos inmunológicos, de agregación plaquetaria e inflamatorios. Otras acciones descritas son las uniones de los AGPI n-3 a diversos receptores nucleares (PPARs, Factor nuclear hepático, Receptores x del hígado) que regulan la expresión génica, mecanismo por el cual ejercerían su efecto sobre, entre otros, el metabolismo lipídico (9).

La línea de ratas IIMb/Beta desarrolla una obesidad no hiperfágica, definida tanto por el sobrepeso como por el volumen de los panículos adiposos, de grado moderado -30% de masa grasa- si se compara con la de otras ratas como las fa/fa en las que el porcentaje de grasa corporal alcanza el 50% del peso total. La obesidad

-que se manifiesta tanto cuando se alimenta a los animales con la dieta formulada según el American Institute of Nutrition (AIN-93) como cuando se les suministra el alimento balanceado comercial para animales de experimentación- es de instalación peripuberal, alrededor de los 50 días de edad, y afecta a ambos sexos con mayor notoriedad en los machos (10). La manifestación corporal de la obesidad se acompaña con hipertriacilglicerolemia y resistencia insulínica (RI) que progresa hacia la DMT2 en la adultez (11). La colesterolemia total y sus fracciones se mantienen dentro de los límites normales. Otro indicador de SM que se presenta en esta línea de ratas es el depósito excesivo de triacilglicérols hepáticos o hígado graso. Este modelo murino de obesidad y dislipidemia ha demostrado en diversos trabajos experimentales marcada susceptibilidad a los cambios en la composición de la dieta, respaldando plenamente las recomendaciones de las organizaciones científicas internacionales en el sentido de intervenir en el ambiente nutricional con el fin de atenuar la manifestación de la obesidad y sus comorbilidades (12-14).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los beneficios del consumo de aceite de pescado sobre algunas manifestaciones de SM en ratas obesas IIMb/Beta. Las variables evaluadas fueron la biomasa, el depósito adiposo abdominal, la glucemia, la insulinemia (e Índice HOMA-IR), las transaminasas hepáticas y el perfil lipídico en sangre e hígado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Ratas macho de la línea obesa IIMb/Beta de 70 días de edad (criadas en la Cátedra de Biología de la Escuela de Medicina de la Universidad Nacional de Rosario) recibieron por un lapso de 90 días, dietas isocalóricas e isolipídicas formuladas con distinta calidad de lípidos, efectuándose los ajustes necesarios para que el aporte del resto

de los nutrientes fuera adecuado y semejante en todos los casos, según AIN-93.

Durante el experimento los animales fueron alojados en jaulas individuales en condiciones habituales de criadero: acceso ad libitum al agua y a la comida, iluminación con fotoperiodicidad controlada (12hs), temperatura ambiental de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (calefacción y/o ventilación) e higiene diaria.

La cría y la manipulación de las ratas se llevaron a cabo de acuerdo con el protocolo para el cuidado y uso de animales de experimentación del Instituto Nacional de Salud (NIH) de los Estados Unidos de Norteamérica y fue aprobado por el Comité de Bioética y el de Bioseguridad de la Universidad Nacional de Rosario.

Dietas

Las dietas experimentales se prepararon según AIN-93. Estas fueron isocalóricas e isolipídicas difiriendo únicamente en su composición lipídica. (Tablas 1 y 2)

Dieta AIN (control): AIN-93 M, con aceite de girasol.

Dieta JB: AIN-93 M modificada reemplazando el aceite de girasol por primer jugo bovino (grasa bovina). Según el Código Alimentario Argentino el primer jugo bovino se define como el producto separado por fusión a temperatura no mayor de 80°C de los tejidos y partes adiposas limpias e inalteradas de animales bovinos (15). El reemplazo del aceite vegetal (rico en ácidos grasos insaturados) por el jugo bovino (rico en ácidos grasos saturados), tiene por objetivo maximizar la expresión del síndrome característico de esta línea de ratas ya descrito en la introducción.

Dieta JBn-3: Dieta JB + cápsulas de aceite de pescado (disponibles en el mercado para consumo humano). El aceite de pescado se adicionó a la dieta mezclado con la grasa bovina en una proporción de 25mg cada 100g de dieta. La concentración de AGPI n-3 /100g de alimento fue de 8,55mg y la de AGPI n-6 de 45,08 mg. La rela-

TABLA 1. Composición de las dietas (g/100g) y valor calórico (kcal/100g) (kJ/100g)

	AIN-93	JB	JBn-3
Almidón	53,0	53,0	53,0
Proteína	17,0	17,0	17,0
Sacarosa	10,0	10,0	10,0
Aceite girasol	5,0	----	----
1er jugo Bovino	----	5,0	4,975
Aceite de pescado	0,0	0,0	0,025
Mezcla mineral	3,5	3,5	3,5
Mezcla vitamínica	1,0	1,0	1,0
Celulosa	5,0	5,0	5,0
Bitartrato de colina	0,25	0,25	0,25
Cisteína	0,18	0,18	0,18
Valor Calórico kcal/100g (kJ/100g)	365 (1526)	365 (1526)	365 (1526)

AIN-93: dieta recomendada por el American Institute of Nutrition, 1993.

JB: dieta AIN-93 con grasa bovina en lugar de aceite de girasol.

JB n-3: dieta JB + aceite de pescado.

TABLA 2. Perfil de ácidos grasos (g/100g) de lípidos empleados en la preparación las diferentes dietas.

Acidos Grasos	Aceite de Girasol	Primer Jugo Bovino	Cápsulas Aceite de Pescado
C 14:0	0,2	3,2	13
C 14:1	0	0,6	0,3
C 16:0	12,4	27	27
C 16:1 n-9	0	2	14
C 18:0	3	26	1,8
C 18:1 n-9	25	40	9
C 18:2 n-6	59	0,9	1,2
C 18:3 n-3	0	0	0,2
C 20:5 n-3	0	0	27
C 22:6 n-3	0	0	7

ción AGPI n-6/AGPI n-3 fue 5,3:1. Diseño experimental

Los animales (n: 21) de peso promedio $207,4g \pm 15,5g$ (media $\pm$ desviación estándar) se dividieron de forma aleatoria en tres grupos de siete ratas cada uno. Día por medio se les midió el peso corporal y con igual frecuencia se evaluó la ingesta de alimento. Con estos datos se calculó la eficiencia de conversión del alimento según la

siguiente ecuación:

Eficiencia de conversión de alimento = Aumento de peso corporal (g)/alimento consumido (g).

Al final del experimento se recolectaron muestras de sangre post ayuno y tras sacrificar los animales se extrajeron los hígados y los panículos adiposos retroperitoneales y epididimales que se lavaron con buffer PBS, se secaron con papel de filtro y se pesaron.

Se calcularon los pesos relativos de hígados y panículos con la siguiente ecuación:

Peso relativo de órgano = peso absoluto de órgano (g)/ peso corporal total (g) x 100.

El método de eutanasia fue por sobredosis de pentobarbital sódico inyectado por vía intraperitoneal (American Veterinary Medical Association. Guidelines on Eutanasia. Formerly Report of the AVMA Panel on Eutanasia, 2007).

Procedimientos analíticos

Se determinó el perfil de ácidos grasos de los lípidos empleados en la formulación de cada dieta mediante cromatografía gas/líquido con un equipo Shimadzu GCMS – QP modelo 2010, Japón (cromatógrafo gaseoso acoplado a espectrómetro de masa).

Se determinaron en plasma: glucosa, triacilglicerol, colesterol total, alanina aminotransferasa (ALAT) y aspartato aminotransferasa (ASAT) con técnicas enzimáticas espectrofotométricas empleando equipos de diagnóstico Wiener (Wiener Laboratorios SAIC; Rosario, Argentina).

Se cuantificó la insulina utilizando un kit de radioinmunoensayo específico para insulina de rata (Rat insulin Millipore, USA) y un contador de centelleo sólido Alfa nuclear modelo Cmos.

El índice HOMA-IR se calculó según la siguiente ecuación: $\text{Insulinemia en ayunas (mU/l)} \times \text{Glucemia (mg/dl)} / 405$ (16).

Las muestras de hígado se trataron en un homogeneizador Potter-Elvehjahn, se extrajeron los lípidos con cloroformo/metanol y se cuantificaron gravimétricamente después de la evaporación de la mezcla de solventes (17).

Los triacilglicerol y el colesterol hepáticos se determinaron con los mismos procedimientos analíticos empleados para los lípidos plasmáticos.

Análisis estadístico

Los resultados, que se informan como media $\pm$ desviación estándar, se analizaron con el test de ANOVA. Se utilizó el paquete estadístico Prism 3.0 y se consideraron diferencias estadísticamente significativas a un nivel de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Biomasa, panículos adiposos, consumo de alimento y eficiencia. (Tabla 3)

La evolución del peso corporal de los animales fue semejante en los tres grupos. La diferente calidad de la grasa dietaria no afectó la ganancia de peso y al final del experimento la biomasa no difirió significativamente. Tampoco difirió el depósito de grasa abdominal: el peso de los panículos adiposos perigonadales y retroperitoneales no mostró diferencias ($p > 0,05$).

Parámetros plasmáticos (Tabla 4)

Los valores de glucosa basal en sangre fueron igualmente altos en los tres grupos, no así la insulina circulante. Tal como se ve reflejado en el índice HOMA-IR, la dieta JB provocó una RI significativamente mayor que la dieta AIN ($p < 0,05$). Con la dieta JBn-3 se manifestó una disminución de la RI que no logró ser significativa ya que los animales de este grupo no alcanzaron los valores de HOMA-IR del grupo control.

Las concentraciones de colesterol plasmático no difirieron entre los grupos, pero sí lo hicieron los valores de triacilglicerolemia que fueron significativamente mayores para el grupo JB. Los animales con la dieta JBn-3, a diferencia del resto mostraron una concentración de triacilglicerol

TABLA 3. Biomasa final, panículos adiposos, consumo acumulado de alimento y eficiencia de los animales según la dieta recibida.*

	AIN	JB	JBn-3
Biomasa final (g)	425,0 $\pm$ 39,4 a	418,0 $\pm$ 24,5 a	412,5 $\pm$ 23,2 a
Peso relativo panículos	6,82 $\pm$ 1,37 b	7,25 $\pm$ 0,55 b	7,18 $\pm$ 0,62 b
Consumo alimento (g)	2081 $\pm$ 132 c	2162 $\pm$ 101 c	2251 $\pm$ 75 c
Eficiencia	10,4 $\pm$ 0,8 d	9,7 $\pm$ 0,9 d	9,2 $\pm$ 1,6 d

AIN: dieta recomendada por el American Institute of Nutrition, 1993. JB: dieta AIN con grasa bovina en lugar de aceite de girasol. JB n-3: dieta JB + aceite de pescado.

*Media $\pm$ desviación estándar; n=7; letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

TABLA 4. Parámetros plasmáticos de los animales según la dieta recibida.*

	AIN	JB	JBn-3
Glicemia (mg/dL)	249,8 ± 40,9 a	245,1 ± 23,2 a	264,4 ± 43,3 a
Insulinemia (pmol/L)	390,5 ± 173,2 b	695,2 ± 211,5 c	532,0 ± 133,0 c
HOMA-IR	42,1 ± 10,8 d	68,6 ± 18,2 e	56,5 ± 8,9 de
Colesterolemia (mg/dL)	184,7 ± 24,9 f	147,4 ± 17,7 f	143,1 ± 10,7 f
Triacilglicerolemia (mg/dL)	190,2 ± 95,5 g	238,7 ± 78,8 g	126,4 ± 41,0 h
GOT - ASAT (UI/L)	84,5 ± 14,2 i	86,0 ± 16,7 i	101,7 ± 28,9 i
GPT - ALAT (UI/L)	33,5 ± 4,8 j	33,3 ± 7,7 j	31,9 ± 7,9 j

AIN: dieta recomendada por el American Institute of Nutrition, 1993. JB: dieta AIN con grasa bovina en lugar de aceite de girasol. JB n-3: dieta JB + aceite de pescado.

*Media ± desviación estándar; n=7; letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05)

en sangre significativamente inferior a las de los otros dos grupos (p<0,05).

Las concentraciones plasmáticas de las aminotransferasas ASAT y ALAT no difirieron estadísticamente entre los grupos.

Grasa total, colesterol y triacilglicerolos hepáticos (Tabla 5)

Los lípidos hepáticos analizados fueron todos más altos en el grupo JB, difiriendo estadísticamente de los del grupo JBn-3 (p<0,05).

TABLA 5. Grasa total, colesterol y triacilglicerolos hepáticos de los animales según la dieta recibida.*

	AIN	JB	JBn-3
Grasa total (g/100g)	2,52 ± 0,44 a	3,59 ± 0,62 b	1,45 ± 0,32 ab
Colesterol (mg/100g)	118,1 ± 28,7 c	206,8 ± 47,3 d	97,2 ± 18,4 cd
Triacilglicerolos (mg/100g)	605,8 ± 113,3 e	1171,0 ± 239,2 f	490,1 ± 180,4 eg

AIN: dieta recomendada por el American Institute of Nutrition, 1993. JB: dieta AIN con grasa bovina en lugar de aceite de girasol. JB n-3: dieta JB + aceite de pescado.

*Media ± desviación estándar; n=7; letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

DISCUSIÓN

La interacción compleja entre los factores genéticos y los ambientales como condicionante de patologías tales como la obesidad y sus comorbilidades, se vio una vez más reflejada en este trabajo: en las ratas de la línea IIMb/Beta, el desorden metabólico, puesto de manifiesto aún con el alimento AIN, se expresó en diferente grado dependiendo de la composición de la dieta.

En discordancia con Priego et al (18), quienes proponen un sobreconsumo provocado por los ácidos grasos saturados de la dieta -atribuido a la inhibición que éstos producirían sobre los receptores largos de leptina a nivel hipotalámico- el consumo de alimento fue semejante en los tres grupos. El aumento de la biomasa fue igual en los tres grupos; por ello el cálculo de la eficiencia de conversión del alimento fue similar en todos los animales y evidenció igual palatabilidad y capacidad de saciación de las dietas.

Existe consenso en que la diferente sensibilidad de los tejidos a la acción de la insulina se vincula con la composición lipídica de la membrana de sus células, por lo que una baja concentración de AGPI n-3 de cadena larga en las mismas podría ser responsable de la sensibilidad disminuida (19). En concordancia con esto, la dieta rica en ácidos grasos saturados provocó -tal como lo revelan los valores de HOMA-IR- un aumento de la RI propia de la línea así como de la hiperinsulinemia compensadora (20). Este efecto, generado por el reemplazo de los lípidos de la Dieta AIN por ácidos grasos saturados (Dieta JB), fue atenuado cuando se incorporaron los AGPI n-3 (Dieta JBN-3).

Diversos autores han reportado que la incorporación de AGPI n-3 a la dieta logra reducir el nivel de triacilglicerol plasmáticos, probablemente por incremento de la beta-oxidación y disminución consecuente de la lipogénesis de novo (21-23). Coincidiendo con los estudios tanto sobre animales de

experimentación como en humanos, en nuestra investigación el agregado de AGPI n-3 disminuyó la triacilglicerolemia -aún la potenciada por el agregado de ácidos grasos saturados- llevándola a un nivel normal e incluso inferior al alcanzado por el grupo alimentado con la Dieta AIN.

El desarrollo de esteatosis se considera el factor predisponente más reproducible para la enfermedad grasa no alcohólica del hígado (EHGNA) y el de primera aparición. Este signo, ya incluido en la definición del SM está estrechamente relacionado con la obesidad y la RI (24,25). Su manifestación en la línea de ratas Beta fue atenuada por la adición de los AGPI n-3 de aceite de pescado a la dieta que incluso ejercieron una acción preventiva al provocar un depósito de lípidos hepáticos menor que la dieta control.

La promoción del empleo de los AGPI n-3 en el tratamiento de la EHGNA tanto en animales de experimentación como en humanos no solo se ha fundamentado en la disminución del depósito hepático de grasa sino también en la atenuación de marcadores enzimáticos (26). En este experimento, sin embargo, no se encontraron alteraciones en los niveles de ASAT ni de ALAT indicando que no alcanzó a alterarse la función hepática en ninguno de los grupos.

CONCLUSIONES

La incorporación de AGPI n-3 de aceite de pescado a la dieta demostró efectos beneficiosos sobre algunas de las manifestaciones del síndrome metabólico, siendo particularmente destacable la acción sobre la esteatosis hepática, con posible prevención de su avance hacia estadios de mayor gravedad.

La respuesta de este modelo murino de obesidad y diabetes espontáneas respalda las recomendaciones internacionales acerca de la importancia de las intervenciones dietarias como estrategia para la prevención de la obesidad

y la terapéutica de enfermedades crónicas no transmisibles de alta prevalencia en la actualidad.

AGRADECIMIENTOS

A Wiener Lab. SAIC por la provisión de los equipos de diagnóstico bioquímico.

A la Universidad Nacional de Rosario por el subsidio otorgado.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS), Obesidad y Sobrepeso, Nota N° 311. Junio de 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>. [Acceso: 03/05/2017].
2. Tercera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades no Transmisibles http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000544cnt2015_09_04_encuesta_nacional_factores_riesgo.pdf [Acceso: 03/05/2017].
3. Evert A, Boucher J, Cypress M, Dunbar S, Franz M, Mayer Davis J et al. Nutrition Therapy Recommendations for the Management of Adults with Diabetes. *Diabetes Care*. 2014; 37, Supplement 1, S120–S143.
4. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega 3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Adv. Nutr* 2012; 3 (1) 1-7.
5. Mozzafarian D, Wu JH. (n-3) fatty acids and cardiovascular health: are effects of EPA and DHA shared or complementary? *J Nutr*. 2012; 142 (3): 6145-255.
6. Ebbenson SO, Adler AI, Risica PM, Ebbenson LO, Yeh J, Go OT. Cardiovascular disease and risk factors in three Alaskan Eskimo populations: the Alaska-Siberia Project. *Int J Circumpolar Health*. 2005 64 (4):365-86.
7. Castellanos L, Rodríguez M. El efecto de omega-3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev Chil Nutr*. 2015; 42: (1) 90-95.
8. Simopoulus AP. Omega 3/Omega 6 essential fatty acids: biological effects. *World Rev Nutr Diet*. 2009 99:1 -16
9. Calder P. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr*. 2012; 142 (3): 592-599.
10. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123:1930–1951
11. Festing M. Abbreviated list of inbred strains of rats. In: Lion Litho Ltd (Eds.) *International Index of Laboratory Animals*. Carlshalton, Surrey, U.K. 1993; 56-67.
12. Calderari S, González A, Gayol MC. Spontaneous hypertriglyceridemic obesity and hyperglycemia in an inbred line of rats. *Int J Obes*. 1987; 11: 571–579.
13. Posadas Marta Delia. Tesis Doctoral: “Efecto a largo plazo de distintas dietas sobre el cuadro de obesidad y los perfiles glucídico y lipídico de ratas de la línea obesa Beta”. Doctorado en Ciencias Biomédicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario, 2004.
14. Olguin MC, Posadas MD, Revelant GC, Marinozzi DO, Labourdette VB, Zingale MI, Venezia MR. Milk improved the metabolic syndrome in obese Beta rats. *MEDICINA (Buenos Aires)*. 2014; 74: 24-28.
15. Código Alimentario Argentino. Ley 18284 Capítulo VII Artículo 543 - (Res 2012, 19.10.84). http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp [Acceso: 25/09/2017].
16. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-9
17. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *JBiol Chem*. 1957; 226: 497–509.
18. Priego T, Sánchez J, Palou A, Picó C. Effect of high-fat diet feeding on leptin receptor expression in white adipose tissue in rats: depot- and sex-related differential response. *Genes Nutr*. 2009; 4: 151-6.
19. Sanhueza J, Valenzuela A. Nutrigenómica: revelando los aspectos moleculares de una nutrición personalizada. *Rev Chil Nutr*. 2012. Vol. 39, (1): 71-85.
20. Calderari S, Posadas M, Gayol MC, Picena JC, Figueroa N. Hiperinsulinemia moderada y

- resistencia a la insulina endógena en ratas Beta genéticamente obesas. *Medicina (Buenos Aires)* 1989; 49:5, 422.
21. Lorente Cebrián S, Costa AG, Navas-Carretero S, Zabala M, Martínez JA, Moreno-Aliaga JA. Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a review of the evidence. *J Physiol Biochem.* 2013; Sept 69 (3) 633-51.
 22. Puglisi MJ, Hasty AH, Saraswathi V. The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. *J Nutr Biochem.* 2011, 22 (2): 101-8.
 23. De Castro GS and Calder PC Non alcoholic fatty liver disease and its treatment with n-3 polyunsaturated fatty acids. *Clin Nutr.* 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2017.01.006>
 24. Farese Jr RV, Zechner R, Newgard CB, Walther TC. The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Cell Metab.* 2012; 15:570-3.
 25. Musso G, Gambino R, Bo S, Uberti B, Biroli G, Pagano G, Cassader M. Should NAFLD be Included in the Definition of Metabolic Syndrome? *Diabetes Care.* 2008; 31:562–568.
 26. Obika M, Noguchi H. Diagnosis and evaluation of non alcoholic fatty liver disease. *Exp Diabetes Research.* 2012 doi: 10.1155/2012/145754

Recibido: 11-07-2017
Aceptado: 10-10-2017