



Incorporación salival y plasmática de ácidos grasos luego de su ingesta inmediata en ratas

Salivary and plasmatic incorporation of fatty acids after their immediate intake in rats

Combina Herrera César N¹, Escandriolo Nackauzi Jorge D², Actis Adriana B¹

¹ Cátedra B de Anatomía, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

² Cátedra de Anatomía General, Carrera de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Adventista del Plata. Libertador San Martín, Entre Ríos, Argentina.

Abstract

Objective: the aim of this study was to analyze salivary and plasma fatty acid (FA) levels after their immediate intake in rats. **Methods:** 6 adult male Wistar rats were fed on commercial diet until the 12th week of life, in which it was replaced by a laboratory diet containing corn oil (6%) as a lipid source (linoleic 18:2 n-6 FA). At 12 and 24 hours after the diet change, rats were anesthetized and salivary secretion was induced by an intraperitoneal injection of isoproterenol / pilocarpine (5 mg/kg each) before their sacrifice. Total saliva (S) was collected for 20 min by using intraoral cotton rolls. Blood was obtained (cardiac puncture) to separate plasma (P) (centrifugation). S and P lipids were extracted for FA methylation and analysis by gas chromatography - mass spectrometry. Spearman correlation and linear regression coefficients ($p \leq 0.05$) were applied. **Results:** 18:2 n-6 FA was detected in S and P at 12 and 24 hours, being higher at 24 hours and in P. A higher number of FA was also found at 12 and 24 hours both in P than in S. 24/12 hour concentration ratios in S were 16:0 (1.20); 16:1 (1.65); 18:0 (0.33); 18:1 n-9 (1.55); 18:2 n-6 (1.70); 20:4 n-6 (1.20) and 22:6 n-3 (1.19) and in P: 16:0 (0.49); 16:1 (4.84); 18:0 (3.43); 18:1 n-9 (3.14); 18:2 n-6 (1.75); 20:4 n-6 (0.52) and 22:6 n-3 (0.73). A significant positive correlation between S and P 16:1 n-9 FA and a high regression between 16:0; 16:1 n-9 and 18:0 salivary/plasma FA was found. **Conclusion:** this preliminary study showed that the 18:2 n-6 FA intake is rapidly reflected in rat S and P, with a time increase, and that there is a correlation between some FA of both fluids.

KEY WORDS: fatty acids, saliva, plasma.

Resumen

Objetivo: analizar los niveles de ácidos grasos (AG) salivales y plasmáticos luego de su ingesta inmediata en ratas. **Métodos:** 6 ratas *Wistar* machos adultos recibieron dieta comercial hasta la 12ª semana de vida, en que se la reemplazó por dieta de laboratorio con aceite de maíz (6%) como fuente lipídica (principal AG linoleico 18:2 n-6). A 12 y 24 hs del cambio de dieta las ratas fueron anestesiadas y, antes de su sacrificio, se indujo la secreción salival mediante inyección intraperitoneal de isoproterenol/pilocarpina (5 mg/kg de c/u). La saliva (S) total fue recolectada durante 20 min mediante rollos de algodón intrabucales. Se obtuvo sangre (punción cardíaca) para separar plasma (P) (centrifugación). Se extrajeron lípidos de S y P para metilación de AG y análisis por cromatografía de gas-espectrometría de masa. Se aplicaron coeficientes de correlación de Spearman y de regresión lineal ($p \leq 0,05$). **Resultados:** el AG 18:2 n-6 fue hallado en S y P a 12 y 24 hs, siendo mayor a 24 hs y en P. También se encontró un mayor número de AG en P que en S, a 12 y 24 hs. Los cocientes de concentraciones 24 hs/12hs en S fueron 16:0 (1,20); 16:1 (1,65); 18:0 (0,33); 18:1 n-9 (1,55); 18:2 n-6 (1,70); 20:4 n-6 (1,20) y 22:6 n-3 (1,19) y en P 16:0 (0,49); 16:1 (4,84); 18:0 (3,43); 18:1 n-9 (3,14); 18:2 n-6 (1,75); 20:4 n-6 (0,52) y 22:6 n-3 (0,73). Se observó una correlación positiva significativa entre AG 16:1 n-9 de S y P y una alta regresión entre AG 16:0; 16:1 n-9 y 18:0 salivales/plasmáticos. **Conclusión:** este estudio preliminar mostró que la ingesta del AG 18:2 n-6 se refleja rápidamente en S y P de ratas, con aumento en el tiempo, y que existe una correlación entre algunos AG de esos fluidos.

PALABRAS CLAVE: ácidos grasos, saliva, plasma

Received 17 April 2020; Received in revised form 20 August 2020; Accepted 10 November 2020

Introducción

Los lípidos poseen diversas funciones en los organismos vivos: son fuente de energía, constituyen membranas celulares, forman numerosas moléculas y aportan ácidos grasos (AG) esenciales¹. Los AG insaturados intervienen en el mantenimiento de la fluidez de la membrana celular, en la inhibición de procesos inflamatorios, en la disminución de la secreción de citoquinas proinflamatorias por monocitos/macrófagos² y, recientemente, se ha demostrado su utilidad como coadyuvante en la terapia periodontal³. Asimismo, los AG pueden relacionarse positivamente *-poliinsaturados-* o también negativamente *-saturados-* con el desarrollo de enfermedades no transmisibles estrechamente vinculadas con la alimentación tales como cáncer, trastornos cardiovasculares, etc.⁴⁻⁶.

La saliva desempeña un papel importante en el procesamiento de alimentos, la protección de tejidos blandos y duros de la cavidad bucal y en el mantenimiento de la salud sistémica^{7,8}. Al igual que otros procesos fisiológicos, la secreción salival no es constante ya que su volumen y composición varía en respuesta a las demandas del organismo. La saliva puede obtenerse por métodos sencillos, económicos y no invasivos y constituye un valioso fluido biológico para el análisis de biomarcadores, así como también para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de ciertas enfermedades^{9,10}.

La fisiología de las glándulas salivales puede ser afectada por diversos factores, tales como edad, dieta, enfermedades locales y sistémicas, los que producen modificaciones en el flujo, la secreción y la composición química de la saliva¹¹. En cuanto a la dieta, Alam y Shi (1997) reportaron que la deficiencia de AG esenciales inducida mediante la alimentación produce cambios en la composición de AG de las tres glándulas salivales principales de ratas, los cuales se reflejan en los lípidos totales de la saliva y del plasma. Defagó y col. (2018) observaron que las concentraciones salivales de AG n-3 y n-6 en humanos están relacionadas con la ingesta habitual de ciertos alimentos, en coincidencia con Furtado y col. (2019), quienes reportaron que los AG n-3, como el ácido alfa-linolénico, y los AG n-6, como el ácido linoleico, en plasma total pueden ser

empleados como biomarcadores de su ingesta dietaria. Existe escasa información acerca de la relación entre AG de saliva y plasma según el tiempo de ingesta dietaria. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar los niveles AG salivales y plasmáticos luego de su ingesta inmediata en ratas.

Métodos

Animales

Se utilizaron 6 ratas *Wistar* machos adultos adquiridas en el Instituto de Investigación “Mercedes y Martín Ferreyra” y mantenidas en el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), CONICET-Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba, Argentina. Los animales fueron alojados en jaulas separadas y en condiciones controladas de temperatura (23°C), humedad y ventilación, con ciclos de 12 horas de luz-oscuridad y recibieron alimento y agua *ad libitum*. El protocolo de trabajo experimental fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación en Salud (CIEIS) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (Protocolo # 12/2013).

Dieta

Luego del destete (3 semanas) todos los animales recibieron una dieta comercial estándar durante 12 semanas (Asociación Balanceado Cooperación, Gilardoni, H), con la siguiente composición nutricional centesimal: proteínas 23% extracto etéreo 5%, fibra cruda 6%, minerales totales 10%, calcio 1-1,4%, fósforo 0,5-0,8%, humedad 12%, cloro 0,3%, sodio 0,2%, potasio 0,7%, magnesio 0,2% y azufre 0,16%. Posteriormente, las ratas fueron alimentadas con una dieta elaborada en laboratorio durante 24 horas, cuya fuente lipídica fue el aceite de maíz (6%), rico en AG 18:2 n-6 (Tabla 1). Las dietas reunieron los nutrientes indispensables consignados en las necesidades nutricionales de animales de laboratorio¹⁵.

Las ratas fueron anestesiadas y sacrificadas a 12 (n=3) y a 24 (n=3) horas posteriores al inicio de la ingesta de la dieta elaborada en laboratorio.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos (AG) de las dietas

Ácidos grasos	Dieta comercial	Dieta maíz
14:0	0,82	0,03
16:0	17,54	12,21
16:1 n-9	2,18	0,12
18:0	0,09	1,93
18:1 n-9	32,62	31,95
18:2 n-6	35,55	51,26
18:3 n-3	3,19	0,88
22:0	Nd	0,16
24:0	Nd	0,15

Los valores se expresan en porcentaje de área (%á) (cromatografía de gas). Nd= No detectado.

Control de ingesta y peso corporal

El alimento prepesado (balanza NCI, sensibilidad 1g) fue colocado diariamente en el bolsillo metálico de la puerta de acceso de cada jaula entre las 09:00 y las 10:00 horas. La diferencia en peso (g) de alimento entre un día y el siguiente (restando el alimento no ingerido y los fragmentos encontrados en el piso de la jaula) fue considerada el valor de la ingesta diaria. El peso corporal de cada animal fue registrado semanalmente entre las 08:00 y 12:00 horas para obtener una curva de peso corporal.

Recolección de saliva y sangre

Los animales fueron anestesiados intra-peritonealmente con hidrato de cloral (0,6 g/kg de peso corporal). La temperatura corporal se mantuvo en 37,5 °C mediante una lámpara de luz caliente y su control se realizó mediante un termómetro ubicado en el recto del animal. Después de la anestesia, la secreción salival fue estimulada con pilocarpina intraperitoneal (5 mg/kg de peso) disuelta en agua destilada. La saliva total fue recolectada durante 20 minutos mediante pequeños rollos de algodón, colocados en carrillos, paladar y debajo de la lengua, los que

luego fueron centrifugados. La respuesta secretoria se expresó en µL de saliva por minuto. Posteriormente, se tomó una muestra de sangre (5 mL) por punción cardíaca con agujas y jeringas heparinizadas. El volumen total de sangre fue recolectado en tubos de hemólisis y centrifugado durante 10 minutos a 3000 rpm a fin de obtener el plasma sobrenadante. Las muestras salivales y plasmáticas fueron conservadas a -20 °C hasta su posterior procesamiento.

Al concluir los procedimientos de cada experimento, los animales fueron sacrificados mediante maniobras de dislocación cervical y almacenados en bolsas de residuos patógenos para su descarte.

Análisis de las muestras

Los lípidos totales de saliva y plasma fueron extraídos con cloroformo/metanol 2:1 (V/V) según técnica de Folch¹⁶. La fase inferior que contiene los lípidos fue recuperada y secada bajo atmósfera de nitrógeno.

La metilación de los AG fue realizada con metóxido de sodio. La fase superior, que contiene los metilésteres, fue recuperada y secada bajo atmósfera de nitrógeno. La separación, identificación y cuantificación de AG salivales y plasmáticos fue efectuada mediante cromatografía gaseosa-espectrometría de masa. Se utilizó un cromatógrafo marca Varian, modelo CP3800. La columna fue de 30 metros, 0,25 mm de diámetro interno, modelo HP5-MS, de Agilent. Este cromatógrafo permite la detección de compuestos en el orden de los picomoles. Los valores de AG son expresados como concentración de masa.

Análisis estadístico

Se presentan los valores medios de AG en saliva y plasma a diferentes tiempos de ingesta. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para analizar la asociación de los niveles de AG en saliva y plasma a 24 hs luego de la ingesta. Además, se aplicó el coeficiente de regresión lineal para evaluar la relación de dependencia entre los niveles salivales y plasmáticos de AG también a 24 hs. Se consideró un nivel de significación de $p \leq 0,05$. Se utilizó el programa estadístico Infostat¹⁷.

Resultados

La Tabla 2 muestra las medias de los niveles de AG en saliva y plasma a distintos tiempos de ingesta. El ácido linoleico 18:2 n-6 fue observado en ambos fluidos a 12 y 24 hs, siendo superior en este último y con mayores niveles en plasma que en saliva. En plasma de los dos grupos se halló un mayor número de AG, tanto de cadena corta como de cadena larga. Además, en plasma a 24 hs se observaron los AG 20:4 n-6 y 22:5 n-6, ambos provenientes del metabolismo del ácido linoleico. Los coeficientes de concentraciones 24 hs/12 hs observados en saliva y plasma fueron los siguientes: 16:0 (1,20); 16:1 (1,65); 18:0 (0,33); 18:1 n-9 (1,55); 18:2 n-6 (1,70); 16:0 (0,49); 18:0 (3,43); 18:1 n-9 (3,14).

Tabla 2. Perfil de AG salivales y plasmáticos a diferentes tiempos de ingesta

AG	Nivel salival		Nivel plasmático	
	12 hs	24 hs	12 hs	24 hs
14:0	Nd	Nd	Nd	413,866
14:1	Nd	Nd	251,293	Nd
16:0	460,403	552,893	243,859	233,683
16:1 n-9	206,112	436,774	214,051	823,277
18:2 n-6	351,902	552,894	460,400	678,877
18:0	106,641	354,466	290,637	712,541
18:1 n-9	348,212	542,374	107,850	459,638
20:4 n-6	Nd	Nd	Nd	367,869
22:5 n-6	Nd	Nd	Nd	380,768
22:6 n-3	Nd	Nd	Nd	354,922

AG: ácidos grasos. Los valores son expresados como concentración de masa y representan la media de cada AG por grupo de estudio (cromatografía gaseosa-espectrometría de masa). Nd= No detectado.

La Tabla 3 presenta los coeficientes de correlación entre los niveles de AG salivales y plasmáticos a 24 hs luego de su ingesta (tiempo en el que se registraron, en general, los valores más altos). Se observó una correlación positiva

significativa entre el AG 16:1 n-9 salival/16:1 n-9 plasmático. Por otra parte, se encontró una alta correlación positiva no significativa –aunque con valores cercanos al nivel de significación- entre los AG 16:1 n-9/18:0 en saliva; 18:1 n-9/18:2 n-6 en saliva; y 18:0 salival/18:0 plasmático.

Tabla 3. Correlación entre ácidos grasos G salivales y plasmáticos a 24 hs luego de su ingesta

Correlación Pearson	16:0/S	16:1 n-9/S	18:0/S	18:1 n-9/S	18:2 n-6/S	16:0P	16:1 n-9P	18:0P	18:1 n-9P	18:2 n-6P
16:0/S	1	0,64	0,55	0,13	0,21	0,10	0,59	0,49	0,89	0,29
16:1 n-9/S	0,54	1	0,08	0,77	0,85	0,54	0,05	0,15	0,47	0,34
18:0/S	0,64	0,99	1	0,68	0,77	0,46	0,04	0,06	0,55	0,26
18:1 n-9/S	0,98	0,36	0,48	1	0,08	0,23	0,72	0,62	0,76	0,42
18:2 n-6/S	0,945	0,232	0,357	0,992	1	0,311	0,803	0,704	0,681	0,507
16:0/P	-0,988	-0,662	-0,754	-0,937	-0,883	1	0,492	0,393	0,992	0,197
16:1 n-9/P	-0,6	-0,997	-0,998	-0,425	-0,304	0,716	1	0,099	0,516	0,296
18:0/P	-0,717	-0,973	-0,995	-0,561	-0,449	0,816	0,988	1	0,616	0,196
18:1 n-9/P	0,166	-0,741	-0,647	0,363	0,481	-0,013	0,689	0,568	1	0,812
18:2 n-6/P	-0,895	-0,858	-0,918	-0,786	-0,699	0,953	0,894	0,953	0,291	1

Nivel de significación: $p \leq 0,05$

En la Tabla 4 se presentan los coeficientes de regresión lineal entre los niveles de AG salivales y plasmáticos a 24 h luego de su ingesta. Se observó una alta regresión entre los AG salivales/plasmáticos 16:0; 16:1 n-9 y 18:0.

Tabla 4. Regresión lineal entre AG salivales y plasmáticos a 24 hs luego de su ingesta. AG: ácidos grasos

Regresión Lineal (R ²)	AG Salivales				
	16:0	16:1 n-9	18:0	18:1 n-9	18:2 n-6
16:0	0,97	-	-	-	-
16:1n-9	-	0,99	-	-	-
18:0	-	-	0,98	-	-
18:1n-9	-	-	-	0,13	-
18:2 n-6	-	-	-	-	0,49

Discusión

Este estudio preliminar tuvo como objetivo principal analizar, en ratas, los niveles de AG en saliva y plasma luego de su ingesta inmediata a dos tiempos diferentes, ya que no se ha hallado información al respecto. Se encontró que la ingesta del AG linoleico 18:2 n-6, principal AG del aceite de maíz, se refleja rápidamente en saliva y plasma de ratas, con un aumento en el tiempo. En este sentido, diferentes autores han reportado modificaciones en niveles de AG en diversos fluidos y tejidos con relación a su ingesta dietaria o mediante suplementos. Alam y Alam (1982) observaron que la naturaleza lipídica de la dieta afecta la composición de AG de la saliva parotídea y submandibular de monos, así como

Escandriolo Nackauzi y col. (2020) encontraron que la composición de AG de la glándula submandibular y el flujo salival en ratas varían según los AG aportados por la dieta y el tiempo transcurrido desde su consumo. En humanos, Defagó y col. (2018) reportaron una relación entre la ingesta habitual de ciertos alimentos en personas con dieta mixta y vegetariana y los niveles de AG n-3 y n-6 salivales. Así, se encontró un nivel mayor de AG alfa-linolénico 18:3 n-3 y un nivel menor de AG araquidónico 20:4 n-6 en personas vegetarianas que con dieta mixta, respectivamente.

En cuanto a plasma, se halló que los niveles de 20:5 n-3 y 22:6 n-3 en ratas aumentan gradualmente y alcanzan una máxima concentración a las seis horas de administrar una solución de eicosapentato de etilo por vía oral y que la composición de AG en ese fluido, así como también en hígado, se modifica luego de dos semanas de consumo de dietas ricas en AG esenciales^{20, 21, 22}. Asimismo, se reportó que la proporción de AG n-6/n-3 dietarios afecta significativamente su perfil en plasma y tejido adiposo del hígado luego de dos meses de ingesta y que el consumo de dietas ricas en AG n-6 y saturados, en ese mismo tiempo, modifican los niveles de AG 18:2 n-6 y 15:0 en plasma y en eritrocitos humanos^{23, 24}.

En el presente estudio se encontró una correlación positiva entre AG 16:1 n-9 de saliva y plasma y una alta regresión entre AG 16:0; 16:1 n-9 y 18:0 salivales/plasmáticos, así como también una tendencia a correlación positiva entre los AG 18:1 n-9/18:2 n-6 en saliva y 18:0 salival/18:0 plasmático. No se han hallado reportes sobre correlaciones entre AG de saliva y plasma, aunque sí entre ingesta y AG en esos fluidos. Al respecto, se observó una correlación positiva entre la ingesta dietaria y los niveles salivales de los AG 18:3 n-3 salival, 18:2 n-6 y 20:4 n-6 en personas adultas sanas^{25, 26}. En cuanto a plasma, Marchioni y col. (2018) encontraron una fuerte correlación entre la ingesta y los niveles plasmáticos de los AG 22:6 n-3 y el 18:2 n-6. Por el contrario, estos AG -al igual que el 20:4 n-6 y 20:5 n-3- mostraron correlaciones débiles y una ausencia de correlación entre la ingesta inmediata (24 horas) y el nivel plasmático del AG alfa-linolénico 18:3 n-3²⁸. Los AG fosfolípidicos en plasma han mostrado variaciones con la ingesta

de nutrientes tales como hidratos de carbono, grasas totales y AG, por lo que resultarían adecuados como biomarcadores nutricionales del consumo de macronutrientes²⁹, del mismo modo que AG n-3, como el alfa-linolénico y AG n-6, como el linoleico, en plasma total pueden ser empleados como biomarcadores de su ingesta dietaria³⁰.

Los resultados obtenidos en este estudio preliminar sugieren que el AG 18:2 n-6 podría ser un marcador de ingesta inmediata en ratas, aunque se requiere profundizar la investigación y analizar otros AG.

*Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y / o publicación de este artículo.
All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.*

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente al Consejo Interuniversitario Nacional (CIN), ya que el presente trabajo de investigación fue llevado a cabo en el marco de una Beca Estímulo a las Vocaciones Científicas (EVC) otorgada por el mencionado organismo, y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC) que financió el proyecto marco (Resolución N° 313/17).

Referencias

1. Van Meer G, Voelker DR, Feigenson G. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9:112-124.
2. Wiktorowska-Owczarek A, Berezińska M, Nowak JZ. PUFAs: structures, metabolism and functions. *Adv Clin Exp Med*. 2015; 24:931-41.
3. Chee B, Park B, Fitzsimmons T, Coates AM, Bartold PM. Omega-3 fatty acids as an adjunct for periodontal therapy—a review. *Clin Oral Investig*. 2016; 20:879-94.
4. Andreatta MM, Navarro A, Muñoz SE, Aballay L, Eynard AR. Dietary patterns and food groups are linked to the risk of urinary tract tumors in Argentina. *Eur J Cancer Prev*. 2010; 19:478-84.
5. Cao Y, Hou L, Wang W. Dietary total fat and fatty acids intake, serum fatty acids and risk of breast cancer: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cancer*. 2016; 138:1894-904.
6. Pertiwi K, Kok DE, Wanders AJ, de Goede J, Zock PL, Geleijnse JM. Circulating n-3 fatty acids and linoleic acid as indicators of dietary fatty acid intake in post-myocardial infarction patients. *Nutr Metab Cardiovasc*. 2019; 19:301-8.
7. Puy CL. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11: 449-455.
8. Brosky ME. The role of saliva in oral health: strategies for prevention and management of xerostomia. *J Support Oncol*. 2007; 5:215-225.
9. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis*. 2010; 14:184-8.
10. Rodríguez RPCB, de Andrade Vieira W, Siqueira WL, et al. Saliva as an alternative to blood in the determination of uremic state in adult patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2020; 24:2203-2217.
11. Colin D. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc*. 2008; 139:18-24.
12. Alam SQ, Shi YY. The effect of essential fatty acid deficiency on the fatty acid composition of different salivary glands and saliva in rats. *Arch Oral Biol*. 1997; 42:727-734.
13. Defagó MD, Perovic NR, Valentich MA, Repossi G, Actis AB. Omega-3 and Omega-6 salivary fatty acids as markers of dietary fat quality: A cross-sectional study in Argentina. *Acta Odontol Latinoam*. 2018; 31:97-103.
14. Furtado JD, Beqari J, Campos H. Comparison of the utility of total plasma fatty acids versus those in cholesteryl ester, phospholipid, and triglyceride as biomarkers of fatty acid intake. *Nutr*. 2019; 3: 1-17.
15. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. 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: 1939-1951.
16. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957; 226:497-508.
17. Infostat v.p.l. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, U.N.C, Argentina 2005.
18. Alam SQ, Alam BS. Effect of dietary lipids on saliva composition. *J Nutr*. 1982; 112: 990-996.
19. Escandriolo Nackauzi J, Repossi G, Bernal C, Actis A, Gallará R. Dietary fatty acids and the time elapsed from their intake are related to their composition in rat submandibular gland and salivary flow rates. *Clin Oral Investig*. 2020; 10: 1-9.
20. Onozato M, Okanishi Y, Akutsu M, Okumura I, Nemoto A, Takano K, Sakamoto T, Ichiba H, Fukushima T. Alteration in plasma docosahexaenoic acid levels following oral administration of ethyl icosapentate to rats. *Pract Lab Med*. 2019; 18: 1-6.

21. Childs CE, Romeu-Nadal M, Burdge GC, Calder PC. The polyunsaturated fatty acid composition of hepatic and plasma lipids differ by both sex and dietary fat intake in rats. *J Nutr.* 2010; 140:245-50.
22. Ranković S, Popović T, Martačić JD, Petrović S, Tomić M, Ignjatović Đ, Tovilović-Kovačević G, Glibetić M. Liver phospholipids fatty acids composition in response to different types of diets in rats of both sexes. *Lipids Health Dis.* 2017; 16:94.
23. Kassem AA, Abu Bakar MZ, Yong Meng G, Mustapha NM. Dietary (n-6: n-3) fatty acids alter plasma and tissue fatty acid composition in pregnant Sprague Dawley rats. *Sci World J.* 2012; 2012:851437.
24. Hodson L, Eyles HC, McLachlan KJ, Bell ML, Green TJ, Skeaff CM. Plasma and erythrocyte fatty acids reflect intakes of saturated and n-6 PUFA within a similar time frame. *J Nutr.* 2014; 144:33-41.
25. Defagó MD, Perovic NR, Valentich MA, Repossi G, Actis AB. Omega-3 and Omega-6 salivary fatty acids as markers of dietary fat quality: A cross-sectional study in Argentina. *Acta Odontol Latinoam.* 2018; 31:97-103.
26. Actis AB, Perovic NR, Defagó D, Beccacece C, Eynard AR. Fatty acid profile of human saliva: a possible indicator of dietary fat intake. *Arch Oral Biol.* 2005; 50: 1-6.
27. Marchioni DM, de Oliveira MF, Carioca AAF, Miranda AAM, Carvalho AM, Oki E, Norde MM, Rogero MM, Damasceno NRT, Fisberg RM. Plasma fatty acids: Biomarkers of dietary intake? *Nutrition.* 2019; 59:77-82.
28. Astorg P, Bertais S, Laporte F, Arnault N, Estaquio C y col. Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J of Clin Nutr.* 2008; 62:1155–1161.
29. Song X, Huang Y, Neuhouser ML, Tinker LF, Vitolins MZ, Prentice RL, Lampe JW. Dietary long-chain fatty acids and carbohydrate biomarker evaluation in a controlled feeding study in participants from the Women's Health Initiative cohort. *Am J Clin Nutr.* 2017; 105:1272-1282.
30. Furtado JD, Beqari J, Campos H. Comparison of the utility of total plasma fatty acids versus those in cholesteryl ester, phospholipid, and triglyceride as biomarkers of fatty acid intake. *Nutr.* 2019; 3: 1-17.

Corresponding to /correspondencia a:
Od. César Comina Herrera
Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de
Odontología. Cátedra B de Anatomía
Haya de La Torre s/n Ciudad Universitaria CP5000
Te: +543515146432
Email/Correo electrónico: cesar.combina@unc.edu.ar