

Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3

Antonio López Farré y Carlos Macaya

Unidad de Investigación Cardiovascular. Instituto Cardiovascular. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

Los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta pueden clasificarse en dos tipos: ácidos grasos omega-3 (n-3) y ácidos grasos omega-6 (n-6). Los ácidos grasos n-3 se metabolizan en el organismo dando lugar a diferentes ácidos grasos n-3, y los de un mayor interés desde el punto de vista cardiovascular son los de cadena larga (PUFA n-3).

Tres mecanismos principales parecen estar involucrados en el efecto protector cardiovascular de los ácidos grasos n-3: su efecto antiinflamatorio, su efecto antitrombótico y su acción antiarrítmica. En cuanto a su efecto antitrombótico, hay datos experimentales que indican que la ingesta de ácidos grasos omega-3 tiene un efecto antitrombótico principalmente mediado por una reducción en la formación de tromboxano. Se dispone de datos sobre su efecto antiinflamatorio que demuestran la reducción en la expresión de proteínas de adhesión. Sin embargo, en los estudios de intervención dietética en humanos estos 2 efectos no se repiten de forma consistente en todos los estudios publicados. En esta revisión se analizan los diferentes mecanismos de acción antitrombótica y antiinflamatoria de los ácidos grasos omega-3.

Palabras clave: Ácidos grasos omega-3. Plaquetas. Leucocitos. Inflamación. Tromboxano A_2 .

Antithrombotic and Antiinflammatory Effects of Omega-3 Fatty Acids

Dietary polyunsaturated fatty acids can be classified into two main subtypes: omega-3 (n-3) fatty acids and omega-6 (n-6) fatty acids. Omega-3 fatty acids are metabolized in the body into a variety of other omega-3 fatty acids. From the point of view of cardiovascular disease, the most relevant are long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (omega-3 PUFAs). The cardioprotective effects of omega-3 fatty acids appear to result from three main mechanisms: anti-inflammatory, antithrombotic and anti-arrhythmic mechanisms. With regard to the compounds' antithrombotic effects, experimental findings indicate that intake of omega-3 fatty acids reduces thromboxane A_2 synthesis. The anti-inflammatory properties of omega-3 PUFAs seem to be related to their ability to downregulate expression of adhesion proteins. However, these antithrombotic and anti-inflammatory effects have not been consistently observed in dietary modification studies in humans. In this review, we discuss the different mechanisms of action by which omega-3 fatty acids could exert their antithrombotic and anti-inflammatory effects.

Key words: Omega-3 fatty acids. Platelets. Leukocytes. Inflammation. Thromboxane A_2 .

FORMACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3

La grasa de la dieta es una fuente importante de energía para la actividad biológica humana. La grasa puede dividirse en saturada o insaturada. Los ácidos grasos insaturados pueden a su vez clasificarse en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados. Basándose en su estructura química, los ácidos grasos po-

liinsaturados (PUFA) pueden a su vez subdividirse en dos grupos: ácidos grasos omega-3 (n-3) y ácidos grasos omega-6 (n-6). La nomenclatura n-3 o n-6 significa que el primer doble enlace, contando desde el metilo final, está en el tercer carbono o en el sexto carbono, respectivamente. A pesar de estas diferencias estructurales es importante recordar que ambos tipos de grasa contienen una misma cantidad de energía (9 kcal/g o 37 kJ/g). Los miembros más simples de los ácidos grasos n-6 y n-3 son el linoleico (18:2 n-6) y el alfa-linoleico (18:3 n-3), respectivamente (fig. 1). Aunque las células humanas no sintetizan el ácido linoleico o alfa-linoleico, sí pueden metabolizarlos mediante desaturación y elongación, lo que ocurre principalmente en el hígado, y ambos son esenciales para nues-

Correspondencia: Dr. A. López Farré.
Unidad de Investigación Cardiovascular. Hospital Clínico San Carlos.
Prof. Martín Lagos, s/n. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: lcarinv.hcsc@salud.madrid.org

ABREVIATURAS

DHA: ácido docosahexanoico.
 DPA: ácido docosapentanoico.
 EPA: ácido eicosapentanoico.
 ICAM-1: molécula de adhesión intercelular-1.
 MCP-1: proteoma quimioattractante de monocitos.
 PAF: factor activador de plaquetas.
 PF4: factor plaquetario-4.
 PGH₂: prostaglandina H₂.
 PGI₂: prostaciclina.
 PPAR- γ : receptor activador del proliferador del peroxisoma- γ .
 PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.
 VCAM-1: molécula de adhesión vascular-1.

tra fisiología (ácidos grasos esenciales). El metabolismo de los PUFA n-3 y n-6 proporciona al organismo PUFA de cadena larga que tienen un mayor número de carbonos y dobles enlaces (fig. 1). No obstante, los PUFA de cadena larga retienen el tipo omega (n-3 o n-6) de los ácidos grasos precursores. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 comparten el mismo conjunto de enzimas y se oxidan a través de la misma ruta al metabolizarse.

Una vez ingeridos, el ácido graso linoleico y alfa-linoleico son elongados en PUFA de cadena larga. El ácido linoleico es convertido en gammalinoleico. El ácido graso gammalinoleico, puede convertirse en un ácido graso omega-6 de cadena larga, el ácido araquidónico (20:4 n-6). El ácido graso alfa-linoleico puede convertirse en el ácido graso omega-3 de cadena larga, ácido eicosapentanoico (EPA; 22:6 n-6) (fig. 1). La función específica de los ácidos grasos depende del número y la posición de los dobles enlaces y la longitud de su cadena de carbonos. Tanto el EPA como el ácido araquidónico son precursores de la formación de prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos. El EPA puede convertirse también en otro ácido graso omega-3 de cadena larga, el ácido docosapentanoico (DPA; 22:5 n-3) que luego puede elongarse y oxidarse formando el ácido docosahexanoico (DHA; 22:6 n-3) (fig. 1).

Ácidos grasos y enfermedad cardiovascular

En la dieta, una de las principales fuentes de ácidos grasos n-3 es el pescado. Fue precisamente la alta ingesta de pescado en las poblaciones de Groenlandia, norte de Canadá y Alaska y su reducida tasa de mortalidad cardiovascular, a pesar de un alto consumo de grasa, lo que hizo sospechar que los ácidos grasos n-3, particularmente, los de cadena larga, podrían tener propiedades protectoras cardiovasculares¹. El consumo de ácidos grasos n-3 en esta población está estimado

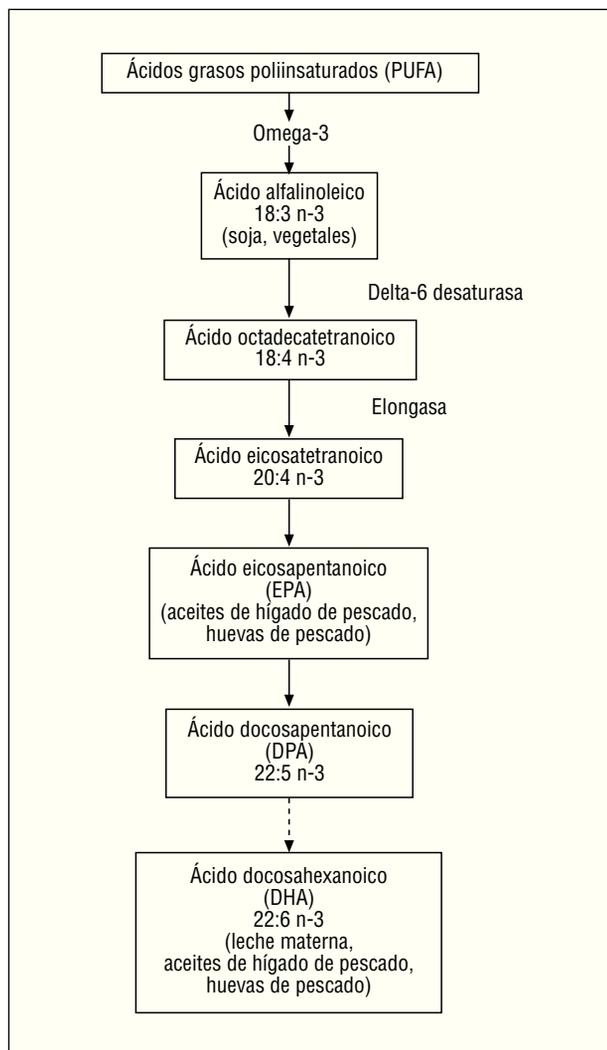


Fig. 1. Metabolismo de los ácidos grasos omega-3.

entre 5 y 15 g/día. Otros datos similares obtenidos en la población japonesa que, como es bien sabido, tiene una dieta rica en pescado de mar que contiene cantidades elevadas de EPA y DHA, también demuestran una menor incidencia de infarto de miocardio, otras enfermedades isquémicas cardiacas y aterosclerosis². Estudios epidemiológicos han acumulado datos que demuestran que el consumo de pescado o de ácidos grasos n-3 de cadena larga reduce el riesgo de muerte cardiovascular³.

¿Cuáles son los mecanismos por los que los ácidos grasos n-3 ejercen este efecto protector sobre el sistema cardiovascular? Los ácidos grasos n-3, particularmente los de cadena larga, pueden afectar a numerosos factores implicados en el desarrollo de la aterosclerosis, lo que inicialmente podría influir en una progresión más lenta de la enfermedad. Se ha descrito que los ácidos grasos n-3 reducen las concentraciones de quimioattractantes, factores de crecimiento y producción de moléculas de adhesión, lo que puede favorecer

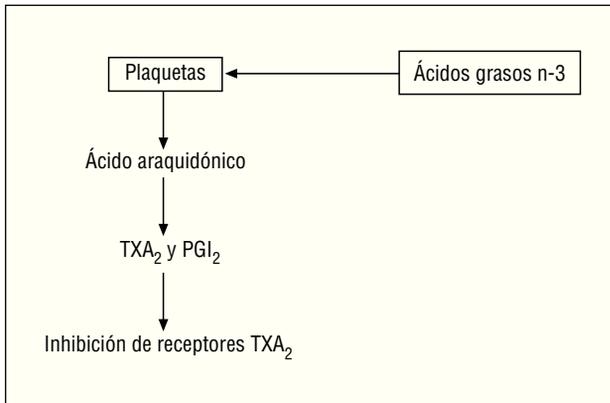


Fig. 2. Efectos más relevantes de los ácidos grasos n-3 sobre la activación plaquetaria.

una reducción en la migración de leucocitos y células de músculo liso vascular en la íntima de la pared vascular y retrasar el proceso aterosclerótico^{4,5}. Los ácidos grasos n-3 también tienen un efecto hipotensor que, aunque pequeño, ocurre tanto en pacientes normotensos como hipertensos⁶.

Tres mecanismos principales parecen estar involucrados en el efecto protector cardiovascular de los ácidos grasos n-3: su efecto antiinflamatorio, su efecto antitrombótico y su acción antiarrítmica.

En este mismo número de REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA hay un capítulo específico dedicado a la acción antiarrítmica de los ácidos grasos n-3. Por lo tanto, nosotros nos centraremos en sus posibles efectos antitrombóticos y antiinflamatorios.

Efectos antitrombóticos de los ácidos grasos omega-3

En 1978, Dyerberg et al⁷ sugirieron que el EPA, uno de los principales ácidos grasos n-3, podría inhibir el proceso antitrombótico. Una de las principales propiedades de los ácidos grasos n-3, particularmente EPA, es que su consumo reduce el contenido de ácido araquidónico en los fosfolípidos de la membrana de las plaquetas y probablemente también en las células endoteliales. El ácido araquidónico (20:4 n-6) se libera de la membrana celular tras la activación de plaquetas y células endoteliales mediante la actividad de la fosfolipasa A₂. El metabolismo del ácido araquidónico por las hidroxigenasas produce tromboxano A₂, un potente proactivador plaquetario, en las plaquetas, y prostaciclina (PGI₂), un inhibidor de la acción plaquetaria en el endotelio. Al disminuir el contenido de ácido araquidónico se reduciría la concentración de sustrato necesario para la síntesis de eicosanoides⁸. Por lo tanto, el consumo de ácidos grasos n-3 favorecería una menor formación de tromboxano A₂ y PGI₂.

Un estudio realizado en ratas alimentadas con EPA demostró que las plaquetas de estos animales tenían reducida la cantidad de ácido araquidónico contenido en ellas y también el que contenía su pared vascular⁹. Esto se asoció con una reducción en la formación de tromboxano A₂ y PGI₂ (fig. 2). No obstante, a pesar de que las plaquetas tenían reducida la capacidad de síntesis de tromboxano A₂, no se detectaron cambios en la tendencia a su activación. Probablemente, esta observación se podría justificar porque el balance tromboxano A₂/PGI₂ no varía, por lo que no se modificaría la relación protrombosis/antitrombosis. En este sentido, se ha observado una reducción en la capacidad de la pared vascular de inhibir la reactividad plaquetaria en ratas alimentadas con ácidos grasos n-3, lo que podría estar asociado con una menor producción de PGI₂ por la pared vascular⁹. En esta misma línea de evidencias, tanto estudios realizados *in vitro* como *in vivo* en modelos animales y en humanos no parecen demostrar cambios en la producción de PGI₂, o incluso describen aumentos tras la administración de dietas enriquecidas con ácidos grasos n-3^{10,11}. Como ejemplo, Saito et al¹² observaron un aumento en la producción de PGI₂ en células de músculo liso vascular de rata que tomaron una dieta enriquecida con una forma emulsionada de EPA. Sin embargo, Achard et al¹³ han encontrado en células endoteliales bovinas que el EPA reduce la expresión de la PGI₂ sintasa, la enzima encargada de sintetizar PGI₂ transcripcional.

Otro mecanismo por el que los ácidos grasos n-3 podrían reducir la actividad de las plaquetas es la modificación de la actividad de los receptores de los activadores plaquetarios. Se ha demostrado que DHA y EPA pueden actuar como antagonistas de los receptores de tromboxano A₂/PGH₂ en las plaquetas humanas (fig. 2). El DHA es más potente que el EPA para reducir la activación plaquetaria inducida por el análogo del tromboxano A₂, U46619¹⁴. No obstante, solamente el DHA pudo inhibir el receptor tromboxano A₂/PGH en la aorta de rata. Se ha señalado que un posible mecanismo por el que el DHA y el EPA inhiben el receptor del tromboxano A₂/PGH₂ es el de los cambios que inducen estos ácidos grasos sobre la fluidez de la membrana plaquetaria. No obstante, probablemente ésta no sea la explicación de su efecto antagonista de los receptores de tromboxano A₂/PGH₂, ya que el EPA es más efectivo para inhibir la agregación inducida por el U46619 que por otros antagonistas plaquetarios, lo que indicaría cierta especificidad en la inhibición de este receptor. Además, algunos experimentos han señalado una interacción directa de EPA y DHA con el receptor del tromboxano A₂¹².

Una reflexión que hay que hacer al analizar todos estos estudios es la alta dosis de aceite de pescado o de EPA requeridos para alcanzar el efecto antitrombótico. Cuando analizamos los estudios realizados en humanos, solamente se ha obtenido un efecto moderado en

la reactividad plaquetaria con altas dosis de aceite de pescado y sólo un efecto marginal cuando se realiza un consumo de pescado o suplemento de pescado < 2-3 g/día. Como ejemplo, podemos analizar los 3 estudios principales de intervención que han investigado el efecto de la dieta enriquecida en ácidos grasos PUFA n-3 de origen marino sobre la incidencia de eventos coronarios. En el estudio DART (Diet and Reinfarction Trial), en pacientes con infarto de miocardio reciente, se administró grasa de pescado 2 veces por semana y se obtuvo un 29% de reducción en la mortalidad total en comparación con la del grupo control¹⁵. No obstante, el número de infartos de miocardio no fatales tendió a aumentar en vez de disminuir, lo que hace pensar que el mecanismo de protección del aceite de pescado probablemente no sea la antitrombosis. En el estudio de prevención GISSI realizado en 11.324 pacientes con infarto de miocardio reciente, la mitad de los pacientes fue aleatorizada para tomar una cápsula de n-3 PUFA (0,85 g/día) y la otra mitad, un placebo¹⁶. Después de 3,5 años de seguimiento, los pacientes que tomaron n-3 PUFA demostraron un 15-20% de reducción en el objetivo principal (muerte cardiovascular + infarto de miocardio no fatal + accidente cerebrovascular no fatal). La mayoría del efecto, sin embargo, se explicó por una reducción significativa de los casos de muerte súbita (45%), sin efecto significativo en el infarto de miocardio no fatal¹⁶. En otro estudio se incluyó a 3.114 varones con angina y fue realizado por investigadores del estudio DART con un diseño muy similar al estudio original, excepto que se incrementó la ingesta de grasa de pescado 2 veces por semana¹⁷. Sin embargo, se observó un aumento en la incidencia de muerte por enfermedad coronaria en este grupo de pacientes. Este hallazgo, evidentemente no esperado, sigue indicando que, a pesar de que los estudios experimentales si demuestran un efecto antitrombótico de los ácidos grasos n-3, éste no es fácilmente reproducible en los estudios de intervención.

Inflamación y ácidos grasos n-3

La inflamación ha sido reconocida en sí misma como un factor de riesgo en la progresión de la enfermedad aterosclerótica. Recientemente se ha señalado su posible efecto antiinflamatorio como un posible mecanismo del efecto protector de los ácidos grasos n-3 sobre el sistema cardiovascular. La hipótesis antiinflamatoria de los ácidos grasos omega-3 inicialmente estaba basada en la observación de una reducción en el número de células proinflamatorias que infiltran la placa de ateroma tras la administración de estos ácidos grasos.

La adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular y la posterior infiltración de estas células en la pared vascular están reguladas por diferentes proteínas de adhesión expresadas tanto en los leucocitos como en el endotelio. Una reducción en la expresi-

ón de estas moléculas de adhesión disminuiría significativamente la infiltración de monocitos/macrófagos. Estudios *in vitro* han demostrado que el DHA reduce la expresión de la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), la molécula de adhesión vascular (VCAM-1) y la molécula de adhesión de células endoteliales-1 (ELAM-1/E-selectina) en la superficie de las células endoteliales¹⁸. Este efecto se ha asociado con una reducción en la adhesión de monocitos a las células endoteliales activadas¹⁸. La menor infiltración de células inflamatorias en la placa de ateroma se ha correlacionado con una mayor estabilidad de ésta. En este sentido, se ha demostrado que los ácidos grasos de cadena larga n-3 pueden estabilizar la placa de ateroma reduciendo la infiltración de células inflamatorias e inmunitaria en ella y/o mediante la reducción de la actividad de estas células una vez que han infiltrado la placa. En esta misma línea, se ha observado que los ácidos grasos de cadena larga n-3 se incorporan a la placa de ateroma tras la administración de aceite de pescado (aportando 1,4 g de EPA + DHA/día) y que esta incorporación se asocia con cambios estructurales que incrementan la estabilidad de la placa¹⁹. Como ya hemos señalado, los PUFA omega-3 afectan al número de leucocitos contenido en la placa al reducir la expresión de moléculas de adhesión en ellas; sin embargo, también pueden afectar directamente a la expresión de moléculas de adhesión en los propios leucocitos. Así, la administración de aceite de pescado en ratas redujo la expresión de ICAM-1 en sus linfocitos¹⁹. Efectos similares se han observado en macrófagos de ratón y en linfocitos humanos^{20,21}. Sin embargo, también hay resultados contradictorios en cuanto a la disminución de proteínas de adhesión inducidas por los ácidos grasos omega-3. Thies et al²², a pesar de observar una reducción en el contenido de leucocitos en la placa de ateroma, no encontraron una reducción de ICAM-1 o VCAM-1 en las placas de sujetos a los que se administró aceite de pescado, lo que indica una vez más la presencia de disociación entre los estudios experimentales y los obtenidos en humanos. Esto, además, apoya la idea de que la reducción en la expresión de estas moléculas de adhesión no sea probablemente el único mecanismo por el que el consumo de aceite de pescado reduce la infiltración de células proinflamatorias en la placa de ateroma²².

Otro mecanismo por el que las células circulantes proinflamatorias pueden introducirse en la placa de ateroma es la acción de quimioattractantes. Estas moléculas, como el RANTES, el PF₄ o el leucotrieno B₄, atraen a monocitos y macrófagos a sitios específicos, en este caso la placa de ateroma. La dieta enriquecida con ácidos grasos n-3 reduce la producción de leucotrieno B₄ y la proteína quimioattractantes de monocitos-1 (MCP-1)²²⁻²⁴.

Otro posible mecanismo de regulación de la interacción de los leucocitos con el endotelio es la acción

del factor activador de las plaquetas (PAF), un fosfolípido que interviene en la adhesión de los leucocitos a la pared vascular y también posee efecto quimiotáctico. El PAF, una vez sintetizado, permanece adherido a la pared del vaso a través de su parte hidrofóbica y la unión del PAF contenida en la superficie endotelial con su receptor expresado en la superficie de los leucocitos contribuye a la adhesión de éstos a la pared vascular²⁵. La incubación de células endoteliales humanas con ácidos grasos n-3 (DHA) reduce la adhesión de monocitos al endotelio en cultivo y disminuye la formación de PAF por el propio endotelio²⁶.

La apoptosis, o muerte celular programada, es un mecanismo de gran importancia en embriogénesis. También la apoptosis, además de la necrosis, puede ser un mecanismo de modulación de las células constituyentes de la placa de ateroma, en concreto del número de leucocitos que la constituyen. En este sentido, se ha demostrado que tanto el EPA como el DHA aumenta la apoptosis de monocitos humanos y líneas celulares de monocitos en cultivo^{27,28}.

Un punto que podría tener gran influencia en efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos n-3 es, probablemente, la propia estructura de estas moléculas. Diferentes investigaciones han llegado a la conclusión de que un doble enlace es el mínimo necesario, pero suficiente, para que los ácidos grasos omega-3 inhiban la actividad inflamatoria del endotelio. En este sentido, también se ha demostrado que la actividad antiinflamatoria de los ácidos grasos n-3 está directamente relacionada con la presencia o ausencia de dobles enlaces en su molécula mejor que con el tipo de insaturación²⁹. Es importante puntualizar que si realmente la estructura de los ácidos grasos n-3 es importante para obtener el efecto antiinflamatorio, en gran medida se podría requerir la incorporación de los ácidos grasos n-3 a las membranas celulares para que ocurriera el efecto antiinflamatorio. Este proceso de migración a la membrana celular y el cambio en su fluidez sería un proceso lento. En principio, por lo tanto, esta teoría estaría en contraposición con el aparente efecto agudo de los ácidos grasos n-3 en la inhibición de canales iónicos y en su efecto sobre la apertura de canales de K⁺ en células del músculo liso vascular de rata^{30,31}. Se cree incluso que podría haber receptores específicos de los ácidos grasos n-3 a través de cuya activación estas moléculas ejercerían el efecto antiinflamatorio.

Un hecho interesante, recientemente demostrado, es que los ácidos grasos n-3 actúan como activadores de los PPAR- γ . Los PPAR- γ se han encontrado en la placa de ateroma y en los leucocitos, y se ha especulado que el aceite de pescado los estimula³². La activación de los PPAR- γ en los monocitos inhibe la producción de la metaloproteasa-9³². Esta metaloproteasa tiene una implicación directa en la inestabilidad de la placa, por

lo que la acción de los ácidos grasos omega-3 sobre el PPAR- γ podría ser un mecanismo adicional por el que los PUFA n-3 mejoran la estabilidad de la placa.

El grado de estrés oxidativo es también un factor importante en la patogenia de la enfermedad cardiovascular, y más particularmente en el paciente diabético. Diferentes factores contribuyen al estado oxidativo del paciente diabético como, entre otros, la oxidación de lipoproteínas y la glucosilación de proteínas lo que genera especies reactivas del oxígeno, tales como ion superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo. Todo ello acelera la formación de productos avanzados de glucosilación, lo que a su vez induce la formación de nuevos radicales libres. En los pacientes obesos, la restricción dietética y la pérdida de peso reducen el estrés oxidativo, lo que sugiere que la dieta tiene una influencia importante en el grado de estrés oxidativo³³.

En el paciente diabético, el aumento del estrés oxidativo puede deberse, al menos en parte, a un aumento en el estado inflamatorio. Estudios epidemiológicos han demostrado que el paciente diabético tiene aumentados el número de leucocitos, los valores circulantes de citocinas proinflamatorias, como interleucina-6, el factor de necrosis tumoral- α y los reactantes de fase aguda, como la proteína C reactiva y el fibrinógeno^{34,35}.

A pesar del aparente efecto beneficioso que los ácidos grasos n-3 pueden tener sobre la actividad plaquetaria y la reducción de la inflamación, los ácidos grasos n-3 pueden aumentar el índice de insaturación debido a la incorporación de EPA y DHA en membranas y lipoproteínas, favoreciendo un aumento de la peroxidación lipídica³⁶. Esto, en principio, sería fácil que ocurriera en un sistema *in vitro*. Sin embargo, *in vivo*, los datos publicados son contradictorios.

Quedan muchas preguntas sin respuesta sobre los mecanismos involucrados en el efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos n-3. Una de las preguntas más evidentes es cómo se promueve este efecto antiinflamatorio, ya que la mayoría de los estudios se ha limitado a detectar una serie de biomarcadores, como citocinas, proteínas de adhesión, quimocinas, etc., sin profundizar en los mecanismos celulares y moleculares por los que los ácidos grasos omega-3 pueden regular su síntesis y liberación.

Desde un punto de vista farmacológico cabe destacar que se han generado por parte de la industria compuestos que contienen ácidos grasos n-3. Un ejemplo de ello es el resolvin E1. El resolvin E1 es un compuesto oxigenado de EPA, que se identificó en el plasma humano, y que se ha preparado mediante síntesis orgánica. El resolvin E1 se une a receptores específicos (Chem R23) y reduce la translocación al núcleo del factor nuclear- κ B (NF- κ B), disminuyendo la capacidad de las células de generar agentes proinflamatorios como citocinas³⁷.

En resumen, existe un consenso sobre el hecho de que la ingesta de ácidos grasos omega-3 reduce la incidencia de enfermedad cardiovascular. También parece evidente que, al menos en estudios experimentales, hay un efecto antitrombótico y antiinflamatorio de los ácidos grasos omega-3. Sin embargo, en los estudios de intervención en humanos estos dos efectos no se observan de forma consistente en todos los estudios publicados. Probablemente, el efecto antitrombótico y antiinflamatorio están afectados por muchos factores que justifican esta variabilidad en los resultados observados. Entre otros, podrían considerarse las diferencias en las poblaciones estudiadas, las duraciones de los estudios o incluso el diferente contenido antioxidante de las dietas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr.* 1980;33:2657-61.
- Kinjo Y, Beral V, Akiba S, Key T, Mizuno S, Appleby P, et al. Possible protective effect of milk, meat and fish for cerebrovascular disease mortality in Japan. *J Epidemiol.* 1999;9:268-74.
- Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Ajani UA, Carey VJ, Willett WC, et al. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA.* 1998;279:23-8.
- Wallace JM, Turley E, Gilmore WS, Strain JJ. Dietary fish oil supplementation alters leukocyte function and cytokine production in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:185-9.
- Miles EA, Thies F, Wallace FA, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, et al. Influence of age and dietary fish oil on plasma soluble adhesion molecule concentrations. *Clin Sci (Lond).* 2001;100:91-100.
- Geleijnse JM, Giltay EJ, Grobbee DE, Donders AR, Kok FJ. Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. *J Hypertens.* 2002;20:1493-9.
- Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet.* 1978;2:117-9.
- Von Schacky C, Fischer S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine omega-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. *J Clin Invest.* 1985;76:1626-31.
- Nieuwenhuys CM, Feijge MA, Offermans RF, Kester AD, Hornstra G, Heemskerk JW. Modulation of rat platelet activation by vessel wall-derived prostaglandin and platelet-derived thromboxane: effects of dietary fish oil on thromboxane-prostaglandin balance. *Atherosclerosis.* 2001;154:355-66.
- DeCaterina R, Giannessi D, Mazzone A, Bernini W, Lazzzerini G, Maffei S, et al. Vascular prostacyclin is increased in patients ingesting omega-3 polyunsaturated fatty acids before coronary artery bypass graft surgery. *Circulation.* 1990;82:428-38.
- Weber PC. Clinical studies on the effects of n-3 fatty acids on cells and eicosanoids in the cardiovascular system. *J Intern Med Suppl.* 1989;731:61-8.
- Saito J, Terano T, Hirai A, Shiina T, Tamura Y, Saito Y. Mechanisms of enhanced production of PGI₂ in cultured rat vascular smooth muscle cells enriched with eicosapentaenoic acid. *Atherosclerosis.* 1997;131:219-28.
- Achard F, Gilbert M, Benistant C, Ben Slama S, DeWitt DL, Smith WL, et al. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids reduce PGH synthase 1 expression in bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;241:513-8.
- Swann PG, Venton DL, Le Breton GC. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid are antagonists at the thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor in human platelets. *FEBS Lett.* 1989;243:244-6.
- Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet.* 1989;2:757-61.
- Marchioli R, Barzi F, Bomba E, Chieffo C, Di Gregorio D, Di Mascio R, et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation.* 2002;105:1897-903.
- Burr ML, Ashfield-Watt PA, Dunstan FD, Fehily AM, Breay P, Ashton T, et al. Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:193-200.
- Weber C, Erl W, Pietsch A, Danesch U, Weber PC. Docosahexaenoic acid selectively attenuates induction of vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent monocytic cell adhesion to human endothelial cells stimulated by tumor necrosis factor-alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:622-8.
- Hughes DA, Southon S, Pinder AC. (n-3) Polyunsaturated fatty acids modulate the expression of functionally associated molecules on human monocytes in vitro. *J Nutr.* 1996;126:603-10.
- Miles EA, Wallace FA, Calder PC. Dietary fish oil reduces intercellular adhesion molecule 1 and scavenger receptor expression on murine macrophages. *Atherosclerosis.* 2000;152:43-50.
- Baumann KH, Hessel F, Larass I, Muller T, Angerer P, Kiefl R, et al. Dietary omega-3, omega-6, and omega-9 unsaturated fatty acids and growth factor and cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes. A randomized volunteer study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:59-66.
- Thies F, Garry JM, Yaqoob P, Rerkasem K, Williams J, Shearman CP, et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2003;361:477-85.
- Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Ravalese J 3rd, Spur BW et al. Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N Engl J Med.* 1985;312:1217-24.
- Sperling RI, Benincaso AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J Clin Invest.* 1993;91:651-60.
- Zimmerman GA, McIntyre TM, Mehra M, Prescott SM. Endothelial cell-associated platelet-activating factor: a novel mechanism for signaling intercellular adhesion. *J Cell Biol.* 1990;110:529-40.
- Mayer K, Merfels M, Muhly-Reinholz M, Gokorsch S, Rosseau S, Lohmeyer J, et al. Omega-3 fatty acids suppress monocyte adhesion to human endothelial cells: role of endothelial PAF generation. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol).* 2002;283:H811-8.
- Finstad HS, Drevon CA, Kulseth MA, Synstad AV, Knudsen E, Kolset SO. Cell proliferation, apoptosis and accumulation of lipid droplets in U937-1 cells incubated with eicosapentaenoic acid. *Biochem J.* 1998;336:451-9.
- Sweeney B, Puri P, Reen D. Fatty acid modulation of phagocyte apoptosis: a potentially novel mechanism of regulating the innate inflammatory response [abstract]. *Immunology.* 2001;104:49.
- De Caterina R, Bernini W, Carluccio MA, Liao JK, Libby P. Structural requirements for inhibition of cytokine-induced endothelial activation by unsaturated fatty acids. *J Lipid Res.* 1998;39:1062-70.
- Leifert WR, McMurchie EJ, Saint DA. Inhibition of cardiac sodium currents in adult rat myocytes by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Physiol.* 1999;520:671-9.

31. Asano M, Nakajima T, Iwasawa K, Hazama H, Omata M, Soma M, et al. Inhibitory effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on receptor-mediated non-selective cation currents in rat A7r5 vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol.* 1997;120:1367-75.
32. Marx N, Sukhova G, Murphy C, Libby P, Plutzky J. Macrophages in human atheroma contain PPARgamma: differentiation-dependent peroxisomal proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) expression and reduction of MMP-9 activity through PPARgamma activation in mononuclear phagocytes in vitro. *Am J Pathol.* 1998;153:17-23.
33. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:355-62.
34. Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet.* 1999;353:1649-52.
35. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001;286:327-34.
36. Nenseter MS, Drevon CA. Dietary polyunsaturates and peroxidation of low density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol.* 1996;7:8-13.
37. Arita M, Bianchini F, Aliberti J, Sher A, Chiang N, Hong S, et al. Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. *J Exp Med.* 2005;201:713-22.