

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto del consumo de huevo con alto contenido en $\omega 3$ y huevo común sobre el perfil lipídico de ratas en crecimiento

Fernandez, Ines¹; Impa Condori, Anabel¹; Huertas Rodríguez, Carlos¹; Mambrin, María Cecilia¹; Giacomino, María Silvia²; Pellegrino, Néstor²; Slobodianik, Nora¹; Feliu, María Susana^{1*}.

¹Cátedra de Nutrición, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Cátedra de Bromatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Contacto: Feliu, María Susana; Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires; Junín 956 piso 2, Ciudad Autónoma de Buenos Aires; msfeliu@ffyb.uba.ar

Resumen

Introducción: los ácidos grasos $\omega 3$ (AG $\omega 3$) son considerados protectores de la salud cardiovascular. **Objetivo:** se estudió el efecto que provocan dietas suplementadas con huevo enriquecido en AG $\omega 3$ sobre el perfil lipídico sérico de ratas. **Materiales y métodos:** ratas Wistar, al destete, recibieron durante 10 días: a)- dieta de caseína conteniendo como fuente lipídica aceite de soja 15 Kcal /100 Kcal dieta (grupo control C), b)- dieta a) suplementada con 22% de huevo liofilizado enriquecido en $\omega 3$ (grupo H $\omega 3$) y c)- dieta a) suplementada con 22% de huevo común liofilizado (grupo H). Las dietas aportaron el resto de los nutrientes según AIN-93. Al finalizar, en suero se determinaron triglicéridos (TG), colesterol total (CT) y colesterol-HDL (HDL) y se calculó colesterol-LDL (LDL). En ambas variedades de huevo, se determinó la composición centesimal y el perfil de ácidos grasos. **Resultados:** perfil lipídico sérico (mg%, $X \pm DE$): CT C: 65,73 \pm 13,74 H $\omega 3$: 95,27 \pm 7,26* H: 89,82 \pm 12,08*; TG C: 62,71 \pm 18,79 H $\omega 3$: 49,13 \pm 15,63 H: 45,63 \pm 14,39; HDL: C: 21,24 \pm 4,61 H $\omega 3$: 27,51 \pm 2,47 H: 24,61 \pm 2,87; LDL: C: 33,52 \pm 11,66 H $\omega 3$: 57,94 \pm 7,50 H: 56,08 \pm 10,12 (* $p < 0,01$). Ambas variedades de huevo son parecidas en su composición; el suplementado presenta un 35% más de AG $\omega 3$. En H $\omega 3$ y H, el CT y LDL son mayores que en C ($p < 0,01$). Sólo H $\omega 3$ mostró tendencia de aumento con respecto a C en HDL ($p < 0,05$). No se observaron diferencias en los triglicéridos. **Conclusiones:** a pesar de la suplementación, los resultados sugieren la importancia de la matriz alimentaria a la hora de diseñar un alimento.

Palabras clave: huevo, ácidos grasos omega 3, suplementación, modelo experimental, lípidos.

Abstract

Introduction: $\omega 3$ fatty acids are considered protectors of cardiovascular health. **Objective:** To study the effect of diets supplemented with egg enriched in $\omega 3$ on the rat serum lipid profile. **Materials and methods:** Weaning Wistar rats received: a) casein diet containing soybean oil 15 Kcal /100 Kcal diet (Control diet, C), b) control diet supplemented with 22 % of dried egg enriched in $\omega 3$ (group H $\omega 3$) and c) control diet supplemented with 22% of dried common egg (group H) for 10 days. Diets provided all nutrients according to AIN-93. Then, serum triglycerides (TG), Total cholesterol (CT) and Cholesterol-HDL (HDL) were determined and cholesterol-LDL (LDL) were calculated. In both egg-enriched diets, the centesimal composition and fatty acid profiles were determined. **Results:** Both egg-enriched diets were similar in their composition, with the H $\omega 3$ diet presenting 35% more $\omega 3$. The serum lipid profile (mg%, $X \pm SD$) was: CT C: 65.73 \pm 13.74 H $\omega 3$: 95.27 \pm 7.26* H: 89.82 \pm 12.08*; TG C: 62.71 \pm 18.79 H $\omega 3$: 49.13 \pm 15.63 H: 45.63 \pm 14.39; HDL C: 21.24 \pm 4.61 H $\omega 3$: 27.51 \pm 2.47 H: 24.61 \pm 2.87; LDL: C: 33.52 \pm 11.66 H $\omega 3$: 57.94 \pm 7.50 H: 56.08 \pm 10.12 (* $p < 0.01$). In H $\omega 3$ and H, CT and LDL were higher than in C ($p < 0.01$). Only H $\omega 3$ showed a tendency towards increasing HDL levels comparing to C ($p < 0.05$). No differences in triglycerides were observed. **Conclusions:** Despite the supplementation, the results suggest the importance of the food matrix when designing a functional food.

Key words: egg, $\omega 3$ fatty acids, lipid profile, supplementation, experimental model, lipids.

Introducción

Los ácidos grasos son un grupo muy heterogéneo de moléculas que presentan diversas características fisicoquímicas, bioquímicas y fisiológicas, que forman los llamados triglicéridos. Desde el punto de vista nutricional es muy importante identificar la familia a la que pertenece un ácido graso; por ejemplo, el $\omega 9$ puede ser formado en los seres humanos a través de enzimas (elongasas y desaturasas) o partir de otros ácidos grasos, pero por el contrario, el organismo humano y el animal carecen de la enzima que incorpora dobles enlaces en posición anterior al C9 para sintetizar los ácidos grasos $\omega 6$ y $\omega 3$ ¹. Por esta razón a los ácidos grasos $\omega 9$ se los considera no esenciales, a diferencia de los ácidos grasos $\omega 6$ y $\omega 3$, que son esenciales, porque el organismo humano no posee las vías metabólicas para sintetizarlos; esto significa que deben ser provistos por la dieta en una determinada cantidad y proporción^{1,2}. FAO–OMS recomienda que por cada parte de ácidos grasos $\omega 3$ aportados por la dieta, deberían consumirse de 5 a 10 partes de $\omega 6$. En la mayoría de los países industrializados de occidente, como es el caso de Argentina, se consume una dieta muy desequilibrada en favor de los ácidos grasos $\omega 6$ [relación $\omega 6/\omega 3 = 20:1$]³.

El tipo y la cantidad de lípidos que ingiere habitualmente el hombre tienen un efecto directo tanto en la concentración de los lípidos plasmáticos como en el de las distintas lipoproteínas. Cuanto más distorsionada sea la relación $\omega 6/\omega 3$, más elevados serán los niveles de lipoproteínas aterogénicas, que incrementarán significativamente el riesgo coronario, por esto se considera que el efecto de los ácidos grasos $\omega 3$ sobre el metabolismo de los lípidos es predominantemente antiaterogénico.

A nivel mundial, durante los últimos años, ha aumentado la aparición de enfermedades no transmisibles (ENT), como consecuencia de la alimentación poco saludable y la falta de actividad física, representando uno de los mayores desafíos del siglo XXI para la salud y el desarrollo, tanto por el daño humano que provocan como por los perjuicios que ocasionan en el entramado socioeconómico de los países. En la tabla I se resumen las principales recomendaciones sobre la ingesta de lípidos publicada en el informe de la consulta de expertos de OMS/FAO del año 2003⁴.

Se ha podido determinar en varias investigaciones que los lípidos que conforman la dieta modifican el perfil lipídico sérico en humanos y que, en particular, los ácidos grasos $\omega 3$ son considerados protectores de la salud cardiovascular al disminuir los niveles plasmáticos de triglicéridos por la inhibición tanto de la lipoproteína de baja densidad (LDL) como la síntesis de triglicéridos en hígado⁵; asimismo favorecen la producción de la lipoproteína de alta densidad (HDL) que mejora el metabolismo del colesterol disminuyendo sus niveles en sangre, previniendo de esta manera la agregación plaquetaria, las arritmias y mejorando la microcirculación⁶⁻⁸.

El desarrollo económico y las mayores expectativas de vida, sumados a la mayor información disponible a través de la tecnología, motivan una mayor preocupación por la salud

y la alimentación de diferentes grupos de la población. Estos cambios han influido en el desarrollo de los alimentos funcionales (AF), de los nutraceuticos (NT) y de los FOSHU (*Food with Specific Health Uses*) en varios países del mundo, principalmente en aquellos de mayor desarrollo económico. AF y NT son conceptos diferentes; los AF son alimentos a los cuales se les ha incrementado o incorporado un componente cuyo consumo representa un determinado beneficio en salud, sin que el producto deje de ser un alimento; por otro lado, un NT es un concepto más complejo, ya que no se trata de alimentos sino de componentes de éstos que se pueden consumir en mayores concentraciones que las habituales; tampoco son medicamentos, pues no se les atribuyen propiedades terapéuticas pero sí, potencialmente preventivas. FOSHU es un concepto de alimentación con fines medicinales exclusivo de Japón⁹.

Dentro de la categoría de alimentos funcionales, encontramos, por ejemplo, aquellos que presentan alto contenido en ácidos grasos de la familia $\omega 3$ ¹⁰. En la actualidad, existen muchos alimentos disponibles en el mercado enriquecidos con éstos que forman parte de los llamados alimentos funcionales. Esta categoría de alimentos son los que presentan el mayor crecimiento tanto en número como en variedad en Europa y Estados Unidos¹¹. A pesar de la intención de los empresarios de innovar con este tipo de productos, muchos de ellos han tenido que ser retirados del mercado, por una baja demanda por parte de los consumidores y también, por el surgimiento de nuevas regulaciones estatales que representan serias dificultades para las pequeñas y medianas industrias. Los ejemplos actuales de alimentos enriquecidos con $\omega 3$ están constituidos principalmente por los lácteos, bebidas de soja, jugos, carnes frías, flan, pasta de maní, aceitunas, galletitas, huevos y formulas infantiles, cuyo desarrollo e incorporación en el mercado representa un gran desafío¹².

Dentro de los alimentos enriquecidos con $\omega 3$, los huevos de gallina son los que se encuentran con mayor disponibilidad, por ser uno de los alimentos nutricionalmente más completos para un adecuado crecimiento y desarrollo. El huevo enriquecido con ácidos grasos $\omega 3$ se logra a través de la alimentación que se les proporciona a las gallinas; dicha alimentación presenta altos niveles de aceite de pescado, semillas de lino o chía y en consecuencia, estos ácidos grasos se incorporan a la yema del huevo; de esta manera esta clase de producto presenta un mayor contenido en $\omega 3$ que un huevo común; esto constituye una buena estrategia para generar valor agregado al huevo que beneficia tanto a los consumidores como a los avicultores¹³⁻¹⁸.

Considerando todo lo expuesto y en virtud de la trascendencia en los últimos años de la importancia de la cantidad, tipo y equilibrio de los lípidos en la dieta en relación con el avance de enfermedades cardiovasculares y obesidad, el objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la administración, al destete y durante 10 días, de dietas completas en nutrientes según AIN 93 y suplementadas con huevo enriquecido en ácidos grasos $\omega 3$ y con huevo común, sobre el perfil lipídico en suero de ratas en período de crecimiento.

Materiales y métodos

1- Animales de experimentación

Para el estudio se utilizaron ratas de la cepa Wistar, de ambos sexos, bien nutridas durante la lactancia (6-8 crías por madre), las cuales se destetaron al llegar a un peso entre 40 a 45 gramos (21-23 días de edad). Las mismas pertenecían a la colonia cerrada del bioterio de la Cátedra de Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

En todas las experiencias se controlaron las condiciones ambientales del bioterio a lo largo de todo el período experimental:

- la temperatura se mantuvo a $21 \pm 1^\circ\text{C}$, mediante equipos de aire acondicionado y estufas,
- se proporcionó un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, mediante interruptor automático,
- la humedad promedio registrada fue de aproximadamente 65-70%.

Las ratas utilizadas se alojaron individualmente en jaulas de acero galvanizado de piso de malla. Cada grupo se distribuyó en forma vertical en las estanterías, para independizar el consumo de alimento de los animales de la influencia de la temperatura a las diferentes alturas de las jaulas. De esta forma, se dividió a las ratas en 4 grupos de 8 en los que fueron alimentadas con las distintas dietas experimentales durante 10 días.

De las formas de alimentación utilizadas comúnmente en nutrición experimental, se ha seleccionado para este trabajo la técnica de alimentación "ad libitum", en la que se ofrece a los animales una cantidad de dieta superior a la que pueden consumir. Se determinó la ingesta voluntaria después de un lapso determinado, por pesada remanente, y se calculó el consumo de dieta (g/día). El agua se ofreció a libre demanda en todo el período experimental.

2- Dietas experimentales

Preparación y composición: se prepararon dietas, según recomendaciones internacionales. Se utilizó la composición de una dieta de crecimiento, recomendada para etapa post destete, período en que transcurre la experiencia¹⁹.

Las ratas fueron alimentadas durante 10 días con dieta de caseína conteniendo como fuente lipídica aceite de soja (15 Kcal/100Kcal de dieta) (grupo C), dieta 1 suplementada con 22% de huevo liofilizado con alto contenido en $\omega 3$, para aportar 24 mg de ácidos grasos $\omega 3$ por día (grupo H $\omega 3$) y dieta 1 suplementada con 22% de huevo común liofilizado (grupo H).

3- Diseño experimental

Las ratas fueron alimentadas desde el destete con las diferentes dietas experimentales. Al finalizar la experiencia los animales fueron mantenidos en ayuno durante 3-4 horas, posteriormente, fueron pesados y anestesiados intraperitonealmente con ketamina/clorhidrato de xilazina y luego se les extrajo sangre entera por punción cardíaca. El suero se separó por centrifugación.

4- Metodología

4.1- Determinaciones en las dietas

- Liofilización de los huevos: los huevos a emplear en el estudio fueron liofilizados para garantizar que la mezcla fuera homogénea (liofilizador LABCONCO).
- Determinación de la composición centesimal del huevo $\omega 3$ y huevo común (liofilizados): se realizó el análisis de la composición centesimal de los huevos $\omega 3$ y del huevo común, determinándose la concentración de proteínas, materia grasa, humedad y cenizas. Todos los procedimientos se realizaron siguiendo la metodología especificada por la AOAC (2000).
- Determinación de proteínas: se siguió la metodología AOAC 984.13 – 17ª edición (método de Kjeldahl), empleando factor de conversión de nitrógeno 6,25 para establecer el contenido en proteína. La mezcla catalizadora utilizada fue K₂S₂O₄:Se (100:1).
- Determinación de materia grasa: se estableció el porcentaje de grasa, mediante hidrólisis ácida, siguiendo el método AOAC 925.032 – 17ª edición.
- Determinación del contenido de humedad: para establecer el contenido de humedad se utilizó un método indirecto por secado en estufa a 100°C (AOAC 934.01 – 17ª edición). La humedad se determinó por diferencia de peso y se expresó en porcentaje.
- Determinación del contenido de cenizas: se estableció el contenido porcentual de cenizas por calcinación en mufla a 550°C, siguiendo la metodología AOAC 942.05 – 17ª edición.
- Determinación de ácidos grasos de la dieta control, huevo $\omega 3$ y huevo común: se determinó el perfil de AG de la dieta de caseína por cromatografía gaseosa (CG), previa derivatización, según la Norma IRAM 5650 Parte II. Se utilizó un cromatógrafo Clarus 500 Marca Perkin Elmer, con una columna Supelco SP 2560 100 m x 0,25 mm x 0,20 μm y detector FID a 280°C, empleando Helio como gas transportador.
- A partir de los cromatogramas, se calcularon las relaciones $\omega 6/\omega 3$, AGPI/AGS y $\{([AGPI]+[AGM])/AGS\}$ ^{20,21}.
- Determinación de colesterol en los liofilizados de huevos $\omega 3$ y huevo común: se realizó por extracción y saponificación de solventes (metanol, cloroformo, hexano) con posterior dosaje de colesterol mediante método enzimático con kit comercial Wiener (Rosario, Argentina)

4.2- Determinaciones en suero

Perfil lipídico en suero: se determinó Colesterol Total (CT) (mg/dL), TG (mg/dL) y HDL-Colesterol (HDL) (mg/dL), aplicando métodos enzimáticos (Reactivos Laboratorios Wiener: Colestat Enzimático AA líquida, TG Color GPO/PAP AA líquida y HDL Colesterol Monofase AA plus). Las determinaciones se realizaron en equipo automatizado Konelab 60i, Laboratorios Wiener. La fracción LDL-Colesterol (LDL) se determinó por cálculo, aplicando la ecuación de Friedewald²².

$$\text{LDL} = \text{CT} - (\text{TG}/5 + \text{HDL})$$

Tabla I. Metas de ingesta de lípidos para la población.

| | Recomendaciones de la OMS/FAO (porcentaje de la energía total dietaria) |
|--|---|
| Grasas totales | 15 - 30% |
| Ácidos grasos poliinsaturados | 6 - 10 % |
| Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ | 5 - 8% |
| Ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ | 1 - 2% |
| Ácidos grasos saturados | < 10 % |
| Ácidos grasos monoinsaturados | Por diferencia ^a |
| Ácidos grasos trans | < 1 % |

► ^aSe calcula como: grasas totales – (ácidos grasos saturados + ácidos grasos poliinsaturados + ácidos grasos trans).

5- Análisis estadístico de los resultados

Para el análisis de la información obtenida se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) y a posteriori el test de Turkey del programa estadístico InStat3. Se consideraron significativas las diferencias de medias con un $p < 0,01$ ²³.

Consideraciones éticas

Este trabajo se desarrolló dentro del marco del proyecto UBACYT "Efecto de la suplementación con diferentes fuentes de ácidos grasos omega 3 en dietas con distinto perfil lipídico sobre órganos y suero de rata en crecimiento", que fue aprobado por el comité de ética (CICUAL) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA (Res (CD) N° 3194/2015)

Resultados

1- Dietas

Se determinó la composición de los dos tipos de huevos utilizados en la experiencia, a fin de establecer las diferencias en su composición.

En la tabla II se muestra la composición de los huevos empleados en las dietas experimentales H $\omega 3$ y H.

El análisis centesimal mostró que ambas variedades presentan gran semejanza en su composición, sin embargo y como era de esperar, el huevo $\omega 3$ presentó aproximadamente un 35% más de ácidos grasos de la familia omega 3 y un 18% más de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) que los huevos comunes.

La concentración de ácidos grasos en las dos variedades de huevo es la siguiente (g%): H $\omega 3$: Linoleico: 6,35; alfa-Linolénico: 0,52; Araquidónico: 0,59; DHA: 0,58 y H: Linoleico: 8,37; alfa-Linolénico: 0,39; Araquidónico: 0,75; DHA: 0,33.

El contenido de colesterol en los huevos liofilizados, expresado como mg/g de varias muestras analizadas, fue en el huevo común de $8,36 \pm 0,60$ y en el huevo $\omega 3$ de $8,99$

Tabla II. Composición de las dos variedades de huevos liofilizados.

| Composición centesimal | H $\omega 3$ gr % | H gr % |
|------------------------|-------------------|--------|
| Proteínas | 50,2 | 51,8 |
| Materia Grasa | 36,7 | 37,2 |
| AGS | 11,6 | 12,8 |
| AGMI | 16,6 | 14,0 |
| AGPI | 8,4 | 10,3 |
| AG Trans | 0,1 | 0,1 |
| AG $\omega 3$ | 1,1 | 0,7 |
| Humedad | 2,5 | 3,1 |
| Cenizas | 3,4 | 3,4 |

► H $\omega 3$, huevo enriquecido en $\omega 3$; H, huevo; AGS, ácidos grasos saturados; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados; AGPI, ácidos grasos poliinsaturados; AG Trans, ácidos grasos trans; AG $\omega 3$, ácidos grasos $\omega 3$.

$\pm 1,90$ no encontrándose diferencias significativas entre ellos.

2- Consumo de dieta

En la tabla III se presenta el consumo de las diferentes dietas de los lotes experimentales y control. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la cantidad de dieta consumida entre los lotes experimentales.

3- Perfil lipídico sérico

En la figura 1 se presentan los valores del perfil lipídico sérico de lotes experimentales y control. Los grupos H $\omega 3$ y H presentan valores de colesterol total y LDL estadísticamente mayores que C ($p < 0,01$). Los grupos alimentados con dieta suplementada con huevo $\omega 3$ vs huevo común, no mostraron, entre ellos, diferencias estadísticamente significativas en los niveles de colesterol total. Tampoco se observaron entre los distintos grupos diferencias estadísticas en la concentración de triglicéridos.

Sólo el grupo H $\omega 3$ mostró aumento significativo en los valores de HDL ($p < 0,01$), respecto del grupo control.

Discusión

La composición de las dos variedades de huevo difiere fundamentalmente en el aporte de $\omega 3$, siendo 35% mayor el contenido en el huevo enriquecido, a consecuencia de la alimentación que recibieron las gallinas. La fracción de ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ fue menor en el huevo común. El contenido de colesterol no difirió significativamente en las dos variedades.

Las dietas tuvieron una buena aceptación por parte de las ratas y el consumo promedio expresado como g/día de los dife-

Tabla III. Consumo de dieta en los grupos experimentales expresados como $X \pm D.E.$

| Grupo Experimental | Consumo (g/día). |
|--------------------|------------------|
| H $\omega 3$ | 7,50 \pm 1,90 |
| H | 7,78 \pm 2,32 |
| C | 7,74 \pm 2,70 |

► H $\omega 3$, huevo enriquecido en $\omega 3$; H, huevo; C, control.

rentes grupos no difiere del grupo control.

Las dietas suplementadas con huevo común y huevo enriquecido en $\omega 3$, incrementaron los niveles de CT y LDL. Los niveles de HDL y TG fueron similares en todos los grupos; ésto sugeriría que la dieta experimental a base de caseína sería la responsable de la variación en el perfil lipídico en los animales alimentados con estas dietas. Estos hallazgos coinciden con numerosos trabajos que han demostrado que tanto las dietas ricas en ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans como la ingesta de altos niveles de colesterol, elevan los niveles de LDL y CT^{24,25}.

Algunos trabajos en humanos han demostrado que la sustitución isoenergética de ácidos grasos saturados por ácidos grasos poliinsaturados redujo las concentraciones de CT y LDL en sangre en ayunas, mientras que los niveles de HDL y TG se mantuvieron sin cambios²⁶.

En este trabajo, los grupos experimentales no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de triglicéridos con respecto al control.

Los resultados muestran que el agregado de ácidos grasos $\omega 3$ a través de una matriz alimentaria (huevo) puede interactuar y afectar tanto en forma positiva como negativa el perfil lipídico sérico.

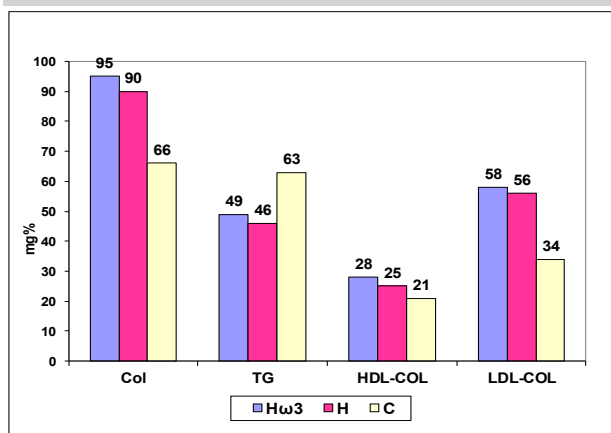
Sobre la base de lo observado, se podría considerar que el huevo enriquecido no es un alimento apto para usarse como vehículo de ácidos grasos $\omega 3$, ya que éste por naturaleza contiene niveles elevados de colesterol²⁷; ésto constituye un efecto antagónico entre la matriz del alimento, la cual proporciona esos niveles de colesterol; y por otro lado, en esfuerzo y costo, al enriquecer el huevo con ácidos grasos $\omega 3$. Es importante resaltar que la población interesada en consumir alimentos enriquecidos con $\omega 3$ constituye muchas veces la que presenta mayor riesgo de tener niveles elevados de colesterol.

Por esto y a pesar del beneficio que podrían proporcionar los alimentos con alto contenido en ácidos grasos $\omega 3$, los resultados de este trabajo realizado en modelo experimental sugieren que es necesario tener en cuenta la matriz alimentaria en el diseño de los mismos.

Referencias bibliográficas

- Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J Am Col Nutr* 2004; 23: 281-302.

Figura 1. Perfil lipídico sérico.



► H $\omega 3$, huevo enriquecido en $\omega 3$; H, huevo; C, control.

- Kang JX. Balance of omega-6/omega-3 essential fatty acids is important for health. The evidence from gene transfer studies. *World Rev Nutr Diet* 2005; 95: 93-102.
- Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 438-63.
- Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. Report of Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series, 916. Geneva. Switzerland. 2003.
- De Caterina R, Liao JK, Libby P. Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(1Suppl): 213S-23S.
- Nestel PJ. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(1Suppl): 228S-31S.
- López Farré A, Macaya C. Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. *Rev Esp Cardiol* 2006; Supl(6): 31D-7D.
- Piñero-Corrales G, Lago Rivero N y Culebras-Fernández JM. Papel de los ácidos grasos omega-3 en la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Nutr Hosp* 2013; 28(1): 1-5.
- Valenzuela AB, Valenzuela R, Sanhueza J y Morales GI. Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Rev Chil Nutr* 2014; 41(2): 198-204.
- Valenzuela RB, Morales GI, González MA, Morales JP, Sanhueza JC y Valenzuela AB. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga $\omega 3$ y enfermedad cardiovascular. *Rev Chil Nutr* 2014; 41(3): 319-27.
- Sloan, E. Top ten functional food trends. *Food Technol* 2006; 4: 22-40.
- Jacobsen C. Enrichment of foods with omega-3 fatty acids: a multidisciplinary challenge. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 141-50. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05263.x.
- García C, Cornejo S, Albala C. Enriched eggs for human consumption and the feeding pattern of layers. In:

- Watson R (ed). Eggs and Health Promotion. Iowa State Press, Ames, USA, 2002; Pp 155-170.
14. Betancourt L, Díaz G. Enriquecimiento de huevos con ácidos grasos omega-3 mediante la suplementación con semilla de lino (*linum usitatissimum*) en la dieta. Rev MVZ Córdoba 2009; 14(1): 1602-10.
 15. Rouhani MH, Rashidi-Pourfard N, Salehi-Abargouei A, Karimi M, Haghghatdoost F. Effects of Egg Consumption on Blood Lipids: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. J Am Coll Nutr 2018; 37(2): 99-110. doi: 10.1080/07315724.2017.1366878.
 16. Dussaillant C, Echeverría G, Rozowski J, Velasco N, Arteaga A, Rigotti A. Egg intake and cardiovascular disease: a scientific literature review. Nutr Hosp 2017; 34(3): 710-18. doi: 10.20960/nh.473.
 17. Clayton ZS, Fusco E, Kern M. Egg consumption and heart health: A review. Nutrition 2017; 37: 79-85. doi: 10.1016/j.nut.2016.12.014.
 18. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. Annu Rev Food Sci Technol 2018. doi: 10.1146/annurev-food-111317-095850.
 19. Reeves Philip G. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. The J Nutr 1997; 127(5): 838S-41S.
 20. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. J Lipid Res 1986; 27(1):114-20.
 21. Rodríguez-Palmero M, Lopez-Sabater MC, Castellote-Bargallo AI, De la Torre-Boronat MC, Rivero-Urgell M. Comparison of two methods for the determination of fatty acid profiles in plasma and erythrocytes. J Chromatogr A 1997; 778(1-2): 435-9.
 22. Friedewald WT, Levy RI and Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18(6): 499-502.
 23. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo YC. InfoStat Versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL. <http://www.infostat.com.ar>.
 24. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, Pedersen TR, La-Rosa JC, Nestel PJ et al. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins. JAMA 2012; 307(12):1302-09.
 25. Fats and Fatty Acids in Human in Nutrition. Joint FAO/WHO Expert Consultation November 10-24, Geneva, Switzerland. 2008.
 26. New dietary reference intakes in the Netherlands for energy, proteins, fats and digestible carbohydrates. Eur J Clin Nutr 2004; 58(1): 191-4.
 27. Carbajal A. Calidad nutricional de los huevos y relación con la salud. Rev Nutr Práctica 2006; 10: 73-76.