

## Ingesta crónica de aceites vegetales bromados: su acción sobre la secreción hepática y catabolismo de lipoproteínas plasmáticas<sup>1</sup>

Norberto O. Mocchiutti<sup>2</sup>, Claudio A. Bernal<sup>2</sup> y Yolanda B. Lombardo<sup>2,3</sup>

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

**RESUMEN.** Trabajos previos de nuestro grupo demostraron que ratas Wistar sometidas a una ingesta crónica (105 días) de aceites vegetales bromados (AVB) en dosis de 0,5 g % (p/p) producía un incremento significativo del contenido lipídico en corazón e hígado, concomitante con un descenso en los niveles plasmáticos de los lípidos circulantes. Estos hallazgos nos sugirieron la posibilidad de existencia de una alteración en la secreción hepática y/o composición lipídica de los lipoproteínas plasmáticas, por lo que nos propusimos evaluar en animales alimentados crónicamente con AVB la velocidad de secreción hepática de triglicéridos «in vivo» por bloqueo de la remoción con Triton WR 1339, la capacidad de remoción de los triglicéridos circulantes por cuantificación de las actividades lipolíticas postheparínicas y la concentración de los principales componentes lipídicos en las lipoproteínas plasmáticas. Los resultados obtenidos indican una menor secreción de prelipoproteína-triglicérido con una remoción plasmática normal, sin embargo el descenso en los niveles lipídicos plasmáticos no se traduce en una alteración de la distribución porcentual en las fracciones lipoproteicas aisladas, lo que hace suponer que la ingesta crónica de AVB produce una alteración en la síntesis de los componente lipídicos y/o proteicos o un ensamblaje inadecuado de los mismos a nivel hepático.

Estos hallazgos indican la importancia de profundizar el estudio de los efectos tóxicos de estos aditivos alimentarios empleados asiduamente en bebidas analcohólicas con sabor cítrico artificial de uso corriente.

**SUMMARY.** Chronic ingestion of brominated vegetable oils: Its action on hepatic secretion and catabolism of plasma lipoproteins. We have previously reported that normal Wistar rats fed during 105 days with standard laboratory chow, supplemented with 0.5g of brominated vegetable oil (olive, sunflower) per 100 g of diet showed a significant increase of triglyceride and cholesterol content in both heart and liver. This was accompanied by a significant decrease of plasma lipid levels.

Fluctuations in plasma triglyceride concentrations may be a result of either variations in the liver secretion rate of very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG), or changes in their removal rate by extrahepatic tissues or both. In the present work we have studied the contribution of both VLDL-TG secretion, and removal rates of plasma TG in the decrease of plasma TG levels, in rats fed during 105 days with a standard laboratory chow supplemented with 0,5 g per 100 g of brominated vegetable oil. VLDL-TG secretion was estimated by measuring the accumulation of plasma TG following the injection of TRITON WR 1339 and the removal rate of plasma TG by assaying plasma post-heparin lipolytic total (PHLA) and hepatic (H-TGL) lipase activities. In addition, the major lipid composition of plasma lipoprotein fractions were measured. Results were compared to those of a control group fed a laboratory chow diet during the same period of time.

Our results show a decrease in both VLDL-TG secretion and plasma TG pool size accompanied by normal PHLA and H-TGL activities in animals fed the diet supplemented with brominated oils. However, the proportion of the major lipid components of the plasma lipoproteins fractions were unchanged. This finding could indicate an impaired synthesis and/or secretion of VLDL-TG lipoprotein by the liver.

In summary, the toxicologic effects observed during chronic intake of diets supplemented with brominated oils, suggest the need to undertake further biochemical studies of this food additive used in the manufacture of certain citrus flavored beverages.

1. Este trabajo se llevó a cabo bajo el auspicio de la Secretaría de Estado de Ciencias y Tecnología (SECYT), Subsidio Nº 297/87.
2. Todos los autores son miembros del Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero 2829, (3000) Santa Fe, Argentina.
3. Miembro de la carrera del Investigador Científico, CONICET, Argentina.

## INTRODUCCION

Los aceites vegetales bromados (AVB) son empleados industrialmente en el proceso de elaboración de bebidas alcohólicas con el fin de ajustar la densidad de los aceites esenciales cítricos utilizados, logrando así una suspensión homogénea de los mismos y una bebida que se asemeja más al jugo natural de la fruta.

Debido al uso frecuente de estos aditivos alimentarios y a los efectos toxicológicos tales como acumulación lipídica en hígado y miocardio, retardo en el crecimiento, etc. demostrado experimentalmente en ratas por Munro y colaboradores (1-3), nuestro grupo de trabajo realizó estudios similares, encontrando que al suplementar la dieta standard de laboratorio de ratas Wistar machos normales con una mezcla de aceite de oliva/girasol bromado en dosis de 0.5 g/100g dieta durante 15 semanas, se producían aumentos en el peso del hígado y del corazón, con incrementos significativos en el contenido de triglicéridos (TG) hepáticos y cardíacos (4,5). Los mismos autores observaron un descenso simultáneo en los niveles plasmáticos de estos componentes lipídicos, mucho más pronunciados para los TG plasmáticos (aproximadamente 60%).

Las fluctuaciones en los niveles plasmáticos de TG pueden ser el resultado de variaciones en la velocidad de secreción de los pre  $\beta$ -lipoproteínas-triglicéridos desde el hígado, de cambios en su remoción por los tejidos extrahepáticos y hepáticos o una combinación de ambos procesos.

Con el propósito de dilucidar algunos de los mecanismos que conducen al descenso significativo de los niveles plasmáticos de TG en los animales sometidos a la ingesta de aceites vegetales bromados, nos propusimos evaluar:

- a) La velocidad de secreción hepática de TG «in vivo» (VSTG), evidenciada por el acúmulo de TG en el plasma luego de la administración por vía endovenosa de Triton WR 1339, agente que bloquea la remoción de los TG plasmáticos;
- b) La capacidad de remoción de los TG circulantes, cuantificando para ello las actividades lipolíticas post-heparínicas hepáticas (TGL-H) y total PHLA; y
- c) La concentración de los principales componentes lipídicos de las mayores fracciones lipoproteicas plasmáticas, en animales de experimentación que recibieron la dieta standard de laboratorio suplementada con aceite de oliva/girasol bromado (0.5 g/100 g comida) durante 15 semanas.

## MATERIALES Y METODOS

### *Animales de experimentación*

Se emplearon ratas machos de la cepa Wistar de un peso inicial de 70-80 g. mantenidos desde su arribo al bioterio a temperatura controlada ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas y libre acceso al agua y a la dieta standard de laboratorio (Labina: Purina S.A.-Buenos Aires). Luego de una semana de estabilización y aclimatación los animales que alcanzaron un peso promedio de  $85.6 \pm 3.6\text{g}$  fueron agrupados al azar en dos lotes de 34 animales cada uno que comenzaron a recibir la dieta standard de laboratorio suplementada con 0.5% (p/p) de aceite de maíz (Lote DS: Control), o con 0.5% (p/p) de mezcla aceite girasol-oliva bromado (Densitol A, Laboratories Abbott -p.e.: 1.305-1.315 a  $25^\circ\text{C}$ ) - (Lote AVB: Experimental) ambas dietas aportan aproximadamente 365 cal/100g comida y fueron ofrecidas «ad libitum» durante un período de 15 semanas. Se controló el peso de los animales dos veces por semana y la ingesta calórica durante todo el período. En un experimento en paralelo la ingesta calórica y la ganancia de peso de 6 animales de cada lote fue diariamente registrado como se describiera anteriormente (4).

El día del experimento se retiró la comida a la hora 6 y las tomas de muestras se realizaron entre las horas 10 y 12, salvo indicación precisa en algunos de los experimentos realizados.

### *Métodos Analíticos*

Los animales fueron anestesiados con Nembutal (60 mg/kg peso) i.p., obteniéndose muestras de sangre de vena yugular en tubos enfriados, centrifugándose a  $4^\circ\text{C}$ . Los sueros obtenidos fueron procesados inmediatamente o congelados a  $-20^\circ\text{C}$  por períodos de no más de 3 días, determinándose en los mismos triglicéridos (TG) (6); colesterol (Col) (7) y fosfolípidos (FL) (8) por métodos espectrofotométricos.

### *Velocidad de secreción de triglicéridos (VSTG)*

La velocidad de secreción de triglicéridos «in vivo» fue determinada en animales alimentados con dieta standard (DS n=12) o adicionada de aceites vegetales bromados (AVB n=12) durante 105 días y ayunados 12 horas previas a la experiencia (con lo que se minimiza la contribución de TG al plasma a partir de los quilomicrones). Los animales anestesiados como se describió previamente, recibieron por vía endovenosa una solución en ClNa 0.9% de Triton WR 1339 a 600 mg/kg de peso, tomándose muestras de

sangre para el dosaje de TG inmediatamente antes (tiempo: 0 min.) y a los 30, 60, 90 y 120 min. luego de la administración de la droga. Durante todo este período de tiempo se mantuvo la temperatura del animal a aproximadamente 37°C por medio de una lámpara eléctrica. Trabajos previos demostraron (9, 10) que con esta dosis de Triton WR 1339 se obtiene el máximo de inhibición de la remoción de TG del plasma y la acumulación de los mismos es lineal hasta los 120 min. La VSTG fue calculada a partir de la siguiente fórmula:

$$VSTG \text{ (nmol.100g peso}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = \frac{TG_{(120)} - TG_{(0)} \cdot Vp \cdot 100}{120 \cdot P \cdot 1000}$$

donde TG<sub>(120)</sub> y TG<sub>(0)</sub> representan las concentraciones de triglicéridos plasmáticos a 120 y 0 minutos (nmol/L); Vp el volumen plasmático total (ml) y P el peso de la rata (g).

En experiencias en paralelo se determinó el volumen plasmático (11) de ambos grupos de animales. Mayores detalles de la metodología empleada fueron descritos anteriormente (10).

#### *Actividades lipolíticas post-heparínicas del plasma (PHLA)*

Otros animales de ambos grupos (DS n=7 y AVB n=7) fueron anestesiados, como se describió previamente, recibiendo por vía endovenosa (vena yugular) heparina sódica (200 U/kg peso), tomándose muestras de sangre desde la vena cava superior a los 5-7 minutos posteriores a la administración de la misma. La PHLA fue cuantificada como actividad lipolítica post-heparínica total por el método de Krauss y colaboradores (12) y la actividad triglicérido lipasa hepática (TGL-H) fue determinada luego de la inhibición de la lipoproteína lipasa extrahepática (LPL) con sulfato de protamina (12). Resultados previos de nuestro grupo (13) demuestran que valores de TGL-H obtenidos mediante cromatografía de afinidad sepharosa-heparina son comparables a aquellos obtenidos por inhibición de la LPL extrahepática con sulfato de protamina, lo que convalida el uso de este procedimiento. Las actividades PHLA y TGL-H fueron expresadas como  $\mu$  moles de glicerol .ml<sup>-1</sup> .hora<sup>-1</sup>. Mayores detalles de esta metodología fueron comunicados previamente (13).

#### *Fraccionamiento salino del suero*

Alícuotas de suero fueron empleadas para desarrollar técnicas de fraccionamiento salino de las lipoproteínas plasmáticas empleando la precipitación por polianiones (heparina-Cl<sub>2</sub>Mn) (14) para precipitar las lipoproteínas portadoras de apoproteínas B, resultando una solución que retiene las lipoproteínas correspondientes a la fracción  $\alpha$ .

Mediante la adición al suero de una solución de duodecilo sulfato de sodio se precipitan las lipoproteínas que corresponden a la fracción  $\beta$ pre, quedando en solución las lipoproteínas de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$  (15). En los distintos sobrenadantes así obtenidos se dosaron TG, col y FL por los mismos métodos que se emplearon con el suero total.

#### *Métodos estadísticos*

Los distintos parámetros estudiados fueron analizados estadísticamente, utilizando el test «t» de Student (16).

#### *Materiales utilizados*

Trioleína, albúmina bovina fracción V (esencialmente libre de ácidos grasos). Triton WR 1339, duodecilo sulfato de sodio y azul de Evans, se obtuvieron de Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, EE.UU.. Los demás reactivos fueron grado ACS.

## RESULTADOS

La dieta experimental (AVB 0.5% p/p) fue bien aceptada por los animales en estudio. Esto se observa en la similitud de los valores obtenidos en la ganancia de peso (g/105 días de dieta)  $X \pm E.E.$ : AVB 244  $\pm$  13.5 vs. 245  $\pm$  12.3 para DS y en la ingesta calórica diaria (calorías/día)  $X \pm E.E.$ : AVB 80.1  $\pm$  3.5 vs. 75.6  $\pm$  2.9 para DS. Estos resultados son similares a los encontrados en estudios previos.

En la Tabla 1 podemos observar que los animales alimentados con AVB presentan una VSTG significativamente menor que la observada en el lote que recibió DS. Esta disminución en la VSTG se acompaña de un decrecimiento del pool de TG plasmáticos que no puede ser atribuido a una mayor remoción ya que las actividades lipolíticas post-heparínicas hepática (TGL-H) y total (PHLA) se encuentran dentro de los valores normales. Los animales alimentados con AVB muestran además un significativo incremento en el contenido de TG hepáticos al cabo de 15 semanas de dieta:  $X \pm E.E.$   $\mu$ moles/órgano total AVB 379  $\pm$  21.8 vs 153  $\pm$  11.6 para el lote DS  $p < 0.001$ .

Al cuantificar los componentes lípidos más importantes tales como colesterol, triglicéridos y fosfolípidos en el plasma total y en los sobrenadantes correspondientes a las diferentes lipoproteínas obtenidas por precipitación selectiva de los sueros de ambos lotes de animales (Tabla 2) observamos que el descenso individual en los niveles plasmáticos basales de dichos lípidos no se traduce en una distribución porcentual diferente en las mayores fracciones lipoproteicas analizadas, ya que los mismos se mantienen dentro de los valores obtenidos en el lote control (DS).

TABLA 1  
VELOCIDAD DE SECRECIÓN DE TRIGLICERIDOS (VSTG) AL PLASMA, POOL PLASMÁTICO DE TG Y ACTIVIDADES LIPOLÍTICAS POSTHEPARÍNICAS DEL PLASMA (PHLA) Y TRIGLICERIDO LIPASA HEPÁTICA (TGL-H)

	DS	AVB
VSTG		
nmol .min <sup>-1</sup> .100g peso <sup>-1</sup>	154 ± 10 <sup>a</sup>	124 ± 9*
Pool TG		
nmol .100g peso <sup>-1</sup>	1456 ± 95	955 ± 87**
PHLA		
µmol glicerol .min <sup>-1</sup> . hora <sup>-1</sup>	7.80 ± 0.14	8.00 ± 0.41
TGL - H		
µmol glicerol .min <sup>-1</sup> . hora <sup>-1</sup>	5.35 ± 0.35	5.31 ± 0.22

DS: Dieta standard de laboratorio suplementada con 0.5 g aceite de maíz 100 g dieta.

AVB: Dieta standard de laboratorio suplementada con 0.5g aceite bromado/100 g dieta.

a: X ± EE. Al menos 6 determinaciones individuales por grupo.

\*: p < 0.05

respecto del grupo DS

\*\* : p < 0.01

TABLA 2  
NIVELES SÉRICOS DE COLESTEROL, TRIGLICERIDOS Y FOSFOLÍPIDOS Y SU DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL EN FRACCIONES LIPOPROTEICAS OBTENIDAS POR PRECIPITACIÓN SELECTIVA

Constituyentes	dieta	% en fracción lipoproteica			Total en suero nmol. l <sup>-1</sup>
		α	β	preβ <sup>a</sup>	
Colesterol	DS	66.8 ± 2.0 <sup>b</sup>	21.0 ± 4.3	12.41.	65 ± 0.07
	AVB	63.1 ± 5.6	22.2 ± 3.2	14.7	1.29 ± 0.07**
Triglicéridos	DS	5.3 ± 0.4	38.3 ± 3.8	56.4	0.88 ± 0.08
	AVB	6.9 ± 0.7	36.0 ± 1.1	57.1	0.37 ± 0.06***
Fosfolípidos	DS	71.8 ± 4.4	18.3 ± 1.9	9.9	1.96 ± 0.08
	AVB	69.0 ± 5.6	17.9 ± 3.6	13.1	1.47 ± 0.07**

DS: Dieta standard de laboratorio suplementada con 0.5g de aceite de maíz/100g dieta.

AVB: Dieta standard de laboratorio suplementada con 0.5 g aceite bromado/100g dieta.

a: Obtenido por diferencia [total - (α + β) = preβ].

b: X ± EE. Al menos 6 determinaciones individuales por grupo

\*\* : p < 0.01

respecto del grupo DS

\*\*\*: p < 0.001

## DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio ratifican los anteriormente hallados por nuestro grupo y demuestran que el pronunciado decrecimiento en los niveles plasmáticos de triglicéridos observado en los animales bajo ingesta crónica de AVB (0.5% p/p) es debido principalmente a una menor secreción hepática de pre  $\beta$  lipoproteína-triglicérido y no a una acelerada remoción plasmática de los mismos. A diferencia de lo observado en el plasma de dichos animales, el contenido de triglicéridos hepáticos es significativamente mayor cuando la dieta contiene AVB, y esto se acompaña con una marcada hepatomegalia. A este respecto Wilson y colaboradores (17) observaron hepatomegalia e incremento de los triglicéridos hepáticos, similarmente Jones y colaboradores (18) informan un acúmulo de ácidos grasos de 14-16 átomos de carbono en corazón, hígado y tejido adiposo, indicando una alteración en la  $\beta$  oxidación en tales tejidos. Más aún, Jones (19) constató que los derivados 9-10 dibromoestearato (DBE) se acumulan preferentemente a nivel de músculo cardíaco y los derivados 9-10, 12-13 tetrabromoestearato (TBE) a nivel hepático, sugiriendo además que estos últimos no se incorporan a las lipoproteínas en la misma medida que los primeros.

Al presente no disponemos de información sobre los mecanismos involucrados que conducirán a la menor secreción de pre lipoproteínas-triglicéridos por el hígado de ratas alimentadas con dietas suplementadas con AVB, pero no debemos descartar la posibilidad de que la cronicidad de la ingesta conduzca a una alteración en la síntesis de los componentes lípidos y/o proteicos o a un ensamblaje inadecuado de los mismos.

El significativo decrecimiento en los niveles plasmáticos de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos podría también reflejarse en un menor contenido de estos componente lipídicos en las diferentes lipoproteínas plasmáticas y/o una distribución alterada de los mismos, o una combinación de ambos procesos. Pero aún teniendo en cuenta limitaciones que presentan los métodos de fraccionamiento salino aquí utilizados respecto de los métodos de aislación por ultracentrifugación, al no posibilitar la separación selectiva de lipoproteínas de densidad intermedia como las IDL o de las subfracciones  $\alpha_2$  y  $\alpha_3$  de las lipoproteínas correspondientes a la fracción  $\alpha$ , nuestros resultados indican que la proporción de los principales componentes lipídicos en las mayores lipoproteínas plasmáticas correspondientes a las fracciones  $\beta$ , pre  $\beta$  y  $\alpha$ , no son diferentes de los encontrados en los animales alimentados con dieta standard de laboratorio, y son semejantes a los hallados por Müller y colaboradores (20), Bagdade y colaboradores (21) y Lasser y

colaboradores (22), empleando la ultracentrifugación para aislar las lipoproteínas. Sin embargo, si bien los porcentajes de los principales componentes lipídicos de las lipoproteínas se encuentran dentro de los valores observados en los animales controles, no podemos inferir a través de ellos que una alteración en los componente apoproteicos, que cumplen un rol fundamental en el metabolismo de las lipoproteínas, no se encuentre presente en los animales que recibieron la dieta adicionada de AVB. Trabajos en curso tratan de verificar esta hipótesis.

En síntesis, las alteraciones lipídicas observadas en ratas alimentadas crónicamente con dietas suplementadas con 0.5% g de aceites vegetales bromados abonan aún más las mencionadas anteriormente por nosotros y otros investigadores, enfatizando la necesidad de una evaluación más exhaustiva del empleo de estos agentes en la obtención de bebidas analcohólicas de uso corriente.

## REFERENCIAS

1. Munro, I.C., B. Hand, E.J. Middleton, H.A. Heggveit and H.C. Grice. Biochemical and pathological changes in rats fed low dietary levels of brominated cottonseed oil. *Fd. Comest. Toxicol.*, 9:631-637, 1971.
2. Munro, I.C., F.A. Salem, T. Goodman and S.H. Hasnain. Biochemical and pathological changes in the heart and liver of rats given brominated cottonseed oil. *Toxicol. Appl. Pharmac.*, 19:62-70, 1971.
3. Munro, I.C.; B. Hand, E.J. Middleton, H.A. Heggveit and H.C. Grice. Toxic effects of brominated vegetable oils in rats. *Toxicol. Appl. Pharmac.*, 22:432-439, 1972.
4. Lombardo, Y.B., A. Chicco, M.Z. Basílico, C. Bernal y R. Gutman. Abnormal lipid metabolism in the heart of rats fed a standard diet supplemented with 0.5% of brominated vegetable oils. *Lipids*, 20:425-432, 1985.
5. Bernal, C., M.Z. Basílico y Y.B. Lombardo. Efectos tóxicos producidos por la ingesta crónica de aceites vegetales bromados. *Arch. Lat. Nutr.*, 26 (3):422-442, 1986.
6. Laurell, S.. A method for routine determination of plasma triglycerides. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 18:668-672, 1966.
7. Leffler, H. Estimulation of cholesterol in serum. *Am. J. Clin. Pathol.*, 31:310-313, 1959.
8. Duck-Chong, C.A. A rapid sensitive method for determining phospholipid phosphorus involving digestion with magnesium nitrate. *Lipids*, 14:492-497, 1979.
9. Otway, S.A. Robinson. The use of a non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions. *J. Physiol.*, 190:320-332, 1967.
10. Bernal, C., M.Z. Basílico, R. Gutmán, Y.B. Lombardo. Secretion and removal rates of very low density lipoprotein triglycerides at the three metabolic periods of hypertriglyceridemia induced by a sucrose rich diet. *Nutr. Rep. Int.*, 40:71-83, 1989.

11. Wang, C., D.M. Hegsted. Determination of blood and plasma volumes, Thiocyanate space, and bromsulfalein clearance in rats. *Am. J. Physiol.*, 156:227-232, 1949.
12. Krauss, R., H. Whindmueller, R. Levy, D. Frederickson. Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat post-heparin plasma. *J. Lip. Res.*, 14:286-295, 1973.
13. Francone, O., M.Z. Basílico y Y.B. Lombardo. Evaluación de las condiciones de ensayo de la actividad lipolítica post-heparínica triglicérido lipsa hepática. *Acta Bioq. Clin. Lat.*, 28 (2):259-267, 1984.
14. Bachorik, P.S., P.D. Wood and L. Karlsson. Plasma HDL cholesterol determination after removal of lipoproteins by heparine-Mn precipitation or by ultra centrifugation. *Clin. Chem.* 22 (1):1828-1832, 1976.
15. Wilson, D. and M. Spiger. A dual precipitation method for quantitative plasma lipoprotein measurement without ultracentrifugation. *J. Lab. Clin. Med.*, 82:473-477, 1973.
16. Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. *Statistical methods.* Iowa State University Press. 6th Ed., 1967.
17. Wilson, G.R., I.J. Tinsley, and R.R. Lowry. Fatty acid composition of liver in rats fed brominated fatty acids. *Lipids.* 18:661-663, 1983.
18. Jones, B.A., I.J. Tinsley, G. Wilson, and R.R. Lowry. Toxicology of brominated fatty acids: Metabolite concentration and heart and liver changes. *Lipids.* 18:327-334, 1983.
19. Jones, B.A., I.J. Tinsley, and R.R. Lowry. Bromine level in tissue lipids of rats fed brominated fatty acids. *Lipids.* 18:319-326, 1983.
20. Muller, K. and R. Cortesi. The value of the normolipaemic rat as an experimental animal in hypercholesterolaemic drug research. *Artery*, 4 (6):564-577, 1978.
21. Bagdade, J.D., E. Yee, J. Albers and O.J. Pykalisto. Glucocorticoids and triglyceride transport: effects on triglyceride secretion rates, lipoprotein lipase, and plasma lipoproteins in the rat. *Metabolism*, 25 (5):553-542, 1976.
22. Lasser, N., P. Roheim, D. Edelstein and H Eder. Serum lipoproteins of normal and cholesterol fed rats. *J. Lipid. Res.*, 14:1-8, 1973.