ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION
Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

Vol. 49 N° 1, 1999

Derivados del aceite de palma con concentraciones diferentes de ácido palmítico y antioxidantes. Efectos sobre lípidos plasmáticos y agregación plaquetaria

Tosca Scorza, Argelia Martucci, Ana T. Torrealba de Ron

Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela, Caracas.

RESUMEN. Se evaluó en conejos el efecto de dietas enriquecidas con colesterol (0.1%), diferentes concentraciones de ácido palmítico (16:0) y de vitaminas antioxidantes, sobre lípidos plasmáticos y agregación plaquetaria. Los animales se distribuyeron en tres grupos: I. Conejarina (conej.) + colesterol (col) 0.1%; II: Conej.+ col. 0.1% + aceite de palma semipurificado 10% (16:0=39.8%; retinol 7.3 ug/dL y alfa-tocoferol 157,6 ug/dL); III: Conej. + col. 0.1% + aceite crudo de palma 10% (16:0=45.3, retinol 96.4 µg/dL y alfa-tocoferol 322.8 ug/dL). Se practicaron determinaciones mensuales de lípidos plasmáticos (métodos enzimáticos) y a los 10 meses agregación plaquetaria con ADP, y determinaciones plasmáticas de vitaminas C, retinol, y alfa-tocoferol. El colesterol total y la LDLc aumentaron significativamente en todos los grupos. No encontramos variación significativa entre ellos. La agregación plaquetaria fue menor en animales que recibieron dietas enriquecidas con aceite de palma (grupo II y III) (P=0.002 y 0.001). Las concentraciones plasmáticas de retinol y alfa-tocoferol no variaron significativamente. La vitamina C disminuyó en grupo I con respecto a grupos II y III (P<0.005-< 0.02). Se concluye que la administración de aceite de palma crudo o semipurificado en conejos hipercolesterolémicos, disminuye la agregación plaquetaria sin modificar significativamente la concentración de lípidos plasmáticos.

Palabras clave: Hipercolesterolemia, aceite de palma, antioxidantes, agregación plaquetaria.

SUMMARY. Palm oil derivatives with different concentration of palmitic acid and antioxidants. Effects upon plasmatic lipids and platelet aggregability. It was evaluated the effect of diet rich with cholesterol (0.1%) and different concentration of palmitic acid (16:0) and antioxidants (vitamin C, α tocopherol and retinol) upon plasmatic lipids and platelet aggregability in rabbits. The animals were distributed in three groups: I. Standard chow meal (Rp Conejarina) + cholesterol (chol) 0.1%; II. Standard chow meal + chol 0.1% + semipurified palm oil 10% (16:0 = 39.8%, oleic acid 48.7%, linoleic acid 11.4%, retinol 7.3ug/dL, α tocopherol 157.6ug/dL; III. Standard chow meal + chol 0.1% + crude palm oil 10% (16:0=45.3%, oleic acid 46.3%, linoleic acid 7.9%, retinol 96.4ug/dL, α tocopherol 322.8ug/dL). Monthly determination of plasmatic lipids were done (Enzymatic methods) and at ten months platelet aggregability with ADP, plasmatic vitamin C, retinol and, α tocopherol determination were done. Total plasmatic cholesterol (TC) and LDLc increased significantly in the three groups of animals. Significant differences between groups were not found. Platelet aggregability was lower in the animals fed with palmitic acid rich diet (groups II and III) (P = 0.002 and 0.001). Retinol, α tocopherol plasmatic concentrations revealed no significant differences. Vitamin C in the groups I was lower than groups II and III (P < 0.05 <0.02). In this study hypercholesterolemic rabbits fed with rich diets (crude and semipurified) had lower platelet aggregability without changes in plasmatic lipids concentrations.

Key words: Hypercholesterolemic, palm oil, antioxidants, platelet aggregability.

INTRODUCCION

Entre los múltiples factores involucrados en el desarrollo del proceso aterosclerótico, dos elementos claves juegan gran importancia: primero una alteración en el perfil lipídico plasmático representado por un incremento en la concentración de colesterol plasmático total, LDLc, o de los triglicéridos, y segundo un cambio en la función plaquetaria hacia un estado de hiperagregabilidad. Estos dos factores pueden ser producidos por modificaciones en los constituyentes lipídicos de la dieta.

Desde las publicaciones pioneras de Keys y Hegsted, se estableció una relación lineal entre el contenido de grasa saturada de la dieta y la colesterolemia (1,2). En humanos y primates no humanos, se ha encontrado que los ácidos grasos saturados laúrico (12:0) y mirístico (14:0) son más colesterolémicos que el ácido palmítico (16:0) (3-5). Igualmente se ha demostrado que el estado colesterolémico previo a la administración del ácido graso saturado 16:0, es el factor que determina la tendencia al aumento el colesterol plasmático (6,7). Por otra parte, ha sido demostrado experimentalmente, que la sola administración de colesterol, produce un aumento en la concentración de LDLc (8,9) el cual es magnificado cuando también se administran ácidos grasos saturados 12:0, 14:0 ó 16:0; (8-12). La administración de colesterol, o su aumento en el plasma, modifica el receptor para la LDLc.

Otros estudios han demostrado que los ácidos grasos 12:0 y 14:0 producen hipercolesterolemia por reducción directa de la actividad del receptor de las LDL, aún en ausencia de colesterol en la dieta (8,11). En nuestro laboratorio, la utilización de dietas ricas en colesterol con contenido diferente de 16:0 y ácido linoléico (18:2) no produjo diferencias significativas sobre la concentración de colesterol plasmático (13), como se comprende no está claro el efecto que tiene la presencia de 16:0 en la dieta.

Pacientes con aterosclerosis clínica también presentan aumento de marcadores moleculares plasmáticos, que reflejan mayor actividad coagulante, plaquetaria y endotelial (14) lo cual evidencia que otros factores son importantes en el desarrollo de la enfermedad.

La hiperactividad plaquetaria ha sido descrita tanto en animales de experimentación (15) como en humanos (16). En humanos con hiperlipemia IIa, las plaquetas tienen mayor sensibilidad a los efectos de varios agregantes (16). Dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados omega 3, producen menor agregación plaquetaria (17) mientras que grasas preferentemente saturadas la aumentan (18). En animales, algunos estudios demuestran que las grasas preferentemente saturadas producen disminución de la agregación (19). Por lo tanto, la dieta consumida no solamente modifica la concentración de colesterol plasmático sino también la reactividad plaquetaria.

Un aspecto muy importante a considerar en la etiopatogenia de la aterosclerosis, es la formación de LDLc modificada por procesos oxidativos. Desde los estudios iniciales de Goldstein y Brown (20,21), se acepta que la tasa de aclaramiento de la LDL del plasma, se realiza a través de dos mecanismos: un mecanismo saturable, mediado por el receptor BE, y otro mecanismo no saturable realizado por el receptor recolector (Scavenger receptor) (21,22). El receptor BE aclara la LDL nativa o natural y el recolector aclara la LDL que ha sufrido modificaciones bioquímicas o enzimáticas (20-25).

Numerosos trabajos de investigación han demostrado que la captación por los macrófagos de la LDL modificada, es la responsable de la formación de las células espumosas, las cuales a su vez se agrupan en la estría grasa. Por lo tanto es importante conocer los factores que hacen que la LDL sea susceptible a sufrir modificación oxidativa. Esta susceptibilidad depende: por una parte del grado de peroxidación de los ácidos grasos que la constituyen (24,27) y por otra del contenido de antioxidantes transportado por la molécula de LDL (26-30). Debido a que la LDL tiene un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente 18:2, ácido araquidónico (20:4) y docosa hexahenoico (22:6), es una molécula altamente susceptible al proceso oxidativo.

En vista de la influencia de la reactividad plaquetaria y la oxidación de la LDL en el desarrollo de la lesión aterosclerótica, se planificó evaluar el efecto de la administración prolongada de dietas enriquecidas con colesterol y aceites con diferentes concentraciones de ácido palmítico y de vitaminas antioxidantes, sobre las concentraciones de lípidos plasmáticos, antioxidantes del plasma y agregación plaquetaria en conejos, factores directamente relacionados con el desarrollo del proceso aterosclerótico.

MATERIALES Y METODOS

Animal Experimental: Se utilizaron 27 conejos Nueva Zelandia de 2,5-3 kg de peso corporal, distribuidos en tres grupos de acuerdo con la dieta administrada, la cual fue suplida durante un período de diez meses

Grupo I.- Alimentado con conejarina más colesterol 0.1% (p/p). La composición porcentual de la conejarina utilizada fue la siguiente: proteína 15%, grasa 3%, fibra 18%, elementos no nitrogenados 40%.

Grupo II: Alimentado con conejarina más colesterol 0.1% (p/p) más aceite de palma semipurificado 10%. El aceite de palma semipurificado contenía ácido palmítico 39.8%; ácido oleico 48.7%, ácido linoleico 11.4%, además retinol 7.3ug/dL y alfa-tocoferol 157,6 ug/dL.

Grupo III: Alimentado con conejarina, más colesterol 0.1% (p/p) más aceite crudo de palma 10%. En el aceite crudo de palma la concentración de ácido palmítico fue de 45.3%, ácido oleico: 46.3%, ácido linoleíco 7.9%, retinol 96.4ug/dL y alfa-tocoferol 322.8 ug/dL.

Preparación de las dietas: Dieta suministrada al grupo I: Se muele la conejarina comercial y se le añade colesterol (p/p), se mezcla, se humedece, luego se re-estructura semejando su presentación original, se seca a 30°C. Se utilizó colesterol Grado A (Sigma Chemical Company, St Louis, Mo).

Dieta del grupo II: El aceite de palma semipurificado se calienta a 37°C, en baño de maría y se le añade el colesterol para alcanzar una concentración final definitiva de 0.1% (p/p). En un envase plástico transparente, se coloca la conejarina y se mezcla con el aceite a una concentración final de 10%.

Dieta del grupo III: Se procesa en igual forma que la del grupo II, utilizando aceite crudo de palma en lugar de aceite semipurificado.

El aceite crudo de palma fue obtenido de plantaciones del Estado Portuguesa, Venezuela. El aceite semipurificado fue preparado en nuestro laboratorio a partir del aceite crudo, mediante procesos de sedimentación en frío y filtración (31).

Se utilizó la T de Student para comparar los resultados de los grupos experimentales.

Determinaciones:

- Lípidos plasmáticos: Colesterol, triglicéridos y lipoproteinas plasmáticas se determinaron utilizando métodos enzimáticos. (Wiener enzimatic kit).
- Acidos grasos en los aceites de las dietas se determinaron utilizando el método de Folch (32), cromatografía de capa fina (TLC) y HPLGC. (Laboratorio de lípidos, I.M.E.-U.C.V.).
- Agregación plaquetaria: Estos estudios se realizaron en plasma rico en plaquetas, utilizando como agente agregante

ADP, a dos concentraciones 5 y 10 µM. Se utilizó un agregómetro Crono-log de 2 canales.

- Retinol y alfa tocoferol: En el aceite añadido a las dietas y en el plasma de los animales se determinó por cromatografía líquida de alta eficiencia y fase reversa en un cromatógrafo H.P.50 (34).
- Vitamina C: Se determinó dentro de las primeras 2 horas de obtenida la muestra. Se utilizó el método de la 2,4 dinitrofenil - hidrazina (33).

RESULTADOS

En la Figura 1 se reflejan las concentraciones de colesterol plasmático total, determinadas mensualmente durante el período de estudio en cada grupo experimental. A partir del segundo mes hay un aumento marcado en todos los grupos, con respecto a sus valores basales. En la Tabla 1 están representadas las concentraciones promedio de colesterol total al inicio y al final del experimento. Cada grupo presentó un aumento significativo de dicha variable (P< de 0.05). Sin embargo no hubo variación significativa entre los grupos al final del período experimental.

FIGURA 1
Colesterol plasmático total (mg/dL) en conejos sometidos a dietas enriquecidas con colesterol (-o-), colesterol más aceite semipurificado de palma (-◊-) y colesterol más aceite crudo de palma (-*-)

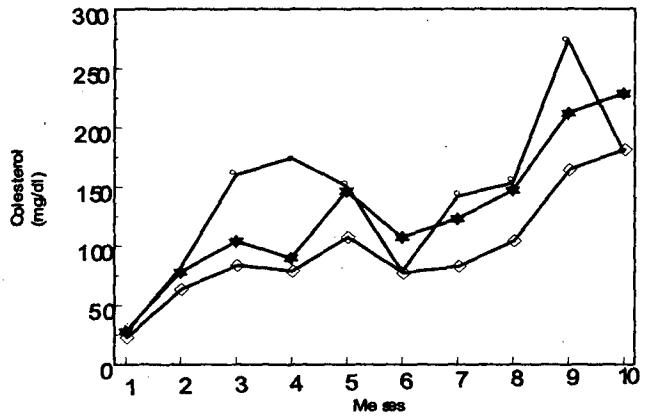


TABLA 1
Colesterol plasmático total

Grupo	Inicial	Final
I	26.6± 6.3	172± 52.5 (P = 0.022)
II	23.1± 2.4	181.33± 2.4 (P = 0.044)
III	28.0± 3.6	228.6± 50.7 (P = 0.007)

Concentración de colesterol plasmático total (mg/dL) al inicio y al final del período experimental X±E.E.

Las concentraciones de LDLc variaron en forma paralela al colesterol total (Figura 2 y Tabla 2).

Las concentraciones de triglicéridos oscilaron moderadamente en todos los grupos, durante los diez meses del estudio, sin variaciones importantes.

FIGURA 2
LDLc (mg/dL) en conejos sometidos a dietas enriquecidas con colesterol (-o-), colesterol más aceite semipurificado de palma (-◊-) y colesterol crudo de palma (-*-)

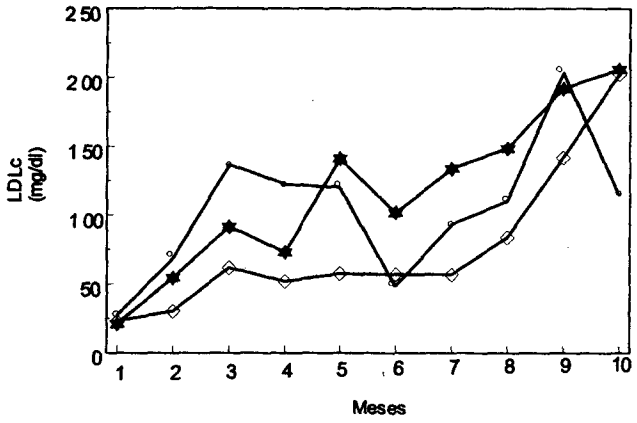


TABLA 2
LDLc plasmático

Grupo	Inicial	Final
I	27.4± 7.4	145.0± 53.6 (P = 0.046)
II	22.7± 2.4	144.8± 40.6 (P = 0.043)
III	20.9± 2.2	192.8± 52.3 (P = 0.043)

Concentración plasmática de LDLc (mg/dL) al inicio (I) y final (F) del período experimental X±E.E.

En la Tabla 3 se representan las concentraciones plasmáticas promedio de HDLc al principio y al final del estudio en los tres grupos de animales. Es importante resaltar que los grupos II y III los cuales recibieron aceite de palma más colesterol presentaron valores más elevados que en el grupo I, cuya dieta fue enriquecida solo con colesterol. La variación fue significativa entre los grupos I y II.

Las concentraciones promedio de retinol y alfa tocoferol en el plasma de los distintos grupos de conejos al final del período experimental están representadas en la Tabla 4. No se apreció cambio significativo, a pesar de las marcadas diferencias en las concentraciones de estas vitaminas en las grasas añadidas a las dietas experimentales (Tabla 5).

TABLA 3
HDLc plasmático

Grupo	Inicial	Final
I	24.9± 6.8	23.5 ± 3.9 (P = NS)
II	17.9± 1.6	34.6± 5.1 (P = 0.039)
III	19.7± 3.2	33.1± 3.9 (P = NS)

Concentración plasmática de HDLc (mg/dL) al inicio (I) y final (F) del período experimental X±E.E.

TABLA 4
Retinol y alfa-tocoferol plasmático

Grupo	Retinol	Alfa-tocoferol
I	126.3± 46.6	1.578.5± 1.036
II	123.9 ± 41.9	2.092.1± .275
III	139.3± 41.1	1.505.0± 853.5
	NS	NS

Concentración plasmática de retinol y alfa tocoferol (ug/dL) al final de período experimental (10 meses) X±E.E.

TABLA 5
Retinol y alfa-tocoferol en los aceites

Dieta	Retinol	Alfa-tocoferol
Grupo II (aceite de palma semipurificado 10%)	7.3	157.6
Grupo III (aceite crudo de palma 10%)	96.4	322.8

Concentración de retinol y alfa-tocoferol (ug/dL) en el aceite añadido a las dietas.

FIGURA 3
Concentración plasmática de vitamina C (mg/dL) en los tres grupos estudiados. X±D.S. (al final del período experimental: 10 meses)

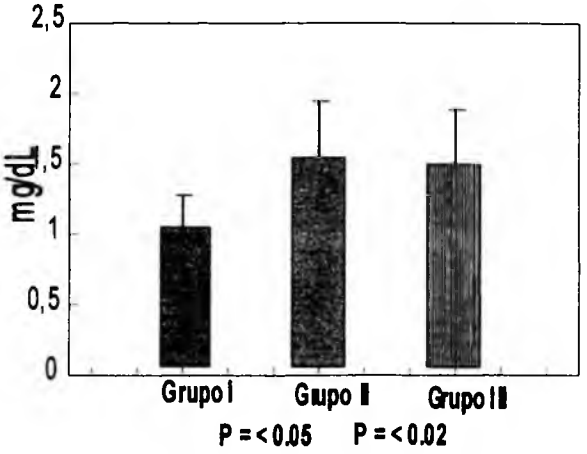
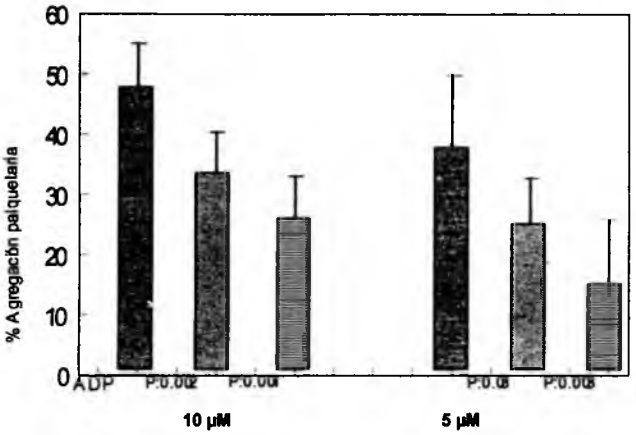


FIGURA 4
Porcentaje de agregación plaquetaria con ADP (10 y 5 µM) en grupo I ( ), grupo II ( ) y grupo III ( ). X±DS



En la Figura 3 se observan las concentraciones de vitamina C, los valores fueron menores en el grupo I con respecto a los grupos II y III (P< 0.05).

En la Figura 4 podemos apreciar el porcentaje de agregación plaquetaria en los 3 grupos experimentales. Se utilizaron dos concentraciones diferentes de ADP. En este estudio, realizado al final del experimento, se aprecia una disminución significativa en el porcentaje de agregación (P<0.03) en los grupos II y III a las dosis de ADP utilizadas. Estos grupos recibieron aceite de palma más colesterol.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En nuestro estudio planificamos administrar con la dieta, además de una dosis constante de colesterol dos tipos de aceites extraídos de la palma Africana. Los aceites contienen diferentes concentraciones de ácidos grasos saturados, especialmente ácido palmítico y vitaminas antioxidantes: retinol y alfa-tocoferol.

A diferencia de otros estudios, donde la administración de 16:0, no indujo aumentos en la colesterolemia en animales experimentales, (3) y en humanos normocolesterolémicos (4,5); en este ensayo, las dietas administradas a los 3 grupos de animales, contenían 0,1% de colesterol, lo cual determinó un aumento significativo en su concentración plasmática, en todos los grupos, cuando se compararon los valores iniciales y finales.

Por otra parte, aunque no hubo diferencia significativa en los valores de colesterol entre los 3 grupos al final del experimento, las cifras ligeramente superiores en los grupos II y III, pudieran reflejar una tendencia a aumentar la colesterolemia, como consecuencia del sinergismo entre colesterol y el porcentaje de ácidos grasos saturados en la dieta, como ha sido reportado por otros autores (8,12).

La presencia de antioxidantes en la molécula de LDL es un factor que la protege de la oxidación (27-30) y la subsecuente modificación que facilita su captación por los receptores recolectores de los macrófagos (21-25). En nuestro diseño experimental el aceite crudo de palma añadido a la dieta contenía una concentración de retinol y alfa-tocoferol muy superior a la del aceite semipurificado, sin embargo, en el plasma de los dos grupos de animales que recibieron estos aceites, las concentraciones de las vitaminas no presentaron variaciones significativas, lo cual nos induce a pensar que las cantidades absolutas de estas substancias en los pequeños volúmenes de grasa (10%) añadidos a las dietas, no alcanzaron concentraciones suficientes para ejercer efectos protectores. Un hallazgo para el cual no tenemos una explicación clara, es la menor concentración de vitamina C en el plasma de los animales que recibieron dietas enriquecidas con colesterol solo (grupo I) con respecto a los grupos II y III cuyas dietas contenían además del colesterol, el aceite de palma. Hemos pensado que un mayor consumo de la vitamina, pudiera corresponderse con el hallazgo encontrado. El aumento del colesterol plasmático produce un incremento en la oxidación de las LDL, lo cual pudiera inducir mayor utilización de vitaminas antioxidantes (E y C) (35).

La disminución significativa del porcentaje de agregación plaquetaria en los grupos II y III que recibieron dietas enriquecidas con aceite de palma en un hallazgo altamente significativo, dada la importancia preponderante que la hiper-reactividad plaquetaria tiene en el desarrollo del proceso arterosclerótico (14).

Es aceptado que el aumento del colesterol plasmático, incrementa el porcentaje de agregación plaquetaria (15,16). La presencia de un ácido graso saturado (16:0) en la dieta de estos animales pudiera explicar la disminución de la agregación encontrada al modificar la composición de los ácidos grasos de la membrana plaquetaria. Sin embargo, no podemos descartar la posible influencia de las substancias antioxidantes, a pesar de que no tenemos evidencias directas de ello. Es importante resaltar que el grupo de animales con el menor porcentaje de agregación plaquetaria (grupo III) fue el que recibió la dieta con la mayor concentración de vitaminas antioxidantes.

Podemos concluir que en el diseño experimental utilizado, la adición de grasas saturadas con vitaminas antioxidantes a la dieta de conejos hipercolesterolémicos produjo una disminución en el porcentaje de agregación plaquetaria con ADP. Son necesarios más estudios para precisar el o los factores determinantes de este hallazgo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración prestada por las Licenciadas Angela Martínez y Amarillys Mago y a los señores: Carmen Rodríguez, Wagner González y Mariela Borges por la realización de este trabajo y al CDCH por su financiamiento en proyecto N° 09.389.98.

REFERENCIAS

1. Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum cholesterol response to the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. Metabolism. 1965;154: 776-87.
2. Hegsted DH, Mc Grandy RB, Mygrs ML, Stare FJ. Quantitative effects of dietary fat on cholesterol in man. Am J Clin Nutr 1965;17:281-295.
3. Hayes KC, Pronczuk A, Linsey S, Diersen-Schade D. Dietary saturated fally acids (12:0, 14:0, 16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. Am J Clin Nutr 1991;53:491-498
4. Sundram K, Hassan AH, Siru OH, Hayes KC. Dietary palmitate lowers cholesterol relative to laurate and myristate in humans. Arterios thromb. 1991; 11:1614a.
5. Sundram K, Hayes KC, Siru OH. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipenic humans. Am J Clin Nutr 1994; 59:841-6.
6. Khosla P, Hayes KC. Comparison between the effects of dietary saturated (16:0) monounsaturated (18:1), and polyunsaturated (18:2) fatty acids on plasma lipoprotein metabolism in cebus and rhesus monkeys fed cholesterol-free diets. Am J Clin Nutr 1992; 55:51-62.
7. KW Ng T, Hassan K, Lim JB, Lye MS, Ishak R. Nonhypercholesterolemic effects of a palm-oil diet in Malaysian volunteers. Am J Clin Nutr 1991; 53: 101S-20S.
8. Dietschy MJ, Woollett L, Spady KD. The interaction of dietary cholesterol and specific fatty acids in the regulation of LDL receptor activity and plasma LDL-cholesterol concentrations. Ann NY Acad Sci 1993; 676: 11-26.
9. Spady DK, Dietschy MJ. Intreraction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. J Clin Invest 1988; 81: 300-309.
10. Woollett AL, Spady KD, Dietschy MJ. Mechanisms by which saturated triacylglycerols elevate. the plasma low density lipoprotein-cholesterol concentrations in hamsters. J Clin Invest 1989;84:119-128.
11. Spady KD, Woollett AL. Interaction of dietary saturated and polyunsaturated triglycerides in ragulating the processes that determine plasma low density lipoprotein concentrations in the rat. J Lipid Res 1990;31:1809-1819.
12. Rudel LL, Haines JL, Sawyer JK. Effects on plasma lipoproteins of monounsaturated, saturated and polyunsaturated fatty acids in the diets of African green monkeys. J Lipid Res 1990; 31:1873-1882.
13. Torrealba AT, Scorza T, Hamana N, de Cuervo E. Efectos del aceite de palma crudo en la dieta en conejos. Revista Facultad Medicina 1996; 19: 63-67.

14. Ofusu FA. The relationships of platelets to arterial thrombosis and a therosclerosis. Rec Adv in Blood Coagulac. 1997; N° 7: 33-48.
15. Gross LP, Rand LM, Barrow VD, Packham AM. Platelet hypersensitivity in cholesterol - fed rabbits: enhancement of thromboxane A2 - dependent and thrombin- induced, thromboxane A2 - independent platelet responses. Atherosclerosis 1991; 88: 77-86.
16. Davi G, Averna M, Catalano I, Barbagallo C, Ganci A, Notarbartolo A et al. Increased thromboxane biosynthesis in type IIa hypercholesterolemia. Circulation 1992; 85:1792.1798.
17. Houwelinger VCA, Hennisen MHAA, Verbeek-Schippers F, Simonsen T, Kester MDA, Hornstra G. Effect of a moderate fish intake on platelet aggregation in human platelet-rich plasma. Thromb Haemost 1988; 59: 507-513.
18. Jakubowski JA, Ardlie NG. Modification of human platelet function by a diet enriched in saturated and polyunsaturated fat. Atherosclerosis 1978; 31, 335-344.
19. Rand M, Hennissens AAHM,Hornstra G. Effects of dietary palm oil on arterial thrombosis, platelet responses and platelet membrane fluidity in rats. Lipids 1988; 23: 1019-1023.
20. Goldstein JL, Brown M.S. Atherosclerosis. The low density lipoprotein receptor hypothesis. Metabolism 1977; 26: 1257-1275.
21. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing masive cholesterol deposition. Proc Natl Acad Sci USA. 1979;76: 333-337.
22. Esterbauer H, Wag G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. Brit Med Bull 1993; 49: 566-576.
23. Fogelman AM, Shechter I, Seager J, Hokon M, Child J, Edwards P. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. Proc Natl Acad Sci USA.1980; 77: 2214-2218.
24. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew. ET, Khoo JC, Wrtztum LJ. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med 1989; 320:915-924.
25. Witztum LJ, Steinberg D. Role of oxidized low density lipopotein in atherogenesis. J Clin Invest 1991; 1785-1792.
26. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E. Autoioxidation of human low density lipoproteins: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehides. J Lipid Res. 1987; 28: 495-509.
27. Díaz NM, Frei B, Vita AJ, Keaney FJ. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. N Engl J Med. 1997; 337: 408-416.
28. Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. And J Clin Nutr. 1991; 53: 314 S-321 S.
29. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jügens G. The role of lipid perioxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Rad Biol Med 1992; 13: 341-390.
30. Dieber-Rotheneder M, Puhl H, Walg H, Striegl G, Esterbauer H. Effect of oral supplementation with D-alpha-tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation. J Lipid Res 1991; 32: 1325-1332.
31. Kreulen HP. Fractionation and Winterization of edible fats. J Am Oil Chem Soc 1976; 53: 393-396.
32. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J Biochem 1957; 226: 497-509.
33. Clinical Chemistry, Second Edi, CA Burtis, ER Ashwood: 1986; 1311-1314.
34. Bieri JG, Tolliver TJ and Catignani GL. Simultaneous determination of alfa tocoferol and retinol in plasma or red cell by high performance liquid chomatography. Amer J Clin Nutr 1979; 32:2143-2149.
35. Duthhie GG, Arthur JR. The antioxidant anormality in the stress-susceptible pig. Effect of vitamin E supplementation. Ann New York Acad Sci. 1989;570:322-334.

Recibido:13-05-1998
Aceptado:18-01-1999