

## Niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos en ratones con hígado graso inducido por DL-etionina

López, A.A.<sup>1</sup>; Márquez, Y.C.<sup>1</sup>; Salas, Y.J.<sup>1</sup>; Plaza, M.A.<sup>2</sup>; Murillo, M.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unid. Investig. Cs. Funcionales, Dec. Cs. Veterinarias, UCLA, Barquisimeto, Venezuela, <sup>2</sup>Dep. Farmacol. Facult. Vet. Aragón, Univ. Zaragoza, España.  
E-mail: alopez@ucla.edu.ve

### Resumen

**López, A.A.; Márquez, Y.C.; Salas, Y.J.; Plaza, M.A.; Murillo, M.D.: Niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos en ratones con hígado graso inducido por DL-etionina.** *Rev. Vet. 33: 1, 23-28, 2022.* El objetivo del presente estudio fue determinar las modificaciones plasmáticas de la glucosa (Gluc) y de los triglicéridos (TG) en el hígado graso no alcohólico (HGNA) inducido por DL-etionina en ratones IRMN (imagen por resonancia magnética nuclear) machos y hembras. Se distribuyeron en dos grupos de 10 animales de cada sexo: uno control y otro tratado con etionina (7,5 mg/20 g peso corporal). Después de un ayuno de 48 horas, por venopunción coccígea se obtuvo una muestra de sangre con anticoagulante y en los plasmas se cuantificaron las concentraciones de Gluc y de TG mediante kit comercial. La eutanasia se practicó bajo ligera anestesia con éter. Se disecó el hígado, se evaluó su aspecto macroscópico y se obtuvo el homogeneizado hepático, en el que se determinó la concentración de TG. Una pequeña porción de hígado fijado en formol tamponado al 10% fue utilizado para su estudio histopatológico. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 17.0 para Windows. Tanto en los machos como en las hembras, la administración de DL-etionina indujo metamorfosis grasa hepática con vacuolas lipídicas en el citoplasma de los hepatocitos, así como un aumento de la concentración de TG en el tejido hepático ( $p < 0,001$ ). En las hembras se observó que el HG provoca un descenso de los niveles de TG plasmáticos ( $p < 0,01$ ), resultado que está de acuerdo con la aumentada glicemia que presentaron ( $p < 0,05$ ). Tales efectos se deberían a la resistencia a la insulina, anomalía clave en el HGNA. En los machos no se modificó el nivel de TG circulantes, lo que respondería a la glicemia normal que mostraron. Como conclusión, la inducción de HG por acción de la DL-etionina afectó los parámetros plasmáticos estudiados en forma diferente en machos y hembras, quizás debido a variables adaptativas ante el HG, propias de cada sexo.

**Palabras clave:** hígado graso, DL-etionina, glucosa, triglicéridos, ratones IRMN.

### Abstract

**López, A.A.; Márquez, Y.C.; Salas, Y.J.; Plaza, M.A.; Murillo, M.D.: Variation of plasma levels of glucose and triglyceride in adult NMRI mice of both sexes with DL-ethionine-induced fatty liver.** *Rev. Vet. 33: 1, 23-28, 2022.* The objective of the present study was to determine the plasma modifications of glucose (Gluc) and triglycerides (TG) in non-alcoholic fatty liver (NAFL) induced by DL-ethionine in male and female mice NMRI (nuclear magnetic resonance imaging). They were distributed in two groups of 10 animals of each sex: one control and the other treated with ethionine (7.5 mg/20 g body weight). After fasting for 48 hours, a blood sample with anticoagulant was obtained by coccygeal venipuncture and the plasma concentrations of Gluc and TG were quantified using a commercial kit. Euthanasia was performed under light ether anesthesia. The liver was dissected, its macroscopic appearance was evaluated and the liver homogenate was obtained, in which the concentration of TG was determined. A small portion of liver fixed in 10% buffered formalin was used for histopathological study. Statistical analysis was carried out using SPSS software program version 17.0 for Windows. In both males and females, the administration of DL-ethionine induced hepatic fat metamorphosis with lipid vacuoles in the cytoplasm of hepatocytes, as well as an increase in the concentration of triglycerides in the liver tissue ( $p < 0.001$ ). In females, it was observed that NAFL causes a decrease in plasma TG levels ( $p < 0.01$ ), a result that is in agreement with the increased glycemia they presented ( $p < 0.05$ ). Such effects would be due to insulin resistance, a key abnormality in NAFL. In males, the level of circulating TG was not modified, which would respond to the normal glycemia they showed. In conclusion, the induction of NAFL by the action of DL-ethionine affected the

plasma parameters studied differently in males and females, perhaps due to adaptive variables to NAFL, specific to each sex.

**Key words:** fatty liver, DL-ethionine, glucose, triglycerides, NMRI mice.

## INTRODUCCIÓN

El hígado graso (HG) es relevante en medicina veterinaria ya que afecta a diferentes especies animales, entre ellas al ganado bovino productor de leche, particularmente en el período del peri-parto. Es considerada la mayor alteración metabólica del peri-parto, con disminución de la ingesta de alimento y de la producción de leche<sup>6,24</sup>. Por ello, compromete tanto la producción como la salud animal, con un impacto económico negativo en el sector agropecuario<sup>3</sup>.

Las expectativas de la vaca lechera de alta producción abarcan las de concebir y llevar a buen término la preñez, simultáneamente a una elevada producción lechera. La condición después del parto de la vaca, afecta la totalidad de los parámetros de función ovárica y de fertilidad, asociados con los cambios funcionales de adaptación<sup>21</sup>.

Se ha establecido que durante los primeros 90 días en producción, la aplicación de *colina* a vacas recién paridas, como medida preventiva para evitar el HG, mejora la producción láctea, disminuye la *cetosis* alrededor del parto y por consiguiente el riesgo de sufrir enfermedades del periparto y de la lactancia<sup>17</sup>.

Los modelos experimentales para investigar el HG (*hepato-esteatosis*) en animales de laboratorio, no sólo han aportado información relevante en la fisiopatología del HG no alcohólico (HGNA), sino también en relación al uso de agentes terapéuticos naturales<sup>20</sup> y en el diseño de nuevos tratamientos de la esteato-hepatitis humana<sup>12</sup>.

En el hígado se producen todas las rutas metabólicas, con algunas excepciones, como la oxidación de los cuerpos cetónicos. La principal función del hígado es suministrar una fuente continua de energía, regulada por factores hormonales y nerviosos que modifican el flujo de combustibles en base a la demanda celular.

En condición absortiva, gran parte de los nutrientes que llegan por la circulación portal son metabolizados, distribuidos al resto de órganos o almacenados como reservas para ser movilizados posteriormente en condición post-absortiva<sup>14</sup>. La regulación de la glucemia es rigurosa en el organismo; constituye el principal combustible del cerebro, los eritrocitos y la médula suprarrenal.

El hígado ocupa un lugar central en la homeostasis de la glucosa<sup>13</sup>, por su capacidad de almacenarla como glucógeno en condición absortiva (glucógeno-génesis) y de producirla del glucógeno almacenado (glucógeno-lisis) o sintetizarla a partir de precursores no glucídicos (gluco-neogénesis), en condiciones de ayuno o ejercicio, como ser: el lactato obtenido de la oxidación de la glucosa en anaerobiosis, los aminoácidos glucogénicos provenientes de la proteólisis muscular y del glicerol derivado de las grasas almacenadas en el tejido adiposo.

Un nivel normal de glucosa es necesaria para el funcionamiento del sistema nervioso central, pues la utiliza como combustible, aún en el ayuno. Si éste es superior a 24 horas, el cerebro utiliza cuerpos cetónicos, con decremento de la demanda de glucosa y por consiguiente de la gluco-neo-génesis. La regulación de la síntesis y el transporte de los ácidos grasos a los tejidos es otra de las funciones del hígado, orientada hacia el mantenimiento de la homeostasis calórica<sup>13</sup>.

En el hígado, el exceso de glucosa puede ser convertida a ácidos grasos, re-esterificados y transportados como lipoproteínas en la sangre para ser almacenados en territorios tisulares distantes, como el tejido adiposo, para su posterior utilización. La síntesis de ácidos grasos en el citosol del hepatocito está bajo el control de la insulina y de la disponibilidad de la acetil CoA proveniente del piruvato obtenido de la glucosa.

Está bien establecida la participación del hígado en la movilización sanguínea de los lípidos a los tejidos periféricos, así como su influencia en el metabolismo de los lípidos del organismo<sup>14</sup>.

Esta investigación se planteó con el objetivo de determinar la variación de los niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos en ratones IRMN adultos de ambos sexos con hígado graso experimental, inducido por DL-etionina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales, manejo.** El estudio fue conducido de acuerdo al Código de Bioética y Bioseguridad de FONACIT-Venezuela, 2009. Se utilizaron ratones (*Mus musculus*) adultos hembras y machos, provenientes de la población de ratones de la cepa NMRI del Bioterio Central de la Universidad Centroccidental L.A. (UCLA).

Las hembras eran vírgenes, colocadas en un laboratorio diferente al de los machos, para evitar el efecto de las feromonas. Mediante muestreo aleatorio simple se seleccionaron 20 ratones adultos de cada sexo, cuyo peso corporal promedio fue de  $27,5 \pm 1,5$  g, determinado en una balanza *Ohaus* para animales.

Fueron mantenidos en jaulas de acero inoxidable individuales, bajo ciclos de 12 horas luz/12 horas oscuridad, en las condiciones estandarizadas del Bioterio de la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales "Dr. H. Moussatché" (UNIHM) del Decanato de Ciencias Veterinarias (DCV), con libre acceso al agua y a un alimento comercial para ratones Ratarina® (Protinal, Venezuela).

**Inducción de HG.** Para cada sexo, los 20 animales se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos de 10

animales cada uno, un grupo control y otro tratado con DL-etionina (Sigma Chemical Co, MO, EUA).

La DL-etionina fue disuelta en solución fisiológica estéril y administrada intraperitonealmente en dosis de 7,5 mg/20 g de peso corporal. A los controles se les inyectó i.p. sólo solución fisiológica estéril, vehículo de la DL-etionina. Todos los animales se sometieron a un ayuno de 48 horas con libre acceso al agua de bebida. Este protocolo inductor genera HG según hemos descrito anteriormente <sup>11</sup>.

**Toma de muestras y análisis:** Terminado el ayuno de 48 horas, se obtuvo una muestra de sangre de cada uno de los animales mediante venopunción cocígea. La sangre fue depositada en un tubo Eppendorf con anticoagulante (ácido etilendiamino tetra acético (EDTA)-Na al 2%). Los plasmas se separaron por centrifugación (800 g, 20 minutos) en micro-centrifuga refrigerada Eppendorf 5402 (Brinkman Instr., NY, EUA).

Obtenidos los plasmas se colocaron en baño de hielo y se les cuantificó la concentración de Gluc (en mg/dL) por el método de Trinder <sup>23</sup> mediante el kit comercial de Qualitest (Caracas, Venezuela) y la concentración de TG (en mg/dL) por método de Patton <sup>15</sup>, mediante el kit comercial Qualitest. En ambos casos se leyó la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro Genesys 5 (Rochester, NY, EUA).

Una vez obtenida la muestra de sangre, a los animales se les practicó la eutanasia bajo ligera anestesia con éter. Se disecó el hígado, se evaluó su aspecto macroscópico y se homogeneizó 1,5 g de hígado con 3 veces su peso en tampón Tris-sacarosa 250 mM pH 7,2 a 4°C en un potter Bodine (Electric Comp., Chicago, EUA).

El sobrenadante del homogeneizado, diluido 1:40 con agua des-ionizada, se mantuvo refrigerado y se le cuantificó la concentración de TG (en mg de TG por

mg de proteínas). La concentración de proteínas se determinó mediante el kit Pierce (Rockford, ILL, EUA) basado en la técnica de Bradford <sup>5</sup>.

Una pequeña porción de hígado fijado en formol tamponado al 10% se utilizó para su estudio histopatológico, realizado en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Veterinario “Dr. Humberto Ramírez Daza” del DCV-UCLA. Se obtuvieron secciones de 4 micras del tejido mediante el uso de un micrótopo Jung AG (Heidelberg, Alemania) y posterior tinción de los cortes con hematoxilina-eosina de acuerdo a la técnica convencional.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 17.0 para Windows. Los resultados se expresaron como el promedio de los valores  $\pm$  error estándar (EE). Para establecer la significación estadística de los resultados se utilizó la prueba “t” de Student exigiéndose un 95% de certeza ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el hígado tienen lugar la mayoría de las rutas metabólicas y su normal funcionamiento asegura la homeostasis celular. Las lesiones hepáticas agudas o crónicas pueden alterar su capacidad biosintética y metabólica, lo cual inducirá diversos trastornos.

La principal función del hígado es suministrar una fuente continua de energía para el organismo y en este sentido los carbohidratos y lípidos tienen un papel relevante. Dicha función es regulada por factores hormonales y nerviosos, que modifican el flujo de combustibles de acuerdo a la demanda celular.

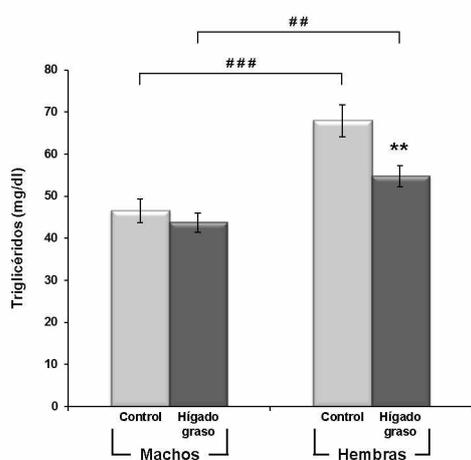
En el presente estudio, el HG experimental afectó a los parámetros plasmáticos estudiados en diferente forma según el sexo. Así, en los machos, los niveles plasmáticos de TG y de glucosa no resultaron alterados por el tratamiento con DL-etionina.

Sin embargo, en las hembras, la inducción de HG disminuía significativamente ( $p < 0,01$ ) los TG plasmáticos (Figura 1), mientras que aumentaba los niveles de Gluc plasmática ( $p < 0,05$ ) (Figura 2). Este efecto podría ser debido a una posible resistencia a la insulina en dichos animales, anormalidad clave en el HG <sup>17</sup>.

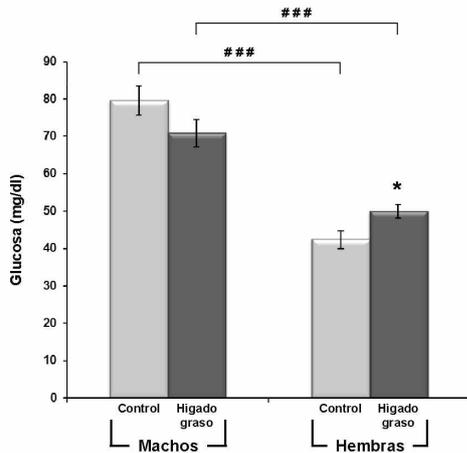
El disminuido nivel de la insulina en vacas lecheras contribuye a la regulación metabólica de adaptación (*homeorresis*), orientando a los nutrientes, particularmente a la Gluc, hacia territorios tisulares menos sensibles a la acción de la insulina, entre ellos la placenta y la glándula mamaria en lactación <sup>7</sup>.

La disminución de la Gluc plasmática dependiente de la liberación de insulina posprandial es un hallazgo importante para comprender la disminuida acción de la insulina después del parto en vacas lecheras <sup>25</sup>.

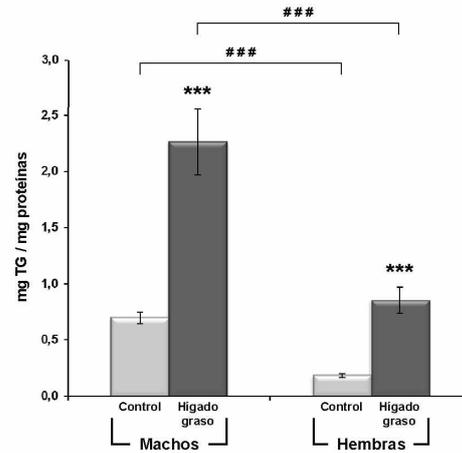
La hiperglicemia e hiperinsulinemia inducen la síntesis de ácidos grasos libres (AGL) a partir de Gluc, así como la inhibición de la  $\beta$ -oxidación de AGL, cuyo exceso se transforma a TG que se acumulan en el hígado con disminuida secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) <sup>20</sup>. En los machos no se



**Figura 1.** Concentración de triglicéridos plasmáticos en ratones machos y hembras NMRI adultos controles y con hígado graso inducido por DL-etionina (7,5 mg/20 g peso corporal). Los valores son la media  $\pm$  EE de 10 animales/grupo; \*\*  $p < 0,01$  con respecto al grupo control; ##  $p < 0,01$  y ###  $p < 0,001$  entre machos y hembras.



**Figura 2.** Concentración de glucosa plasmática en ratones machos y hembras NMRI adultos controles y con hígado graso inducido por DL-etionina (7,5 mg/20 g peso corporal). Los valores son la media  $\pm$ EE de 10 animales/grupo; \*  $p < 0,05$  con respecto al grupo control; # # #  $p < 0,001$  entre machos y hembras.



**Figura 3.** Concentración de triglicéridos (TG) hepáticos (mg/mg proteínas) en ratones machos y hembras NMRI adultos controles y con hígado graso inducido por DL-etionina (7,5 mg/20 g peso corporal). Los valores son la media  $\pm$  EE de 10 animales/grupo; \*\*\*  $p < 0,001$  con respecto al grupo control; # # #  $p < 0,001$  entre machos y hembras.

modificó el nivel de TG circulantes lo que respondería a la glicemia normal que mostraron.

En el metabolismo lipídico, normalmente los AGL circulan entre el hígado y el tejido adiposo periférico sin que se produzca ninguna acumulación apreciable en los hepatocitos<sup>18</sup>. En este sentido, dos son las vertientes principales de AGL hacia el hígado. Una proviene de la hidrólisis de los TG contenidos en los adipocitos mediante la acción de la lipasa sensible a hormonas. La otra vía la constituye la hidrólisis de los quilomicrones en los tejidos periféricos por efecto de la lipasa lipoproteica.

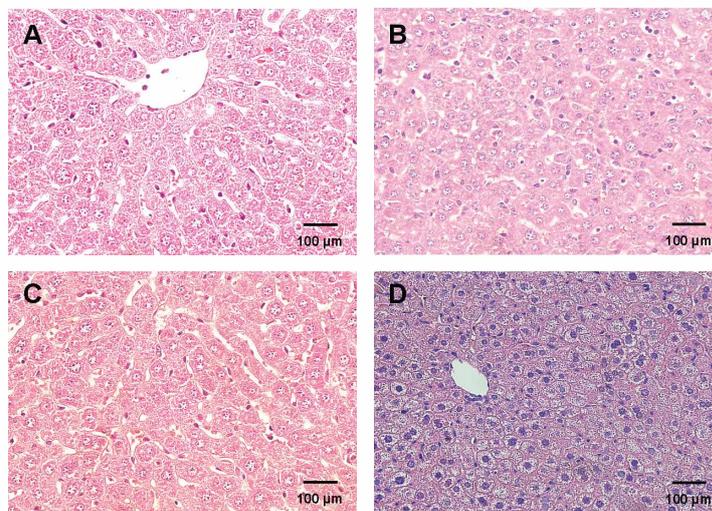
Otro proceso generador de AGL es su propia síntesis en el hepatocito, especialmente en condiciones de exceso de *Gluc* dietaria, que por vía lipogénica forma

AGL, que al esterificarse con glicerol-3P, se orientan hacia el depósito de TG<sup>16</sup>.

Los eventos metabólicos descritos son aplicables a la movilización de reservas lipídicas, particularmente desde el tejido adiposo, necesarias para satisfacer las demandas energéticas de la lactancia en vacas. El exceso de lípidos movilizados se acumula en las células del hígado en forma de TG con instauración de un HGNA<sup>13</sup>.

En el presente estudio, el grupo control de los machos mostró una concentración de TG hepáticos (0,69 $\pm$ 0,05 mg TG/mg proteínas) significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) que el valor control de los ratones hembras (0,18 $\pm$ 0,01 mg TG/mg proteínas) (Figura 3).

Este resultado es concordante con quienes, estudiando los niveles normales de TG hepáticos en nueve



**Figura 4.** Fotomicrografía de hígado de ratones machos y hembras, controles y con hígado graso (HG) inducido por DL-etionina (7,5 mg/20 g peso corporal). Tinción hematoxilina y eosina, 40X. A) Ratón macho control. B) Ratón hembra control. En ambos se observó hígado histológicamente normal. C) Ratón macho con HG. Se observó metamorfosis grasa moderada. D) Ratón hembra con HG. Se observó metamorfosis grasa hepática severa. El citoplasma presenta numerosas vacuolas pequeñas, que le dan apariencia espumosa.

cepas diferentes de ratones machos y hembras<sup>10</sup>, observaron un amplio rango de variación, desde 49,7±5,5 mg TG/g proteínas presentado por la cepa SWR (antesora de la NMRI) hasta 316,5±25,8 mg TG/g proteínas en la cepa BALB/cByJ. Los autores indican que, en todas las cepas, los ratones machos mostraron niveles superiores de TG hepáticos que las hembras.

Nuestros resultados muestran que el tratamiento con DL-etionina aumenta la concentración de triglicéridos hepáticos de forma estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) tanto en los ratones machos como en las hembras (Figura 3).

De forma coincidente, se ha descrito ampliamente la presencia de una elevada concentración de TG hepático en variadas condiciones inductoras de HGNA. Entre ellas, la administración i.p. de  $\text{CCl}_4$  puro, en dosis única de 0,2 ml/kg de peso, causa en ratas machos albinas Wistar un aumento significativo del contenido intrahepático de triglicéridos<sup>1</sup>.

De igual manera, una dieta deficiente en metionina y colina, administrada durante cuatro semanas a ratones machos genéticamente obesos (db/db), de seis semanas de edad, duplica la concentración de TG en el hígado con respecto al nivel inicial<sup>26</sup>. También la administración durante cuatro semanas de una dieta con alto contenido graso, induce en ratas machos *Sprague Dawley*, un exacerbado depósito de TG en los hepatocitos<sup>9</sup>.

En el presente estudio se observó que las concentraciones de TG hepático en ratones machos con HG son mucho mayores que en las hembras con HG ( $p < 0,001$ ). Sin embargo, estudios realizados en ratas<sup>22</sup> mostraron una mayor acumulación de TG hepáticos en las hembras que en los machos, efecto que atribuyeron a diferencias en la biosíntesis de la fosfatidil-colina en el hígado de las ratas.

En el hepatocito, los cuerpos lipídicos no son almacenes estáticos de grasa, sino que poseen un metabolismo muy activo y una composición que recuerda a la de una lipoproteína<sup>2, 19</sup>. Los TG son los principales involucrados en este depósito hepático<sup>8</sup>, hecho plenamente coincidente con los resultados del presente estudio, en el cual la concentración de TG hepáticos se mostró aumentada significativamente en los ratones machos y hembras con HG, en relación a sus respectivos controles.

Estos resultados corroboran los hallazgos histológicos observados en la hepatoesteatosis microscópica (Figura 4). Así, en el hígado de ratones machos y hembras se observaron vacuolas lipídicas en el citoplasma de los hepatocitos, siendo la metamorfosis grasa hepática severa en las hembras y moderada en los machos.

A la luz de la evidencia acumulada, con respecto al depósito lipídico en el hígado, autores<sup>4</sup> han expresado que la síntesis de TG es el resultado de una adaptación fisiológica ante condiciones agresivas enfrentadas por los hepatocitos. Así, la acumulación grasa en muchos casos no es dañina, sino que más bien es protectora, porque es la respuesta a un consumo calórico aumentado.

Los resultados obtenidos en el presente estudio hablarían en favor a esta aseveración, puesto que los ratones machos con HG por DL-etionina mostraron un daño histológico moderado a diferencia de las hembras con HG cuya metamorfosis grasa hepática fue severa, acompañada con un depósito de TG en el hígado notablemente menor que la observada en los machos con HG.

Como conclusión, la inducción de HG por acción de la DL-etionina afectó los parámetros plasmáticos estudiados en forma diferente en machos y hembras, quizás debido a variables adaptativas ante el hígado graso, propias de cada sexo.

## REFERENCIAS

1. **Abdel NM.** 2006. Diphenyl dimethyl bicarboxylate as an effective treatment for chemical induced fatty liver in rats. *Afric J Biomed Res* 9: 77-81.
2. **Adams LA, Angulo P.** 2006. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgrad Med J* 82: 315-322.
3. **Bobe G, Young JW, Beitz, DC.** 2004. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci* 87: 3105-3124.
4. **Botet JP, Pedragosa A.** 2011. Hígado graso no alcohólico: conexiones entre los triglicéridos plasmáticos y su depósito hepático. *Clin Invest Arterioscler* 23: 88-89.
5. **Bradford MA.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
6. **Contreras PA, Phil M.** 1998. Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arch Med Vet* 30: 17-27.
7. **Dekoster J et al.** 2015. Insulin response of the glucose and fatty acid metabolism in dry dairy cows across a range of body condition scores. *J Dairy Sci* 98: 4580-4592.
8. **Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AL.** 2000. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 32: 3-10.
9. **Ganji SH, Kukes GD, Lambrecht N, Kashyap M, Kamanna VS.** 2014. Therapeutic role of niacin in the prevention and regression of hepatic steatosis in rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastroint Liver Physiol* 306: 320-327.
10. **Lin X, Yue P, Chen Z, Schonfeld G.** 2005. Hepatic triglyceride contents are genetically determined in mice: results of a strain survey. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G1179-G1189.
11. **López OA, Carmona CA, Moussatché H.** 1993. On the mechanism of protective action of cold acclimatization against carbon tetrachloride and ethionine-induced fatty liver. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 88: 313-316.
12. **Motoo Y, Seki T, Tsutani K.** 2011. Traditional japanese medicine kampo: its history and current status. *Chin J Integr Med* 17: 85-87.
13. **Mayes PA.** 2000. Lipids transport and storage. In: Harper's Biochemistry (Murray RK, Granner DK, Mayes PA,

- Rodwell VW Ed), 25ª ed., *Appleton & Lange*, Stamford, USA, p. 277-278.
14. **Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW.** 2000. Harper's Biochemistry, 25ª ed., *Appleton & Lange*, Stamford, EE.UU, p. 1-5.
  15. **Patton JG, Dinh DM, Mao SJ.** 1982. Phospholipid enhances triglyceride quantitation using an enzyme kit methods. *Clin Chim Acta* 118: 125-128.
  16. **Postic C, Girard J.** 2008. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 118: 829-838.
  17. **Rovers M.** 2015. La cetosis en vacas lecheras y el rol de la colina. *Entorno Ganadero* 64, BM Editores, Argentina, p. 1-4.
  18. **Saleh J, Sniderman AD, Cianflone K.** 1999. Regulation of plasma fatty acid metabolism. *Clin Chim Acta* 286: 163-180.
  19. **Sanyal AJ.** 2002. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 123: 1705-1725.
  20. **Takahashi Y, Soejima Y, Fukusato T.** 2012. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease / nonalcoholic steato hepatitis. *World J Gastroenterol* 18: 2300-2308.
  21. **Taylor VJ, Beever DE, Wathes DC.** 2004. Physiological adaptations to milk production that affect the fertility of high yielding dairy cows. *BSAP Occasional Publication* 29: 37-71.
  22. **Tessitore L, Sesca E, Greco M, Pani P, Dianzani M.** 1995. Sexually differentiated response to choline in choline deficiency and ethionine intoxication. *Int J Pathol* 76: 125-129.
  23. **Trinder P.** 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase. *Ann Clin Biochem* 6: 24-27.
  24. **Weber C et al.** 2013. Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high yielding dairy cows. *J Dairy Sci* 96: 165-180.
  25. **Weber C et al.** 2016. Insulin-dependent glucose metabolism in dairy cows with variable fat mobilization around calving. *J Dairy Sci* 99: 1-15.
  26. **Yamaguchi K et al.** 2007. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 45: 1343-1346.

## Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Nordeste

Personería Jurídica N° 647/92 y 912/00

Sargento Cabral 2139  
3400 Corrientes  
Argentina

La Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE fue constituida el 10 de diciembre del año 1991 como entidad de bien público, con el objeto de promover y coadyuvar las actividades científicas, educativas y culturales relacionadas con las Ciencias Veterinarias. En tal sentido, implementa acciones para colaborar con la enseñanza, extensión, actualización y difusión científica que realiza dicha casa de estudios.

*Beneficios que brinda a sus asociados:*

- Fotocopias con descuentos especiales en la Fotocopiadora *Copias.com* que funciona dentro del predio de la Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Descuentos para la adquisición de libros de distintas editoriales.
- Descuentos especiales en otros rubros.

Tel. (0379) 4425753 interno 186 • Página Web [www.vet.unne.edu.ar](http://www.vet.unne.edu.ar) • E-mail: [cooperadora@vet.unne.edu.ar](mailto:cooperadora@vet.unne.edu.ar)