

# RELACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6/OMEGA 3

## Omega 6/Omega 3 Fatty Acid Ratio

Zury Dominguez (1)

---

### Resumen

La relación de ácidos grasos (AG) $\omega 6/\omega 3$  de la dieta contemporánea favorece a los AG  $\omega 6$ . El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dietas con cantidades crecientes de aceite de pescado (AcP), rico en AG  $\omega 3$ , sobre el crecimiento y las variables hematológicas de ratas macho recién destetadas de la cepa Sprague-Dawley. Los animales consumieron por un período de 31 días dietas que contenían AcP o aceite de ajonjolí (AcA) incorporado a 5, 10 ó 15% (pxp). Se observó un déficit del crecimiento como de la ingesta de alimento en los grupos que consumieron AcP. La concentración de hemoglobina (Hb) disminuyó en relación al incremento (>5% ppx) del AcP dietario. Siendo el AcP una fuente pobre de AG  $\omega 6$ , planteamos que la deficiencia parcial de la serie poliénoica  $\omega 6$  que resultó al incrementar las cantidades de AcP dietario pueden afectar el crecimiento y la eritropoyesis.

Palabras claves: aceite de pescado, relación ácidos grasos omega 6/omega 3, crecimiento, eritropoyesis, ratas Sprague-Dawley

### Abstract

The  $\omega 6/\omega 3$  fatty acid (FA) ratio of our contemporary diet favors  $\omega 6$  over  $\omega 3$  FA. The object of the study was to evaluate the effect of increasing amounts of dietary fish oil, rich in  $\omega 3$  FA, on growth and hematological variables of the weanling male Sprague-Dawley rat. Animals were fed diets containing either fish oil (FO) or sesame oil (SO) at 5, 10 or 15% (w/w) for 31 d. Growth retardation and reduced food intake was observed in groups fed FO. Hemoglobin (Hb) concentration diminished when the dietary FO was above 5% (w/w). FO is a poor source of  $\omega 6$  fatty acids. We postulate that a partial deficiency in  $\omega 6$  polyenic family, is a consequence of the increasing amounts of FO in the diets, that may affect growth and erythropoiesis. In this report we show evidence supporting the hypothesis that diets enriched with fish oil can alter normal growth and induced hematological changes in the male weanling rat.

Key words: fish oil, omega 6/omega 3 ratio, growth, erythropoiesis, Sprague-Dawley rats

---

Recibido: 29/06/2015 Aceptado: 02/11/2015

**Declaración de conflicto de interés de los autores:** la autora declara no tener conflicto de intereses

1. Farmaceúta. MSc. Phd. Profesor Titular. Cátedra de Patología General y Fisiopatología Escuela de Medicina Luis Razetti. Laboratorio de Biología Celular del Endotelio. Sección de Lipidología IME-UCV. email: zuryanadd@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a los hallazgos de la antropología nutricional, el ser humano evolucionó consumiendo una dieta con una relación de ácidos grasos esenciales (AGE)  $\omega 6/\omega 3$  igual a 1, en contraposición, en la dieta occidental se alcanzan valores que van de 15-20:1. La elevada relación  $\omega 6/\omega 3$ , característica de la dieta occidental, dista marcadamente de la del homínido, momento en el que se selecciona el patrón genético del humano<sup>(1,2)</sup>. La alta relación de AGs  $\omega 6/\omega 3$  propia de la dieta de nuestros días, se ha vinculado al aumento en la frecuencia de varias enfermedades crónicas típicas de la sociedad occidental, incluyendo, la enfermedad cardiovascular, el cáncer, la inflamación crónica y enfermedades autoinmunes. Por el contrario, una baja relación de AGs  $\omega 6/\omega 3$  tiene un efecto protector contra estas condiciones<sup>(3)</sup>.

Si bien, los AGs  $\omega 6$  y  $\omega 3$  de cadena larga ( $\geq 20C$ ) definen el patrón de eicosanoides y docosanooides<sup>(4)</sup>, influyen sobre la expresión de genes<sup>(5,6)</sup>, participan en la comunicación intercelular<sup>(7)</sup>; la composición de AGs en los fosfolípidos (FL) de membrana depende en gran medida de la ingesta dietaria, de allí, que cantidades apropiadas de estos AGE deben considerarse al hacer recomendaciones dietarias.

## Descripción del estudio

Los modelos animales han permitido evaluar el efecto de modificar drásticamente la oferta dietaria de AG  $\omega 6/\omega 3$  sobre tejidos de crecimiento rápido, éstos, exigen la presencia de AGE para la formación de membranas. En este sentido, se estudió el efecto del consumo de dietas con cantidades crecientes de aceite de pescado, que proveen una baja relación  $\omega 6/\omega 3$ , sobre la función de crecimiento, la hematopoyética, y la composición de AG de los lípidos en los compartimientos estructural (FL) y de transporte (colesterol y triacilglicéridos plasmáticos)<sup>(8,9)</sup>. Como ya mencionamos, es bien conocido que la composición de los FL de

membrana depende de la oferta dietaria de AG<sup>(10-12)</sup>. En el mamífero, el ácido araquidónico (AA) es el componente preferencial de la posición sn-2 de los FL de membrana, desplazarlo al favorecer la oferta del microambiente celular en AG  $\omega-3$ , representa una estrategia para estudiar la función de estas dos familias de AGE. Para ello, usando dietas semipurificadas, con base a la recomendada por el American Institute of Nutrition<sup>(13)</sup>, se alimentaron ad libitum por treinta y un días, cuarenta y ocho ratas de la cepa Sprague Dawley recién destetadas provenientes del Bioterio del Instituto de Medicina Experimental de la Universidad Central de Venezuela. Las dietas se formularon para contener 5, 10 y 15 % p/p de aceite de pescado (AcP) o aceite de ajonjolí (AcA) usado como control; y se estudiaron las variables de crecimiento y hematológicas como reflejo de la proliferación y diferenciación celular que se le exige a un mamífero en la fase de crecimiento rápido.

El peso promedio de los animales fue 50 g y se distribuyeron al azar en seis grupos de ocho animales c/u. El peso corporal y el consumo de alimento fue rigurosamente registrado durante el período experimental, a cuyo fin, se tomaron las muestras de sangre y de los tejidos hígado y riñón.

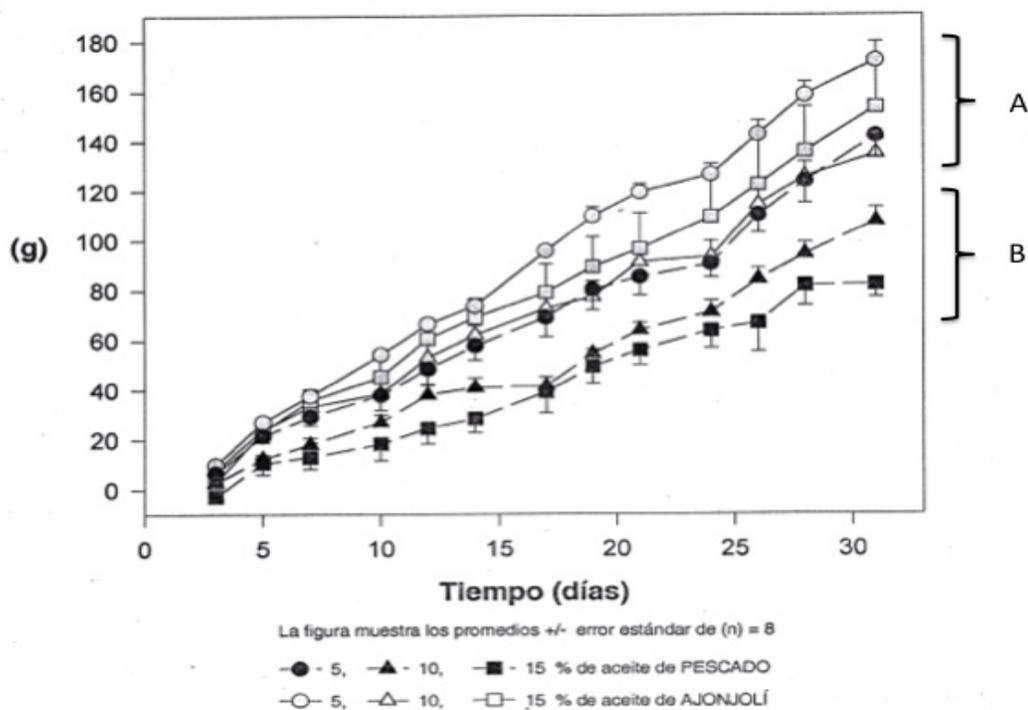
La Tabla 1, muestra la composición de AGs en los aceites usados en la preparación de las dietas, la relación  $\omega 6/\omega 3$  aportada por las dietas de AcP fue 0,07; mientras que las preparadas con AcA no contenían AG  $\omega-3$ .

La curva de crecimiento (Figura 1), muestra claramente, que el aumento de la concentración dietaria de AcP incidió negativamente sobre el crecimiento. Este efecto fue marcado en los animales alimentados con la dieta a 15% de AcP, formulación que condujo a la pérdida de peso durante los tres primeros días del tratamiento dietario. La disminución de crecimiento en los animales alimentados con las dietas AcP, fue del orden del 20% en los grupos P5 y P10; y de 46% en el grupo P15 ( $p < 0,05$ ) comparado con los controles respectivos A5, A10 y A15, alimentados con las

Tabla 1. Composición de Ácidos Grasos de los Aceites (masa %)

NOMBRE	ÁCIDO GRASO	ACEITE DE PESCADO	ACEITE DE AJONJOLÍ
	< 16:0	36,4	0,1
Palmitico	16:0	16,8	10,1
Estearico	18:0	2,3	3,4
Oleico	18:1 ω-9	9,4	38,5
Linoleico	18:2 ω-6	1,5	48,0
alfa-Linolénico	18:3 ω-3	3,0	---
Araquidónico	20:4 ω-6	0,8	---
Eicosapentaenoico	20:5 ω-3	22,2	---
Docosahexaenoico	22:6 ω-3	8,1	---

Figura 1. Efecto de la concentración de aceite de pescado y de ajonjolí sobre la curva de crecimiento.



dietas AcA. Es de resaltar, que al aumentar la concentración del AcA, el crecimiento disminuyó. En este sentido, es bien conocido que la rata ajusta su ingesta energética con el aumento de la densidad calórica de la dieta(14,15). De acuerdo a esto, el consumo de alimento disminuyó al aumentar la concentración del AcA de 5 a 10 y 15%; sin embargo, la eficiencia de la dieta se mantuvo considerándose adecuada la tasa de crecimiento. Por el contrario, las dietas con AcP provocaron una mayor reducción del consumo afectando marcadamente el crecimiento en los grupos P10 y P15, lo que queda reflejado en la Figura 1 que muestra dos grupos de curvas, uno con crecimiento normal y eficiencia dietaria similar, Grupo A (A5, A10, A15 y P5) y un par de curvas que muestran un claro retraso de la tasa de crecimiento, Grupo B (P10 y P15). Este retardo del crecimiento pue-

de asociarse tanto a la restricción voluntaria del consumo, particularmente marcada en los grupos P10 y P15, como a la ingesta crónica de dietas no balanceadas. En este sentido, la adecuación dietaria de AG  $\omega_6$  para los grupos AcP no cubrió el requerimiento debido a la muy baja relación de AG  $\omega_6/\omega_3$  de estas dietas.

Al determinar las variables hematológicas, al final del período experimental, se observa que la concentración de hemoglobina (Hb), el valor hematocrito (Ht) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), en los animales alimentados con el AcA se mantuvo dentro del rango normal descrito para este mamífero(16); por el contrario los resultados obtenidos en los grupos AcP muestran una marcada disminución ( $p < 0,05$ ) en estas variables cuando el AcP superó el 5% en la dieta, Tabla 2.

Tabla 2. Efecto de la concentración del aceite de pescado y de ajonjolí sobre las variables hematológicas

	Porcentaje del Aceite en la dieta		Aceite de Pescado		Aceite de Ajonjolí	
	(%)	(n)				
<b>HEMOGLOBINA (g/dL)</b>	5	8	12,1 ± 0,2 <sup>a</sup>		13,1 ± 0,7	
	10	8	9,8 ± 0,4 <sup>b*</sup>		13,1 ± 1,1	
	15	8	10,1 ± 0,3 <sup>b*</sup>		13,9 ± 0,3	
<b>HEMATOCRITO (%)</b>	5	8	38,3 ± 0,6 <sup>a</sup>		40,0 ± 1,9	
	10	8	32,7 ± 1,3 <sup>b*</sup>		38,4 ± 1,2	
	15	8	32,8 ± 1,8 <sup>b*</sup>		42,3 ± 0,7	
<b>CHCM (%)</b>	5	8	32,6 ± 0,6 <sup>a</sup>		35,0 ± 0,9	
	10	8	29,4 ± 0,9 <sup>b*</sup>		33,9 ± 1,0	
	15	8	30,6 ± 1,4 <sup>b*</sup>		33,1 ± 0,3	

La tabla muestra los promedios +/- error estándar de (n) = 8 ratas usadas en cada tratamiento dietario.  
<sup>a,b</sup> = indican las diferencias entre las dietas con Aceite de Pescado al 5, 10 y 15% (p/p), prueba de Duncan (p < 0,05).  
<sup>\*</sup> = indica la diferencia entre las dietas con Aceites de Pescado y Ajonjolí al mismo porcentaje del aceite, t- Student (p < 0,05).

## Discusión

El estudio demuestra que cuando el AcP aporta más del 20 % de las calorías totales, interfiere con la eritropoyesis provocando un síndrome anémico inducido por las dietas al 10 y 15% de AP (p/p). Aunque los resultados no permiten descartar que haya ocurrido algún grado de hemólisis; es conocido que el AcP favorece las propiedades reológicas al aumentar la deformabilidad eritrocitaria(17,18). Otro aspecto que se cubrió fue la suplementación de las dietas con 2 mg Vit. E/g de AG poliinsaturado (AGPI) y considerando que los AG  $\omega$ 3 son capaces de inducir los sistemas enzimáticos antioxidantes<sup>(19,20)</sup>, la posibilidad de hemólisis es poco probable.

Uno de los factores que claramente conduce a una disminución de la eritropoyesis es la baja disponibilidad de hierro (Fe). Teniendo en cuenta que en el experimento no ocurrió sangramiento, la biodisponibilidad del Fe dietario debe considerarse, en particular, cuando como en este caso la fuente dietaria es Fe no-Hem. La absorción del Fe no-Hem está sujeto a distintas interacciones tanto con los macro- y micronutrientes como con otras sustancias presentes en la dieta que pueden, aumentar o disminuir su absorción. Los trabajos de Layrisse M son pioneros en ese sentido<sup>(21-23)</sup>. Aunque las dietas experimentales son semi purificadas (AIN 76), el AcP pudo haber interferido con la absorción; sin embargo, la literatura indica, por una parte que el grado de instauración de los AG no parece tener un efecto marcado sobre la absorción del metal; y por la otra que la absorción aumenta con el incremento de grasa<sup>(24,25)</sup>, aún más recientemente se ha demostrado que el AcP aumenta la absorción de hierro<sup>(26,27)</sup>. Asimismo, el consumo de proteína se vió afectado al aumentar la densidad calórica de las dietas, particularmente en los grupos que consumieron las dietas con AcP (P10 y P15). Sin embargo, se ha descrito en ratas Sprague Dawley, sometidas a dietas limitantes en proteína, que las variables hematológicas se mantienen dentro del rango normal, incluso con formulaciones dieta-

rias que sólo ofrecen 5% de proteína<sup>(28)</sup>; por ello otra causa distinta a la disminución en la ingesta proteica puede ser la responsable del síndrome anémico observado en estos animales. En ese sentido, en relación a los lípidos, el requerimiento de AG  $\omega$ 6 fue marginalmente cubierto con las dietas AcP, en efecto, las dietas P5, P10 y P15 aportaron 0,22, 0,42 y 0,60 % del total de la energía dietaria como ácido linoleico (AL), respectivamente. Este aporte es inferior al 1 % de las calorías totales sugerido por Holman como requerimiento<sup>(29)</sup>. Sobre esta base, es posible que la anemia sea consecuencia de una inhibición general en la formación de nuevos tejidos en animales en período de crecimiento rápido como una consecuencia de la deficiencia parcial del AL precursor del AA. Además, se ha demostrado que el AcP, dado su alto contenido de 20:5  $\omega$ 3 y 22:6  $\omega$ 3 inhibe la delta 6 y 5 desaturasas, enzimas responsables de la síntesis de AA a partir del AL(30-32). La restricción en la ingesta de AL con las dietas altas en  $\omega$ 3 podría alterar la proliferación celular particularmente en aquellos tejidos que tiene una alta mitosis como la médula ósea. De hecho, una observación común, usando protocolos de suplementación con AcP en humanos<sup>(33-35)</sup>, ha sido la disminución del conteo plaquetario llegando inclusive, al menos en un caso extremo, a marcada trombocitopenia y anemia, como el descrito por Sinclair HM en su famoso estudio sobre si mismo, al someterse al consumo de una dieta esquimal a base de foca, pescado y agua durante 100 días consecutivos<sup>(36,37)</sup>.

La deficiencia relativa de  $\omega$ 6 cobra una enorme importancia especialmente en animales en período de crecimiento rápido que presentan una gran demanda para la formación de nuevas membranas celulares. En este sentido, hay suficientes evidencias, in vivo e in vitro, sobre el efecto inhibitor de los  $\omega$ 3 sobre la proliferación celular<sup>(38)</sup>. Entre los mecanismos de inhibición propuestos se implican "receptores de AG" acoplados a una proteína G inhibitoria<sup>(39)</sup>, la regulación negativa de la expresión de ciclinas E<sup>(40)</sup>, la inhibición de la producción de IL2 y de su receptor, la producción de

especies reactivas de oxígeno<sup>(41)</sup>, el aumento de la expresión del gen supresor de tumor p53, la producción de prostanoïdes de la serie 3<sup>(42)</sup>. Sin embargo, es importante señalar que otros autores<sup>(43)</sup>; aunque consistente en el efecto inhibitor de la síntesis de citocinas muestran aumento de la proliferación en células Raji (línea linfoblástica derivada del linfoma de Burkitt), asimismo, recientemente Yu-Dong Qiu y col. (2012)<sup>(44)</sup>; demuestran en un modelo murino la regeneración hepática luego de realizar una hepatectomía mayor (90%) que se relacionó con un aumento significativo de las citocinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10, y la vía de señalización mediada por el factor de transcripción STAT3 y la proteína kinasa Akt.

Aunque no se estudiaron los FL de membrana eritrocitaria, la disminución de los AG  $\omega 6$  en los FL de los compartimientos plasmáticos y hepáticos nos permitió inferir que el contenido de  $\omega 6$  en los FL de las células madres hematopoyéticas pudiese haber sido limitante. Sin embargo, contrario a lo descrito por De Schrijver R y col., (1982) y otros autores<sup>(45,46)</sup>; los animales en las dietas con AcP mantuvieron la capacidad de elongar y desaturar el LA a AA a pesar de la alta concentración de EPA (22%) en el AcP (Tabla 1), asimismo se observó la elongación y desaturación del EPA a DHA<sup>(8)</sup>.

Con este estudio se demuestra que una relación dietaria  $\omega 6/\omega 3$  que conduzca a la deficiencia parcial de la familia polienólica  $\omega -6$ , afecta el crecimiento y la eritropoyesis. Estas evidencias resaltan la importancia que tiene mantener un adecuado balance de las familias de AGE.

En ese orden de ideas, sabemos que la introducción masiva en la dieta humana de alimentos altamente procesados y derivados de animales y plantas muy seleccionados por procedimientos genéticos, ha conducido a una modificación sustancial de la relación de los AG  $\omega 6/\omega 3$ , de nuestra dieta contemporánea hasta el punto que en nuestros días, como mencionamos, se encuentra muy por encima de 10 (2). Este predominio de la se-

rie  $\omega 6$  en detrimento de la serie  $\omega 3$  se considera que puede ser muy inconveniente para el proceso del desarrollo de estructuras que como el sistema nervioso central requieren del suministro de AGPI (>20C) en una adecuada proporción. Los resultados discutidos muestran la importancia de mantener adecuado el suministro de ambas familias de AG  $\omega 6$  y  $\omega 3$  para mantener una apropiada síntesis de proteínas y la función hematopoyética. Es bien conocido, que la composición de AG de los FL de plasma, eritrocitos y plaquetas refleja los AG mayoritario de la dieta. De hecho, la composición de AG eritrocitario refleja el tipo de grasa que se ha consumido en los últimos 3 meses, este hecho permitió establecer un nuevo biomarcador de riesgo cardiovascular, el llamado índice omega 3<sup>(47)</sup>, que no es más que la suma de los AG  $\omega 3$  (EPA + DHA), presentes en la membrana eritrocitaria expresada como porcentaje del total de AG del eritrocito. Cuando el índice es < 4%, es indicador de alto riesgo cardiovascular, un valor entre 4-8% representa un riesgo intermedio y si es  $\geq 8\%$  indica bajo riesgo cardiovascular.

## REFERENCIAS

1. Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 1985;312:283-9.
2. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother* 2006;60:502-7.
3. Simopoulos AP. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. *Food Rev Int* 2004;20: 77-90.
4. Sabater J, Masclans JR, Sacanell J, Chacon P, Sabín P y Planas M. Effects of an omega-3 fatty acid-enriched lipid emulsion on eicosanoid synthesis in acute respiratory distress syndrome (ARDS): A prospective, randomized, double-blind, parallel group study. *Nutr Metab* 2011; 8: 22.

5. Deckelbaum RJ, Worgall TS y Seo T. n-3 fatty acids and gene expresión. *Am J Clin Nutr* 2006;8:1520S-1525.
6. Clarke SD, Armstrong MK y Jump DB. Dietary polyunsaturated fats uniquely suppress rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA content. *J Nutr* 1990;120:225-31.
7. Brix S, Lund P, Kjaer TM, Straarup EM, Hellgren LI y Frøkiaer H. CD4(+) T-cell activation is differentially modulated by bacteria-primed dendritic cells, but is generally down-regulated by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Immunology* 2010;129:338-50.
8. Dominguez Z. Influencia de la relación  $\omega-6/\omega-3$  sobre la eritropoyesis. Trabajo de ascenso. 1995 Biblioteca Humberto Garcia Arocha. Facultad de Medicina-UCV.
9. Dominguez Z, Bosch V. Dietary Fish Oil Affects Food Intake, Growth and Hematologic Values of Weanling Rats. *Arch Latinoam Nutr* 1994;44:92-97.
10. Yamamoto A, Isozaki M, Hirayama K y Sakai Y. Influence of dietary fatty acids on phospholipid fatty acid composition in subcellular particles of rat liver. *J Lipid Res* 1965;6:295-300.
11. Pan DA, and Storlien LH. Dietary lipid profile is a determinant of tissue phospholipid fatty acid composition and rate of weight gain in rats. *J Nutr* 1993;123:512-9.
12. Field CJ, Ryan EA, Thomson AB y Clandinin MT. Diet fat composition alters membrane phospholipid composition, insulin binding, and glucose metabolism in adipocytes from control and diabetic animals. *J Biol Chem* 1990;265:11143-50.
13. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr* 1977;107:1340-8.
14. Delorme CB y Wojcik. Interaction of Dietary Protein with Cellulose in the Adaptation to Caloric Dilution by Weanling Rats. *J Nutr* 1982;112:21-8.
15. Treit D and Spetch ML. Caloric regulation in the rat: control by two factors. *Physiol Behav.* 1986;36:311-7.
16. Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Fischer 344 Rats-CDF® (F-344)CrIBR as a Function of Sex and Age. 1984 [http://www.criver.com/techdocs/84jan\\_tb/t84tab05.htm](http://www.criver.com/techdocs/84jan_tb/t84tab05.htm).
17. Woodcock BE, Smith E, Lambert WH, Jones WM, Galloway JH, Greaves M y Preston FE. Beneficial effect of fish oil on blood viscosity in peripheral vascular disease *Br Med J* 1984;288:592-4.
18. Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita T y Tamura Y, Kumagai A. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis* 1983;46:321-31.
19. Chandrasekar B and Fernandes G. Decreased pro-inflammatory cytokines and increased antioxidant enzyme gene expression by omega-3 lipids in murine lupus nephritis. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;200:893-8.
20. Joulain C, Prigent AF, Nemoz G and Lagarde M. Increased glutathione peroxidase activity in human blood mononuclear cells upon in vitro incubation with N-3 fatty acids. *Biochemical pharmacology* 1994;47:1315-1323.
21. Cook JD, Layrisse M, Martinez-Torres C, Walker R, Monsen E and Finch CA. Food Iron Absorption Measured by an Extrinsic Tag. *J Clin Invest.* 1972; 51: 805-815.
22. Layrisse M, Martínez-Torres C and Roche M. Effect of interaction of various foods on iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1968;21:1175-1183.
23. Layrisse M, Cook JD, Martinez C, Roche M, Kuhn IN, Walker RB y Finch CA. Food iron absorption: a comparison of vegetable and animal foods. *Blood* 1969;33:430-443.
24. Johnson PE, Lukaski HC y Bowman TD. Effects of level and saturation of fat and iron level and

- tipe in the diet on iron absorption and utilization by the rat. *J Nutr* 1987;117:501-7.
25. Bowering J, Masch GA and Lewis A R. Enhancement of Iron Absorption in Iron Depleted Rats by Increasing Dietary Fat. *J. Nutr* 1977;107: 1687- 1693.
26. Rodríguez MC, Sáiz MP and Mitjavila MTA. Sardine oil-rich diet increases iron absorption but does not compensate the hypoferremia associated with inflammation. *Lipids*. 2003;38(8):821-6.
27. Navas-Carretero S, Perez-Granados AM, Sarria B, Carbajal A, Pedrosa MM, Roe MA, Fairweather-Tait SJ and Vaquero MP. Oily Fish Increases Iron Bioavailability of a Phytate Rich Meal in Young Iron Deficient Women. *J Am Coll Nutr* 2008;27:96-101.
28. Edozien JC and Switzer BR. Effects of Dietary Protein, Fat and Energy on Blood Hemoglobin and Hematocrit in the Rat. *J. Nutr* 1977; 107: 1016-1021.
29. Holman RT. The ratio of trienoic: tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J. Nutr* 1960; 70: 405-10.
30. De Schrijver R and Privett OS. Effects of dietary long-chain fatty acids on the rat biosynthesis of unsaturated fatty acids in the rat. *J Nutr*. 1982;112:619-26.
31. Garg ML, Thomson AB and Clandinin MT. Effect of dietary cholesterol and/or omega 3 fatty acids on lipid composition and delta 5-desaturase activity of rat liver microsomes. *J Nutr* 1988;118:661-8.
32. Garg ML, Sebokova E, Thomson AB and Clandinin MT. Delta 6-desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or omega 3 fatty acids. *Biochem J* 1988;249:351-6.
33. von Houwelingen R, Nordøy A, van der Beek E, Houtsmuller U, de Metz M and Hornstra G. Effect of a moderate fish intake on blood pressure, bleeding time, hematology, and clinical chemistry in healthy males. *Am J Clin Nutr* 1987;46:424-36.
34. Lorenz R, Spengler U, Fischer S, Duhm J and Weber PC. Platelet function, thromboxane formation and blood pressure control during supplementation of the Western diet with cod liver oil. *Circulation* 1983;67:504-11.
35. Saynor R, Verel D and Gillott T. The long-term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, platelets and angina. *Atherosclerosis* 1984;50:3-10.
36. Sinclair HM. The relative importance of essential fatty acids of the linoleic and linolenic families: studies with an Eskimo diet. *Prog Lipid Res*. 1981;20:897-9.
37. Marine oils and platelet function in man. *Nutr Rev*. 1984;42:189-91.
38. Gabor H and Abraham S: Effect of dietary menhaden oil on tumor cell loss and the accumulation of mass of a transplantable mammary adenocarcinoma in Balb/c mice. *J Natl Cancer Inst* 1986;76:1223-9.
39. Sauer LA, Dauchy RT, Blask DE, Krause JA, Davidson LK and Dauchy EM. Eicosapentaenoic acid suppresses cell proliferation in MCF-7 human breast cancer xenografts in nude rats via a pertussis toxin-sensitive signal transduction pathway. *J Nutr* 2005;135:2124-9.
40. Zhang W, Long Y, Zhang J and Wang CJ. Modulatory effects of EPA and DHA on proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells. *Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2007;27:547-50.
41. Terada S, Takizawa M, Yamamoto S, Ezaki O, Itakura H and Akagawa KS. Suppressive mechanisms of EPA on human T cell proliferation. *Microbiol Immunol* 2001;45:473-81.
42. Yuri T, Danbara N, Tsujita-Kyutoku M, Fukunaga

- K, Takada H, Inoue Y, Hada T and Tsubura A. Dietary docosahexaenoic acid suppresses N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary carcinogenesis in rats more effectively than eicosa-pentaenoic acid. *Nutr Cancer*. 2003;45:211-7.
43. Verlengia R, Gorjão R, Kanunfre CC, Bordin S, de Lima TM, Martins EF, Newsholme P and Curi R. Effects of EPA and DHA on proliferation, cytokine production, and gene expression in Raji cells. *Lipids*. 2004;39:857-64.
44. Yu-Dong Qiu, Sheng Wang, Yue Yang, and Xiao-Peng Yan. Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote liver regeneration after 90% hepatectomy in rats. *World J Gastroenterol*. 2012;18:3288–3295.
45. Garg ML, Sebokova E, Thomson AB, Clandinin MT. Delta 6-desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or omega 3 fatty acids. *Biochem J* 1988;249:351-6.
46. Garg ML, Thomson AB, Clandinin MT. Effect of dietary cholesterol and/or omega 3 fatty acids on lipid composition and delta 5-desaturase activity of rat liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;153:422-7
47. Harris WS, Von Schacky C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev Med* 2004;39:212-20.