

# Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (omega 3) sobre la agregación plaquetaria

## Effects of polyunsaturated fatty acids (omega-3) on the platelet aggregation

71

<sup>1</sup>José, Ayala; <sup>2</sup>Cristina, López; <sup>3</sup>Azueg, Hong; <sup>4</sup>Carlos, Oberto; <sup>5</sup>Alberto, Paiva; <sup>6</sup>Mary, Lares  
<sup>1,2,3,4,5</sup>Departamento de Medicina Interna del Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo.

Dirección de correspondencia: Dra. Mary Lares Amaiz, Escuela de Nutrición y Dietética.  
 Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.  
 Apartado de Correo 47114, Ciudad Universitaria. Caracas-Venezuela. Teléfono (58 212) 605 06 07  
 e-mail: marylares@hotmail.com

Recibido:23/03/2009 Aceptado: 25/04/2009

### Resumen

**E**xisten evidencias de que el consumo de pescados que contengan Omega 3, aportan protección cardiovascular. La American Heart Association (AHA) recomienda el consumo de 1 g/día de Omega 3 para reducir el riesgo de eventos cardiovasculares. Los ácidos eicosapentanoico y docosahexanoico poseen estructura química similar al ácido araquidónico; se propone que se incorporan a la membrana plaquetaria, compitiendo con el ácido araquidónico como sustrato de la ciclooxigenasa, disminuyendo la agregación plaquetaria. Conociendo el ciclo vital del trombocito, se realiza este ensayo de cohorte, longitudinal, con una muestra seleccionada de 30 individuos, para evaluar el efecto de los ácidos grasos Omega 3 en la agregación plaquetaria, in vitro, a los 7 días de tratamiento. Se aplicó el método turbimétrico de Born, utilizando ADP, colágeno y epinefrina. Se observó disminución estadísticamente significativa de la agregación plaquetaria en  $14,3 \pm 3,5\%$  para ADP,  $8,78 \pm 2,83\%$  para colágeno y de  $10,87 \pm 3,11\%$  para epinefrina. Se concluye que 1g. diario de ácidos grasos Omega 3, disminuye la agregación plaquetaria, dependiente de ADP, colágeno y epinefrina, con sólo una semana de tratamiento. Es un medicamento seguro sin efectos adversos de importancia.

**Palabras claves:** Omega 3, antiagregación plaquetaria, protección cardiovascular

### Abstract

**T**here is evidence that fish consumption containing Omega-3, offers cardiovascular protection. The American Heart Association (AHA) recommends to consume 1g/day Omega-3 to reduce the risk of cardiovascular events. Eicosapentanoic and docosahexanoic acids have a chemical structure similar to araquidonic acid; it is supposed that they join the platelet membrane, competing with araquidonic acid as cyclooxygenase substrate, reducing platelet aggregation. This prospective-longitudinal study, with a sample of 30 selected individuals, was carried out knowing the turnover of the thrombocyte. It was intended to evaluate the effect of Omega-3 fatty acids on platelet aggregation, in vitro, over a 7-days period of treatment. Turbimetric method of Born using ADP, collagen and epinephrine was used. A significantly statistical decrease on the platelet aggregation of  $14.3 \pm 3.5\%$  for ADP,  $8.78 \pm 2.83\%$  for collagen and  $10.87 \pm 3.11\%$  for epinephrine was observed. In conclusion, 1g of Omega-3 fatty acids taken daily diminishes, in a 7-days treatment, platelet aggregation, dependent on ADP, collagen and epinephrine. It is a safe medication with no significant adverse events.

**Key words:** Omega-3, platelet anti-aggregation, cardiovascular protection

La enfermedad coronaria es una de las principales causas de mortalidad en el mundo. En los países industrializados, casi 900.000 personas sufren un infarto agudo de miocardio, de las cuales mueren más de 250.000 cada año<sup>1</sup>. En Venezuela, para el año 2005, 24.353 personas fallecieron por enfermedades cardiovasculares, representando la primera causa de muerte (20,73%)<sup>2</sup>.

Hoy en día, las enfermedades cardiovasculares son un grave problema de salud pública mundial, de allí los numerosos esfuerzos que se llevan a cabo para establecer factores de riesgo de enfermedad coronaria, identificarlos de manera precoz y realizar intervenciones terapéuticas apropiadas. La intervención terapéutica debe estar dirigida a cambios radicales en el estilo de vida y control de los factores de riesgo modificables.

La hipertensión arterial es un factor de riesgo silencioso y su prevalencia crece de forma mantenida. Es un problema de salud pública mundial y cada vez hay más pacientes hipertensos con tratamiento no óptimo. La hipertensión arterial aumenta el riesgo de sufrir un evento cardiovascular de 3 a 4 veces, y más si está asociada con presión de pulso aumentada<sup>3</sup>.

El tabaquismo es un factor de riesgo modificable responsable de más de 400.000 muertes anuales. Los consumidores de 20 cigarrillos al día, tienen un riesgo de cardiopatía isquémica de 3 a 4 veces mayor. Con tan sólo fumar de 1 a 4 cigarrillos diarios aumenta el riesgo en 1,72 veces. Actúa de forma sinérgica con los anticonceptivos orales para predisponer a la aparición de trombosis venosa profunda, ejerce efectos adversos sobre la hemostasia y la inflamación, aumentando la concentración de proteína c reactiva, fibrinógeno, homocisteína y de moléculas de adherencia intercelular soluble (ICAM-1). Se asocia a agregación plaquetaria espontánea y biosíntesis disfuncional de óxido nítrico<sup>3</sup>.

La obesidad, como variable independiente, actualmente se discute si es o no un factor de riesgo cardiovascular. Más bien su riesgo se atribuye a la asociación con dislipidemia, resistencia periférica a la insulina, entre otros. Sin embargo, es bien aceptado el cálculo de la relación cintura-cadera, como predictor de riesgo de cardiopatía isquémica. Un Índice de Masa Corporal (IMC) mayor de 30 duplica la probabilidad de que un evento cardiovascular ocurra. El sedentarismo es considerado factor de riesgo independiente del IMC; se ha demostrado que el realizar un ejercicio moderado, tres días a la semana, disminuye la proteína c reactiva, mejora la función endotelial disminuyendo la viscosidad plasmática, la concentración de dímero D y de activador del plasminógeno.

La dislipidemia es un factor de riesgo cardiovascular ampliamente estudiado quedando clara la relación directa

entre la aterosclerosis, la hipercolesterolemia y muerte por cardiopatía isquémica<sup>3</sup>.

En definitiva, la enfermedad cardiovascular es una de las causas más frecuente de muerte en el mundo y deben asumirse medidas preventivas a edades tempranas, con intervención constante y determinante de los factores de riesgo cardiovascular en la práctica diaria.

Existen evidencias de que el consumo de pescado, ricos en ácidos grasos omega 3, aporta protección frente a la cardiopatía isquémica, enfermedad arterial coronaria y muerte súbita cardíaca. Aunque el pescado aporta una serie de características nutricionales importantes, es probable que el principal beneficio cardiovascular se deba a su contenido en ácidos grasos omega 3<sup>4</sup>.

Los ácidos grasos omega 3 que se encuentran en el pescado azul, como por ejemplo el salmón, son el ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docosahexanoico (DHA). El consumo de pescado de especies ricas en ácidos grasos Omega 3, aporta protección frente a la cardiopatía isquémica relacionado directamente con la mortalidad por enfermedad arterial coronaria y muerte súbita cardíaca, que afectan un 52% menos a los varones que consumen pescado al menos 1 vez a la semana comparados con los que no consumen. El consumo de 5,5 g al mes de ácido eicosapentanoico y ácido docosahexanoico, que equivale a una ración de pescado, se asoció a una reducción del 50% de muerte súbita<sup>5</sup>.

Los ensayos clínicos han apoyado las evidencias de que una ingesta importante de pescado puede ser un beneficio para los enfermos cardiovasculares. En el ensayo GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio Della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio) sobre prevención secundaria, se consiguió reducir el riesgo de muerte súbita y cardiovascular en un 45% y 30% respectivamente. La mortalidad total y por muerte súbita se redujo tras 3 y 4 meses de tratamiento, respectivamente<sup>6</sup>.

Bucher et al., 2002, en un estudio al azar, doble ciego, utilizó 4 g diarios de omega 3 y no observó los beneficios cardiovasculares hallados con la dosis máxima de 1 g/día. Este efecto se presume que este hallazgo fue secundario a una respuesta proinflamatoria inducida por peroxidación, dosis-dependiente<sup>4</sup>.

Se han propuestos diferentes teorías que explican la protección cardiovascular con el consumo de ácidos grasos omega 3, tomando en cuenta el metabolismo celular de los ácidos grasos poliinsaturados. La membrana celular es una barrera con permeabilidad sumamente selectiva y está implicada en el proceso de transformación de energía. Controla el flujo de información entre células y contiene los receptores que son sensibles a estímulos externos<sup>6,7</sup>.

La membrana de la célula consiste en una doble capa de fosfolípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados, tanto omega 6 como omega 3 y ácido araquidónico. Estos ácidos grasos poliinsaturados son los precursores de los también llamados eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), que se comportan como hormonas locales por su actuación sobre la regulación

de la célula. Por la vía de estos eicosanoides, los ácidos grasos poliinsaturados están implicados en procesos como la inflamación, inmunoregulación, la modulación de la transmisión sináptica, la regulación de flujo de sangre y el transporte iónico<sup>3,6</sup>.

El ácido araquidónico es el principal precursor de eicosanoides, entre lo más importantes se encuentran la prostaglandina  $E_2$  y el tromboxano  $A_2$ , ambos potentes vasoconstrictores. Su estructura química consiste en una cadena de carbonos unidos con enlaces covalentes simples y dobles<sup>7</sup>.

El EPA y el DHA poseen estructura química similar al ácido araquidónico y también son precursores de eicosanoides, pero con un perfil menos activo<sup>5</sup>. Es así como se propone que el EPA se incorpora a los fosfolípidos de las membranas celulares y compite con el ácido araquidónico como sustrato de la ciclooxigenasa (COX). El producto de la oxidación del ácido eicosapentanoico es el Tromboxano  $A_3$ , que carece de los efectos de activación plaquetaria y vasoconstricción del Tromboxano  $A_2$ <sup>3</sup>.

Considerando esto, se han realizado diversos estudios en la búsqueda de la causa de la protección cardiovascular de los ácidos grasos omega 3. Según Nilsen et al., 2001<sup>8</sup>, se han determinado modificaciones en la cifras de tensión arterial con el uso de omega 3, con efecto dosis-dependiente, así como se presume vasodilatación dependiente del endotelio, protección contra arritmias ventriculares, reducción de re-estenosis en pacientes post-angioplastia y efecto antiagregante plaquetario<sup>8</sup>.

Woodman en el 2003<sup>9</sup>, estudiaron los efectos en la agregación plaquetaria, de manera independiente, con DHA y EPA, a dosis de 4 g diarios para cada ácido graso poliinsaturado, durante 6 semanas de tratamiento, en pacientes diabéticos y/o hipertensos. Se obtuvo la inhibición de la agregación plaquetaria con mayor eficiencia con el ácido DHA. Estos investigadores proponen, basados en otros ensayos in vitro, que la actividad del DHA se basa en la inhibición total de la COX, impidiendo la formación de tromboxano  $A_2$ . Por otro lado, la actividad del EPA esta basada, principalmente, en la síntesis de tromboxano  $A_3$ . En vista de esto concluyen que la actividad de ambos ácidos grasos poliinsaturados en la agregación plaquetaria, se produce de manera sinérgica<sup>9</sup>. Sin embargo, a pesar de lograr hallazgos positivos como agente antiagregante, que pudiera explicar la protección cardiovascular del Omega 3, la dosis utilizada es 4 veces mayor que la dosis recomendada en el estudio GISSI y aceptada como recomendación de la AHA (1 g/día).

Posteriormente, Dinn en el 2007 realiza un ensayo basándose en las recomendaciones de la AHA con dosis de 1 g/día de Omega 3, DHA y EPA, durante 4 semanas de tratamiento. En esta oportunidad se estudió el efecto en la agregación plaquetaria como causa de la reducción del riesgo cardiovascular en individuos sanos. Se midió la agregación plaquetaria a la cuarta semana de tratamiento, así como niveles de ácido araquidónico. Se demostró la capacidad antiagregante del Omega 3 a estas dosis, con reversibilidad a las 4 semanas; así como disminución de

los niveles de ácido araquidónico. Este último hallazgo, apoyaría la hipótesis de que los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 compiten con el ácido araquidónico, como sustrato de la ciclooxigenasa<sup>10</sup>.

La agregación plaquetaria puede ser medida in vitro a través del cálculo de la densidad óptica con la aplicación del método turbidimétrico de Born. Estas mediciones pueden ser determinadas gracias a que son ampliamente conocidas las características histológicas de las plaquetas y el proceso de activación, adhesión y agregación de las mismas. Este método ha demostrado ser útil en el estudio de drogas antiagregantes<sup>11,12</sup>.

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos liberados a la sangre a partir de los megacariocitos de la médula ósea que circulan durante una media de 7 a 10 días. Carecen de núcleos y por tanto de capacidad de sintetizar nuevas proteínas.

Cuando existe lesión de la íntima vascular, se exponen sustancias subendoteliales trombogénicas que las plaquetas reconocen y se adhieren. Esta adhesión provoca la formación de una capa de plaquetas sobre la superficie vascular mediado por el factor de von Willebrand. Este, es sintetizado por las células endoteliales y por los megacariocitos. El receptor del factor de von Willebrand de la membrana plaquetaria, se localiza en la glicoproteína Gp Ib que forma parte del complejo Gp Ib/IX-V. La adhesión plaquetaria es facilitada por la fijación directa al colágeno subendotelial, por medio de receptores de colágeno específicos de la membrana plaquetaria. Posteriormente, se generan señales intracelulares que conducen a la activación plaquetaria y de receptores integrina para reforzar la adhesión inicial<sup>12,13</sup>.

Después de adherirse, las plaquetas se activan debido al efecto combinado de diversos agonistas, los cuales se fijan a sus receptores de membrana respectivos en las plaquetas adheridas y dan lugar a la transmisión de señales intracelulares activadoras. Las plaquetas activadas sufren una reacción de liberación, durante la cual secretan componentes prealmacenados en sus gránulos citoplasmáticos: ADP, ATP, serotonina, fibrinógeno, factor von Willebrand, trombospondina, fibronectina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformante alfa y beta y factor IV plaquetario. Simultáneamente, las plaquetas activadas sintetizan de novo y liberan Tromboxano  $A_2$ , que es el principal producto del metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa.

Los productos de la reacción de liberación plaquetaria, incluidos los componentes de los gránulos de secreción y tromboxano  $A_2$ , median la fase final de la activación plaquetaria y la agregación plaquetaria. Durante la agregación plaquetaria, se reclutan nuevas plaquetas de la circulación hacia el lugar de lesión vascular, dando lugar a la formación de un trombo plaquetario oclusivo. El tapón plaquetario es anclado y estabilizado por la red de fibrina que se forma simultáneamente en la cascada de la coagulación. Por otro lado, el factor de von Willebrand puede sustituir al fibrinógeno como ligando de la agregación. Se une a receptores específicos de la membrana plaquetaria

localizado en el complejo integrina Gp IIb/IIIa. Las integrinas están ampliamente distribuidas por las superficies de las células y contienen una subunidad alfa y otra beta. A menudo una integrina determinada puede unirse a más de un ligando; por tanto, la Gp IIb/IIIa plaquetaria puede reconocer tanto al fibrinógeno como al factor de von Willebrand, así como algunas proteínas adhesivas<sup>11</sup>.

El complejo Gp IIb/IIIa es el receptor más abundante de la superficie plaquetaria. Su subunidad alfa (Gp IIb) se expresa específicamente en las plaquetas, pero su subunidad beta (Gp IIIa) es compartida por otras integrinas, incluidos algunos receptores de las células vasculares. Los complejos heterodiméricos Gp IIb/IIIa fijadores de ligandos no están expuestos normalmente en su forma activa en la superficie de las plaquetas circulantes inactivas. Sin embargo, la activación plaquetaria convierte Gp IIb/IIIa en receptores competentes a través de vías específicas de transducción de señales, lo que permite a la Gp IIb/IIIa unirse al fibrinógeno y al factor de von Willebrand. Para que se acoplen estas proteínas adhesivas, es necesario que contengan la secuencia tripeptídica específica Arg-Gli-Asp (RGD)<sup>3,12</sup>.

En el reconocimiento del fibrinógeno y otros ligandos por el complejo Gp IIb/IIIa activo, participa la secuencia tripeptídica RGD (localizada en las posiciones 95-97 y 572-574 de cada una de las dos cadenas A-alfa del fibrinógeno). Cuando dos plaquetas activadas con receptores Gp IIb/IIIa activados se acoplan a la misma molécula de fibrinógeno, se crea un puente de fibrinógeno entre ambas plaquetas. Dado que la superficie de cada plaqueta posee alrededor de 50000 receptores de Gp IIb/IIIa fijadores de fibrinógeno, el reclutamiento de numerosas plaquetas activadas en la zona de lesión vascular puede formar rápidamente un conglomerado oclusivo, gracias a una densa red de puentes de fibrinógeno intercelulares. Además de secuencias RGD, las cadenas gamma del fibrinógeno contienen también una secuencia de 12 aminoácidos (dodecapéptido HHLGGAKQAGDV) que también muestra capacidad de fijarse al receptor Gp IIb/IIIa plaquetario<sup>5</sup>. Estos mecanismos mediadores de la agregación plaquetaria a través de la fijación de ligandos a receptores Gp IIb/IIIa activados de la membrana plaquetaria, han servido como objetivo para el desarrollo de tratamientos antiagregantes con antagonistas de Gp IIb/IIIa<sup>6</sup>.

Se puede determinar *in vitro* la agregación plaquetaria con el método turbidimétrico de Born, que evalúa la diferencia de densidad óptica que existe entre el plasma rico en plaquetas (PRP) y el plasma pobre en plaquetas (PPP). En este método, se toman como valores de referencia de agregación plaquetaria normal los siguientes: adrenalina de un 40 a 80%, ADP de 60 a 80%, colágeno de 60 a 80% y ristocetina de 70 a 90%<sup>11</sup>.

Se utilizan diferentes agonistas de la agregación como lo son el ADP, el colágeno, la ristocetina y la adrenalina. Se ha aceptado para la interpretación de los parámetros de la agregación plaquetaria, la teoría que propone la secuencia evolutiva del proceso, en dos fases distintas. La primera mediada por una gran variedad de estímulos agregantes, entre los cuales se incluyen inductores fisiológicos como

ADP, colágeno, adrenalina y trombina. Como consecuencia de esta reacción inicial, que afecta la membrana, se produce inevitablemente liberación del ADP endoplasmático, el cual, mediante su efecto característico, es el responsable de la segunda fase de aglutinación, esta vez irreversible y de fácil reconocimiento a simple vista<sup>7</sup>.

Es necesario recordar que las plaquetas se forman por fragmentación de células gigantes denominadas megacariocitos que, en el adulto, se encuentran sobre todo en la médula ósea, donde se forman, y en la sangre periférica. En este megacariocito, formador de plaquetas, los gránulos forman pequeños grupos en el citoplasma, en especial en la periferia, donde también se distinguen evaginaciones similares a pseudópodos. Finalmente, las plaquetas se forman cuando los pseudópodos se extienden entre las células endoteliales de los pequeños vasos sanguíneos de la médula ósea, donde se separan y son arrastradas por el torrente sanguíneo. Este proceso de maduración y liberación de plaquetas, dura aproximadamente entre 7 a 10 días. Las plaquetas circulantes poseen una vida media adicional de 7 a 10 días lo cual fue considerado para la evaluar el efecto de los ácidos grasos omega 3 sobre la agregación plaquetaria<sup>11</sup>.

Dadas las evidencias obtenidas, la AHA (American Heart Association) ha recomendado suplementos de EPA más DHA en dosis hasta de 1 g/d, como opción para reducir el riesgo de los pacientes con enfermedad arterial coronaria<sup>3</sup>.

### Objetivo

Evaluar el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (Omega 3), a los 7 días, en la agregación plaquetaria *in vitro*.

### Población y métodos

**S**e seleccionaron 30 individuos, mayores de edad, y menores de 50 años tanto de sexo masculino como femenino. El método de selección fue a través de un estudio de cohorte, prospectivo, longitudinal, controlado realizando una encuesta sobre factores de riesgo Cardiovascular de la Consulta de Medicina Interna y en Laboratorio de Investigaciones Endocrinológicas del Hospital Militar Dr. "Carlos Arvelo", previo consentimiento escrito del paciente y aprobación del comité de bioética de la institución, en el lapso comprendido entre junio a octubre 2007.

Para la selección de los pacientes se utilizaron los siguientes criterios:

**Criterios de inclusión:** Individuos sanos mayores de 18 años, tanto del sexo femenino como masculino y con factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial controlada, obesidad y tabaquismo.

**Criterios de exclusión:** Uso de aspirina, warfarina, clopidogrel, antiinflamatorios no esteroideos. Hipersensibilidad a los productos del mar. Uso de estatinas, fibratos y ezetimiba. Cardiopatía isquémica. Trastornos del ritmo. Diabetes Mellitus. Mujeres embarazadas. Enfermedades virales. Trastornos de coagulación. Enfermedad renal crónica. Enfermedad hemato-oncológicas. Trombocitopenias de cualquier origen y Enfermedades autoinmunes

### El estudio fue realizado en tres fases:

En la primera fase del estudio se procedió a incorporar en una encuesta de elaboración propia los datos que incluyeron: Historia clínica, determinación de IMC, Hematología completa: con registro de volumen plaquetario, índices hematimétricos y recuento diferencial de glóbulos blancos, Pruebas de coagulación: tiempo de protrombina (PT), tiempo parcial de tromboplastina (PTT) y fibrinógeno. Así como evaluación nutricional.

En la segunda fase del estudio, se realizó la evaluación nutricional previa con modificaciones pertinentes en la dieta, indicando en todos los individuos un régimen alimenticio similar, sin consumo de pescado azul ni alimentos ricos en vitamina K.

En la tercera fase del estudio, cada uno de los individuos fue citado al laboratorio en la mañana, en ayuno de 12 horas, absteniéndose de fumar, ingerir medicamentos o bebidas alcohólicas, para la determinación de la agregación plaquetaria basal (DIA 0) y a los 7 días de tratamiento con Omega - 3 (DIA 7).

Las muestras de sangre fueron extraídas por punción de la vena antecubital, sin uso de torniquete; almacenadas en tubos de plástico que contienen citrato de sodio al 3,8%, en relación: 9 partes de sangre /1 parte de anticoagulante. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos a 1.000 rpm y se obtuvo plasma rico en plaquetas (PRP). El remanente fue centrifugado a 2.000 rpm, obteniéndose el plasma pobre en plaquetas (PPP). El tiempo máximo transcurrido entre la toma de la muestra y la determinación de la agregación fue de 45 minutos.

La agregación plaquetaria realizada mediante la aplicación del método turbidimétrico de Born<sup>14</sup>, y según metodología descrita por Lares y col., 200<sup>15</sup> y Obregón y col., 200<sup>16</sup> utilizando el agregómetro dual Marca Chrono-Log® 440.

**Administración del medicamento:** Administración oral diaria de 1g de ácidos grasos polinsaturados-Omega 3 (Ácidos Eicosapentanoico y Docosahexaenoico).

2 cápsulas blandas:

- 200 mg Acido Docosahexanoico

- 300 mg Acido Eicosapentanoico

En total: 400 mg de DHA + 600 mg de EPA =1000 mg de Omega 3

Se organizaron las dosis diarias en bolsas individuales (2 cápsulas blandas). Se entregó tratamiento completo a cada paciente, debidamente rotulado y se realizó contacto telefónico diario, para asegurar la toma diaria del medicamento y registrar efectos adversos.

## Resultados

### Diseño Estadístico

Se realizó prueba T de Student pareada de dos colas para comparar la agregación plaquetaria en los días 0 y 7, en el grupo de estudio. Todos los resultados fueron expresados como media  $\pm$  desviación standard. Una probabilidad  $< 0,05$  fue considerada significativa. Además se aplicó métodos de inferencia estadística y correlación de Pearson. Se utilizó el software SPSS® versión 13,0 for Windows y Microsoft Excel 2002.

**E**n la tabla 1, se observan las características clínicas basales, donde se incluyeron 30 individuos: 21 mujeres (70%) y 9 hombres (30%), con un promedio de edad de  $35,3 \pm 14,1$  años.

Las características hematológicas y de coagulación se observan en la tabla 2. En la tabla 3 se aprecian los valores de agregación plaquetaria basal y posterior al tratamiento por una semana de 1 g diario de Omega donde se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

Sin embargo, se observó que la variación en la dispersión de los datos entre la muestra basal y las muestras al séptimo día aumentó. Este fenómeno se destaca en el Grafico 1. Entonces se realizó inferencia estadística entre la agregación plaquetaria y el sexo, así como con el recuento y volumen plaquetario. De esta manera se intenta determinar factores que influirían en el estudio de agregación plaquetaria, y el uso de ácidos grasos Omega 3. Sin embargo, en cuanto al sexo, como se observa en la tabla 4, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).entre los grupos; ni en la muestra basal, ni posterior a la administración de Omega 3, de modo tal que pudieran modificar los resultados obtenidos

Al realizar correlación de Pearson con las variables, como recuento y volumen plaquetario, que se indica en las tablas 5 y 6, se observa que no hubo correlación positiva ni negativa en el comportamiento de la agregación plaquetaria con administración de ácidos grasos Omega 3.

Con respecto a los efectos secundarios de los ácidos grasos Omega 3 se observó una incidencia total de 23,33%, presentándose como efecto adverso más frecuente el reflujo gástrico y el sabor a pescado. Fueron poco frecuentes los eventos hemorrágicos, y se caracterizó solo por eventos menores como equimosis espontáneas con auto-resolución. Estos datos se observan en la tabla 7.

**Tabla 1. Características clínicas basales de la muestra**

Características	Grupo estudio (n=30) x ± s
Edad (años)	35,3 ± 14,1
Sexo (%)	
Masculino	30
Femenino	70
Peso (kg)	75,13 ± 16,01
Talla (m)	1,65 ± 0,08
Índice de masa corporal (kg · m <sup>-2</sup> )	27,54 ± 4,37
Presión arterial sistólica (mmHg)	113,97 ± 9,92
Presión arterial diastólica (mmHg)	72,1 ± 9
Obesidad (%)	20
Hipertensión arterial (%)	20
Hábitos tabáquicos (paquete/año)	0,87 ± 2,84

**Tabla 2. Características hematológicas y de coagulación basales de la muestra**

Características	Grupo estudio (n=30) x ± s
Recuento plaquetario (mm <sup>3</sup> )	276733 ± 50906
Volumen plaquetario (fL)	8,32 ± 0,73
Glóbulos Blancos (mm <sup>3</sup> )	6997 ± 1761
Neutrófilos (%)	55,67 ± 7,75
Linfocitos (%)	32,89 ± 6,49
Hemoglobina (g/dl)	14,29 ± 1,16
Hematocrito (%)	42,38 ± 3,3
PT (razón)	1,01 ± 0,25
PTT (diferencia)	2,74 ± 2,19
Fibrinógeno (mg%)	303,3 ± 65,49

**Tabla 3. Comparación de la agregación plaquetaria luego de una semana de tratamiento con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**

Reactivo	Basal	A los 7 días	P
ADP (%)	76,72 ± 12,78	62,38 ± 20,85	0,0018
Colágeno (%)	78,67 ± 11,98	69,89 ± 16,71	0,018
Epinefrina (%)	69,52 ± 17,05	58,66 ± 24,93	0,0185

Nivel de significancia p < 0,05

**Tabla 4. Agregación Plaquetaria, según sexo, antes y después de una semana de tratamiento con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**

Reactivo	Masculino	Femenino	P
<b>ADP (%)</b>			
Basal	73,06 ± 11,16	78,29 ± 13,35	0,1562
A los 7 días	55,14 ± 14,85	64,40 ± 22,61	0,1352
<b>Colágeno (%)</b>			
Basal	77,92 ± 10,10	78,99 ± 12,93	0,4134
A los 7 días	68,19 ± 9,75	69,43 ± 18,94	0,4276
<b>Epinefrina (%)</b>			
Basal	66,39 ± 9,99	70,87 ± 19,38	0,2597
A los 7 días	53,02 ± 21,7	60,12 ± 25,81	0,2384

Nivel de significancia p < 0,05

**Tabla 5. Correlación entre el recuento plaquetario y la disminución en la agregación plaquetaria posterior al tratamiento durante una semana con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**

Reactivo	Recuento plaquetario (mm <sup>3</sup> )	R
	272308 ± 37066	
ADP (%)	14,3 ± 3,5	-0,119
Colágeno (%)	8,78 ± 2,83	0,08
Epinefrina (%)	10,87 ± 3,11	-0,34

Correlación significativa: 0,7 < r < 1 ó -1 < r < -0,7

**Tabla 6. Correlación entre el volumen plaquetario y la disminución en la agregación plaquetaria posterior al tratamiento durante una semana con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**

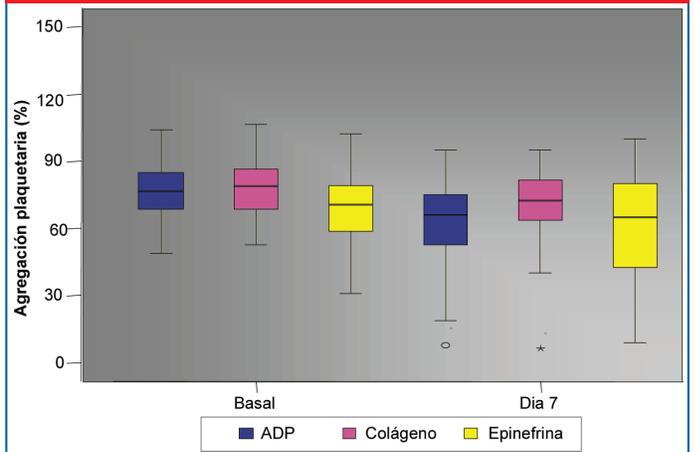
Reactivo	Volumen plaquetario (fl)	R
	8,4 ± 0,82	
ADP (%)	14,3 ± 3,5	-0,354
Colágeno (%)	8,78 ± 2,83	-0,234
Epinefrina (%)	10,87 ± 3,11	-0,21

Correlación significativa: 0,7 < r < 1 ó -1 < r < -0,7

**Tabla 7. Efectos adversos después de una semana de tratamiento con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**

Efecto adverso	Frecuencia (%)
Reflujo gástrico	4(13,3)
Equimosis	2(6,67)
Hipersensibilidad	1(3,33)
Cefalea	1(3,33)

**Gráfico 1. Diferencia en la agregación plaquetaria luego de una semana con tratamiento con 1 g diario de Ácidos Grasos Omega 3**



**M**últiples estudios han sido realizados en la búsqueda de evaluar y comprender la protección cardiovascular lograda con el uso de ácidos grasos poliinsaturados Omega 3. La AHA (American Heart Association) actualmente recomienda una dosis de 1 g/día de suplementos contentivos de EPA y DHA, basado, principalmente, en el estudio GISSI – Prevenzione.

Se han estudiados diferentes mecanismos de acción probables que expliquen los efectos beneficiosos cardiovasculares de los ácidos grasos Omega 3<sup>17-21</sup>, pero han sido utilizadas diversas dosis, incluso mayores a las actualmente recomendadas por la AHA. Son pocos los reportes de estudios que, específicamente, evalúen algún mecanismo que reduzca el riesgo cardiovascular a la dosis de 1 g/día.

Sólo Dinn et al.,<sup>10</sup> realizaron un ensayo para evaluar la disminución de la agregación plaquetaria con la dosis actualmente recomendada por la AHA, resultando disminución de aproximadamente el 8,8%. Incluso evaluaron los niveles de ácidos grasos séricos, incluyendo ácido araquidónico, y se observó disminución de estos valores posterior al tratamiento con Omega 3; que de alguna manera explicaría el mecanismo de acción antiplaquetario de los ácidos grasos DHA y EPA.

Este estudio se realizó, apoyado en las evidencias obtenidas a través de los diferentes resultados de estudios en reducción de riesgo cardiovascular, y el efecto específico en la agregación plaquetaria. Sin embargo, a pesar de la demostrada disminución en la agregación plaquetaria de manera sinérgica entre DHA y EPA, tomando en cuenta el mecanismo de acción de modificación de fosfolípidos de membrana del trombocito, y considerando que el tiempo de vida de este último es de aproximadamente 7 – 10 días; hacía necesario el estudio de este probable efecto antiplaquetario, como protector cardiovascular, previo a la apoptosis plaquetaria.

Se obtienen resultados concordantes con los hallazgos de otros estudios (Woodman et al.,<sup>9</sup> Dinn et al.<sup>10</sup>), que evidencian la eficacia antiplaquetaria de los ácidos grasos Omega 3, pero para este estudio, con dosis más bajas, aprobadas como de protección cardiovascular (1 g/día) y en menos tiempo.

Si bien estos resultados son alentadores en la búsqueda de mejorar la prevención primaria y secundaria de enfermedad cardiovascular isquémica, llama la atención la heterogeneidad de nuestros resultados.

En estudios previos de protección cardiovascular (GISSI<sup>6</sup>, Bucher et al.,<sup>4</sup>) incluidos los estudios de efecto antiplaquetario, la variabilidad de los resultados han sido explicados como dosis-dependientes. Sin embargo, al mantener una dosis única aceptada, como en nuestro caso, se mantiene

esta tendencia de heterogeneidad de respuesta entre la población, que se evidencia al observar la dispersión de los datos posterior a la administración de tratamiento.

Igualmente se evidenció, en nuestro trabajo, que si bien existió antiagregación plaquetaria mediada por los 3 reactivos (ADP, colágeno y epinefrina), hubo mayor potencia antiplaquetaria al estimular los trombocitos con ADP. Esto pudiera ser explicado por el mecanismo de acción propuesto para los ácidos grasos Omega 3 en las plaquetas, que al modificar los fosfolípidos de membrana y competir con el ácido araquidónico como sustrato en la COX disminuiría (sin inhibición total) la liberación de Tromboxano A<sub>2</sub> y ADP, modificando sólo de manera indirecta, la unión receptorial de epinefrina y la adhesión plaquetaria por colágeno.

No se puede atribuir este efecto a factores como sexo, recuento y/o volumen plaquetario. A pesar de las diferencias clínicas basales, en nuestro estudio, en cuanto al sexo, donde predominaron los individuos del sexo femenino, las diferencias no fueron lo suficientemente significativas para atribuirlo a esta variable.

El resto de las características clínicas, hematológicas y de coagulación basales fueron homogéneas, y no mostraron correlación estadística con el efecto antiplaquetario del Omega 3.

En vista de que existe un evidente efecto antiagregante plaquetario con Omega 3, posterior a una semana de tratamiento con dosis de 1 g/día, que pudiera explicar un mecanismo por el cual ofrece protección cardiovascular; la variabilidad de resultados hace necesario comparar su eficiencia con medicamentos aprobados como antiagregantes y que ofrecen, igualmente, protección en enfermedad cardíaca isquémica.

El ácido acetilsalicílico (ASA) es considerado, basado en la evidencia, como un fármaco eficaz en la prevención primaria y secundaria en enfermedad cardíaca. Para el primer caso reduce la incidencia de enfermedad arterial coronaria, y en prevención secundaria reduce en un 25% las complicaciones de la enfermedad cardíaca no mortal. Igualmente ocurre con Clopidogrel y Ticlopidina; pero el ASA muestra mayor rentabilidad, por tanto lo apuntala como un fármaco a considerar en la comparación de eficiencia con otros medicamentos que posean características de protección en enfermedad cardíaca con efecto antiplaquetario.

Guercio, et al., 2006<sup>22</sup>, realizaron un estudio donde evaluaban la eficiencia de la antiagregación plaquetaria, con una sola dosis de ácido acetilsalicílico comparado con Dipyrona. Este ensayo fue elaborado bajo la misma metodología, y mecanismos de evaluación de la actividad de agregación plaquetaria que nuestro estudio. Esto permite extrapolar un poco la eficiencia en la función antiplaquetaria del ASA y el Omega 3<sup>22</sup>.

Guercio et al., 2006<sup>22</sup>, obtuvieron valores equipotentes de antiagregación con ASA, mediado por los 3 reactivos (ADP, colágeno y epinefrina), con un comportamiento homogé-

neo en su grupo de estudio. Al comparar nuestros resultados observamos que la eficiencia en la antiagregación mediada por ADP eran equivalentes, no así para colágeno ni epinefrina. Sin embargo estos resultados no lograron diferencias estadísticamente significativas, probablemente debido a la variación entre la forma de administración de ambos medicamentos (una sola dosis de ASA, en contraste con siete dosis de Omega 3); lo que no permite concluir con respecto a la eficiencia antiplaquetaria del Omega 3 con respecto al ácido acetilsalicílico. En vista de esto sería relevante realizar estudios posteriores que compararan la eficiencia antiplaquetaria del Omega 3 con otros antiagregantes, para así determinar si el efecto en los trombocitos es el suficiente para explicar la protección cardiovascular a esta dosis, que demuestra la evidencia.

Los efectos secundarios del medicamento fueron mínimos, sin sobrepasar el 14%, donde el más frecuente fue el reflujo gástrico y sabor a pescado. Fueron escasos los eventos hemorrágicos, presentándose únicamente equimosis espontáneas autorresolutivas. Con esto podemos considerar al Omega 3 como un medicamento seguro.

## Conclusiones

**L**a dosis recomendada de ácidos grasos poliinsaturados Omega 3, por la AHA para protección cardiovascular (1g/día), produce disminución de la agregación plaquetaria, dependiente de ADP, colágeno y epinefrina; con sólo una semana de tratamiento.

Omega 3 puede recomendarse como medicamento seguro, con pocos efectos adversos en la prevención en la enfermedad cardíaca, pero sin desplazar ningún antiplaquetario actualmente aceptado en la búsqueda de la disminución de riesgo cardíaco.

## Referencias

- Carpenter G et al. Cecil, Medicina Interna, 5a ed. Barcelona, España; Saunders 2003. p81-6.
- Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de mortalidad: 2005. Dirección de Información social y estadísticas.
- Zipes D et al. Braunwald. Tratado de cardiología. 7a ed. Barcelona, España; Elsevier Saunders. 2006. Tomo I, p.367-90.
- Bucher H, Hengstler P, Schindler C. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Coronary Heart Disease: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Am J Med.* 2002;112:298-304
- David N. Lehninger. Principios de Bioquímica. 3ª ed. Madrid, España: Omega; 2001
- Marchioli R, Barzi F, Bomba E. 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.
- Devlin T. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. 3ª ed. Barcelona, España: Reverte; 1999.
- Nilsen D, Albrektsen G, Landmark K. Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol: Original articles. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74:50-6.
- Woodman. Effects of purified eicosapentaenoic acid and docohexaenoic acid on platelet, fibrinolytic and vascular function in hypertensive type 2 diabetic patients: Original Articles. *Atherosclerosis.* 2003; 116: 85-93.
- Dinn J, Harding S. Dietary intervention with oil rich fish reduces platelet-monocyte aggregation in man. *Atherosclerosis.* [revista en Internet]\* 2007 agosto-diciembre. [acceso 2 de agosto de 2007]; disponible en [www.elsevier.com/locate/atherosclerosis](http://www.elsevier.com/locate/atherosclerosis).
- Goldstein C. Funciones y disfunciones plaquetarias. 1ra ed Junta de Beneficencia Pública del Dtto Federal. Caracas. 1973.
- Geneser F. Histología. 3ª ed. Barcelona, España: Editorial Médica Panamericana; 2000. p.42-9.
- Abbas A. Inmunología celular y molecular. 5ª ed. Madrid, España: Elsevier Saunders; 2004. p. 298-317.
- Born GVR. The aggregation of blood platelets: Original articles. *J Physiol.* 1963; 168:178-83.
- Lares M, Obregón O. Valores de agregabilidad plaquetaria anormales en una población diabética con respecto a una población sana: *Salus Militiae.* 2001(2); 26: 18-20.
- Obregón O, Lares M. Determinación de valores de agregabilidad plaquetaria en una población sana utilizando plasma rico en plaquetas y "concentrado plaquetario": Trabajo original. *Salus Militiae.* 2001(1); 26:62-5.
- Harris W. Tissue omega 6 - omega 3 fatty acid ratio and risk for coronary artery disease: Original articles. *Am J Cardiol.* 2006; 98:20-5.
- Robinson J. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega 3 fatty acids: Review. *Am J Cardiol.* 2006; 98: 39-49.
- Reiffel J. Antiarrhythmic effects of omega 3 fatty acids: Review. *Am J Cardiol.* 2006; 98: 50-60.
- Harper C. Usefulness of omega 3 fatty acids and the prevention of coronary heart disease: Review. *Am J Cardiol.* 2005; 96: 1521-29.
- Penny M. Fish consumption, fish oil. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease: Review. *Circulation.* 2002; 106: 2747-57.
- Figueroa, M., Guercio, M., Paiva, A., Lares, M. y Hong, A. Efecto de la dipirona sobre la agregación plaquetaria Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2006; 25 (1): 39-44.