

ARTICULO

Perfil lipídico y lesiones ateroscleróticas en conejos Nueva Zelanda hipercolesterolémicos tratados con aceite de pescado.

Marysabel Torres¹, Rosalía Sutil¹, Maira Carrizales¹, María Leal¹, Mercedes Márquez¹, Aldo Reigosa², Marielena Muñoz², Rubén Toro³.

¹Departamento de Farmacología, Escuela de Medicina, ²Escuela de Bioanálisis,

³Facultad de Odontología, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Correspondencia: Marysabel Torres:

Departamento de Farmacología,
Escuela de Medicina,
Bárbula, Edo. Carabobo
Venezuela
Telf. +58-241-8666530
E-mail: mtorresr@uc.edu.ve

Recibido: febrero 2004 Aprobado: abril 2005

RESUMEN

Perfil lipídico y lesiones ateroscleróticas en conejos Nueva Zelanda hipercolesterolémicos tratados con aceite de pescado.

Un bajo consumo de ácidos grasos de la serie n-3 de origen marino, tales como los ácidos eicosapentanoico (EP) y docosahexanoico (DH) o niveles sanguíneos bajos de los mismos, se han asociado con incremento del riesgo de muerte por enfermedad coronaria. Sin embargo, la bibliografía consultada reveló controversia por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar si el aceite de pescado mejora el perfil lipídico y las lesiones ateroscleróticas inducidas por una dieta rica en 1% de colesterol. 30 conejos machos Nueva Zelanda se dividieron al azar en tres grupos: grupo Control, 6 conejos que recibieron conejarina por diez semanas; grupo A: 12 conejos recibieron dieta rica en 1% de colesterol por diez semanas. Grupo B: 12 conejos recibieron dieta rica en 1% de colesterol + 3 g de aceite de pescado/kg de peso por diez semanas. Los lípidos séricos se determinaron por métodos

enzimáticos a las 4 y 10 semanas y el estudio histo-patológico por el método de hematoxilina-eosina a las diez semanas. En el grupo que recibió aceite de pescado no hubo una disminución significativa de los lípidos séricos. A las cuatro semanas: Colesterol ($1754,18 \pm 197,23$ vs. $1604,9 \pm 205,65$ mg/dL), LDLc ($718,66 \pm 96,2$ vs $752,87 \pm 101$ mg/dL) y Tg ($698 \pm 69,89$ vs $604,62 \pm 98,56$ mg/dL). Asimismo, a las diez semanas no hubo cambios en el colesterol ($1261,18 \pm 118,96$ vs $930,29 \pm 180,12$ mg/dL), LDLc ($707,32 \pm 85,2$ vs $684,05 \pm 101$ mg/dL) y Tg ($495,22 \pm 27,89$ vs $509 \pm 97,8$ mg/dL). En cuanto a las lesiones ateroscleróticas no se observaron cambios entre los grupos A y B a las diez semanas. En conclusión, aunque los ácidos grasos de la serie n-3 se consideran entre lo más importantes nutrientes que pueden contribuir a mejorar el perfil lipídico y reducir el riesgo cardiovascular, los resultados del presente trabajo, aún hoy, originan controversia acerca de las consecuencias del consumo de este tipo de ácido graso sobre el perfil lipídico y aterosclerosis.

Palabras clave: aceite de pescado, hipercolesterolemia, conejos Nueva Zelanda.

ABSTRACT

Lipid profile and atherosclerotic lesions in hypercholesterolemic New Zealand white rabbits treated with fish oil.

Low consumption of n-3 fatty acids of marine origin, such as eicosapentanoic (EPA) and docosahexanoic acid (DHA) or low serum levels of them are associated with an increase of risk for coronary disease. The reviewed references are controversial. The objective of the present study was to determine whether fish oil improved lipid profile and atherosclerotic lesions induced by a 1% cholesterol-rich diet. 30 male New Zealand white rabbits were divided at random: Control Group: 6 rabbits were fed "conejarina" (rabbit food) for ten weeks; Group A: 12 rabbits were fed a 1% cholesterol-rich diet for ten weeks. Group B: 12 rabbits were fed a 1% cholesterol-rich diet + 3 g/kg body weight of fish oil for ten weeks. Lipids were determined by enzymatic methods at weeks four and ten and a histopathologic study was carried out using the hematoxylin-eosin method at week ten. The fish oil group did not have a significant reduction of serum lipids at week four: cholesterol, 1754.18 ± 197.23 vs 1604.9 ± 205.65 mg/dL; LDLc, 718.66 ± 96.2 vs 752.87 ± 101 mg/dL; and Tg, 698 ± 69.89 vs 604.62 ± 98.56 mg/dL. Similarly, at week ten no changes in lipid values were observed: cholesterol, 1261.18 ± 118.96 vs 930.29 ± 180.12 mg/dL; LDLc, 707.32 ± 85.2 vs 684.05 ± 101 mg/dL; and Tg, 495.22 ± 27.89 vs 509 ± 97.8 dL. Regarding atherosclerotic lesions, no changes were observed at week ten when compared with groups A and B. In conclusion, although n-3 fatty acids are considered some of the most important nutrients that can contribute to improve the lipid profile and reduce the risk of cardiovascular disease, the results of the present study still raise controversy about the consequences that consuming this type of fatty acid will have on lipid profile and atherosclerosis.

Key words: fish oil, hypercholesterolemia, New Zealand white rabbits.

INTRODUCCION

El bajo consumo de ácidos grasos de la serie n-3 de origen marino, tales como los ácidos eicosapentanoico (EP) y docosahexanoico (DH) o niveles sanguíneos bajos de los mismos, se han asociado con incremento del riesgo de muerte por enfermedad coronaria (1). Así mismo, los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, que se encuentran en el aceite de pescado son candidatos a ser incluidos en programas de prevención secundaria de la enfermedad arterial coronaria (2). Se ha postulado que los ácidos grasos de la serie omega 3, derivados del aceite de pescado, disminuyen los triglicéridos y tienen un efecto directo sobre la contractilidad miocárdica, presión arterial, factores de la coagulación, función plaquetaria e inmunidad celular (3). Igualmente, un estudio epidemiológico reciente sugiere que una alimentación rica en ácidos grasos de la serie n-3, especialmente los de cadena larga, pueden proteger contra la aterosclerosis (4).

Por el contrario, un estudio realizado en humanos con hipercolesterolemia primaria, a los cuales se le administraron 10 g de polvo de pescado conteniendo ácidos grasos marinos de la serie n-3 por un periodo de doce semanas no mostró cambios en las concentraciones plasmáticas de lípidos, lipoproteínas, homocisteína y factores plaquetarios (5). En este mismo sentido, otra investigación realizada en 14 sujetos hipercolesterolémicos de mediana edad reporta que la incorporación de los ácidos grasos de la serie n-3 a la dieta no produjo cambios significativos en los lípidos séricos y que mas bien fue seguida por un incremento de los lipoperóxidos de las LDL (6).

Estos hallazgos controversiales estimularon al grupo a diseñar el presente estudio experimental con el objetivo de determinar el efecto del tratamiento con aceite de pescado, sobre el perfil lipídico y las lesiones ateroscleróticas de conejos machos Nueva Zelanda hipercolesterolémicos.

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio es de tipo experimental, transversal y de tipo descriptivo, Para ello se emplearon 30 conejos machos Nueva Zelanda, con un peso entre 1 a 1,5 kg. de peso, provenientes del Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC, Venezuela). Los conejos se dividieron en tres grupos al azar, los cuales recibieron diferentes dietas (Tabla 1). Cada animal recibió diariamente un promedio de 150 g de conejarina, determinada pesando el alimento antes de colocárselo a los animales y 24 horas después de suministrárselo. El Grupo Control: estuvo conformado por 6 conejos que recibieron una dieta diaria por diez semanas de 150 g de conejarina, el Grupo A por 12 conejos que recibieron diariamente por diez semanas 150 g de conejarina (Protinal, Valencia, Venezuela) enriquecida con 1% de colesterol y el Grupo B por 12 conejos que recibieron diariamente por diez semanas 150 g de conejarina enriquecida con 1% de colesterol + 3 g/kg/peso, de aceite de pescado (Naturissima, Venezuela), el cual contenía 180 mg de EP y 120 mg de DH / g.

Tabla 1 Grupos de conejos Nueva zelanda que recibieron conejarina, dieta hipercolesterolémica y aceite de pescado

GRUPO	Dieta	0 SEMANA	4 SEMANAS	10 SEMANAS
Control	Conejarina	C-0	C-4 semanas	C-10 semanas
A	Dieta rica en 1% de colesterol		A- 4 semanas	A- 10 semanas
B	Dieta rica en 1% de colesterol+ aceite de pescado		B- 4 semanas	B-10 semanas

En todos los grupos, se hicieron tomas de sangre basal (C-0) las cuatro semanas (C-4, A-4 y B-4) y a las diez semanas (C-10, A-10 y B-10). La sangre se tomó de la vena marginal de la oreja previo ayuno de catorce horas. A las 10 semanas los animales fueron sacrificados y las arterias se recolectaron para el estudio de las lesiones. Los animales se cuidaron según las normas establecidas por el Instituto Nacional de Salud y la Oficina de Salud Pública de los Estados Unidos de América (7).

Dieta: Se preparó semanalmente para todos los conejos. La dieta hipercolesterolémica se hizo agregando 1% de colesterol (Sigma, St Louis, MO) a la conejarina, mezclándola lentamente con una pequeña cantidad de agua destilada y almacenándola a 4°C hasta su uso, el aceite de pescado se agregó diariamente a la dieta hipercolesterolémica .

Determinación de lípidos plasmáticos: La determinación de los lípidos plasmáticos: Colesterol Total (CT), Colesterol de las lipoproteínas baja densidad (LDLc), y Triglicéridos (Tg) se realizó en el plasma obtenido de la sangre (5 mL) tratada en 0,1 mL de EDTA al 10% p/v con agua. El CT y los Tg se determinaron por método enzimático colorimétrico directo (CHOD-PAP, Merck a 500 nm) y el LDLc mediante la técnica modificada por Wieland y Seidel (8), que consiste en la precipitación selectiva de las LDL con Heparina (Merck) y citrato de sodio a un pH del plasma de 5,2; en estas condiciones precipitan las HDL, VLDL y quilomicrones, quedando en el sobrenadante las LDL y se determinan por método enzimático colorimétrico a 500 nm.

Análisis de las lesiones ateroscleróticas: los animales fueron sacrificados luego de diez semanas de iniciada la dieta hipercolesterolémica, previa inyección con ketamina (60 mg/kg peso), la arterias aortas abdominales se aislaron y se lavaron inmediatamente con NaCl 0,150 mmol/L a temperatura ambiente, se fijaron en una solución neutra de formalina al 10% en agua por 24 horas, a continuación se deshidrataron en etanol en grado creciente (70 y 100%), se incluyeron en parafina, se les hizo cortes transversales de 4 mm de espesor y se tiñeron con hematoxilina-

eosina (9) se observaron al microscopio de luz y las lesiones se tipificaron según la clasificación de la American Heart Association (10). Esta clasificación, considera las lesiones Tipo I como la lesión inicial (adhesión y migración de monocitos), las Tipo II (los monocitos se transforman en macrófagos y engloban LDL oxidada), Las Tipo I y II son consideradas lesiones tempranas, las Tipo III son intermedias o preateromas (células espumosas rodeadas de pequeños gotas de lípidos intracelulares), las Tipo IV son conocidas como ateromas y es la primera lesión considerada avanzada desde el punto de vista histológico, en esta clasificación, una lesión avanzada significa ruptura inicial de la estructura, de ahí que todas las que siguen después de la Tipo III son tomadas como avanzadas, las Tipo V muestran capas de tejido conectivo fibroso, presentando uno o mas agregados de lípidos, pueden considerarse como Tipo Va (fibroateroma) y las Tipo Vb se caracterizan por la presencia de calcificaciones.

Análisis estadístico: los resultados obtenidos con relación al CT , LDLc y Triglicéridos se presentan como media aritmética \pm error estándar (ES) y las comparaciones de C-4, C-10, A-4, B-4, A-10, B-10 se realizaron por ANOVA de una vía y se les aplicó la prueba de múltiples comparaciones de Tukey-Kramer (InStat, versión 3.0 for Windows) .En relación a las lesiones ateroscleróticas, en cada grupo, las lesiones se cuantificaron por tipo y número, se les realizó la prueba de Chi-cuadrado y para realizar esta prueba las lesiones observadas se asociaron en dos grupos: 1. Lesiones no avanzadas: se sumaron las lesiones catalogadas como Tipo II y III . 2. Lesiones avanzadas: se sumaron las lesiones catalogadas como Tipo IV y V. La probabilidad estadística de $p < 0,05$ fue considerada significativa.

RESULTADOS

Colesterol total: La dieta rica en 1% de colesterol indujo hipercolesterolemia ya que el valor promedio basal de colesterol fue $112,44 \pm 2,22$ mg/dL, el control a las 4 semanas presentó valores de $146,3 \pm 26,89$ mg/dL, el grupo A que recibió dieta rica en 1% de colesterol mostró valores de colesterol de $1754,18 \pm 197,23$ mg/dL, ($p < 0,001$) y a las 10 semanas de $1604,9 \pm 205,65$ mg/dL ($p < 0,001$). Cuando se compara el grupo A con el B, el cual recibió dieta rica en 1% de colesterol mas aceite de pescado ($1604,9 \pm 205,65$ mg/dL) no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$). A las diez semanas, el grupo control presentó valores de $129,88 \pm 12,3$ mg/dL, el grupo A de $1261,18 \pm 118,96$ mg/dL y el grupo B de $930,29 \pm 180,12$ mg/dL. Cuando se comparan el grupo A y B a las 10 semanas no se observan diferencias significativas, $p > 0,05$ (Fig.1)

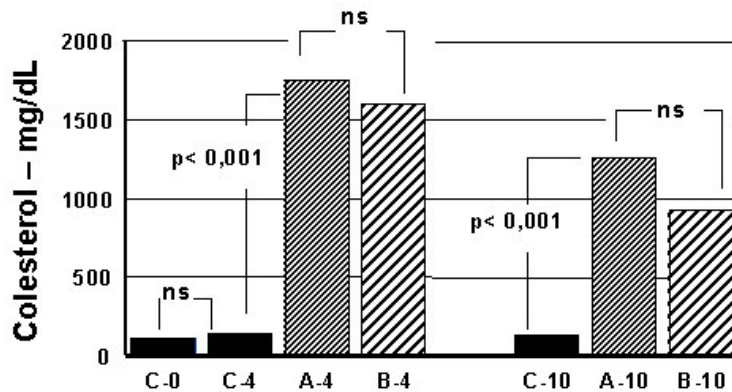


Fig. 1. Cambios en colesterol plasmático en conejos Nueva Zelanda. **C-0:** alimentados con conejarina, t = 0; **C-4:** alimentados con conejarina, t = 4 semanas; **A - 4** alimentados con conejarina + 1% colesterol, t = 4 semanas; **B-4:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 4 semanas; **C-10:** alimentados con conejarina, t = 10 semanas; **A-10:** A - 4 alimentados con conejarina + 1% colesterol; **B-10:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 10 semanas. **ns:** no significativo $p > 0,05$

LDLc: Los valores basales de LDLc fueron $74,15 \pm 1,132$ mg/dL, a las 4 semanas, $91,13 \pm 9,8$ mg/dL. A las cuatro semanas, el grupo A de $718,66 \pm 96,23$ mg/dL y el grupo B de $752,87 \pm 101$ mg/dL, no observándose diferencias significativas entre ellos, $p > 0,05$. A las diez semanas, el control mostró valores de $77,54 \pm 7,36$ dL, el grupo A de $707,32 \pm 85,2$ dL y el grupo B de $684,05 \pm 101$ mg/dL. Al comparar el grupo A y B, se observó que el tratamiento con aceite de pescado a la dosis de 3 g/kg de peso por diez semanas no produjo ningún cambio significativo en las LDLc (Fig. 2)

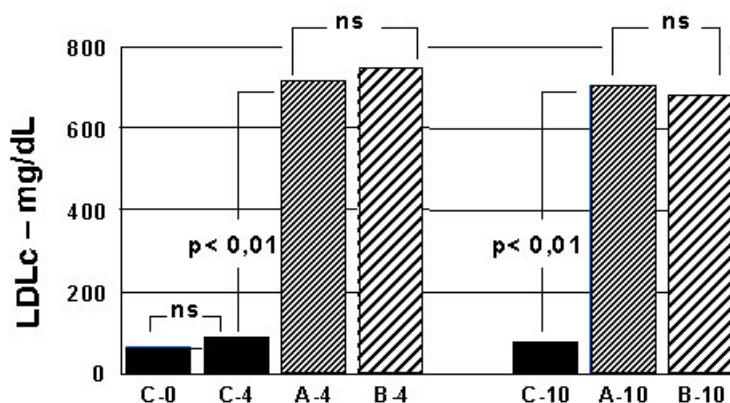


Fig. 2. Cambios en LCLc en conejos Nueva Zelanda. **C-0:** alimentados con conejarina, t = 0; **C-4:** alimentados con conejarina, t = 4 semanas; **A - 4** alimentados con conejarina + 1% colesterol, t = 4 semanas; **B-4:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 4 semanas; **C-10:** alimentados con conejarina, t = 10 semanas; **A-10:** A - 4 alimentados con conejarina + 1% colesterol; **B-10:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 10 semanas. **ns:** no significativi $p > 0,05$

Triglicéridos: Los valores basales de Tg fueron altos: $324,36 \pm 3,219$ mg/dL. A las cuatro semanas el grupo control presento valores de $338,37 \pm 15,89$ mg/dL, el grupo A presento valores de $698 \pm 69,89$ dL y el grupo B de $604,62 \pm 98,5$ mg/dL, cuando se compara el grupo A y B a este periodo no se observan diferencias significativas, $p > 0,05$. A las diez semanas el control presento valores de $312,42 \pm 12,25$ mg/dL, el grupo A de $495,22 \pm 27,89$ mg/dL y el grupo B de $509 \pm 97,89$ mg/dL, no observándose diferencias significativas entre el grupo A y B $p > 0,05$ (Fig. 3).

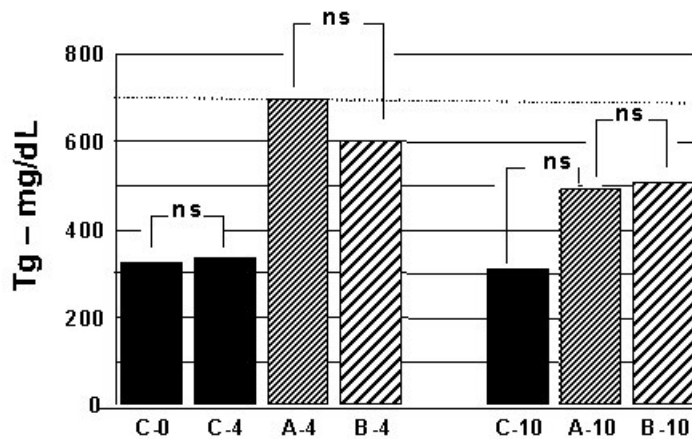


Fig. 3. Cambios en los triglicéridos en Conejos Nueva Zelanda. **C-0:** alimentados con conejarina, t = 0; **C-4:** alimentados con conejarina, t = 4 semanas; **A - 4** alimentados con conejarina + 1% colesterol, t = 4 semanas; **B-4:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 4 semanas; **C-10:** alimentados con conejarina, t = 10 semanas; **A-10:** A - 4 alimentados con conejarina + 1% colesterol; **B-10:** alimentados con conejarina + 1% colesterol + aceite de pescado, t = 10 semanas. **ns:** no significativi $p > 0,05$.

Lesiones ateroscleróticas: A las 10 semanas, se observo que el grupo B, que recibió dieta hipercolesterolémica + aceite de pescado, conteniendo EP y DH, presento menor numero de lesiones totales (38) cuando se compara con el grupo A (59) que solo recibió la dieta hipercolesterolémica (Tabla 2)

Tabla 2 Tipo, número y % de lesiones ateroscleróticas en conejos Nueva Zelanda hipercolesterolémicos tratados con aceite de pescado por diez semanas.

Clasificación de las lesiones									
GRUPO	TIPO II		TIPO III		TIPO IV		TIPO V		Número total de lesiones
	n	%	n	%	n	%	n	%	
CONTROL	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A	14	23.72	20	3.89	25	42.37			59
B	7	18.42	21	55.26	9	23.68	1	2.63	38

A vs. B $p > 0.05$; n = número de lesiones; $\chi^2 = 2.584$, $p = 0.108$; %= de cada tipo de lesión en relación al total

El grupo control no presento lesiones, mientras que el grupo B, que recibió el aceite de pescado junto con la dieta enriquecida con colesterol, presentó mayor porcentaje (55,26%) de lesiones Tipo III (preateroma), tipo de lesión que se visualiza en la Figura 4, mientras que el grupo A, que recibió sólo dieta hipercolesterolémica presentó mayor porcentaje (42,37%) de lesiones Tipo IV, la que se observa en la Figura 5. La asociación del número de lesiones y el tratamiento con aceite de pescado no resultó significativa ($\chi^2=2.584$, $p=0,1080$).

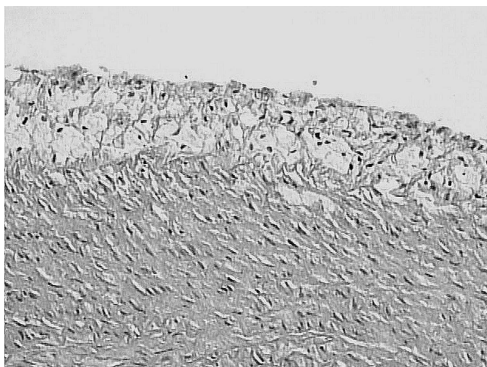


Fig. 4 Histopatología de aorta de conejos sometidos a dieta hipercolesterolémica con lesiones tipo III (preateroma) hematoxilina-eosina 200 x

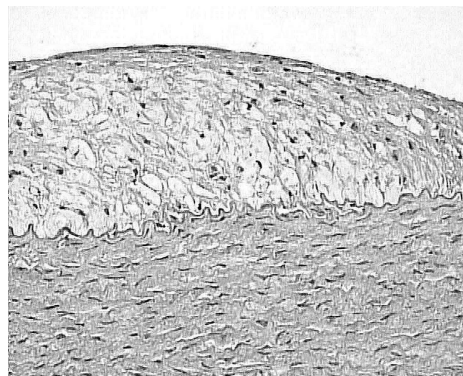


Fig. 5 Histopatología de aorta de conejos sometidos a dieta hipercolesterolémica con lesiones tipo IV Hematoxilina-eosina 200 x

DISCUSION

Los resultados del presente trabajo demuestran que la administración diaria de la dieta hipercolesterolémica por diez semanas con 3 g de aceite de pescado /kg de peso de animal , la cual contenía: 180 mg de EP y 120 g de DH /g de aceite de pescado, no produjo ningún cambio significativo en el CT, y LDLc a las cuatro y diez semanas en conejos Nueva Zelanda hipercolesterolémicos. Así mismo, el tratamiento no modificó la hipertrigliceridemia basal que presentaron estos animales, ya que a todos los animales se les realizo una determinación basal de CT, LDLc y Tg.

Los resultados de este estudio se corresponden con los obtenidos por Mori y col.(2000)(11), quienes postulan que el tratamiento con 4 g diarios por seis semanas con los ácidos EP y DH, a pacientes de mediana edad con sobrepeso e hiperlipidemia, no modifica el colesterol total y las LDLc, si bien los resultados de estos autores se orientan en el mismo sentido a los nuestros, hay que considerar que el presente estudio se realizó en conejos Nueva Zelanda, por lo que, estos resultados no pueden extrapolarse a humanos. En el mismo sentido, en un estudio realizado en 19 voluntarios sanos se observó que después de tres semanas de tratamiento con 6 g diarios de maxepa, conteniendo 1.8 g a partes iguales de EP y

DH no mostró cambios en las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDLc y Tg (12).

En sentido contrario, Nilsen y col,(2001)(13), reportan que la administración por seis semanas de altas dosis (4 g) de ácidos grasos concentrados de la serie n-3 (EP y DH) a pacientes que habían sufrido al menos un evento cardíaco reciente disminuyó el colesterol total y los triglicéridos. No obstante, el presente estudio no se hizo en humanos y se utilizan dosis de EP y DH, aproximadamente 3.5 veces menores que las empleadas por los autores citados (13), de ahí que las diferencias entre los hallazgos reportados por ellos y los nuestros pudieran atribuirse a la disimilitud en : especie, dosis y tiempo de experimentación . Otro trabajo (14) hecho en ratas hipercolesterolémicas, donde se usaron diferentes dosis 2,5, 5 y 10 g/kg de aceite de pescado, mostró que la dosis de 2,5 g/kg de peso disminuyó marcadamente los niveles de CT y LDLc , siendo esta dosis menor a la empleada en nuestro estudio, lo cual podría deberse a la especie usada en el trabajo citado anteriormente(14). Ellos también reportan que no hay una correlación lineal entre los niveles de colesterol total, LDLc y las dosis empleadas de EP y DH.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo podría considerarse que la protección cardiovascular que proveen los ácidos grasos presentes en el aceite de pescado se lleva a cabo a través de mecanismos no directamente relacionados con los lípidos(15).

Por otra parte, se encontró que aunque hubo un menor número de lesiones en el grupo B en relación al grupo A, esta diferencia no fue significativa. De la misma manera, se observó que el grupo que recibió la dieta hipercolesterolémica junto con el aceite de pescado, presentó mayor porcentaje de lesiones consideradas no avanzadas (Tipo III) que el grupo que sólo recibió la dieta hipercolesterolémica, que en cambio presentó mayor porcentaje de lesiones avanzadas (Tipo IV).

En este orden de ideas, un estudio que se realizó en conejos Nueva Zelanda que recibieron una dieta rica en 1% de colesterol más 10% de aceite de pescado diario por 6 semanas, se encontró que el aceite de pescado atenuó la aterosclerosis de conejos que estaban recibiendo concomitantemente dieta hipercolesterolémica (16). El hecho de que nuestros resultados sean diferentes podría deberse a la que se usó una dosis menor a la utilizada en el estudio anterior. De manera semejante, no se corresponde con el trabajo realizado en conejos Watanabe (17), donde el tratamiento con 1,5 mL de aceite de pescado /kg de peso diario por 16 semanas disminuyó significativamente los lípidos plasmáticos y el desarrollo de aterosclerosis de la aorta cuando se comparó con el tratamiento con aceite de oliva. Sin embargo hay que tener presente que este último estudio fue realizado en conejos genéticamente hipercolesterolémicos y en el presente estudio esta condición fue inducida mediante dieta y además, los periodos de experimentación fueron diferentes.

El hecho de que el tratamiento con aceite de pescado por diez semanas no indujera regresión de las lesiones ateroscleróticas podría ser atribuido a que, en un

estudio hecho en conejos Nueva Zelanda con aceite de pescado, se ha postulado que éste induce la formación de unas LDL con mayor susceptibilidad a la oxidación (18).

Los resultados de este estudio indican que en la prevención de la enfermedad coronaria, además de medidas farmacológicas se deben adoptar cambios en el estilo de vida, tal como los hábitos alimenticios. Adicionalmente, se debe tener en cuenta que, en la presente investigación, los conejos no dejaron de recibir la dieta hipercolesterolémica en todo el periodo de experimentación, es posible que si se hubiese suspendido la dieta enriquecida con colesterol y se hubiese suministrado el aceite de pescado se hubiese observado una disminución significativa de los lípidos séricos y de las lesiones ateroscleróticas. Además, hay que considerar la dosis utilizada y el periodo que se utilizó en este estudio pudo ser insuficiente para evidenciar un efecto benéfico del aceite de pescado sobre los parámetros analizados. Así, los resultados del presente trabajo no evidencian un efecto beneficioso de los ácidos grasos de la serie n-3 sobre el perfil lipídico y el riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular.

Financiamiento: Este trabajo fue financiado por el CDCH-UC, Proyecto 96-008

Agradecimientos: Al Laboratorio Naturissima de Venezuela, quien nos proporciono generosamente el aceite de pescado. A los señores Luís Lara y Robinsón Oviedo, miembros del personal del Departamento de Farmacología por su asistencia en el manejo y mantenimiento de los animales.

BIBLIOGRAFIA

1. Harris WS, Von Schacky C. The Omega - 3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev Med*, 2004;39(1):212-220.
2. Angerer P y Von Schacky C. n-3 polyunsaturated fatty acids and the cardiovascular system. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2000; 3(6): 439-445.
3. Bhatnagar D, Durrington PN. Omega 3 fatty acids: their role in the prevention and treatment of atherosclerosis related risk factor and complications. *Int J Clin Pract*, 2003; 57(4):305-314.
4. Hino A, Adachi H, Toyomasu K, Yoshida N, Enomoto M, Hiratsuka A, Hirai Y, Satoh A, Imaizumi T. Very long chain N-3 fatty acids intake and carotid atherosclerosis : an epidemiological study evaluated by ultrasonography. *Atherosclerosis*, 2004; 176(1):145-149.
5. Nenseter MS, Osterud B, Larsen T, Strom E, Bergei C, Hewitt S, Holven KB, Hagve TA, Mjos SA, Solvang M, Pettersen J, Opstvedt J y Ose L Effect of Norwegian fish powder on risk factor coronary heart disease among hypercholesterolemic individuals. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2000; (6): 323-330.
6. Puiggros C, Chacon P, Armadans LI, Clapes J y Planas M. Effects of oleic- rich and omega 3- rich diets on serum lipid pattern and lipid oxidation in mildly hypercholesterolemic patients. *Clin Nutr*, 2002; 21(1): 79-87.
7. Guide for the care and use of animals. 1996; Institute of Laboratory Animal Resources. National Research Council. National Academy Press, Washington DC, USA. Disponible en: <http://grants.nih.gov/grants/olaw/references/phspol.htm> (gratuito)
8. Wieland H y Seidel D. A simple specific method for precipitation of low density lipoproteins, *J Lip Res*, 1983; 24 (7): 904-909.

9. Luna L. Manual de Histological Staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 1968; McGraw-Hill, New York, 11-37.
10. Stary H, Bleakley C, Dinsmore R, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfeld M, Schwart C, Wagner W y Wisler R. A definition of advances types of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of council on Atherosclerosis American Heart Association, *Atheroscler Thromb Vasc Biol*, 1995; 1512-1520.
11. Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, O'Neal DN, Best JD y Beilin LJ. Purified eicosapentanoic and docosahexanoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose and insulin in mildly hyperlipidemic men. *Am J Clin Nutr*, 2000 ;(5):1085-1094.
12. Foulon T, Richard MJ, Payen N, Bourrain JL, Beani JC, Laporte F y Hadjian A. Effect of fish oil fatty acids on plasma lipids and lipoproteins and oxidant-antioxidants imbalance in healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999; 59(4): 239-248.
13. Nilsen DW, Albrektsen G, Landmark K, Moen S, Aarsland T y Woie L. Effect of high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr*, 2001; 74(1): 50-56.
14. Cen X y Wang R. Study on the dose-effect relationship of hypolipidemic effect of deepsea fish oil. *Wei Shenh Yan Jiu*, 1997; 26(5): 337-339.
15. Nestel PJ. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *Am J Clin Nutr*, 2000; 71(1 Suppl): 228S-231S.
16. Chen MF, Hsu HC, Liau CS y Lee YT. The role of Vitamin E on the antiatherosclerotic effect of fish oil in diet-induced by hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 1999; 57(2-3): 99-111.
17. Mortensen A, Hansen BF, Hansen JF, Frandsen H, Bartnikowska E, Andersen PS y Bertelsen LS. Comparison of the effects of fish oil and olive oil on blood lipids and aortic atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Br. J Nutr*, 1998; 80(6): 565-573.
18. Ramírez-Tortosa MC, Aguilera CM, Quiles JL y Gil A. Influence of dietary lipids on lipoprotein composition and LDL Cu⁺⁺ induced oxidation in rabbits with experimental atherosclerosis. *Biofactors*, 1998;8, 1/2, 79-85.