

EFEITOS CARDIOVASCULARES DOS ÁCIDOS GRAXOS OMEGA-3: SUA IMPORTÂNCIA NA PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE E DA DOENÇA CORONÁRIA

LAIR G. T. RIBEIRO, SANDRA L. BURKETT

As prostaglandinas foram inicialmente identificadas no líquido seminal humano e na glândula prostática de carneiros, por Goldblatt¹ e von Euler², no início dos anos 30. Estes pesquisadores descreveram os efeitos vasodepressores e algumas das propriedades químicas de seus extratos. O isolamento das formas cristalinas, PGE e PGF, por Bergstrom e Sjovall³, em 1957, levou à determinação da estrutura por Bergstrom et al⁴ e por Samuelson⁵ no início da década de 60. Em 1964, ácidos graxos essenciais foram determinados como precursores de prostaglandinas e, no ano seguinte, Samuelsson postulou a presença de um intermediário instável na biossíntese das prostaglandinas⁶. Em 1969, Piper e Vane⁷ descobriram que a “substância constritora da aorta do coelho” (SCC), um composto vasoconstritor e agregante plaquetário, com meia-vida de um a dois minutos, era produzido nos pulmões de cobaias sensibilizados. Uma vez que esta substância ativa era liberada a partir do ácido araquidônico, precursor de prostaglandina, e sua produção bloqueada por drogas inibidoras de prostaglandinas, do tipo da aspirina, sugeriu-se que a SCC fosse um intermediário instável da formação de prostaglandinas. A formação dos endoperóxidos cíclicos intermediários instáveis, PGG₂ e PGH₂, foi estabelecida por Samuelsson⁸ e por Nugteren e Hazelhof, em 1973. Devido à similaridade de suas propriedades, estes endoperóxidos foram considerados equivalentes a SCC.

Entretanto, não se observou uma correlação adequada entre as meia-vidas e as atividades agregantes plaquetárias destes endoperóxidos e da SCC, sugerindo a presença de outros componentes ativos na SCC. Em 1975, Samuelsson et al⁹ descobriram o tromboxane A₂ (TXA₂), um produto instável da PGG₂, com estrutura não prostaglandínica. Durante a pesquisa da enzima tromboxane sintetase foi descoberta por Moncada et al¹⁰, um outro metabólito ativo de ácido araquidônico formado na parede do vaso. Originalmente denominada PGX esta substância foi identificada como 9-deoxi-6,9-epoxi-delta-5-PGF_{1-alfa} ou prostaciclina (PGI₂)¹⁻³

Características

As prostaglandinas foram classificadas, de acordo com sua estrutura, pelas letras A até I e por séries 1 a 3, que indicam o número de duplas ligações carbono-carbono na molécula. Encontram-se entre os eicosanóides sintetizados durante a oxigenação enzimática de diversos ácidos graxos poliinsaturados com carbono 20, que contêm 3, 4 ou 5 duplas ligações^{11,12}. Muitos desses ácidos graxos são considerados essenciais porque não podem ser sintetizados pelo organismo humano e precisam ser obtidos de fontes externas. O precursor das prostaglandinas da série 1 é o ácido 5, 8, 11 eicosatrienóico, mais comumente designado dihomo-gama-linolênico (C20: 3n-6). As prostaglandinas da série 1 são de significado cardiovascular desconhecido. As prostaglandinas da série 2, mais importantes para as funções humanas, são derivadas do ácido 5, 8, 11, 14-eicosatetraenóico ou ácido araquidônico (C20: 4n-6). O ácido araquidônico é obtido diretamente da dieta ou indiretamente do ácido linoléico da dieta (C18: 2n-6). As prostaglandinas da série 3 também têm importância biológica e são sintetizadas a partir do ácido 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentanóico (EPA) (C20: 5n-3), que é derivado do ácido alfa-linolênico (C18: 3n-3), primariamente encontrado em peixes. Os tromboxanes (TX) e leucotrienos (LT), que são os outros eicosanóides sintetizados a partir destes ácidos graxos precursores, são categorizados de modo análogo^{12, 17}.

As prostaglandinas são compostos biologicamente ativos, produzidos em quase todos os tecidos do corpo, nos quais exercem seus efeitos. São autacóides ou hormônios locais, não armazenados em células, liberados imediatamente após sua biossíntese, para agir no microambiente para regular várias funções celulares, como o metabolismo nucleotídico cíclico. Muitas prostaglandinas e outros eicosanóides têm ações biológicas complementares ou antagônicas. O tromboxane A₂ e a prostaciclina, por exemplo, regulam o tônus vascular coronário modulando a produção de

* Thomas Jefferson College of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A.

monofosfato de adenosina cíclico (AMPc); o TXA_2 é um dos mais potentes vasoconstritores e agregantes plaquetários, enquanto a PGI_2 é o mais potente inibidor da agregação plaquetária e com grande atividade vasodilatadora. Finalmente, todas as prostaglandinas, exceto as da série A, são destruídas nos pulmões^{12, 14, 17}.

Biossíntese do Ácido Araquidônico

A síntese de prostaglandinas depende da disponibilidade de substratos e enzimas específicas. Pequena parte dos ácidos graxos necessários circula livremente no plasma e está ligada à albumina. Ao contrário, os ácidos precursores são encontrados em consideráveis quantidades nos fosfolípides das membranas. O ácido araquidônico pode ser usado como exemplo por ser o mais abundante e importante destes ácidos precursores. O ácido araquidônico é obtido diretamente de carnes da dieta ou é produto do alongamento e dessaturação do ácido linoléico de óleos vegetais. É esterificado e incorporado pela membrana celular pela acetilcoenzima A-sintetase e armazenado como fosfatidilcolina ou fosfatidilinositol. Alterações mecânicas ou químicas da membrana celular ativam a enzima fosfolipase A_2 , liberando araquidonato que é rapidamente metabolizado por uma das duas vias^{12, 15, 17}.

Na presença da enzima 5-lipoxigenase, encontrada nos leucócitos, plaquetas e pulmões, forma-se um hidroperoxiácido instável, o ácido 5-hidroperoxieicosatetraenóico (HPETE). Este intermediário transforma-se no correspondente hidroxiácido (HETE) e no leucotrieno A_4 . O restante dos leucotrienos da série 4 é derivado do LTA_4 e inclui o LTB_4 , que possui potente efeito inflamatório. O LTB_4 é um potente quimiotático que induz o movimento transvenular de leucócitos e líquidos. Tem sido implicado na artrite reumatóide, psoríase, asma e outras condições inflamatórias. O conhecimento sobre outros produtos da via da lipoxigenase é menor; no entanto, parecem desempenhar papel na anafilaxia e na inflamação^{11, 14, 17, 20}.

A parte mais significativa da cascata do ácido araquidônico é a catalizada pela enzima ciclooxigenase, também conhecida como prostaglandina-sintetase, presente em todas as membranas celulares (Fig. 1). Ciclooxigenase é enzima que contém o radical heme e que requer substrato ácido livre, oxigênio molecular e um ativador de hidroperóxido. Nesta cascata, a PGG_2 , endoperóxido cíclico intermediário instável, dá origem ao próximo intermediário instável, PGH_2 , que possui meia-vida de 5 minutos. Ambos os endoperóxidos possuem propriedades vasoconstritora e agregante plaquetária. Têm numerosas alternativas metabólicas e sua produção é o eixo da cascata, uma vez que os produtos finais dependem nitidamente das enzimas específicas presentes. A PGH_2 é convertida por via enzimática (isomerase e reductase) ou não, para PGD_2 , PGE_2 e $\text{PGF}_{2\text{-alfa}}$. A PGE_2 e a $\text{PGF}_{2\text{-alfa}}$ foram originalmente consideradas produtos primários da cascata do ácido araquidônico. A PGE_2 foi considerada co-

mo a prostaglandina vasodilatadora mais potente e acreditava-se que a $\text{PGF}_{2\text{-alfa}}$ fosse responsável pela vasoconstrição, determinando assim um equilíbrio. Contudo, prostaglandinas vasoativas instáveis mais potentes foram identificadas na via da ciclooxigenase^{11, 12, 14, 17, 21, 22}.

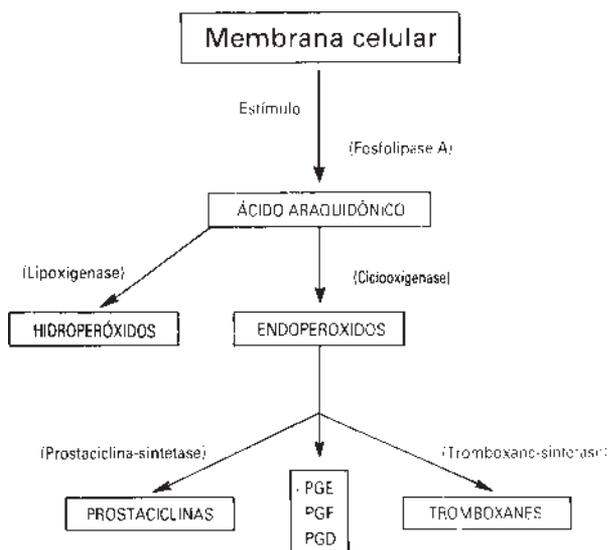


Fig. 1 - Cascata do ácido araquidônico.

Dois outros metabólitos enzimáticos da PGH_2 foram também isolados. Na presença de tromboxane-sintetase, encontrada nas plaquetas, o TXA_2 torna-se seu principal produto. O TXA_2 é altamente instável, com meia-vida de aproximadamente 30 segundos, sendo rapidamente decomposto em tromboxane B_2 , composto estável. Embora de vida curta, o produto lábil é o responsável pela atividade observada. O produto estável de degradação possui atividade desprezível. Induzindo mobilização de íons cálcio (Ca^{++}), o TXA_2 provoca inibição do AMPc, substância que diminui a agregação plaquetária, enquanto estimula a fosfolipase A e a liberação de ácido araquidônico. O TXA_2 é o mais potente agregante plaquetário e também importante vasoconstritor, podendo, inclusive, provocar arritmias. Estas propriedades implicam o TXA_2 como deletério em muitos estados mórbidos^{11, 12, 13, 17, 23}.

Na presença de diferente enzima, os endoperóxidos intermediários da prostacilina sintetase são convertidos em uma prostaglandina que possui atividades opostas às do TXA_2 . A prostacilina, ou PGI_2 , é sintetizada nas células das paredes do vaso a partir do PGH_2 produzido pelas mesmas. Pode-se formar PGI_2 adicional a partir de PGH_2 "roubada" das plaquetas que entram em contato com as paredes dos vasos na circulação, durante o fenômeno da adesão plaquetária. A prostaglandina produzida é instável, com meia-vida de três minutos e decompõe-se espon-

taneamente em 6-oxo-PGF_{1-alfa}, composto estável (inicialmente denominado 6-keto-PGF_{1-alfa}). Contudo, a prostaglandina instável é a biologicamente ativa. A PGI₂ contrapõe-se às ações do TXA₂ e por inibição do Ca⁺⁺, aumenta a produção do AMPc, que diminui a agregação plaquetária e ainda estimula o ácido araquidônico com subsequente produção de mais PGI₂. É o mais poderoso inibidor da agregação plaquetária, 30 vezes mais potente do que a PGE₂^{10, 22} e pode também desagregar trombos plaquetários. Adicionalmente, a PGI₂ é um potente vasodilatador e antiarrítmico, apresentando numerosas ações biológicas benéficas.

Homeostase

Uma vez que estes dois derivados do ácido araquidônico apresentam propriedades diretamente opostas, seu balanço parece ser o meio de regulação da homeostasia. Um excesso de PGI₂ promove situação favorável, na qual a agregação plaquetária é retardada e predomina a vasodilatação, enquanto que um excesso do TXA₂ estimula prejudicialmente a agregação e provoca vasoconstrição; portanto, o balanço TXA₂-PGI₂ é visto como um denominador comum em vários estados mórbidos.

As plaquetas circulam nos vasos sanguíneos e suas colisões ao acaso com as paredes dos vasos provocam as alterações mecânicas necessárias para ativar a enzima fosfolipase A₂. Esta libera o ácido araquidônico armazenado e inicia sua cascata nas plaquetas e nas paredes dos vasos. Ambos contêm a enzima ciclooxigenase que gera os intermediários endoperóxidos cíclicos. As plaquetas contêm a tromboxane-sintetase e, assim, convertem PGH₂ em TXA₂. Neste breve período de tempo antes da decomposição para TXB₂, o TXA₂ inibe a produção de inibidores da agregação, como o AMPc através da mobilização de Ca⁺⁺, e promove a adesão à parede do vaso. Nesse local o TXA₂ plaquetário provoca constrição da musculatura lisa, enquanto estimula mais intensamente a agregação plaquetária. As plaquetas juntam-se e agregam-se, num ciclo vicioso que se perpetua, resultando na formação de trombo e vasoconstrição.

Contudo, a cascata do ácido araquidônico ocorre simultaneamente nas células das paredes do vaso, onde se encontra a prostaciclina-sintetase. Na via da ciclooxigenase, a PGH₂ é produzida e transformada em PGI₂. Adicionalmente, uma vez que as plaquetas tenham entrado em contato com as paredes dos vasos, entra em jogo o “roubo de endoperóxido”: parte da PGH₂ gerada pelas plaquetas é incorporada pelas células das paredes dos vasos e convertida em PGI₂. Esta reduz a produção de cálcio e estimula a produção de AMPc para desagregar as plaquetas e, posteriormente, inibir sua adesão e acúmulo. Desta maneira, a parede dos vasos contrapõe-se à atividade das plaquetas e promove uma condição vantajosa.

Em vasos de indivíduos normais, o mecanismo homeostático é preservado pela produção local de PGI₂

e por sua liberação adicional na circulação, pelos pulmões⁴. Qualquer desequilíbrio em favor da atividade do TXA₂, seja resultado da síntese excessiva de TXA₂ ou de produção insuficiente do PGI₂, determina uma situação prejudicial. Dado que não se descobriu, ainda, um antagonista específico do TXA₂, o objetivo é inibir a cascata do ácido araquidônico em vários pontos, impedindo a produção de TXA₂ ou de seus precursores imediatos, ou aumentando a síntese de PGI₂.

Inibição

O caminho mais direto e bem sucedido para bloquear a formação de TXA₂ é a prevenção da síntese dos precursores através da inibição total da ciclooxigenase. O ácido acetil-salicílico (aspirina), a indometacina e outras drogas antiinflamatórias não hormonais (AINH) similares, acetilam, de modo covalente, o local ativo da ciclooxigenase tornando-a irremovivelmente inativa. Em algumas células a enzima é substituída, permitindo que a PGG₂ e a PGH₂ sejam formadas e perpetuem a cascata. As paredes do vaso, por exemplo, podem produzir ciclooxigenase e restabelecer a formação de PGI₂. Dado que o armazenamento é mantido nas células das paredes dos vasos, não se observa “shunt” do ácido araquidônico da via da ciclooxigenase para a da lipoxigenase. Em contraste, plaquetas anucleadas são incapazes de sintetizar proteínas e não podem gerar TXA₂. Pelo restante de sua duração, tais plaquetas não podem mais gerar o TXA₂. Como decorrência, o balanço é favoravelmente desviado, levando à vasodilatação, e a agregação é evitada^{12, 17, 21, 24}.

Inibidores específicos da tromboxane-sintetase foram desenvolvidos mas não são de utilidade terapêutica. O derivado fenil-fosfonato da floretina (N-0164), benzidamina, imidazol e o análogo 1-metil do imidazol previnem com sucesso a ação da enzima tromboxane-sintetase¹¹. No entanto, a inibição da tromboxane sintetase não parece ser um modo prático para melhorar o balanço da prostaglandina no organismo. O bloqueio da via de síntese do TXA₂ não abole por completo a produção de eicosanóides nas plaquetas. Ocorre um efeito de “shunt” e o ácido araquidônico disponível segue a via em aberto da lipoxigenase, ao invés da via bloqueada da ciclooxigenase. Desta maneira são produzidos leucotrienos (incluindo o LTB₄) no lugar do TXA₂. Embora o balanço PGI₂-TXA₂ seja altamente melhorado, os efeitos deletérios do LTB₄ propiciam uma situação indesejável.

Ainda que a diminuição da produção de PGI₂ seja uma situação desfavorável, não criada intencionalmente, a inibição da prostaciclina-sintetase é um evento com importantes implicações clínicas. A prostaciclina-sintetase é inativada pelo ácido 15-hidropéroxiaaraquidônico, peróxidos de outros ácidos graxos, ésteres metílicos destes peróxidos de ácidos graxos e tranilcipromina. A peroxidação lipídica é induzida

pela formação de radicais livres, que pode ser iniciada por deficiência de vitamina E. intoxicação por tetracloreto de carbono, exposição a radiação ionizante, carcinogênese, processo de envelhecimento, hiperlipidemia acompanhada por aterosclerose e metais catalisadores. Através da inibição indireta da síntese de PGI₂ estes conhecidos agentes produzem seus efeitos prejudiciais^{11, 13}.

Um método eficaz de prevenir a produção de TXA₂ envolve a inibição de toda a cascata do ácido araquidônico. A introdução de um ácido que possa competir favoravelmente com o ácido araquidônico em numerosos processos biológicos reduz a possibilidade de que esta cascata ocorra. Alguns ácidos graxos do tipo omega-3 (assim denominados porque a primeira dupla ligação carbono-carbono aparece no terceiro átomo de carbono a partir do metil-carbono terminal omega) competem com o ácido araquidônico, um ácido graxo omega-6. Os mais eficazes nessa capacidade são o ácido eicosapentaenóico (EPA) (C20: 5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA) (C22: 6n-3). O EPA difere estruturalmente do ácido araquidônico (C20: 4n-6) por possuir cinco duplas ligações de carbono. Estes ácidos entram na cadeia alimentar através de "fitoplanctons" marinhos que convertem o ácido linoléico a ácido alfa-linolênico, precursor imediato do EPA e do DHA. EPA é sintetizado lentamente no organismo humano a partir do ácido alfa-linolênico. O EPA e o DHA são mais rapidamente obtidos pela ingestão de peixe, que prontamente desenvolve o alongamento e dessaturação do ácido-linolênico²⁵.

Os ácidos omega-3 inibem as funções biológicas do ácido araquidônico de diversos modos. EPA e DHA previnem a conversão do ácido linoléico em ácido araquidônico. A acil coenzima A-sintetase catalisa a incorporação destes ácidos na membrana fosfolipídica onde EPA e DHA competem com o ácido araquidônico na posição 2 do fosfolípide. Por estes mecanismos os níveis celulares e plasmáticos do ácido araquidônico e, conseqüentemente, dos produtos de sua cascata, ficam significativamente reduzidos. EPA é o substrato preferido da lipoxigenase, ainda que não compita tão favoravelmente pela ciclooxigenase. A via da ciclooxigenase para o EPA apresenta eficácia de apenas 8% em relação à conversão análoga do ácido araquidônico. Contudo, a cascata do EPA tem considerável importância biológica^{12, 15, 18, 21}.

Cascata do ácido eicosapentaenóico

A cascata do EPA é paralela à do ácido araquidônico, exceto que os eicosanóides resultantes têm três e não duas duplas ligações de carbono. Na presença da 5-lipoxigenase forma-se o intermediário instável, ácido 5-hidroperoxieicosapentaenóico (HPEPE), que reage produzindo ambos os correspondentes

hidroxiácido (HEPE) e leucotrieno A₅. O LTA₅ é convertido em LTB₅ e a LTC₅, sendo este o precursor do LTD₅ e do LTE₅. Ao contrário dos leucotrienos derivados do ácido araquidônico, os da série 5 são biologicamente inativos: não produzem quaisquer efeitos inflamatórios adversos e a substituição do ácido araquidônico pelo substrato preferido da lipoxigenase, o EPA, é um ajuste benéfico.

A ciclooxigenase converte o EPA no endoperóxido cíclico intermediário lábil PGG₃, que se transforma em PGH₃. Espelhando-se na cascata do ácido araquidônico, o PGH₃ é convertido, nas plaquetas, pela tromboxane-sintetase, no instável TXA₃. O TXA₃ decompõe-se rapidamente como o TXA₂ mas, diferentemente de seu análogo da série-2, o TXA₃ é biologicamente inativo. Em constraste, a reação catalisada pela prostaciclina-sintetase dos endoperóxidos intermediários, gera um produto ativo. A nova prostaciclina instável (PGI₃) tem propriedades vasodilatadoras e antiagregantes similares, mas menos potentes que as da PGI₂ (figuras 2 e 3). Contudo, os produtos da cascata do EPA, desviam o balanço homeostático para um sentido favorável^{12, 15, 18, 26}. Parece, assim, que a ingestão aumentada de EPA e outros ácidos graxos omega-3 apresenta vantagens.

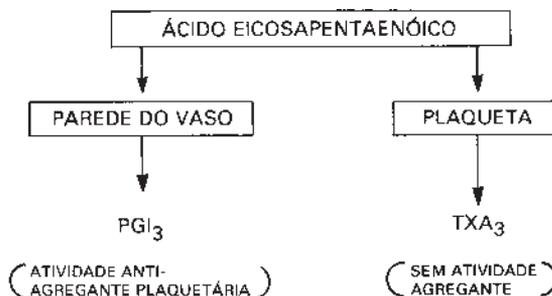


Fig. 2 — Cascata do ácido eicosapentaenóico.

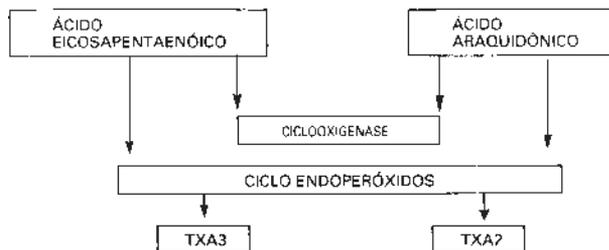


Fig. 3 - Esquema da competição do ácido eicosapentaenóico com ácido araquidônico pela ciclooxigenase.

Histórico

Pesquisas epidemiológicas simultâneas procuraram explicar as baixas incidências de doença coroná-

ria, asma, psoríase e artrite reumatóide observada nos esquimós da Groenlândia. Em estudos feitos por volta de 1930 observou-se o tempo de sangramento prolongado dos esquimós, associado com a redução da agregação plaquetária; no início da década de 70, os estudos de Bang et al²⁷ e de Dyerberg et al²⁸ detectaram retardamento do processo aterosclerótico nos esquimós. Esta condição era acompanhada por perfil lipídico favorável, caracterizado por baixos níveis de triglicérides e colesterol plasmáticos, em função da redução dos níveis de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) e de LDL (lipoproteínas de baixa densidade). Elevação dos níveis de triglicérides, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e colesterol total no plasma está tradicionalmente associada com aumento do risco e da frequência de doença aterosclerótica coronária (DAC). Estes padrões não eram de origem genética. Dyerberg et al²⁹ demonstraram que os padrões da doença coronária, os níveis lipídicos plasmáticos e os tempos de sangramento observados em esquimós expatriados para Dinamarca eram mais similares aos da população dinamarquesa do que aos dos esquimós da Groenlândia. A dieta e não a genética foi apontada como fator determinante primário. A dieta dos esquimós consistia em maior proporção de proteínas, menor de carboidratos e aproximadamente igual proporção de gorduras, em comparação com a dieta dinamarquesa típica. Embora esta dieta parecesse não ser causadora da diferença na frequência da DAC, seria a composição de ácidos graxos mais do que a simples concentração de gorduras, o mais importante. Diferentemente da dieta ocidental típica, que contém significativa proporção de gorduras saturadas e monoinsaturadas, a dieta do esquimó é rica em ácidos graxos altamente poliinsaturados, especialmente EPA e DHA. A partir desses estudos, detectou-se uma correspondência definida entre ingestão de peixe, perfil lipídico favorável e tempo de sangramento aumentado e foi evidenciada uma correlação inversa entre consumo de peixe e prevalência de doença arterial coronária^{15, 18, 24, 30, 33}

Estudos epidemiológicos feitos no Japão, por Hirai et al³⁴, chegaram às mesmas conclusões. Perfis lipídicos e sanguíneos e a ocorrência de doença arterial coronária foram examinados numa vila pesqueira e comparados aos dados de um vilarejo agrícola. Os habitantes da vila pesqueira, que consumiam em média 250 g de peixe (2,5 g de EPA) por dia, apresentavam menor viscosidade sanguínea do que os residentes na região agrícola, que ingeriam em média 90 g de peixe (0,9 de EPA) por dia. Uma vez que o aumento da viscosidade sanguínea tem importância na patogênese dos distúrbios trombóticos, o consumo de peixe foi apontado como benéfico na prevenção de doença arterial coronária³⁰.

Além disso, os estudos de longevidade de Kagawa et al³⁵ indicaram os efeitos positivos do peixe na dieta. Os habitantes da ilha de Kohama, Okinawa, apresentaram a mais longa expectativa de vida entre os japo-

neses. Os níveis plasmáticos do EPA entre seus indivíduos mais idosos ($73,9 \pm 7,8$ anos) eram elevados em comparação à média nacional para a mesma idade. Além disso, foi encontrada correlação positiva entre a ingestão de EPA e níveis plasmáticos de colesterol de alta densidade (HDL) que, por sua vez, se associam com frequência reduzida de DAC. A prevalência de hipertensão e a proporção de achados anormais no teste ergométrico foram significativamente menores entre a população estudada na ilha de Kohama do que as médias nacionais³⁰.

Estudos Complementares

Mesmo na ausência temporária de uma explicação para o mecanismo de prostaglandina, como suporte para os efeitos benéficos do consumo de peixe, pesquisas adicionais foram realizadas para confirmar estas observações. O estudo de Kromhout³⁹, abrangendo 872 homens de uma cidade da Holanda, evidencia correlação inversa entre ingestão de peixe e incidência de DAC no curso de 20 anos (1960-1980). Além disso, mesmo o consumo habitual moderado de peixe demonstrou ser de valia na prevenção da aterosclerose. Não se encontrou correlação entre ingestão de peixe e outros fatores de risco maiores como idade, níveis plasmáticos de colesterol, pressão arterial ou fumo. Portanto, a baixa ingestão de peixe mostrou ser um fator de risco independente para doença coronária e achados prévios foram, então, confirmados.

Numerosos estudos documentaram alterações favoráveis nos perfis hemático e lipídico, resultantes do aumento significativo do consumo de peixe ou da diminuição da ingestão de gorduras saturadas, acompanhada por considerável suplementação dietética com cápsulas de óleo de peixe, tanto em pacientes hiperlipidêmicos como em indivíduos normais. Goodwight et al³⁶, por exemplo, notaram que tempos de sangramento prolongados e adesão plaquetária reduzida resultaram da diminuição da relação ácido araquidônico/EPA causada pela incorporação dos ácidos omega-3 nas células da membranas. Thorngren e Gustafson³⁷ demonstraram que a ingestão de 2 a 3 g de EPA por dia prolongava o tempo de sangramento em 42%, por redução da agregabilidade das plaquetas. Fischer e Weber³⁸ obtiveram achados similares. Aumento do tempo de sobrevivência das plaquetas e da deformabilidade das hemácias, bem como redução da contagem das plaquetas e da viscosidade sanguínea, também foram relatados. Todas essas variáveis contribuem para um perfil antiateromatoso favorável^{15, 24, 30, 39, 40}.

Em diversos estudos Harris et al⁴¹ demonstraram que o consumo significativo de ácidos omega-3 diminui consistentemente os níveis de triglicérides e de VLDL, sendo a magnitude da redução diretamente proporcional aos níveis iniciais dos lípides séricos. Estes efeitos hipolipidêmicos foram rápidos, tendo sido reproduzidos em outros estudos (Stacpoole e Alig²⁵). Contudo, a eficácia dos ácidos omega-3 em reduzir

outros lípidos não foi consistente. Lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e colesterol total foram reduzidos, mas em graus variáveis. Os níveis de HDL-colesterol permaneceram inalterados ou aumentaram discretamente^{25, 30}.

Mecanismos de ação

A alta ingestão de EPA e a baixa ingestão de ácido araquidônico que resultam de uma dieta de ácidos omega-3, desviam o balanço homeostático no sentido de um estado vasodilatador, antiagregante e antiarrítmico, através de mecanismos interrelacionados. O EPA compete com o ácido araquidônico pela ciclooxigenase, resultando na produção de ambas as séries 3 e 2 das prostaglandinas, o que determina diferentes efeitos biológicos. Embora uma pequena quantidade de TXA₂ seja produzida pelas plaquetas, quantidades significativas de PGI₂ e PGI₃ são sintetizadas na parede dos vasos. A aterosclerose inicia-se com uma lesão que desnuda o endotélio. As plaquetas aderem ao local danificado, onde produzem TXA₂ e se agregam. Simultaneamente, é liberado o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), potente quimiotático de monócitos circulantes e um mitógeno que causa proliferação de células musculares lisas no local da injúria. Estas células absorvem lípidos plasmáticos da circulação, que produzem células espumosas e a placa fibrosa. À medida que as células espumosas se enchem e se rompem, uma superfície adicional ao endotélio é exposta como um local para acúmulo de plaquetas, que perpetuam o ciclo vicioso da aterogênese^{15, 17, 18, 23}. Contudo, um balanço de prostaglandinas que favoreça um estado de antiagregação, como a promovida pela cascata do EPA reduz a possibilidade de formação da placa aterosclerótica. Além disso, um trombo transitório, que pode resultar em isquemia ou infarto do miocárdio em artérias previamente lesadas, tem menor probabilidade de formar-se quando o balanço das prostaglandinas inibe a agregação plaquetária. Portanto, a dieta altera a síntese de prostaglandinas e o perfil hemático, que em consequência, reduz o risco de doença coronária aguda.

Como foi previamente mencionado, uma dieta rica em ácidos graxos poliinsaturados modifica o perfil lipídico. Redução de níveis plasmáticos de triglicérides, VLDL, LDL e colesterol total e aumento dos níveis de HDL estão associados com diminuição do risco de DAC. O mecanismo exato do efeito hipolipidêmico dos ácidos omega-3 não foi determinado. Sugeriu-se que os ácidos omega-3 contribuem diretamente para o aumento da depuração de VLDL pelos tecidos periféricos ou pelo fígado, o que resultaria em redução global da quantidade de VLDL sérico. O EPA reduz a lipogênese ao VLDL hepático, provavelmente através da inibição direta da síntese de VLDL-apolipoproteína B, fator essencial na formação da VLDL. De qualquer modo, os níveis reduzidos de VLDL contribuem diretamente para a redução das LDL, da quais

a VLDL é precursor imediato. Adicionalmente, a LDL-apolipoproteína B é derivada da VLDL-apolipoproteína B. A inibição da síntese da substância precursora leva à redução na produção de seu derivado e, conseqüentemente, do produto final, a LDL. Os ácidos omega-3 aumentam a excreção do colesterol fecal, contribuindo para a redução dos níveis do colesterol sérico total. Contudo, apesar de considerável documentação do fato, não há ainda uma explicação mais específica para o efeito hipolipemiante destes ácidos em relação aos triglicérides e ao colesterol total. Do mesmo modo, não se propôs ainda nenhum mecanismo para a elevação da HDL^{25, 31, 42}.

A modificação do perfil lipídico exerce numerosos efeitos benéficos. Primeiramente, o colesterol total alterado afeta o conteúdo lipídico das membranas das hemácias que, por sua vez, altera a estrutura e a fluidez destas membranas. Uma alta concentração de EPA e DHA reduz significativamente a viscosidade das hemácias por aumento da elasticidade e deformabilidade do eritrócito. A diminuição da resistência ao fluxo determina aumento de fornecimento do oxigênio aos tecidos, reduzindo assim a possibilidade de isquemia. A facilitação para um fluxo rápido também reduz a probabilidade de colisão das plaquetas e adesão à parede dos vasos ou de formação de trombo. Maiores quantidades de HDL, que resultam da dieta com ácidos graxos poliinsaturados, estimulam a síntese de PGI₂ enquanto deprimem a síntese de ácido araquidônico a partir do ácido linoléico. Desta maneira, a modificação do perfil lipídico induzido pelo EPA promove uma situação de antiagregação benéfica^{15, 17, 18, 23, 25}.

O consumo de ácidos omega-3 altera não somente o balanço das prostaglandinas, mas também de outros eicosanóides, incluindo os leucotrienos. Uma competição efetiva do EPA com o ácido araquidônico como substrato de lipoxigenase, resulta na síntese de leucotrienos da série 5, que competem com o LTB₄ em vários receptores e impedem a resposta quimiotática dos neutrófilos ao LTB₄, reduzindo portanto sua atividade inflamatória. No entanto, o benefício não é derivado diretamente do aumento do LTB₅, mas primariamente devido à redução competitiva da síntese de LTB₄. Conseqüentemente, a dieta de ácidos omega-3 proporciona um balanço favorável de leucotrienos^{19, 20, 26, 31}.

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Benefícios

O balanço dos eicosanóides e o perfil plasmático de lípidos parece ser o denominador comum em vários estados mórbidos, e os fatores de risco primários para estas condições estão relacionados à composição de ácidos graxos no organismo e às cascatas resultantes. Tradicionalmente, fumo, deficiência de vitamina E, intoxicação por tetracloreto de carbono, exposição a radiação ionizante, hiperlipidemia e processos gerais

de envelhecimento estão associados com efeitos deletérios para a saúde, em especial com aumento do risco de DAC, câncer e outros estados mórbidos. O impacto destes fatores de risco está relacionado à cascata do ácido araquidônico na qual causam peroxidação de lípidos e, subseqüentemente, inibição da enzima prostaciclina-sintetase com desvio do balanço em favor do TXA₂. O consumo de ácidos poliinsaturados marinhos apresenta vantagens profiláticas. Na presença de fatores de risco, esses continuam causando inibição da prostaciclina-sintetase e, como conseqüência, reduzem a produção de PGI₂ e PGI₃ nas paredes dos vasos; no entanto, o balanço dos eicosanóides é desviado para uma situação mais benéfica, uma vez que o TXA₂ e LTB₄ não são produzidos.

O efeito benéfico potencial mais acentuado do uso de ácidos graxos omega-3 relaciona-se à redução da ocorrência de DAC. Um alto valor da relação EPA/ácido araquidônico associa-se com estado antiagregante; por outro lado, uma relação baixa EPA/ácido araquidônico pode realmente ser considerada um fator de risco independente para doença coronária, uma vez que favorece a produção do pró-agregante TXA₂⁴³. O papel proeminente das plaquetas na patogênese e perpetuação da aterosclerose já foi descrito com detalhes. O endotélio lesado não consegue gerar o PGI₂ para retardar a adesão das plaquetas e, portanto, predominam os efeitos biológicos do TXA₂ plaquetário. A adesão das plaquetas e sua agregação no local da injúria do endotélio, induzida pelo TXA₂, resulta eventualmente na formação de placa e estenose dos vasos coronários. A liberação de TXA₂ e outras substâncias vasoativas da placa aterosclerótica pode provocar vasoconstrição e, conseqüentemente, isquemia miocárdica, angina instável e complicações similares. Contudo, se a cascata do ácido araquidônico for inibida pela competição do EPA esta situação tem menor probabilidade de ocorrer. A suplementação de ácidos graxos poliinsaturados, por exemplo, é benéfica na redução da obstrução de veias utilizadas em “shunts” vasculares e na prevenção da reestenose pós angioplastia coronária. Adicionalmente, conseguiu-se redução na frequência de episódios isquêmicos e no consumo de nitroglicerina em casos de angina pectoris. Nesta situação, o consumo de ácidos omega-3 pode alterar a ocorrência de DAC^{14, 31, 40, 44-47}

Uma dieta com alto teor de ácidos eicosapentae-nóico e docosahexaenóico proporciona benefícios adicionais na prevenção ou redução da aterosclerose. Incluem-se redução nos triglicérides, VLDL, LDL e colesterol total, tradicionalmente associada com diminuição do risco de doença coronária. Se os níveis de colesterol sérico são baixos, as células espumosas e a placa resultante têm menor tendência a formar-se. Similarmente, altos níveis de HDL também representam condição de baixo risco, uma vez que o HDL determina síntese de PGI₂. O perfil lipídico que resulta da ingesta de EPA pode também reduzir o risco de lesão do endotélio, que habitualmente inicia o processo patogênico da aterosclerose. Deformabilidade

dificultada das hemácias e aumento da viscosidade sangüínea foram observadas em associação com doenças cardio e cerebrovasculares. A situação inversa-aumento da deformabilidade das hemácias e diminuição da viscosidade sangüínea total-reduzem a ocorrência de dano endotelial devido a distúrbios do fluxo sangüíneo.

Os ácidos omega-3 parecem exercer um efeito anti-hipertensivo. A pressão arterial é controlada pela interação complexa de diversos mecanismos. A substância produzida pelo sistema renina-angiotensina no rim é a norepinefrina, que tem propriedades vasoconstritoras. Os vários derivados da prostaglandina, a partir do EPA e de outros ácidos graxos omega-3, inibem a liberação de norepinefrina das terminações nervosas. Estas prostaglandinas modulam os níveis de norepinefrina e diminuem a reatividade vascular aos estímulos dos hormônios endógenos vasoconstritores. Foram observadas reduções de até 10% na pressão arterial sistólica e diastólica, durante um programa de consumo de óleo de peixe. Portanto, a ingesta de ácidos graxos omega-3 pode ser benéfica no tratamento da hipertensão^{24, 40, 49}.

O impacto dos ácidos graxos poliinsaturados marinhos na síntese de leucotrienos é benéfico no alívio de doenças imunológicas e inflamatórias. Níveis elevados de LTB₄ têm sido implicados na artrite reumatóide, psoríase, nefrite auto-imune “lupus-like” e outras doenças linfoproliferativas auto-imunes “lupus-like”. A competição de EPA com o ácido araquidônico como substrato da lipoxigenase suprime a síntese de LTB₄ e resulta na produção de LTB₅, biologicamente inativo. A redução dos níveis de LTB₄ determina melhora da condição inflamatória e os benefícios do EPA no alívio das doenças citadas têm sido demonstrados experimentalmente^{19, 20, 30, 32, 49}.

Finalmente, grandes doses de ácidos graxos poliinsaturados marinhos foram eficazes na redução do desenvolvimento de certos tipos de câncer. Parecem prevenir o crescimento de tumores de cólon e de mama em roedores. Inibição semelhante foi observada, “in vitro”, na próstata do homem, e em tumores pancreáticos, mamários e do cólon.

Os mecanismos dos efeitos anticancerígenos não são conhecidos, embora pareçam estar relacionados à observação de que a PGE₂ seja um componente importante de alguns tumores. Adicionalmente, os ácidos graxos omega-6 são preferidos para a formação e proliferação das membranas celulares enquanto os ácidos omega-3 parecem ser um substrato pouco eficaz neste processo. Deste modo, os ácidos graxos omega-3 inibem a proliferação celular anormal e não controlada que leva à oncogênese de certos tipos de tumores malignos.

Precauções

Na determinação da eficácia dos ácidos omega-3 na prevenção e redução da aterosclerose e outras doenças, os eventuais riscos precisam ser avaliados

e considerados em relação aos benefícios documentados. Nos estudos citados alguns efeitos colaterais foram assinalados, como náusea e mal-estar epigástrico, sendo a proporção destas queixas baixa^{19, 48}. Embora estes estudos não referissem ganho de peso, o teor calórico do óleo de peixe precisa ser considerado. O consumo exagerado pode provocar deficiência de vitamina E, mas isto é facilmente evitado através da suplementação vitamínica presente nos concentrados de EPA e DHA; outrossim, o óleo de fígado de bacalhau pode provocar toxicidade por excesso de vitamina A e D⁴⁰, o que não ocorre com outros concentrados de EPA e DHA.

Na sociedade ocidental podem ocorrer complicações adicionais. Devido à poluição ambiental, o consumo aumentado de peixe apresenta o risco de intoxicação por mercúrio e outros metais pesados, assim como de pesticidas hidrocarbonados. Os suplementos de ácidos omega-3 em cápsula são preparações comerciais naturais que possuem controle adequado da concentração destes metais tóxicos. O aumento do tempo de sangramento precisa ser considerado em algum as situações (hemofílicos, presença de processos hemorrágicos, p. e., úlcera péptica, etc). Por outro lado, a modificação na produção de leucotrienos pode atenuar eventuais respostas inflamatórias e imunológicas benéficas, como ocorre em infecções graves. Estes riscos precisam ser avaliados ao se fazer recomendações gerais^{18, 40}.

Finalmente, um risco potencial da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados ocorre nos diabéticos insulino-dependentes porque podem alterar as prostaglandinas e os leucotrienos envolvidos na secreção de insulina. Estas alterações podem provocar elevação dos níveis plasmáticos de glicose por aumento de sua produção hepática, sem alteração concomitante na eliminação. Um declínio dos níveis de insulina, de até 40%, exacerba esta situação. Neste caso, o uso de EPA pode não trazer benefícios para os diabéticos^{52, 53}.

Recomendações

Na comunidade médica não foram estabelecidas ainda recomendações específicas para a suplementação com ácidos graxos omega-3. Este é um tópico novo para estudos. No entanto, algumas conclusões podem ser extrapoladas a partir de evidências epidemiológicas. O estado de saúde dos esquimós da Groenlândia demonstra a relativa eficácia e segurança da ingestão a longo prazo de considerável quantidade de ácidos omega-3 marinhos. Os benefícios clínicos documentados do consumo de ácidos graxos poliinsaturados, na prevenção ou redução de afecções inflamatórias ou associadas a distúrbios plaquetários parecem superar eventuais problemas.

Não há ainda recomendações de doses específicas para suplementação com os ácidos omega-3, uma vez

que a maioria dos estudos realizados envolveram doses de até 30 g de óleo concentrado de ácidos omega-3 por dia, altas o suficiente para determinar resposta farmacológica. No entanto, uma orientação geral pode ser obtida a partir dos padrões de consumo dos indivíduos residentes em vilas pesqueiras japonesas e dos esquimós. A utilização de 2,5 a 5 g de EPA, com as necessárias modificações da dieta, parece bastante razoável. Na população normal e saudável a recomendação mínima deve ser suficiente para proporcionar os efeitos profiláticos benéficos dos ácidos omega-3. Indivíduos com risco aumentado de doença coronária, aterosclerose, hiperlipidemia ou condições inflamatórias, podem requerer as doses farmacológicas mencionadas nos estudos prévios.

De modo geral, portanto, recomenda-se consumo de ácidos omega-3, na dieta ou como suplementação dietética, com finalidade profilática^{18, 23, 25, 30, 40}.

REFERÊNCIAS

1. Goldblatt MW-Properties of human seminal plasma. *J. Physiology* 84: 208, 1935.
2. Von Euler Vs-Vasoconstrictor substances extracted from sheep vesicular glands. *Arch Pathol Pharmacol* 175: 78, 1934.
3. Bergstrom S, Sjovall J-The isolation of prostaglandin F from sheep prostate glands. *Acta Chem Scand* 14: 1693, 1960. 1960.
4. Bergstrom S, Ryhage R, Samuelson B and Sjovall J-Prostaglandins and related factors. The structures of prostaglandin E. *J Biol Chem* 238: 3555, 1963.
5. Samuelson B-Prostaglandins and related factors. The structure of Prostaglandin E. *J Am Chem Soc.* 85: 1878, 1963.
6. Samuelson B-On the incorporation of oxygen in the conversion of 8, 11, 14-Eicosatrienoleic acid to prostaglandin E. *J Am Chem Soc.* 87: 3011. 1965.
7. Piper PJ and Vane JR-Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature* 223: 29, 1969.
8. Samuelson B, Granstrom E, Green K and Hamberg M-Metabolism of prostaglandins. *Am NY Acad Sci.* 180: 138, 1979.
9. Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B-Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandins endoperoxides. *Proc Nat Acad Sci USA.* 72: 2994, 1975.
10. Moncada S, Gryglewski RJ, Bunting S and Vane JR-An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandins endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263: 663, 1976.
11. Dusting GJ, Moncada S, Vane JR-Prostaglandins, their intermediates and precursors: cardiovascular actions and regulatory roles in normal and abnormal circulatory systems. *Prog. Cardiovasc Dis* 21: 405, 1980.
12. Gorman RR-Prostaglandins, thromboxanes, and prostacyclin. *In: Rickenberg, RV. Biochemistry and mode of action of hormones II. International Review of Biochemistry*, 20. Baltimore: University Park Press, 1978, pp 81.
13. Moncada S, Vane JR.-Physiology in medicine: arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med.*, 300: 1142, 1979.
14. Needleman P, Kaley G.-Cardiac and coronary prostaglandin synthesis and function. *N Engl J Med.*, 298: 1122, 1978.
15. Leaf A, Weber PC.-Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N Engl J Med.*, 318: 549, 1988.
16. Dunn MJ, Grone HJ. The relevance of prostaglandins in human hypertension. *In: Neri Serneri GG, et al.-Advances in Prostaglandin, Thromboxane, and Leukotriene Research*, 13. New York: Raven Pres., 1985, pp. 179.
17. Cannon PJ.-Eicosanoids and the blood vessel wall. *Circulation*, 70: 523, 1984.

18. Mehta J, Lopez LM, Wargovich T.-Eicosapentaenoic acid: its relevance in atherosclerosis and coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 59: 155, 1987.
19. Kremer JM, Jubiz W, Michalek A et al.-Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*, 106: 497, 1987.
20. Bittiner SB, Tucker WFG, Cartwright I, Bleehan SS.-A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis. *Lancet*, 1: 378-380, 1988.
21. Marcus AJ.-The eicosanoids in biology and medicine. *J Lipid Res*, 25: 1511, 1984.
22. Armstrong JM, Dusting GJ, Moncada S, Vane JR.-Cardiovascular actions of prostacyclin (PGL₂), a metabolite of arachidonic acid which is synthesized by blood vessels. *Circ. Res.*, 43 (Supp. 1): 112, 1978.
23. Dyerberg J, Jorgensen KA.-Marine oils and thrombogenesis. *Prog Lipid Res*, 21: 255, 1982.
24. Davidson MH, Liebson PR.-Marine lipids and atherosclerosis: a review *Cardiovasc Rev and Rep*, 7: 461, 1986.
25. Stacpoole PW, Alig J.-Advances in the treatment of coronary heart disease: fish oils, cholestyramine, and mevinolin. *Cardiovasc Clin*, 18: 267, 1987.
26. Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Ravalese J, Spur BW, Robinson DR, Corey EJ, Lewis RA, Austen KF.-Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med*. 312: 1217, 1985.
27. Bang HO, Dyerberg J, Hjorne N.-The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand.*, 200: 69, 1976.
28. Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N.-Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr*, 28: 958, 1975.
29. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR.-Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*, 2: 117, 1978.
30. Sachi Sri Kantha.-Dietary effects of fish oils on human health: a review of recent studies. *Yale J Biol Med*. 60: 37, 1987.
31. Ballard-Barbash R, Callaway CW.-Marine fish oils: role in prevention of coronary artery disease. *Mayo Clin Proc*, 62: 113-18, 1987.
32. Horrobin DF.-Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acid (EFA) metabolism or a combination of both? *Med. Hyp.*, 22: 421, 1987.
33. Kroman N, Green A.-Epidemiological studies in the Uppernavik district, Greenland: incidence of some chronic diseases, 1950-74. *Acta Med Scand*, 208: 401, 1980.
34. Hirai A, Hamazaki T, Terano T.-Eicosapentaenoic acid and platelet function in Japanese. *Lancet*, 2: 1132, 1980.
35. Kagawa Y.-Impact of Westernization on the nutrition of Japanese: changes in physique, cancer, longevity and centenarians. *Preventive Medicine*, 7: 205, 1978.
36. Goodwight SH, Harris WS, Connor WE.-The effects of dietary w-3 fatty acids on platelet composition and function in man: a prospective, controlled study. *Blood*, 58: 880, 1981.
37. Thorngren M, Gustafson A.-Effects of 11-week increase in dietary eicosapentaenoic acid on bleeding time, lipids and platelet aggregation. *Lancet*, 11: 1190, 1981.
38. Fischer S, Weber PC.-Prostaglandin I₃ is formed *in vivo* in man after dietary eicosapentaenoic acid. *Nature*, 307: 165, 1984.
39. Kromhout D, Bosschieter ED, de Lezenne Coulander C.-The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med.*, 312: 1205, 1985.
40. Yetiv JZ.-Clinical applications of fish oils. *JAMA*, 260: 665, 1988.
41. Harris WS, Connor WE, Inkeles SB, Illingworth DR.-Dietary omega-3 fatty acids prevent carbohydrate-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism.*, 33: 1016, 1984.
42. Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris WS, Illingworth DR.-Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J Med.*, 312: 1210, 1985.
43. Kondo T, Ogawa K, Satake T et al.-Plasma-free eicosapentaenoic acid/arachidonic acid ratio: a possible new coronary risk factor. *Clin. Cardiol.*, 9: 413-16, 1986.
44. Chesebro JH, Lam JYT, Fuster V.-The pathogenesis and prevention of aortocoronary vein bypass graft occlusion and restenosis after arterial angioplasty: role of vascular injury and platelet thrombus deposition. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 8: 57B, 1986.
45. Fuster V, Chesebro JH.-Role of platelet inhibitors in aortocoronary artery vein-graft disease. *Circulation*, 73: 227, 1986.
46. Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA, Jablonsky G, Kostuk WJ, Melendez LJ, Myers MG, Sackett DL, Sealey BJ, Tanser PH.-Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina. *N Engl J Med.*, 313: 1369, 1985.
47. Lewis HD, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JE, Schnaper HW, LeWinter MM, Linares E, Pouget JM, Sabharwal SC, Chesler E, DeMots H.-Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. *N Engl J Med*. 309: 396, 1983.
48. Tamura Y, Hirai A, Terano T, Takenaga M, Kitagawa H.-Anti-thrombotic and anti-atherogenic action of eicosapentaenoic acid. *Jap Circul J*, 51: 471, 1987.
49. Vane JR, McGiff JC.-Possible contributions of endogenous prostaglandins to the control of blood pressure. *Circul Res*, 36-37, (Supp. 1): 68-75, 1975.
50. Kelley VE, Ferretti A, Izui S, Strom TB.-A fish oil diet rich in eicosapentaenoic acid reduces cyclooxygenase metabolites, and suppresses lupus in MRL-1 pr Mice. *J Immunol*, 134: 1914, 1985.
51. Karmali RA, Reichel P, Cohen LA, Terano T, Hirai A, Tamura Y, Yoshida S.-The effects of dietary omega-3 fatty acids on the DU-145 transplantable human prostatic tumor. *Anticancer Res.*, 7:1173, 1987.
52. Omega-3 fatty acids harmful to diabetics. *Med. World News*, 104-105, June 8, 1987.
53. Horowitz N.-Fish oil decontrols diabetics. *Med. Trib.*, 28: 1, 12-13, June 8, 1987.