

Przegląd piśmiennictwa dotyczącego przemian, działania oraz zastosowania farmakologicznego olejów rybich. Rola skwalenu, alkilogliceroli oraz niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych szeregu n-3 w modulowaniu mechanizmów odporności

Monografia opracowana na potrzeby Instytutu Leków

P. Lewkowicz, N. Lewkowicz i H. Tchórzewski*

*Adres.: Zakład Immunologii Klinicznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi;

kierownik: prof. dr hab. med. H. Tchórzewski, ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź tel/fax 42 271 15 76

1. Wprowadzenie	3
2. Farmakologia kwasów tłuszczowych	4
2.1. Skład preparatu BioMarine570®	4
2.2. Farmakokinetyka kwasów tłuszczowych	6
2.3. Budowa, biosynteza oraz przemiany biochemiczne	10
2.3.1. Alkiloglicerole i związki skwalenu	10
2.3.2. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT)	16
3. Rola olejów rybich w modulowaniu mechanizmów odporności organizmu	19
3.1. Alkiloglicerole	19
3.1.1. Czynniki aktywujący płytki (PAF) - rola w procesie zapalenia, mechanizm działania alkilogliceroli	19
3.1.2. Alkiloglicerole – działanie osłonowe w radioterapii	20
3.2. Skwalen	21
3.3. Rola diety bogatej w NNKT szeregu n-3 w modulowaniu mechanizmów odporności organizmu	22
3.3.1. Eikozanoidy: łącznik pomiędzy NNKT szeregu n-3, n-6 a układem immunologicznym	22
3.3.1.1. Wpływ NNKT szeregu n-3 na produkcję i uwalnianie cytokin prozapalnych	24
3.3.1.2. Rola NNKT szeregu n-3 w modulowaniu ekspresji molekuł adhezyjnych	26
3.3.1.3. Rola NNKT n-3 w modyfikacji funkcji komórek fagocytujących	27
3.3.1.4. Wpływ NNKT n-3 na ekspresję genów zaangażowanych w proces zapalenia.	27
3.3.1.5. Znaczenie NNKT szeregu n-3 w ograniczaniu następstw stresu oksydacyjnego	28
4. Badania epidemiologiczne	30
4.1. Rola diety bogatej w oleje rybne w profilaktyce chorób cywilizacyjnych	30
4.1.1. profilaktyka chorób układu krążenia	30
4.1.2. profilaktyka chorób nowotworowych	32
5. Zastosowanie tłuszczów rybnych w terapii	32
5.1. Możliwości zastosowania terapeutycznego poszczególnych składników zawartych w preparacie BioMarine570®	34
5.1.1. Alkiloglicerole	34
5.1.2. Skwalen	35
5.1.3. Zastosowanie związków NNKT n-3 w terapii	35
5.1.3.1. Rola NNKT n-3 w terapii chorób przebiegających z przewagą odpowiedzi Th1	35
5.1.3.2. Rola NNKT n-3 w terapii chorób przebiegających z przewagą odpowiedzi Th2	36
5.1.3.3. Rola NNKT n-3 w terapii pacjentów w stanie krytycznym	37

5.1.4.	Badania nad zastosowaniem preparatu BioMarine570® w terapii wybranych jednostek chorobowych przeprowadzone przez Zakład Immunologii Klinicznej ICZMP -----	38
5.1.4.1.	nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych-----	38
5.1.4.2.	reumatoidalne zapalenie stawów -----	41
5.1.4.3.	afty nawrotowe jamy ustnej-----	43
6.	Zastosowanie diety wzbogaconej w tłuszcze rybne u kobiet ciężarnych, w okresie laktacji oraz w prawidłowym rozwoju dziecka -----	44
7.	Dawkowanie -----	45
7.1.	Dawki terapeutyczne -----	45
7.2.	Profilaktyka chorób serca oraz przeciwnowotworowa -----	46
8.	Przeciwwskazania-----	46
9.	Streszczenie -----	49
10.	Piśmiennictwo-----	56

1. Wprowadzenie

Oleje uzyskiwane z ryb od wielu lat znane są jako środki działające korzystnie na organizm ludzki. Wraz z rozwojem wiedzy na temat zaangażowania układu immunologicznego w patogenezę wielu chorób, prowadzone były badania dotyczące skuteczności olejów z ryb w leczeniu schorzeń o podłożu zapalnym, autoimmunizacyjnym czy nowotworów. Nowoczesne techniki diagnostyki immunologicznej umożliwiły wykazanie wpływu związków zawartych w olejach ryb na układ immunologiczny oraz powiązanie działania leczniczego tych substancji ze zmianami niektórych parametrów odporności. Terapia oparta o oleje z ryb uruchamia naturalne mechanizmy regulujące reakcje odporności organizmu, cechuje się brakiem objawów niepożądanych oraz nielicznymi przeciwwskazaniami (1).

Substancje zawarte w olejach z ryb od wielu lat znajdują się w kręgu zainteresowań badaczy ze względu na ich korzystny wpływ w leczeniu chorób o podłożu zapalnym. Udowodniono, że oleje rybnie otrzymywane w procesie tłoczenia, m.in. z wątroby, bogate są w związki posiadające aktywność biologiczną. Oleje te zawierają estry gliceroli (alkiloglicerole), wielonienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) n-3 oraz związki skwalenu. Dzięki złożonemu składowi oleje z ryb regulują odpowiedź immunologiczną, działając zarówno przeciwzapalnie, jak i prozapalnie, aktywując odpowiedź komórek fagocytujących w stosunku do wszystkich rodzajów patogenów. Działanie ograniczające przewlekłe procesy zapalne związane są z właściwościami NNKT szeregu n-3, natomiast działanie poprawiające zwalczanie patogenów związane jest z aktywnością alkilogliceroli i skwalenu. Taki dualizm właściwości związków zawartych w olejach rybich pozwala na uruchomienie własnych mechanizmów regulujących układ immunologiczny w zależności od aktualnych potrzeb organizmu, gdyż związki zawarte w tego typu olejach są jedynie substratami do tworzenia substancji biologicznie aktywnych, których powstawanie regulowane jest przez szereg procesów enzymatycznych (1). Wyjątkiem jest skwalen, którego główny efekt biologiczny oparty jest o jego bezpośrednie działanie poprzez „opsonizację” patogenów i tym samym ułatwienie ich prezentacji komórkom immunokompetentnym – (skwalen posiada właściwości adiuwantu – substancji nośnej pozwalającej rozpoznać epitopy patogenu przez komórki immunokompetentne) (2).

W badaniach klinicznych prowadzonych w Zakładzie Immunologii Klinicznej ICZMP wykazano, iż preparat BioMarine570[®] zawierający wyżej wymienione związki posiada zarówno działanie ograniczające proces zapalny (badania prowadzono u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów oraz chorych z aftami nawracającymi jamy ustnej) (3, 4),

jak i nasila odpowiedź neutrofilii oraz komórek NK w stosunku do patogenów bakteryjnych (badania prowadzone u chorych cierpiących na nawracające infekcje górnych dróg oddechowych) (5).

2. Farmakologia kwasów tłuszczowych

2.1 Skład preparatu BioMarine570[®]

BioMarine570[®] (Scandinavian Laboratories) jest preparatem powstałym na bazie wyciągu olejów rybich uzyskanych z wątroby rekinów: *Centroscymnus crepitater*, *Etmopterus granulosus*, *Deania colcea* oraz *Centrophorus scalpratus*. Wszystkie gatunki są poławiane u wybrzeży Australii i Nowej Zelandii.

W składzie lipidów uzyskanych z wątroby dominują etery acyloglyceroli: diacyloglyceroli (*ang. diacylglyceryl ethers - DAGE*) (1-0-Alkyl-2,3-diacyloglycerol ethers), triacyloglyceroli (*ang. triacylglycerols – TAG*), związki skwalenu oraz niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3 bogate w kwas dekozaheksaenowy (DHA) oraz kwas eikozapentaenowy (EPA).

W skład opakowania wchodzi 90 jednorodnych kapsułek żelatynowych umieszczonych w polietylenowej butelce, zamkniętej polipropylenową błoną i kapsłem z usuwalnym paskiem. Jedna kapsułka zawiera: związki skwalenu 120mg, alkiloglicerole 120mg, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3 25mg, witaminę A 50 j.m. i witaminę D 5 j.m.

Tabela. Udział poszczególnych klas lipidów w oleju uzyskanym z wątroby rekinów poławianych u wybrzeży Nowej Zelandii. Dane (w/w%) wyrażono jako wartości średnie \pm SD. (opracowano na podstawie Kang SJ i wsp.: Similarities in the Lipid Class of oils from Atlantic and Pacific dogfish livers. JAOCS 1667, Vol.75, no.11, 1998)

1	Etery 1-O-Alkylu diacyloglicerolu	41,24 \pm 0,36
2	Triacyloglicerole	58,76 \pm 0,36
3	Wolne kwasy tłuszczowe	0,3 \pm 0,03
4	Diacyloglicerole	Nieoznaczalne (poza czułością metody)
5	Sterole	Nieoznaczalne (poza czułością metody)
6	Inne pozostałe składniki	0,1 \pm 0,07

Tabela. Udział procentowy poszczególnych wyższych kwasów tłuszczowych w eterach 1-O-Alkylu diacyloglicerolu (DAGE) oraz wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w oleju uzyskanym z wątroby rekinów poławianych u wybrzeży Nowej Zelandii. Dane (w/w%) wyrażono jako wartości średnie \pm SD. (opracowano na podstawie Kang SJ i wsp.: Similarities in the Lipid Class of oils from Atlantic and Pacific dogfish livers. JAOCS 1667, Vol.75, no.11, 1998).

Kwas tłuszczowy	DAGE	FFP	Kwas tłuszczowy	DAGE	FFP
12:0	0,28 \pm 0,02	0,33 \pm 0,11	18:2n-4	0,18 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02
13:0	0,04 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02	18:3n-6	0,08 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02
14:0 Iso	0,03 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02	18:3n-4	0,13 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01
14:0	1,82 \pm 0,21	1,86 \pm 0,04	18:3n-3	0,40 \pm 0,04	0,54 \pm 0,01
14:1n-9	0,04 \pm 0,00	0,12 \pm 0,05	18:4n-3	0,32 \pm 0,02	0,83 \pm 0,03
14:1n-7	0,06 \pm 0,00	0,02 \pm 0,04	18:4n-1	0,10 \pm 0,00	0,34 \pm 0,08
14:1n-5	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny	20:0	0,17 \pm 0,03	0,32 \pm 0,07
15:0 Iso	0,12 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	20:1n (11+9)	5,72 \pm 0,77	4,70 \pm 0,05
15:0 Anteiso	0,08 \pm 0,01	0,34 \pm 0,04	20:1n-7	1,12 \pm 0,02	1,61 \pm 0,01
15:0	0,34 \pm 0,04	0,48 \pm 0,11	20:1n-5	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny
15:1n-8	0,04 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	20:2 NMID	0,14 \pm 0,02	0,22 \pm 0,05
15:1n-6	Nieoznaczalny	0,06 \pm 0,00	20:2n-6	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny
16:0 Iso	0,11 \pm 0,00	0,14 \pm 0,01	20:3n-4	0,14 \pm 0,04	0,22 \pm 0,01
16:0 Anteiso	0,03 \pm 0,00	0,14 \pm 0,01	20:3n-6	0,11 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01
Pristanic	0,32 \pm 0,06	0,18 0,01	20:3n-3	0,11 \pm 0,01	0,16 \pm 0,00

7-Metylo 16:0	0,20 ± 0,01	0,26 ± 0,00	20:4n-6	0,27 ± 0,00	1,30 ± 0,06
16:0	29,30 ± 3,02	18,86 ± 0,01	20:4n-3	0,48 ± 0,01	0,76 ± 0,02
16:1n-11	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny	20:5n-3	2,26 ± 0,18	6,49 ± 0,47
16:1n-7	4,94 ± 0,54	4,75 ± 0,06	EPA 21:5n-3	0,54 ± 0,16	0,46 ± 0,01
16:1n-5	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,01	22:0	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny
16:2n-4	0,20 ± 0,02	0,32 ± 0,04	22:1n-(13+11)	3,40 ± 0,88	3,14 ± 0,09
16:2n-6	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny	22:1n-9	2,68 ± 0,61	2,08 ± 0,06
16:3n-4	0,53 ± 0,06	0,54 ± 0,01	22:1n-7	0,40 ± 0,08	0,36 ± 0,16
16:3n-3	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny	22:1n-5	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny
16:4n-3	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	22:4n-6	0,62 ± 0,01	0,18 ± 0,00
17:0 Anteiso	0,24 ± 0,02	0,50 ± 0,04	22:5n-6	0,33 ± 0,03	0,32 ± 0,02
17:0 + Phytanic	0,72 ± 0,00	0,32 ± 0,00	22:4n-3	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,06
18:0	2,88 ± 0,17	0,51 ± 0,03	22:5n-3	2,88 ± 0,14	1,48 ± 0,08
18:1n-9	22,58 ± 0,09	4,86 ± 0,04	DHA 22:6n-3	3,60 ± 0,00	4,94 ± 0,29
18:1n-7	4,18 ± 0,08	21,12 ± 0,09	24:1	0,26 ± 0,07	0,16 ± 0,01
18:1n-5	0,31 ± 0,00	6,62 ± 0,06	24:1n-9	0,78 ± 0,22	0,92 ± 0,02
18:2n-9	0,06 ± 0,01	0,46 ± 0,02			
18:2n-7	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,00			
18:6n-6	0,84 ± 0,04	0,08 ± 0,01			

2.2. Farmakokinetyka kwasów tłuszczowych

(opracowano na podstawie: **1.** Kang SJ i wsp.: Similarities in the Lipid Class of oils from Atlantic and Pacific dogfish livers. JAOCS 1667, Vol.75, no.11, 1998. **2.** Farmakodynamiki, W Jeniec, J Krupińska PZWL Warszawa 1995, oraz **3.** Biochemii Klinicznej, S Angielski, J Rogulski, PZWN Warszawa 1991.)

Wszystkie tłuszcze pokarmowe są nierozpuszczalne w wodzie. W środowisku zasadowym treści dwunastnicy i soli kwasów żółciowych dochodzi do wytworzenia emulsji. Na tym etapie działa lipaza trzustkowa, która swoiście odszczepia skrajne kwasy tłuszczowe z cząsteczek triglicerydów. Związki skwalenu oraz wolne wielonienasycone kwasy tłuszczowe na tym etapie ulegają tylko emulgacji. Produktami działania lipazy tłuszczowej są wolne kwasy tłuszczowe oraz β -monoglicerydy. W środowisku zasadowym oraz obecności kwasów żółciowych tworzą się wielocząsteczkowe agregaty – micelle. Roztwór micellarny jest przejrzystą zawiesiną cząstek wielkości 4-20 nm. Wchłanianie lipidów (NNKT n-3, związków skwalenu, acylogliceroli (w tym etery acylogliceroli, diacylogliceroli, triacylogliceroli) oraz β -monoglicerydów z roztworu micelnego odbywa się na zasadzie dyfuzji przez błonę komórkową. Proces ten zachodzi głównie w górnej części jelita cienkiego.

Mechanizm transportu micelnego lipidów przez błonę komórkową nie jest dokładnie poznany. We wnętrzu komórek nabłonka jelita cienkiego następuje przebudowa materiału lipidowego i przygotowanie do transportu poza komórkę do chłonki:

1. kwasy tłuszczowe ulegają aktywacji z wytworzeniem acylo-pochodnych koenzymu A – związku polarnego dobrze rozpuszczalnego w wodzie.
2. w reakcji glicerokinazy powstaje α -glicerofosforan – prekursor glicerydów i fosfolipidów.
3. monoglicerydy pod wpływem swoistej lipazy mikrosomalnej ulegają rozkładowi lub też estryfikacji do diglicerydów oraz triglicerydów (związkami zapobiegającym ponownej emulgacji jest wysokie stężenie białek – apolipoprotein; są to białka drobnocząsteczkowe wykazujące silne powinowactwo ze związkami lipidowymi i wiążące się z nimi wiązaniem hydrofobowym. Dzięki temu związki lipidowe są utrzymywane w środowisku wodnym i łatwo transportowane w postaci kompleksów lipidowo – białkowych do różnych organelli komórek, m.in. siateczki śródplazmatycznej i mitochondriów.

W obrębie siateczki śródplazmatycznej utrzymujące się dotychczas w roztworze wodnym lipidy tworzą stopniowo zawiesinę emulsyjną, tzw. chylomikrony, w skład których wchodzi triglicerydy, cholesterol, związki sterolowe, fosfolipidy oraz białko β (apolipoproteina B). W obrębie komórek błony śluzowej jelita (enterocytów) następuje resynteza TG w siateczce śródplazmatycznej gładkiej, a równocześnie w siateczce śródplazmatycznej szorstkiej synteza apolipoproteiny B. Wytworzone białko apoB przemieszcza się w kierunku siateczki śródplazmatycznej gładkiej, gdzie wspólnie z resyntezowanymi trójglicerydami, cholesterolem, NNKT, związkami skwalenu tworzy chylomikrony. Chylomikrony przechodzą do płynu pozakomórkowego - układu chłonnego („oplatającego” trzewia) bez możliwości przeniknięcia przez naczynia włosowate do układu krwionośnego. Z chłonką, z pominięciem wątroby, trafiają do krążenia ogólnego, gdzie rozprawdane są do tkanek. We krwi obwodowej od cząsteczek frakcji HDL (lipoprotein o dużej gęstości) zostaje odłączona apolipoproteina C II i dołączona do chylomikronów. Apo C II we frakcji chylomikronów aktywuje lipazę lipoproteinową. Enzym ten rozkłada triglicerydy do monoglicerydów i wolnych kwasów tłuszczowych. Lipaza lipoproteinowa rozkłada stopniowo triglicerydy zawarte w chylomikronach, a wytworzone wolne kwasy tłuszczowe po połączeniu się z albuminami są poddawane procesowi β oksydacji lub też odkładane w tkance tłuszczowej.

Dokładny opis przebiegu procesu utleniania NNKT opisano w rozdziale dotyczącym przemian enzymatycznych NNKT (str. 12).

Etery acylogliceroli, diacylogliceroli, triacylogliceroli jako związki pochodne acylogliceroli podlegają farmakokinetyce i przemianom biochemicznym charakterystycznym dla wszystkich acylogliceroli. **Etery 1-O-alkilogliceroli dostarczane wraz z pożywieniem są wchłaniane bez enzymatycznego rozszczepienia w przewodzie pokarmowym. Badania wskazują, iż są one w takiej postaci wbudowywane w fosfolipidy błon komórkowych większości tkanek. 1-O-alkiloglicerole są na drodze enzymatycznej wbudowywane do 1-O-alkylo-2-acylo-*sn*-glycero-3-fosfoetanolaminy oraz 1-O-alkylo-2-acylo-*sn*-glycero-3-fosfocholiny (8).** Jak wspomniano wcześniej, związki te fizjologicznie występują w tkance tłuszczowej stanowiąc znakomity materiał zapasowy, termoizolacyjny i ochrony mechanicznej. U człowieka acyloglicerole stanowią 10-15% masy ciała. **Prawidłowe stężenie acylogliceroli w osoczu dorosłego człowieka wynosi 0,4-1,8 g/l, a całkowite przenoszenie przez krew wynosi do 200 g/24h.**

Tri, dwuglicerydy i monoglicerydy transportowane są w krwiobiegu przez lipoproteiny (w przeciwieństwie do NNKT, które przenoszone są przez albuminy). Oba rodzaje cząstek tzn. NNKT, jak i tri i dwuglicerydy są ściśle ze sobą związane reakcjami estryfikacji i hydrolizy, które mogą przebiegać praktycznie w każdym miejscu organizmu. Hydrolizę triglicerydów katalizuje m.in. lipaza trzustkowa (w przewodzie pokarmowym), lipaza lipoproteinowa oraz lipaza adypocytowa i monoglicerydowa w tkance tłuszczowej. Do tkanek NNKT dostarczane są z krwi, gdzie znajdują się w wyniku hydrolizy triglicerydów lipoprotein, oraz z tkanki tłuszczowej. **Okres półtrwania NNKT w osoczu wynosi kilka minut, a ich stężenie jest poniżej 1 mmol/l.**

Związki skwalenu

Związki skwalenu stanowią naturalny substrat do syntezy cholesterolu. Fizjologicznie występują głównie w skórze właściwej. Synteza cholesterolu może zachodzić w większości komórek ludzkiego organizmu z wyjątkiem mózgu. Praktycznie większość cholesterolu syntetyzowana jest w komórkach wątroby (około 80%). Synteza zachodzi w siateczce śródplazmatycznej, skąd związki cholesterolu są przenoszone do innych organelli komórkowych. Dokładny opis przemian biochemicznych zachodzących podczas syntezy cholesterolu opisano w rozdziale omawiającym przemiany biochemiczne alkilogliceroli i związki skwalenu (str. 16). Synteza cholesterolu regulowana jest przez szereg czynników, które warunkują prawidłową homeostazę.:

1. receptory apoB/E i apoE warunkujące internalizację cholesterolu z lipoprotein, (ekspresja receptora apoE jest niezależna od zawartości cholesterolu w komórce).
2. aktywność enzymu - reduktazy 2-hydrokso-2-metylo-glutarylo-CoA, która zależy od ilości cholesterolu wewnątrzkomórkowego.
3. aktywność acylotransferazy acylo-CoA. Aktywność enzymu zależy od zawartości cholesterolu wolnego w komórce.
4. 7 α -hydroksylaza cholesterolu – enzym regulatorowy w syntezie kwasów żółciowych.

W komórkach pozawątrobowych synteza cholesterolu jest regulowana w nieco odmienny sposób.

1. Wejście cholesterolu do komórki jest zależne tylko od jednego receptora (apoB/E – ekspresja receptora zależy od ilości cholesterolu obecnego wewnątrz komórki).
2. Zawartość cholesterolu w błonie komórkowej wpływa na aktywność enzymów: ACAT, reduktazy HMG-CoA, receptora apoB/E i esterazy hydrolizującej estry cholesterolu.

Niestety nie posiadamy wiadomości na temat tego, gdzie dochodzi do syntezy cholesterolu ze związków skwalenu podawanych doustnie, ilości wytwarzanego w ten sposób przez organizm cholesterolu, jak i czasu półtrwania tych związków w krwiobiegu. Z badań prowadzonych na zwierzętach wykazano, iż podawanie związków skwalenu nie ma istotnego wpływu na całkowity poziom cholesterolu osocza, co praktycznie wyklucza (podczas długotrwałego przyjmowania preparatu) zwiększenie ryzyka i przyspieszenie procesów arterogenezy ze wszelkimi jej powikłaniami. Dane epidemiologiczne wskazują wręcz odwrotny skutek podawania substratów dla syntezy cholesterolu. Wykazano, iż podawanie związków będących substratami do syntezy cholesterolu (związki skwalenu), a nie samego cholesterolu, jest znacznie bardziej korzystne i bezpieczne dla organizmu (skwalen podawany doustnie jest wchłaniany w około 60%. Przyjmowany w dawce **900 mg/dobę** przez **7-30 dni**, powoduje wzrost jego stężenia w surowicy o około 17 razy, przy niezmiennym poziomie trójglicerydów i obniżonym cholesterolu) (23). Powyższe obserwacje biochemiczne i fizjologiczne w badaniach przeprowadzonych na ludziach mają odzwierciedlenie w badaniach epidemiologicznych. Średnie stężenie cholesterolu w surowicy populacji o dużym zagrożeniu chorobą wieńcową (np. USA) jest istotnie wyższe w porównaniu z krajami, gdzie jest wysokie spożycie ryb (np. Włochy, Japonia). Średnie stężenie cholesterolu w USA u pacjentów w wieku 50-54 lat wynosi 6,11 mmol/l w porównaniu np. do

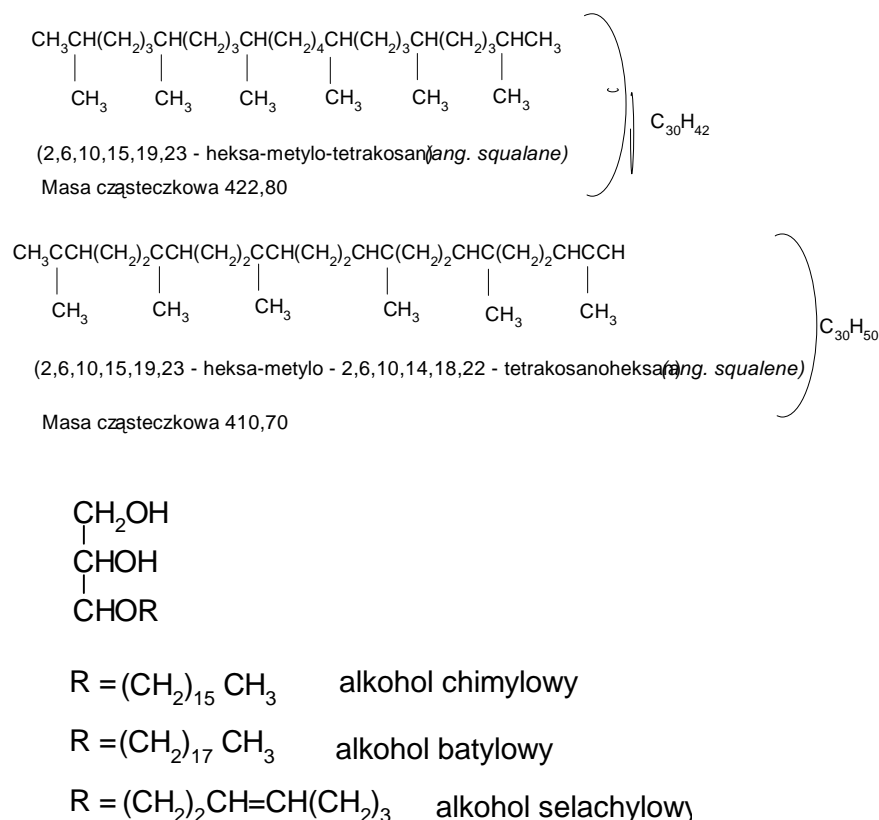
Włoch, gdzie średnia wartość wynosi 5,17 mmol/l, czy Japonii - 3,56 mmol/l (Biochemia Kliniczna, S Angielski, J Rogulski, PZWN Warszawa 1991 str. 395). Wydaje się wysoce prawdopodobne, iż jest to wynikiem korzystnego działania naturalnej regulacji zapotrzebowania organizmu na sterole (łatwiej jest regulować syntezę niż wchłanianie egzogenego cholesterolu, który praktycznie nie podlega kontroli na poziomie dwunastnicy i jelita cienkiego). Z tego też powodu nie jest możliwe stłuszczenie wątroby podczas długoterminowego (sukcesywnego) przyjmowania preparatu BioMarine570[®], jak może to mieć miejsce podczas przyjmowania „gotowego” cholesterolu.

2.3. Budowa, biosynteza oraz przemiany biochemiczne

2.3.1 Alkiloglicerole i związki skwalenu

Wspólną cechą wszystkich tłuszczów złożonych pod względem chemicznym jest zawartość w budowie cząstek kwasów tłuszczowych. Związki te biorą udział w szeregu przemian biochemicznych w organizmie, stanowią substrat do syntezy wielu biologicznie aktywnych substancji oraz pełnią rolę czynników rozgraniczających poszczególne środowiska metaboliczne w obrębie komórki i tkanki (stanowią naturalny składnik półprzepuszczalnych błon komórkowych, jądrowych oraz mitochondrialnych). Jednym z najbardziej rozpowszechnionych rodzajów tłuszczów złożonych są glicerydy – pod względem chemicznym są to estry glicerolu i kwasów organicznych - związki zbudowane z glicerolu zestyfikowanego z resztami kwasów tłuszczowych. Tłuszcze naturalne zwierzęce stanowią mieszaninę triacylogliceroli, diacylogliceroli oraz monoacylogliceroli.

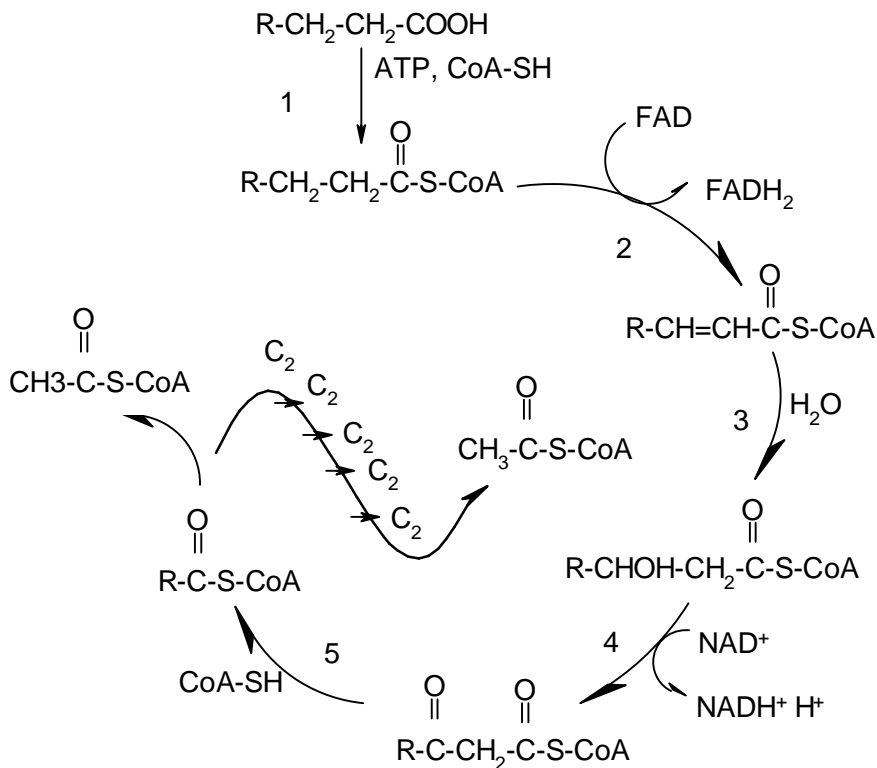
Rycina 1. Wzór strukturalny związków alkilogliceroli (monoacylogliceroli) oraz związków skwalenu (poniżej). R – grupy funkcyjne w pozycji α glicerolu.



W organizmach żywych tłuszcze zanim zostaną poddane dalszej obróbce chemicznej muszą ulec hydrolizie do podstawowych składników, w przypadku tri-, diacylo- oraz monogliceroli do glicerolu i cząsteczek kwasów tłuszczowych. Reakcja ta jest katalizowana przez lipazy (enzymy należące do klasy hydrolaz - nieswoiste enzymy trawienne znajdujące się m.in.: w trzustce, ścianach jelit, soku żołądkowym). Hydroliza triacylogliceroli przebiega stopniowo – najpierw odłączany jest kwas w pozycji α , następnie kolejno z drugiej (β) i jako ostatni z pozycji γ . Szybkość hydrolizy rośnie wraz z liczbą przyłączonych reszt kwasów tłuszczowych oraz długości ich łańcucha i stopniem nienasycenia. Glicerol powstający w wyniku hydrolizy tłuszczu może ulec – w zależności od aktualnych potrzeb organizmu – przemianom typu anabolicznego, bądź też katabolicznego. W obu przypadkach pierwszą reakcją jest przekształcenie go do fosfodwuhydroksyacetonu przy udziale enzymów kinazy

glicerolowej (przy udziale ATP glicerol katalizowany jest do L-glicerolo-3-fosforanu), oraz dehydrogenazy L-glicerolo-3-fosforanowej z udziałem NAD^+ , która katalizuje odwodorowanie glicerolu do 3-fosfodwuhydroksyacetonu. Związek ten może ulec częściowemu przekształceniu w gliceraldehydo-3-fosforan i w końcowym efekcie zostać przekształcony do substratu do reakcji aldolazy (fruktozo-1-6-dwufosforan). Inną alternatywą dla 3-fosfodwuhydroksyacetonu jest zespół reakcji glikolizy - oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu i spalanie aktywnego octanu w cyklu kwasu cytrynowego w łańcuchu oddechowym (spalenie do CO_2 i H_2O w szeregu reakcji zwanej β -utlenieniem lub też β -oksydacją kwasów tłuszczowych).

Kwasy tłuszczowe po reakcji hydrolizy są chemicznie stabilne i do dalszych przemian konieczna jest ich aktywacja przy udziale ATP i koenzymu A. Reakcję katalizuje syntetaza acylo-CoA. Proces ten zachodzi poza mitochondriami, a przeniesienie reszty acylowej przez błonę mitochondrialną odbywa się z udziałem karnityny, która przekazuje tę resztę na wewnątrzmitochondrialną cząsteczkę CoA-SH. Kwasy tłuszczowe po asocjacji z koenzymem A przyjmują postać reaktywną zdolną do dalszych przemian, skutkiem czego następuje odłączenie i skrócenie łańcucha o dwuwęglową jednostkę w formie acetylo-S-CoA. Kolejna reakcja to odwodornienie acylo-S-CoA do 2,3-dehydroacylo-S-CoA katalizowane przez enzym dehydrogenazy acylo-CoA. Następna reakcja polega na przyłączeniu cząsteczki wody do podwójnego wiązania, w wyniku czego powstaje β -hydroksyacylo-S-CoA. Trzecia reakcja polega na przeniesieniu pary elektronów i protonów z aktywnego β -hydroksyacylo-S-CoA na NAD^+ , a w wyniku reakcji powstaje β -keto-acetylokoenzym A. Związek ten w kolejnej przemianie enzymatycznej ulega rozpadowi, w wyniku czego powstaje cząsteczka acetylo-S-CoA, która wchodzi do ogólnej puli metabolicznej, oraz cząsteczka aktywnego kwasu tłuszczowego skróconego o dwa atomy węgla. Skrócony acylo-S-CoA wchodzi w następny obrót cyklu i kolejno ulega dalszemu skróceniu o dwa atomy węgla aż do momentu wytworzenia acetoacetylo-S-CoA. Związek ten ulega rozpadowi do dwóch cząsteczek acetylokoenzymu A. Proces utlenienia kwasów tłuszczowych dostarcza organizmowi znacznych ilości acetylokoenzymu A, który może być wykorzystany w innych przemianach biochemicznych lub w drugiej niespecyficznnej fazie utleniania w cyklu kwasów trójkarboksylowych i łańcuchu oddechowym.



Metabolizm kwasów tłuszczowych zachodzący podczas beta utleniania kwasów tłuszczowych.
 1 - syntetaza acylo-CoA, 2 - dehydrogenaza acylo-CoA, 3 - hydrataza enoilo-CoA
 4 - dehydrogenaza beta-hydroksyacylo-CoA, 5 - acylotransferaza acylo-CoA

Opracowano na podstawie: J. Kępczowski. Podstawy Biochemii. Wyd. Naukowo-Techniczn Warszawa 1979.

Rycina 2. Metabolizm kwasów tłuszczowych.

Alkiloglicerole stanowią główną zawartość, oczyszczonrgo z nadmiaru witamin A i D, oleju z wątroby rekina. Są obecne w szpiku kostnym, śledzionie, osoczu i mleku człowieka. Wśród alkilogliceroli pochodzących z wątroby rekina można wyróżnić alkohol batylowy, chimylowy, selachylowy oraz ich metoksy pochodne, które stanowią 3% całkowitej ilości alkilogliceroli (6).

Etery 1-O-alkilogliceroli podawane wraz z pożywieniem są dobrze tolerowane przez zwierzęta i ludzi, nawet w relatywnie dużych ilościach (7). U ssaków część 1-O-alkilogliceroli dostarczanych wraz z pożywieniem jest wchłaniana bez enzymatycznego rozszczepienia w przewodzie pokarmowym. Badania wskazują, iż są one w takiej postaci wbudowywane w fosfolipidy błon komórkowych większości tkanek. 1-O-alkiloglicerole są na drodze enzymatycznej wbudowywane do 1-O-alkylo-2-acylo-*sn*-glycero-3-fosfoetanolaminy oraz 1-O-alkylo-2-acylo-*sn*-glycero-3-fosfocholiny (8). 1-O-alkylo-2-

acylo-*sn*-glycero-3-fosfocholina stanowi rezerwową pulę, która w przebiegu stanów zapalnych jest uruchamiana i w enzymatycznej przemianie (acetylacji) syntetyzowany jest czynnik aktywujący płytki (*ang. platelet activating factor* - PAF, 1-*O*-alkylo-2-acetylo-*sn*-glycero-3-fosfocholina), oraz kwas arachidonowy (*ang. arachidonic acid* - AA) (8). Nazwą czynnika aktywującego płytki określa się szereg czynników o podobnej budowie, ale różnej aktywności biologicznej. Strukturalnie związki te różnią się jedynie obecnością lub brakiem grupy -COH i/lub brakiem „wysycenia” (wiązanie podwójne) w pozycji *sn-1* glicerolu. Związek o budowie podobnej do PAF posiadający grupę 1-acylową wykazuje niską aktywność biologiczną i jest syntetyzowany równocześnie z aktywnym analogiem PAF, a ich proporcje różnią się w poszczególnych rodzajach komórek (9). W trakcie suplementacji 1-*O*-alkiloglicerolami w komórkach THP-1 w większym stopniu wzrasta produkcja biologicznie aktywnych pochodnych PAF, niż pochodnych o niskiej aktywności biologicznej (9). **Uważa się, że zwiększona produkcja PAF przez komórki immunokompetentne w przebiegu zapalenia jest głównym mechanizmem immunoregulującym alkilogliceroli, a płynna regulacja wytwarzania aktywnych i nieaktywnych form PAF jest dostosowywana do aktualnych potrzeb organizmu (10).**

Ponadto wykazano, że alkiloglicerole są użyteczne w terapii przeciwnowotworowej. Z jednej strony związki te działają bezpośrednio cytotoksycznie na komórki nowotworowe *in vivo* (11-14), z drugiej zaś hamują proliferację komórek poprzez zablokowanie aktywności kinazy proteinowej C (PKC) (15-17). Podobnie, jak w przypadku PAF, acylowa pochodna diacyloglicerolu (DAG) - przekaźnika wewnątrzkomórkowego odpowiedzialnego za aktywację PKC, ma słabe biologiczne działanie: nie wywołuje aktywacji PKC i wręcz hamuje pobudzające działanie aktywnego DAG czy PMA (17).

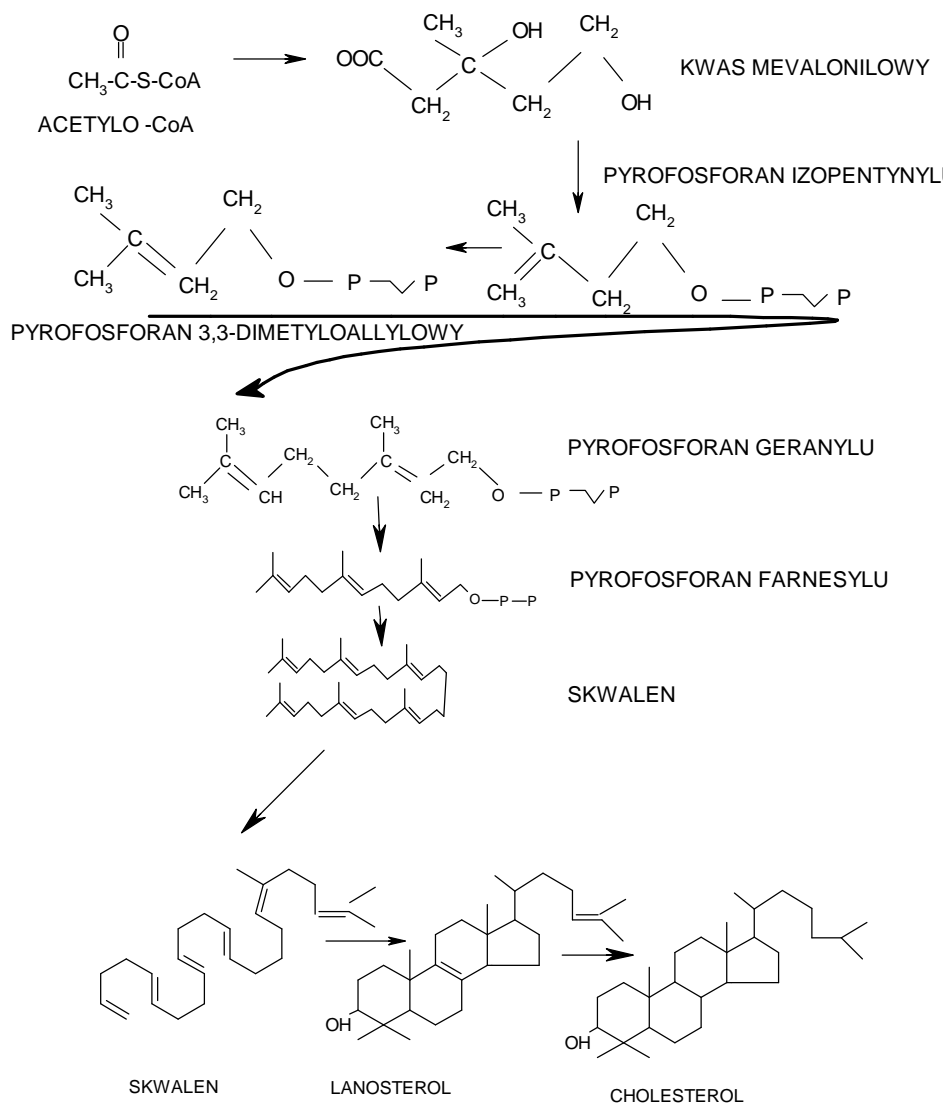
Metoksy- pochodne alkilogliceroli wykazują działanie hamujące wzrost komórek linii nowotworowych *in vivo* (18). Są one ok. 40 razy bardziej cytotoksyczne w stosunku do komórek nowotworowych w porównaniu do komórek prawidłowych, takich jak neutrofile czy fibroblasty (20). Zahamowanie wzrostu nowotworów było również zaobserwowane w badaniach na myszach i dotyczyło takich nowotworów, jak melanoma B16, sarkoma MCG101, guz płuc Lewis (LLT), limfoma LAA i rak sutka (19). U myszy, którym podawano alkiloglicerole, zaobserwowano dłuższy czas przeżycia oraz zahamowanie powstawania przerzutów (19). Zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych jest prawdopodobnie wynikiem wbudowywania się metoksy pochodnych alkilogliceroli w błony komórkowe, co doprowadza do upośledzonego transportu transbłonowego substancji niezbędnych do wzrostu komórek (20).

Ponadto metoksy-pochodne alkilogliceroli charakteryzują się działaniem przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym *in vivo* w stosunku do takich gatunków bakterii i grzybów, jak *Corynebacterium Hofmanii*, *Diplococcus pneumonie*, *Staphylococcus pyogenes A i H*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* (18, 21).

Związki skwalenu to wysoce nienasycone węglowodory o masie molekularnej 410,7 oraz 422,8 (Rycina 1). Związki skwalenu w organizmie ssaków są naturalnym rezerwuarem cholesterolu, witaminy D oraz hormonów steroidowych (22).

Skwaleń syntetyzowany jest *de novo* w organizmie człowieka z acetylo-CoA w przebiegu procesu prowadzącego do syntezy cholesterolu (Rycina 3).

Rycina 3. Schemat syntezy cholesterolu, w przebiegu której produktem przejściowym jest skwalen.



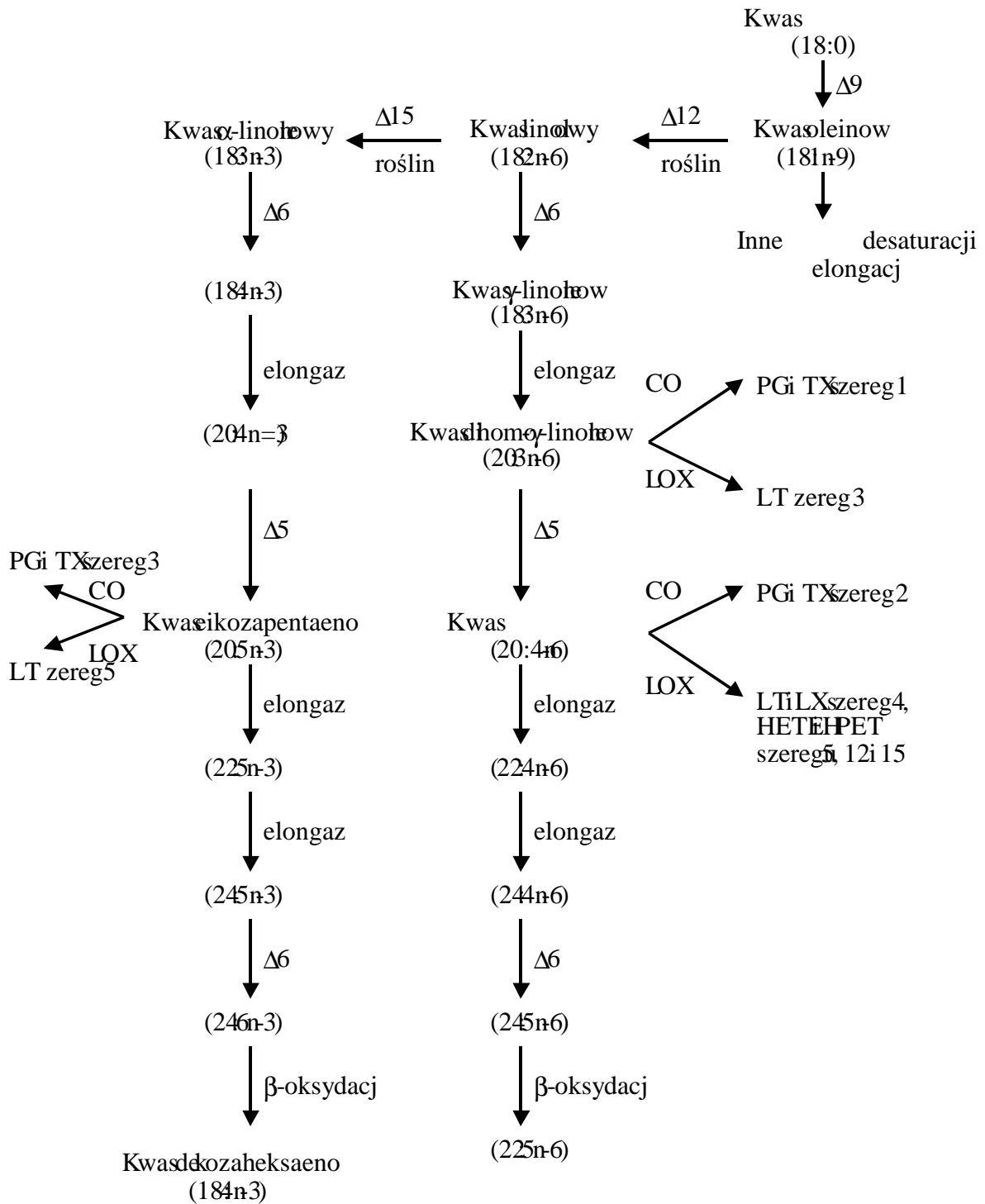
Skwalen podawany doustnie jest wchłaniany w około 60%. Zaobserwowano, że podczas przyjmowania skwalenu przez ludzi w dawce 900mg/dobę przez 7-30 dni, jego stężenie w surowicy wzrasta 17 razy, ale poziom trójglicerydów pozostaje bez zmian, z nieznacznym obniżeniem cholesterolu (23).

2.3.2. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT)

Nazewnictwo kwasów tłuszczowych oparte jest na liczbie atomów węgla w łańcuchu, liczbie wiązań podwójnych oraz pozycji pierwszego podwójnego wiązania licząc od końca metylowego łańcucha. Np. łańcuch kwasu linolowego (18:2 n-6) zbudowany jest z 18

atomów węgla, zawiera dwa podwójne wiązania, a pierwsze podwójne wiązanie znajduje się przy szóstym atomie węgla licząc od końca metylowego łańcucha (24). Kwasy tłuszczowe wielo i jednonasycone, podobnie jak cholesterol, mogą być syntetyzowane w organizmie człowieka z prekursorów nietłuszczowych takich jak glukoza i aminokwasy. Z uwagi na brak układów enzymatycznych zdolnych do wprowadzenia wiązań podwójnych w pozycji n-6 oraz n-3 łańcucha węglowego (Δ^{12} -desaturazy oraz Δ^{15} -desaturazy), NNKT n-6 i n-3 nie mogą być syntetyzowane *de novo* w organizmie człowieka, a mogą jedynie ulegać przebudowie poprzez wprowadzenie dodatkowych wiązań podwójnych (25). Ze względu na to, iż NNKT szeregu n-3 oraz n-6 stanowią niezbędny składnik błon komórkowych i biorą udział w wielu przemianach biochemicznych stanowiąc substrat do syntezy substancji aktywnych (eikozanoidów), muszą być one dostarczane człowiekowi wraz z pożywieniem. Przemiany NNKT zachodzą w reticulum endoplazmatycznym komórek, gdzie w procesie desaturacji i elongacji przekształcane są w kwasy długołańcuchowe: kwas linolowy (18:2, n-6) przekształcany jest w kwas gamma-linolenowy (GLA, 18:3n-6), dihomo-gamma-linolenowy (DHGLA, 20:3n-6) i kwas arachidonowy (AA, 20:4, n-6); kwas alfa-linolenowy może być przekształcony w kwas eikozapentaenowy (EPA, 20:5n-3), a następnie w kwas dokozaheksaenowy (DHA, 22:6n-3). Szczegółowy schemat przemian NNKT wraz z enzymami biorącymi w nich udział ilustruje rycina 4 (26).

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe EPA i DHA są w przeważającej części syntetyzowane w roślinach morskich, a w szczególności w fitoplanktonie, który spożywany przez ryby jest ostatecznie w dużych ilościach magazynowany w wątrobie i mięśniach. Olej otrzymany z ryb morskich bogaty jest w kwasy eikozapentaenowy oraz dokozaheksaenowy (26, 27).



Rycina 4. Szczegółowy metabolizm kwasów wielonienasyconych. Δ^5 , Δ^6 , Δ^9 , Δ^{12} oraz Δ^{15} - enzymy procesu desaturacji; COX – cyklooksygenazy, LOX – lipooksygenaza, PG – prostaglandyny, LT - leukotrieny; TX – tromboksyny; LX – lipoksyny; HETE – kwas hydroksyeikozatetraenowy; HPETE – kwas hydroperoksyekozatetraenowy. Opracowano na podstawie: The effect of dietary fatty acids on the immune response and susceptibility to infection. Colder P. *Nutrition, Immunity and Infection in infants and children*, edited by Robert M. Suskund. Philadelphia 2001, VOL.45, 137. (27).

3. Rola olejów rybich w modulowaniu mechanizmów odpornościowych organizmu

3.1. Alkiloglicerole

Pobudzenie komórek immunokompetentnych podczas procesu zapalenia powoduje uruchomienie mechanizmów mających na celu dalszą, bardziej swoistą i precyzyjną odpowiedź układu immunologicznego w destrukcji patogenów (28). Przekazywanie sygnału ściśle wiąże się z szybką przebudową składników błony komórkowej komórek układu immunologicznego, m.in. dochodzi do wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu jonów Ca^{+2} oraz aktywacji swoistych enzymów syntezy eikozanoidów (fosfolipaz). Fosfolipaza A_2 (PLA₂) działa na lipidy błony komórkowej i uwalnia z nich kwas arachidonowy - związek biorący udział w biosyntezie eikozanoidów. Jego dalszy metabolizm może przebiegać dwoma różnymi szlakami: zapoczątkowany przez cyklooksyzgenazy (COX1, COX2) w wyniku czego powstają prostaglandyny (PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$), tromboksan (TXA_2) i prostacykliny (PGI_2); drugi pod wpływem lipooksyzgenazy (LO), w wyniku czego powstają leukotrieny (LTB_4 , LTC_4 , LTD_4) i lipoksyny (LXA_4 , LXB_4). Pod wpływem fosfolipazy A_2 z fosfolipidów błony komórkowej powstaje także czynnik aktywujący płytki (PAF). Biosynteza poszczególnych mediatorów procesu zapalenia jest swoista dla poszczególnych typów komórek układu immunologicznego, a regulowana jest poprzez obecność konstytutywną i aktywność metaboliczną swoistych enzymów katalizujących powstawanie aktywnych metabolitów. Neutrofile: tromboksan (TXA_2), LTB_4 , LX, PAF; fibroblasty i chondrocyty PGE_2 , PGI_2 ; komórki tuczne i bazofile: PGD_2 , LTC_4 , PAF; płytki krwi: TXA_2 , LXA_4 , PAF; komórki nabłonkowe: PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$; makrofagi: PGE_2 , PGI_2 , TXA_2 , LTB_4 , PAF (28, 29).

3.1.1. Czynnik aktywujący płytki (PAF) - rola w procesie zapalenia, mechanizm działania alkilogliceroli

PAF jest wytwarzany przez neutrofile, bazofile, monocyty, makrofagi, komórki tuczne i płytki krwi. Może również być syntetyzowany przez komórki śródbłonna i nabłonka. Synteza PAF może przebiegać przy udziale transferazy fosfocholiny z fosfocholiny, bądź też z 1-0-alkilo-2-acetyloglicerolu. Rola czynnika aktywującego płytki jest ściśle związana z ostrymi, jak i przewlekłymi procesami zapalnymi. PAF bierze udział w procesach zapalnych, wykazując dużą aktywność w stosunkowo niskich stężeniach (10^{-11} – 10^{-12} M). Wywołuje pobudzenie i agregację płytek krwi, zwiększa przepuszczalność naczyń poprzez bezpośrednie działanie na mięśniówkę naczyń (skurcz mięśni gładkich), jak i pośrednio poprzez działanie i

aktywację innych komórek immunokompetentnych (stymulując je do uwalniania leukotrienów, tromboksanu, reaktywnych form tlenu). Jest silnym czynnikiem chemotaktycznym i primingującym¹ neutrofile. PAF może działać ogólnoustrojowo, wywołując m.in. skurcz oskrzeli, obniżenie ciśnienia krwi (29, 30). Badania przeprowadzone przez Hichami i wsp. wykazały, iż znakowane trytem związku 1-0-Alkilogliceroli (³H]alkyl-Gro) inkubowane 24h z komórkami linii białczkowej THP-1 powodują inkorporację [³H]alkyl-Gro do 1-O-alkylo-2 acylo-sn-glycero-3-fosfocholiny oraz do 1-O-alkylo-2-acylo-sn-glycero-3-fosfoetanolaminy (10). Zainicjowana reakcja ma bezpośrednie przełożenie na uwalnianie spoczynkowe, jak i po stymulacji jonoforem A23187 różnych form czynnika aktywującego płytki (C16:1, C16:0, C18:1, C18:0). Autorzy sugerują, iż dieta bogata w 1-0-alkiloglicerole (szczególnie oleje rybne) może być użyteczna we wszelkich przewlekłych procesach zapalnych, gdzie dochodzi do wyczerpania naturalnych zasobów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (produkcja eikozanoidów), jak i 1-0-alkilogliceroli potrzebnych do syntezy PAF'u. Autorzy również postulują wykorzystanie 1-0-alkilogliceroli w terapii i zapobieganiu dalszym konsekwencjom genetycznego niedoboru syntezy 1-0-alkilogliceroli (zespół Zellwegera). Choroba to charakteryzuje się genetycznym brakiem syntetazy estrowo-lipidowej, a w związku z tym brakiem możliwości syntezy PAF (31, 32, 33).

Alkiloglicerole poprzez PAF mają właściwości pośredniego aktywowania makrofagów, zwiększając ich aktywność fagocytarną (34).

Podsumowując, alkiloglicerole mają zastosowanie w leczeniu tych jednostek chorobowych, gdzie koniecznym jest wzmocnienie odpowiedzi układu immunologicznego (m.in. przewlekłe infekcje bakteryjne, grzybicze, choroba nowotworowa).

3.1.2. Alkiloglicerole – działanie osłonowe w radioterapii

1-0-Alkiloglicerole wchodzi w skład naturalnych lipidów narządów hematopoetycznych (u dorosłego człowieka jest to szpik kostny, a w okresie życia płodowego kolejno: pęcherzyk żółciowy (od szóstego tygodnia ciąży), następnie wątroba, i przejściowo śledziona), a także w mleku. Biorą udział w procesie hematopoezy wszystkich linii komórkowych (układu białokrwinkowego – mieloblastycznego, limfoblastycznego, megakariocytarnego, jak i układu czerwonekrwinkowego). Badania Brohult'a zainicjowane na początku lat 60. wykazały, iż związki alkilogliceroli charakteryzują się wyjątkowo korzystnym wpływem osłonowym i zmniejszają skutki uboczne podczas prowadzonej radioterapii (35). Badania prowadzone u kobiet z rakiem szyjki macicy leczonych radioterapią wykazały, iż podawanie związków

alkilogliceroli zmniejsza trombocytopenię oraz limfocytopenię – skutki uboczne prowadzonej radioterapii. Autorzy przypuszczają, iż może to być wynikiem nasycenia szpiku substratem potrzebnym do prawidłowej hematopoezy (36, 37). Obserwacje Brohult'a zostały potwierdzone dwadzieścia lat później przez zespół naukowy pod kierownictwem Profesora Hichami. Badacze ci sugerują, iż obserwowane działanie AG wynika z ich wpływu na produkcję i uwalnianie PAF (10). Regulowana przez AG produkcja PAF może pośrednio wpływać na rozprzestrzenianie się procesu zapalnego z jednej strony poprzez agregacje płytek krwi w ogniskach zapalenia, z drugiej poprzez rozszerzenie naczyń krwionośnych, ułatwiające przechodzenie komórek immunologicznych w ognisko zapalne.

3.2. Skwalen

Skwalen w środowisku naturalnym w największych ilościach znajduje się w wątrobach rekinów, a w niewielkich – innych gatunków ryb morskich i roślinach. Związki skwalenu stanowią główny składnik tłuszczów wydzielanych przez gruczoły łojowe skóry. Jest prekursorem cholesterolu i witaminy D. Uważa się, iż skwalen zawarty w wydzielinie gruczołów łojowych skóry stanowi naturalny komponent nieswoistej bariery ochronnej organizmu przed patogenami (38). Ponadto sądzi się, iż utlenione związki skwalenu na powierzchni skóry pełnią rolę ochroną przeciw promieniom UV (39). Wykazano również, że utleniony skwalen na skórze chroni przed reakcjami nadwrażliwości kontaktowej (w badania na myszach) (40).

Działanie immunomodulujące skwalenu najprawdopodobniej wynika z jego silnych właściwości adherentnych w stosunku do elementów błon komórkowych, oraz osłonek lipidowych patogenów (41). Główny efekt biologiczny oparty jest o jego bezpośrednie działanie poprzez opsonizację patogenów i tym samym ułatwienie ich prezentacji komórkom immunokompetentnym. Stwierdzono, iż skwalen posiada właściwości adiuwantu – substancji nośnej pozwalającej rozpoznać epitopy patogenu przez komórki immunokompetentne (2).

Syntetyczne pochodne skwalenu dostarczone do organizmu powodują zahamowanie biosyntezy cholesterolu, co najprawdopodobniej jest wynikiem inhibicji enzymów mikrosomalnej monooksygenazy skwalenu i mikrosomalnej cyklazy 2,3-oksydoskwalenu w komórkach hepatoblastomy (42).

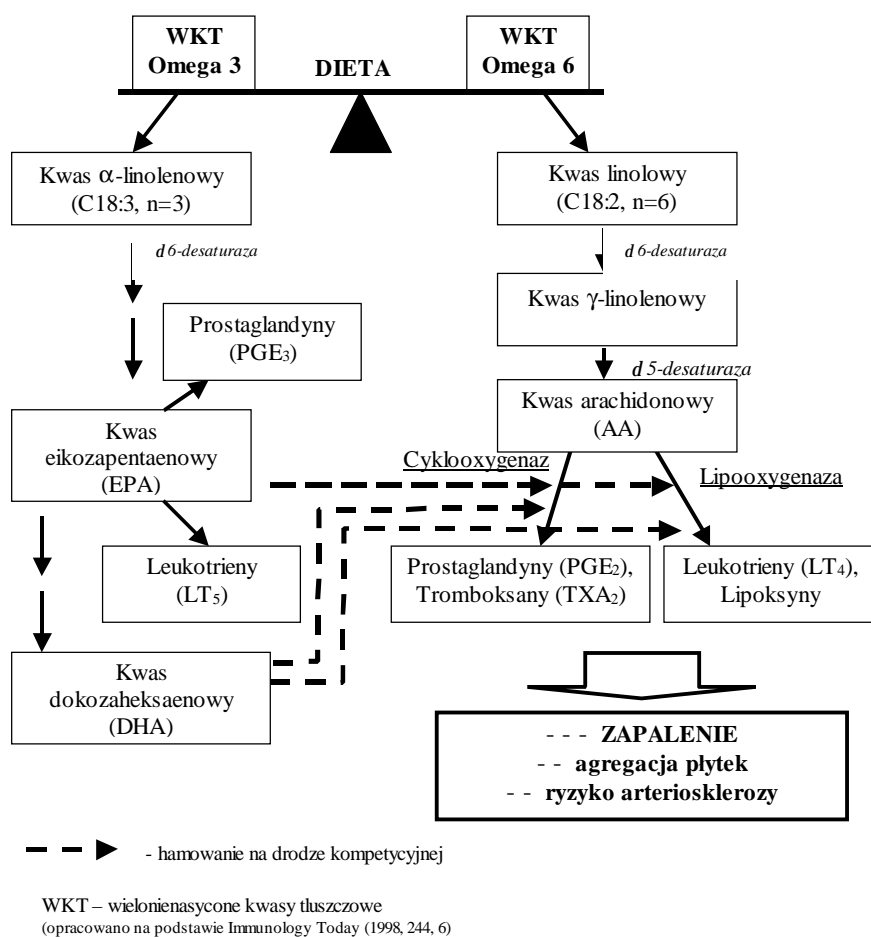
W badaniach na zwierzętach wykazano, iż skwalen podawany wraz z pożywieniem w dawkach 25-100 mg/kg m.c. dziennie powoduje zwiększoną aktywność komórek NK, limfocytów o fenotypie CD3+ oraz zwiększoną aktywność fagocytarną neutrofilii krwi obwodowej (41). Właściwości te mają istotny wpływ na odporność przeciwnowotworową.

3.3. Rola diety bogatej w NNKT szeregu n-3 w modulowaniu mechanizmów odporności organizmu

3.3.1. Eikonazoidy: łącznik pomiędzy NNKT szeregu n-3, n-6 a układem immunologicznym

Działanie NNKT w ustroju człowieka związane jest głównie z działaniem biologicznym eikozanoidów (43-49). Kwas arachidonowy (AA) jest substratem do syntezy eikozanoidów – prostoglandyn (PG), tromboksanów (TX), leukotrienów (LT) oraz kwasów hydroksyeikozatetraenowych. Także niektóre inne NNKT C₂₀ mogą być prekursorami eikozanoidów (np. DHLA, EPA), ale ze względu na dominację kwasu arachidonowego w fosfolipidach błony komórkowej komórek immunokompetentnych, staje się on głównym substratem do syntezy eikozanoidów. AA jest mobilizowany z błony komórkowej głównie przez fosfolipazę A₂ w następstwie zadziałania czynników stymulujących komórkę. Wolny AA staje się substratem do tworzenia eikozanoidów. Cyklooksygenaza prowadzi do powstania PG₂ i TX₂, a 5-lipoksygenaza do powstania hydroksy i hydroperoksy pochodnych, a także LT₄ (Rycina 4 i 5) (43-49).

Eikozanoidy są zaangażowane w modulację intensywności i czasu trwania zapalenia. Prostaglandyna PGE₂ jest zdolna do wywołania wielu efektów prozapalnych: gorączka, wzrost przepuszczalności i rozszerzenie naczyń krwionośnych w miejscu procesu zapalenia, nasilenie bólu, a wraz z kininami i histaminą również nasilenie obrzęku. PGE₂ nasila wytwarzanie immunoglobuliny klasy IgE przez limfocyty B, która jest mediatorem zapaleń o podłożu alergicznym. PGE₂ hamuje proliferację limfocytów i aktywność komórek NK, a także produkcję i uwalnianie IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α oraz INF- γ , a więc posiada także właściwości ograniczające proces zapalny. LTB₄ bezpośrednio powoduje wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych, miejscowy wzrost przepływu krwi, a także silnie działa chemotaktycznie w stosunku do leukocytów krwi obwodowej, powodując jednocześnie wzrost uwalniania przez nie enzymów lizosomalnych, reaktywnych form tlenu (RFT), a także indukuje wytwarzanie przez nie cytokin prozapalnych: TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, INF- γ (30).



Rycina 5. Metabolizm NNKT n-3 i n-6 zachodzący w organizmie człowieka. Na rycinie przedstawiono wpływ równowagi dietetycznej pomiędzy NNKT n-3 i n-6 w procesach związanych z rozwojem arteriosklerozy i regulacji procesu zapalenia.

W wielu jednostkach chorobowych zarówno podczas ostrych, jak i przewlekłych procesów zapalnych, dochodzi do wzrostu wytwarzania i uwalniania PGE_2 , jak i LTB_4 . Do syntezy obu eikozanoidów niezbędnym substratem jest kwas arachidonowy (46).

Typowa dieta w krajach zachodnich zawiera w dużej mierze NNKT n-6 (kwas arachidonowy 20:4 n-6) oraz małe ilości NNKT n-3, a zwłaszcza EPA (46). Badania przeprowadzone na zwierzętach i ludziach dowiodły, iż dieta bogata w oleje z ryb prowadzi do zwiększenia zawartości EPA i DHA we frakcji fosfolipidów błon komórkowych komórek układu immunologicznego, kosztem kwasu arachidonowego (44, 46). Dodatkowo NNKT n-3 hamują uwalnianie kwasu arachidonowego z fosfolipidów błony komórkowej poprzez zablokowanie aktywności fosfolipaz (48). EPA i DHA konkurują z AA o miejsca aktywne w enzymach cyklooksygenaz (COX) i lipooksygenaz (5-LOX), stając się pierwszoplanowymi

substratami do syntezy eikozanoidów (48, 49). Podsumowując, dieta bogata w PUFA n-3 (DHA i EPA) (olej rybi) powoduje spadek poziomu syntezy eikozanoidów z kwasu arachidonowego w komórkach immunokompetentnych (49) (schemat 2).

Oprócz hamowania metabolizmu kwasu arachidonowego EPA jest substratem dla cyklooksygenazy i 5-lipooksygenazy do produkcji prostaglandyn szeregu 3 i leukotrienów szeregu 5 (50, 51). Związki te mają słabsze działanie prozapalne, niż ich analogi syntetyzowane z kwasu arachidonowego (działanie chemotaktyczne LTB₅ na neutrofile jest dziesięciokrotnie słabsze niż LTB₄) (51). Właściwości przeciwzapalne tych związków są potęgowane przez naturalną możliwość konkutowania o te same miejsca receptorowe na komórkach docelowych, co produkty kwasu arachidonowego, a więc eikozanoidy prozapalne (52, 53).

Badania kliniczne wykazały, że podawanie doustne 5-4 g lub 14-4 g EPA + DHA powoduje spadek o 40 do 70% syntezy LTB₄, 6-trans LTB₄, i 20-hydroks LTB₄ przez neutrofile i monocyty stymulowane m.in. ionoformem Ca²⁺, opsonizowanym zymosanem oraz czynnikiem aktywującym płytki (PAF) (50, 51). *Lee i wsp.* oraz *Spering i wsp.* stwierdzili, iż wysokie spożycie rybiego oleju powoduje znaczący wzrost poziomu LTB₅, 6-trans LTB₅ oraz kwasu 5-hydroksyeicozopentanowego przez stymulowane neutrofile i monocyty (50, 51).

3.3.1.1 Wpływ NNKT szeregu n-3 na produkcję i uwalnianie cytokin prozapalnych

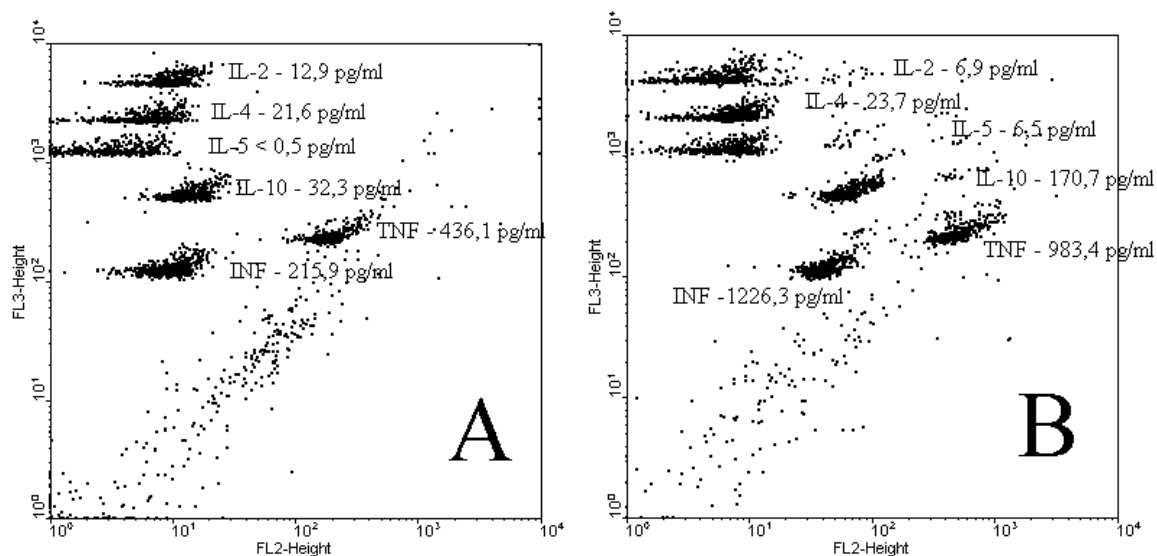
Odkrycie potwierdzające, iż produkcja cytokin prozapalnych regulowana jest m.in. przez układ eikozanoidów, pozwoliło wysnuć hipotezę, iż dieta bogata w NNKT szeregu n-3 powinna mieć także wpływ na syntezę i uwalnianie cytokin (54, 55). Pierwsze badania przeprowadzone przez Endres'a w 1989 wykazały obniżenie produkcji IL-1 i TNF- α przez monocyty stymulowane bakteryjnym lipopolisacharydem (LPS) u osób przyjmujących 4,7g EPA i DHA przez okres 7 tygodni (56). O wiele późniejsze badania pozwoliły na potwierdzenie tych obserwacji *in vitro* (m.in. 46, 57, 58, 59).

W badaniach prowadzonych *in vitro* zademonstrowano, iż monocyty inkubowane z EPA i DHA produkują mniejsze ilości IL-1 β i TNF- α w porównaniu z komórkami hodowanymi w samym podłożu (56, 60, 61, 62, 63). Badania prowadzone na linii komórek śródbłonna wykazały znaczący spadek uwalniania przez nie IL-6 oraz IL-8 pod wpływem EPA i DHA (64). Badania na zwierzętach doświadczalnych, którym podano w infuzji

dożylniej olej rybi, ujawniły m.in. spadek produkcji TNF- α i IL-6 przez izolowane monocyty (65). Badania nad wpływem suplementarnej diety z zawartością DHA i EPA wykonane na zdrowych ochotnikach oraz chorych z sepsą wykazały, iż podaż od 2-4 g/dzień EPA+DHA powoduje spadek produkcji TNF- α , IL-6 oraz IL-8 przez neutrofile i monocyty krwi obwodowej stymulowane LPS (66, 67).

Zaobserwowano również spadek produkcji IL-2, IL-6 oraz GM-CSF przez limfocyty stymulowane u osób przyjmujących 2,4 g EPA+DHA dziennie (68, 69). *Gallai i wsp.* stwierdzili obniżenie produkcji IL-2 i IFN- γ przez limfocyty stymulowane PHA i Con A (62). Kwasy EPA i DHA w proporcji 4:1, (720 mg/ml EPA i 280 mg/ml DHA) dodane do hodowli limfocytów ludzkich powodowały obniżenie proliferacji limfocytów pod wpływem mitogenu ConA i zahamowanie produkcji IL-2. DHA dodany samodzielnie nie wykazał takich właściwości (70). Podsumowując, NNKT n-3 powodują obniżenie produkcji cytokin prozapalnych.

Wstępne badania własne przeprowadzone u chorych cierpiących na afty nawrotowe jamy ustnej, potwierdzają powyższe obserwacje (Zakład Immunologii Klinicznej ICZMP w Łodzi). Wykazaliśmy, iż stosowanie diety suplementarnej w postaci oleju z wątroby rekina w dawce 2,2 g dziennie przez okres trzech miesięcy prowadzi do istotnego zmniejszenia produkcji i uwalniania INF- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 oraz TNF- α przez limfocyty w układach badawczych bez stymulacji i po stymulacji PHA (dane niepublikowane). Badania oceny produkcji cytokin przeprowadzono w 21 godzinnych supernatantach pohodowlanych limfocytów T i B, techniką cytometrii przepływową (CBA). Przykład analizy poziomów badanych cytokin u osoby chorej na afty nawrotowe jamy ustnej podczas fazy aktywnej choroby i po trzymiesięcznej kuracji przedstawiono na rycinie 1.



Rycina 1. Przykład analizy oceny produkcji cytokin (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, TNF- α , INF- γ) przez limfocyty krwi obwodowej (21h, 37°C, 5% CO₂, stymulowane PHA) u pacjenta po trzymiesięcznej kuracji NNKT n-3 (A) i przed leczeniem (B).

3.3.1.2. Rola NNKT szeregu n-3 w modulowaniu ekspresji molekuł adhezyjnych

Wykazano, że dodanie DHA do hodowli ludzkich komórek endotelialnych przyczynia się do niższej ekspresji cząsteczek adhezyjnych: selektyny E, ICAM-1 i VCAM-1 na tych komórkach po stymulacji cytokinami prozapalnymi oraz powoduje obniżenie zdolności monocytów do łączenia się z tymi komórkami (58, 71). *Kim i wsp.* stwierdzili, że również EPA posiada właściwości hamowania ekspresji molekuł adhezyjnych na komórkach endotelialnych stymulowanych LPS (72). Późniejsze prace potwierdziły powyższe spostrzeżenia *in vivo* (73, 74).

U zwierząt karmionych olejem rybim zaobserwowano obniżoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych na neutrofilach i makrofagach (75-78).

Dieta suplementacyjna stosowana u zdrowych ochotników, zawierająca 1-5g/dzień EPA + DHA, doprowadziła do spadku poziomu ICAM-1 na monocytach stymulowanych INF- γ (79), a także obniżenia poziomu w surowicy rozpuszczalnego VCAM-1 (80).

Obniżenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych ogranicza przyleganie komórek odczynu zapalnego do ścian naczyń, co przyczynia się pośrednio do zmniejszenia odczynu zapalnego.

3.3.1.3. Rola NNKT n-3 w modyfikacji funkcji komórek fagocytujących

W badaniach, w których użyto wysokich dawek EPA i DHA (od 3,4 do 14,4 g/dobę) zaobserwowano obniżenie chemotaksji neutrofilów i monocytów. (50, 81-83). Produkcja reaktywnych form tlenu przez neutrofile krwi obwodowej pod wpływem stymulacji m.in.: fMLP, OZ, PMA, E Coli była obniżona u osób przyjmujących NNKT n-3 (84, 85).

Wykazano również obniżenie właściwości fagocytarnych neutrofilów i monocytów krwi obwodowej w stosunku do *E. Coli* po 7 tygodniach terapii EPA i DHA w dawce 3,8g/dobę (86). Badania przeprowadzone w Zakładzie Immunologii Klinicznej ICZMP w Łodzi potwierdziły powyższe obserwacje i dodatkowo uzupełniły wiedzę dotyczącą wpływu EPA i DHA na zjawisko wczesnej aktywacji neutrofilów (preaktywacji). Komórka preaktywowana charakteryzuje się zwiększoną odpowiedzią funkcjonalną na następny sygnał (najczęściej działający już w wyższym stężeniu) w miejscu procesu zapalnego. Preaktywowany neutrofil wykazuje m.in. zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu, większy stopień degranulacji ziarnistości wewnątrzkomórkowych i zwiększoną aktywność fagocytarną w porównaniu do komórek niepreaktywowanych.

W naszych badaniach wykazaliśmy spadek produkcji reaktywnych form tlenu przez ludzkie neutrofile bez stymulacji i po stymulacji komórek fMLP, opsonizowanym zymosanem i PMA. Jednocześnie zdecydowanie poprawiła się wrażliwość neutrofilów na preaktywację TNF- α (1).

3.3.1.4. Wpływ NNKT n-3 na ekspresję genów zaangażowanych w proces zapalenia

Niektórzy badacze sugerują, iż działanie przeciwzapalne związków NNKT n-3 związane jest również z jego wpływem na ekspresję genów zaangażowanych w proces zapalenia. Badania prowadzone na hodowlach chondrocytów bydłych z kwasem α -linolenowym lub DHA ujawniły obniżenie ekspresji genów dla COX-2, TNF- α , IL-1 α po stymulacji cytokinami prozapalnymi (87). W tych samych badaniach wykazano, iż NNKT n-3 wpływają również na spadek ekspresji genów aggrekinazy-1 i aggrekinazy-2 oraz aktywności enzymatycznej białek syntetyzowanych z tychże genów. Aggrekinaza-1 i 2 to enzymy odpowiedzialne za degradację proteoglikanów chrząstki, a ich aktywność wzrasta po zadziałaniu cytokin prozapalnych TNF- α i IL-1. W badaniach prowadzonych na zwierzęcym modelu autoimmunizacyjnego zapalenia nerek stwierdzono, iż podawany dożylnie olej rybi powoduje całkowite zahamowanie ekspresji mRNA dla TNF- α , IL-1 β oraz IL-6 w komórkach nerkowych (88). Zwierzęta karmione dietą z dużą zawartością olejów rybnych wykazywały się mniejszą ekspresją mRNA dla IL-1 β w limfocytach stymulowanych

LPS czy PHA (89). Podobnych obserwacji dokonano na izolowanych monocytach stymulowanych LPS. *Wallace i wsp.* stwierdzili, iż myszy karmione oleje rybim wykazują niski poziom mRNA dla INF- γ w limfocytach stymulowanych mitogenem (90).

Ostatnie badania dowiodły także, iż NNKT n-3 mogą obniżać aktywność jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. *Xi* (2001) zaobserwował, że limfocyty stymulowane LPS u myszy karmionych rybim olejem wykazywały obniżoną aktywność NF- κ B (91). *Chen i Zhao* (2001) odnotowali obniżenie aktywacji NF- κ B w ludzkich monocytach inkubowanych z EPA i stymulowanych LPS (57). Dodatkowym potwierdzeniem tych obserwacji była obniżona fosforylacja NF- κ B. W wyniku fosforylacji białek zmienia się ich struktura przestrzenna, co pociąga za sobą zmianę zdolności wiązania substratu i/lub zmiany aktywności enzymatycznej, jeżeli fosforylowane białko jest enzymem. Fosforylacja białek powoduje uczynienie nieaktywnego enzymu lub też może odsłaniać centrum aktywne sygnału lokalizacji jądrowej, umożliwiając przemieszczanie się białka z cytoplazmy do jądra komórkowego, jak to ma miejsce w przypadku jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. (Czynnik transkrypcyjny NF- κ B jest dimerem składającym się z białek p65-p50, związanych z aktywnym inhibitorem I κ B. Swoisty inhibitor uniemożliwia przemieszczanie się czynnika NF- κ B do wnętrza jądra (mechanizm polega na maskowaniu sygnału lokalizacji jądrowej). Podczas aktywacji komórki dochodzi do fosforylacji inhibitora i jego inaktywacji, co z kolei pociąga za sobą „uwolnienie”, tym razem już aktywnego, czynnika NF- κ B i jego wędrówki do jądra komórkowego. Ten system przekazywania sygnału występuje między innymi podczas pobudzenia komórki przez IL-1 i TNF- α .) Prawdopodobny mechanizm działania DHA i EPA upatruje się w protekcyjnej roli NNKT n-3 w stosunku do inhibitora jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B – I κ B, polegającej na ochronie przed fosforylacją, a tym samym jego aktywacją (57).

3.3.1.5. Znaczenie NNKT szeregu n-3 w ograniczaniu następstw stresu oksydacyjnego

W organizmach aerobowych reaktywne formy tlenu (RFT) powstają w wyniku działania fizjologicznych procesów wewnątrzkomórkowych, oraz w niewielkim stopniu na skutek działania zewnętrznych czynników fizycznych, takich jak promieniowanie jonizujące i ultrafioletowe. Najistotniejsze znaczenie mają wewnątrzkomórkowe źródła RFT, powstające zarówno w procesach oksydoredukcyjnych łańcucha oddechowego, jak i w wyniku reakcji obronnych komórek układu immunologicznego na czynniki zewnętrzne (bakterie, grzyby, niektóre wirusy). W przypadku, gdy zawiodą mechanizmy obrony antyoksydacyjnej może dojść do niszczenia własnych komórek przez RFT.

W warunkach „stresu tlenowego” wolne rodniki tlenowe mogą uszkadzać struktury komórkowe poprzez modyfikacje oksydacyjne systemów metabolicznych oraz podstawowych składników organizmu: białek, lipidów, cukrów i kwasów nukleinowych (92). Obecność w przestrzeniach zewnątrz jak i wewnątrzkomórkowej NNKT, stanowi naturalną obronę antyoksydacyjną. NNKT n-3 z jednej strony stanowią źródło (substrat) do odnowy potencjalnie uszkodzonych już elementów błonowych, z drugiej strony są tarczą dla RFT obecnych w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, co w konsekwencji nie dopuszcza do peroksydacji lipidów błonowych (1). Związki będące elementami błony komórkowej, dzięki możliwości wbudowania do jej wnętrza, poprawiają jej płynność i szczelność, co stanowi dodatkowy element chroniący komórkę przed wolnymi rodnikami. Znaczenie NNKT n-3 jako antyoksydantów podnosi fakt, iż są one wbudowywane w podwójną błonę lipidową mitochondriów, a więc są w bezpośredniej bliskości źródła powstawania RFT (łańcucha oddechowego) (93). Inny możliwy mechanizm ochronny przed RFT to wzrost produkcji enzymów antyoksydacyjnych w komórkach pod wpływem olejów z ryb (88).

Oceniając wpływ oleju otrzymanego z wątroby rekina u pacjentów cierpiących na aftę nawrotowe jamy ustnej odnotowano wzrost pojemności antyoksydacyjnej osocza (rycina 4) (1). Jest to prawdopodobnie uwarunkowane właściwościami przeciwutleniającymi związków zawartych w oleju z wątroby rekina, gdyż nie zaobserwowano, aby ten preparat równolegle (w próbach powiązanych) wpłynął na zmniejszenie wytwarzania RFT przez neutrofile niestymulowane. Poprawa właściwości antyoksydacyjnych osocza ma istotne znaczenie w profilaktyce chorób ze zwiększonym wytwarzaniem RFT (np. procesów arterogenezy) (29).

NNKT a w szczególności kwas EPA, hamuje ekspresję genów dla TNF- α i innych cytokin prozapalnych zależnych od aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Jądrowy czynnik transkrypcyjny może być aktywowany poprzez reaktywne formy tlenu, które podczas stresu oksydacyjnego inaktywują inhibitor NF- κ B (iNF- κ B) osłaniający centrum aktywne enzymu i tym samym uruchamiają mechanizm transkrypcji genów dla cytokin prozapalnych. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3, uruchamiając aktywność enzymów antyoksydacyjnych, zapobiegają rozprzestrzenianiu się reaktywnych form tlenu i tym samym ograniczają aktywację komórek zdolnych do syntezy cytokin prozapalnych. Ma to szczególnie duże znaczenie w przewlekłych stanach zapalnych, gdzie dochodzi do niszczenia komórek śródbłonka naczyń krwionośnych i rozwoju procesów miażdżycy.

4. Badania epidemiologiczne

Obserwacje epidemiologiczne przeprowadzone w latach 1970-71 wykazały korzystne działanie tłuszczu z ryb morskich (94, 95). Stwierdzono, iż ludzie z obszarów nadmorskich (Eskimosi, Japończycy), w pożywieniu których występują duże ilości produktów pochodzenia morskiego, rzadziej zapadają m.in. na: miażdżycę, chorobę niedokrwienną serca, zakrzepy naczyniowe, choroby nowotworowe, cukrzycę i choroby alergiczne, czyli choroby charakterystyczne dla populacji krajów wysoko uprzemysłowionych (95-98). W populacjach tych zaobserwowano wydłużony czas krwawienia, niską zawartość cholesterolu całkowitego

i całkowity poziom lipidów oraz brak objawów i wskaźników charakterystycznych dla miażdżycy. Powyższe obserwacje epidemiolodzy kojarzyli z dietą opartą o duże ilości produktów pochodzenia morskiego. Późniejsze badania epidemiologiczne również potwierdziły te spostrzeżenia i dodatkowo uzupełniły je o obserwacje potwierdzające m.in. działanie hipotensyjne, wykazano istotnie mniejszą częstotliwość występowania i zapadalności na raka sutka, jelita grubego, okrężnicy, astmy i łuszczycy (99, 100). Pierwsze badania epidemiologiczne pozwoliły na wysnucie hipotezy, iż związki skwalenu oraz NNKT szeregu n-3 wykazują wielostronne korzystne działanie na ustrój człowieka i powinno się je spożywać dla utrzymania prawidłowych procesów biochemiczno-fizjologicznych oraz leczenia określonych schorzeń (100). Późniejsze badania na poziomie mechanizmów fizjologicznych, biochemicznych oraz biologii molekularnej pozwoliły na potwierdzenie badań epidemiologicznych.

4.1. Rola diety bogatej w oleje rybne w profilaktyce chorób cywilizacyjnych

4.1.1. Profilaktyka chorób układu krążenia

Badania kliniczne nad dietą bogatą w wielonienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3 jak i skwalenu wykazały ich korzystny wpływ na układ krążenia: obniżają one ciśnienie krwi, regulują gospodarkę lipidową, hamują syntezę TXA_2 , fibrynogenu, PAF i pobudzają syntezę PGE_3 , a więc są pomocne w leczeniu miażdżycy i wszelkich jej powikłań (zatorów, zakrzepów, zawałów) (99). W badaniach epidemiologicznych stwierdzono, iż Eskimosi z Grenlandii, spożywający znaczne ilości ryb i ssaków morskich, których tłuszcz zawiera dużą ilość skwalenu i NNKT n-3 (EPA i DHA), wykazują wydłużone czasy krzepnięcia i krwawienia w porównaniu do populacji z innych regionów świata (96, 97). Stwierdzono spadek agregacji, adhezji do komórek śródbłonna, kolagenu oraz fibrynogenu, a także spadek bezwzględnej liczby płytek krwi. Poza tym zaobserwowano obniżenie poziomu fibrynogenu i wzrost poziomu antytrombiny III – czynnika hamującego krzepnięcie. *Ziemliński i wsp.* w badaniach na szczurach wykazali, że wielonienasycone kwasy EPA i DHA posiadają silne właściwości hipotensyjne w porównaniu do grupy kontrolnej czy też grupy zwierząt karmionych preparatami zawierającymi NNKT n-6 (oleje roślinne) (99). Wszystkie te właściwości kwasów EPA i DHA sprzyjają obniżeniu krzepliwości krwi, zmniejszeniu jej lepkości i pośrednio zmniejszeniu ryzyka zawałów i udarów mózgu. Badania epidemiologiczne *Berry'a i wsp.* wykazały między innymi zmniejszenie częstotliwości zgonów z powodu choroby wieńcowej o 29% wśród pacjentów, którzy w ciągu 2 lat spożywali co najmniej 2 razy w tygodniu porcję, w skład której wchodziły ryby (100).

Odnotowano również skuteczne działanie oleju z ryb w leczeniu łuszczycy, chorób przemiany materii (cukrzyca, otyłość) (45, 46). Działanie olejów rybnych w prewencji procesów arterogenezy upatruje się głównie w działaniu NNKT n-3. Wpływ NNKT n-3 na parametry wskaźnikowe związane z patofizjologią procesów arteriosklerozy oraz zapalenia zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wpływ NNKT n-3 na czynniki związane z patofizjologią procesów arteriosklerozy oraz zapalenia (dokładny mechanizm przemian regulujących poziom poszczególnych czynników opisano w rozdziale poświęconym mechanizmowi wpływu NNKT na proces zapalenia). Opracowano na podstawie: “Calder PC: Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1998, 31, 467.” oraz „Fizjologiczna rola kwasów tłuszczowych n-6 i n-3 w ustroju człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki cywilizacyjnych

chorób metabolicznych (Ziemiański Ś red.). Zbiór prac III sympozjum Sulejów 1998” we własnej modyfikacji.

<i>Czynnik</i>	<i>Rola fizjologiczna</i>	<i>Efekt działania NNKT omega-3</i>
Tromboksany (TXA ₂) Prostacykliny (PGI ₂) Leukotrieny (LTB ₄) Kwas arachidonowy (AA)	Agregacja płytek do komórek śródbłonka Obniżenie agregacji płytek krwi do komórek śródbłonka Czynnik chemotaktyczny neutrofilii Związek wchodzący w skład błon komórkowych, prekursor przemian prowadzących do syntezy eikonozoidów	Spadek syntezy Spadek syntezy Spadek syntezy Spadek syntezy
Fibrynogen Tkankowy czynnik aktywujący układ krzepnięcia (tPA) Czynnik aktywujący płytki krwi (PAF) Płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) Cytokiny (IL-1, TNF-α) TGF-β Czynnik relaksacyjny naczyń (EDRF)	Wykrzepianie krwi Działanie przeciwzakrzepowe poprzez nasilenie procesów fibrylizacji Aktywacja płytek krwi a także leukocytów Czynnik aktywujący leukocyty, płytki krwi, proliferację mięśni gładkich naczyń krwionośnych (miocytów) Cytokiny prozapalne	Spadek syntezy wzrost syntezy Spadek syntezy Spadek syntezy Spadek syntezy wzrost syntezy Wzrost syntezy
Reaktywne formy tlenu (RFT)	Modyfikacja oksydacyjna frakcji LDL powoduje zwiększenie wychwytu przez makrofagi w naczyniach (LDL), i w konsekwencji tworzenie komórek piankowatych. Czynnik chemotaktyczny, aktywujący i indukujący pozostałe komórki układu białokrwinkowego do syntezy cytokin prozapalnych. Destrakcja tkanek w miejscu objętym procesem zapalnym	w zależności od metody badawczej, od zastosowanych stymulatorów do wzbudzenia PMNL, oraz jednostki chorobowej
Cholesterol Trójglicerydy (TG) w surowicy	Wzrost poziomu w surowicy świadczy o całkowitym zwiększonym poziomie lipidów w surowicy – markery prognostyczne w procesach arteriosklerozy	Spadek syntezy
Cięnienie krwi	Czynnik prognostyczny procesów arterogenezy – wzrost, przyspieszenie zmian miażdżycowych	Obniżenie
Lepkość krwi (viscosity)	Czynnik prognostyczny procesów arterogenezy - wzrost przyspieszenie zmian miażdżycowych	Obniżenie
Frakcje lipoprotein osocza VLDL	Transport TG i CL do komórek tłuszczowych, mięśniowych, komórek mięśnia sercowego	Spadek syntezy
HDL Lp(a)	Hamowanie fibrylizacji, wzrost wychwytu cholesterolu LDL przez komórki śródbłonka, Czynnik nasilający zmiany miażdżycowe	Wzrost poziomu Spadek syntezy

4.1.2. Profilaktyka chorób nowotworowych

Badania epidemiologiczne oraz doświadczenia na zwierzętach i liniach komórkowych wykazały, iż spożycie olejów rybich bogatych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3 zmniejszają zapadalność na nowotwory złośliwe sutka, gruczołu krokowego i jelita grubego. Prawdopodobny mechanizm badacze upatrują w przeciwzapalnym charakterze NNKT n-3, a w szczególności redukcji konsekwencji stresu oksydacyjnego (ochrona przed reaktywnymi formami tlenu przez sprawniej działający system antyutleniający), redukcji powstawania prostaglandyn PGE₂, oraz cytokin prozapalnych TNF- α , IL-1 (przyspieszających wzrost nowotworów) (13, 101, 102-105). Obserwacje epidemiologiczne mają potwierdzenie w badaniach przeprowadzonych na liniach komórkowych (106, 107).

5. Zastosowanie tłuszczów rybich w terapii

Oleje rybne, a w szczególności oleje uzyskane podczas procesów tłoczenia wątroby ryb morskich, zawierają w swoim składzie zarówno związki o charakterze przeciwzapalnym (NNKT n-3), jak i te wspomagające układ immunologiczny w zwalczaniu patogenów o charakterze prozapalnym (alkiloglicerole) i bezpośrednio hamującym wzrost bakterii (skwalen). Dualizm w działaniu związków zawartych w tych olejach wynika bezpośrednio z hamujących syntezę prostaglandyn prozapalnych przez DHA i EPA z jednej strony i pośrednim działaniu poprzez wspomaganie syntezy (bezpośredni substrat) czynnika aktywującego płytki (PAF) – cytokiny prozapalnej. Dzięki temu, iż są to związki, które posiadają dualizm w działaniu na układ immunologiczny, pozwala to na uruchomienie własnych mechanizmów regulujących układ immunologiczny w zależności od aktualnych potrzeb organizmu. W naszych badaniach podczas stosowania preparatu BioMarine570[®] odnotowaliśmy z jednej strony przeciwzapalny charakter preparatu (leczenie wspomagające w przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów i aft nawrotowych jamy ustnej), jak i nasilające czynność neutrofili krwi obwodowej w zwalczaniu przewlekłych infekcji bakteryjnych górnych dróg oddechowych. Jak wcześniej wspomnieliśmy, wynika to z faktu, iż związki zawarte w tego typu olejach są jedynie substratami do tworzenia substancji biologicznie aktywnych, których powstawanie regulowane jest przez szereg procesów enzymatycznych (1), co pozwala na swobodny wybór drogi wspomaganie układu immunologicznego - zależny od aktualnych potrzeb organizmu. W związku z tym, iż są to substancje naturalne, praktycznie niewiele jest przeciwwskazań w ich stosowaniu.

Przewlekłe procesy zapalne mogą wynikać zarówno z nadmiernej odpowiedzi układu immunologicznego na antygen, jak i z braku odpowiedniej kontroli ze strony organizmu reakcji immunologicznych zachodzących na różnych, często pozornie ze sobą nie powiązanych procesów. Odpowiednia, wspomagająca „konwencjonalne” leczenie, kuracja olejem rybim jest pomocna w wielu jednostkach chorobowych o charakterze przewlekłych procesów zapalnych, często o dość zróżnicowanej patogenezie. Poniżej wypisano jednostki chorobowe w przebiegu leczenia których odnotowano korzystny wpływ olejów rybich, jak i związków wchodzących w ich skład.

1. działanie osłonowe w radioterapii nowotworów (12, 35, 36, 37, 108) *
2. działanie wspomagające w terapii nowotworów (11-14, 101, 102, 104-107, 109-112) *
3. choroba Crohn’a i zapalenie jelita grubego (113-115) *
4. reumatoidalne zapalenie stawów (116-120) *
5. łuszczyca (121-123)
6. astma oskrzelowa (124-131) *
7. alergia (131, 132)
8. profilaktyka chorób układu krążenia (95-100)
9. żywienie pozajelitowe ciężko chorych osób (133-140).

* - Wszystkie przytoczone publikacje znajdują się na liście czasopism z Impact Factor ujętym w Journal of Citation Reports.

Badania preparatu BioMarine570[®] przeprowadzone przez Zakład Immunologii Klinicznej I-CZMP w Łodzi.

1. Nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych (5)
2. Reumatoidalne zapalenie stawów (3)
3. Afty nawrotowe jamy ustnej (4)

5.1. Możliwości zastosowania terapeutycznego poszczególnych składowych zawartych w preparacie BioMarine570[®]

5.1.1. Alkiloglicerole

Alkiloglicerolom przypisuje się wiele korzystnych właściwości, takich jak: działanie bakteriostatyczne, pobudzenie hemopoezy, ochrona przed skutkami ubocznymi radioterapii, zahamowanie wzrostu nowotworów, przyspieszenie gojenia ran (6, 8). Nie wszystkie te właściwości zostały potwierdzone przez niezależne ośrodki badawcze.

Działanie osłonowe w przebiegu radioterapii

Brohult wykazał skuteczność terapii z użyciem alkilogliceroli (0,3-2,6 g dziennie) w przeciwdziałaniu powstawania leukopenii i trombocytopenii w trakcie radioterapii chorych na raka szyjki macicy (12, 35, 36, 37). Badania te zostały potwierdzone przez Nystrom'a w 1973 na grupie pacjentek z rakiem szyjki macicy poddawanych radioterapii, które przyjmowały 0,6 g alkilogliceroli dziennie (108). Ponadto zaobserwowano skuteczność alkilogliceroli w zapobieganiu powstawania uszkodzeń popromiennych w grupie pacjentek z rakiem szyjki macicy, które przyjmowały alkiloglicerole w dawce 0,6 g na dobę 8 dni przed i w trakcie radioterapii (108). Pozytywne wyniki leczenia były odnotowane niezależnie od dawek naświetleń oraz od stopnia zaawansowania nowotworu.

Działanie przeciwnowotworowe alkilogliceroli

Badania prowadzone przez Brohulta w latach 1963-1972 wykazały, iż u chorych z rakiem szyjki macicy przyjmujących alkiloglicerole dochodzi do poprawy stanu klinicznego, ocenianego stopniem zaawansowania nowotworu (35-37). Ponadto stwierdzono, że taka terapia skutkuje mniejszym odsetkiem zgonów spowodowanych nowotworem po 5 latach od terapii i tendencja ta jest obserwowana niezależnie od wyjściowego stopnia zaawansowania nowotworu.

5.1.2. Skwalen

Ikekawa i wsp. Wykazali, że skwalen posiada właściwości hamujące wzrost mięsaka 180 i jednocześnie nie wpływa cytotoksycznie na komórki prawidłowe w badaniach zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* (109). Późniejsze badania ujawniły, iż związki skwalenu nasilają właściwości przeciwnowotworowe innych związków chemicznych (chemoterapeutyków) (110, 111). Prawdopodobny mechanizm autorzy upatrują w ułatwieniu transportu tych związków przez błony komórkowe komórek nowotworowych (111, 112).

5.1.3. Zastosowanie związków NNKT n-3 w terapii

Przeprowadzono wiele badań oceniających wpływ NNKT n-3 na funkcje układu immunologicznego, począwszy od badań na ludzkich i zwierzęcych liniach komórkowych, zwierzętach doświadczalnych, po badania kliniczne na materiale pozyskanym od zdrowych i chorych osób. Ze względu na dużą ilość publikacji na dany temat, dokonaliśmy przeglądu najistotniejszych prac dotyczących wpływu NNKT n-3 na układ immunologiczny u osób przyjmujących preparaty zawierające DHA i EPA.

Wysokie dawki NNKT n-3 w diecie utrzymywanej przez kilka tygodni powodują spadek produkcji eikozanoidów, cytokin prozapalnych charakterystycznych dla limfocytów Th1, obniżenie chemotaksji leukocytów i osłabienie ich odpowiedzi oraz wzrost potencjału antyoksydacyjnego. Wszystkie te właściwości stanowią o przeciwwzapalnych cechach kwasów NNKT n-3 i stwarzają możliwość wykorzystania preparatów w przewlekłych chorobach zapalnych, chorobach alergicznych, układowych chorobach autoimmunologicznych.

5.1.3.1 Rola NNKT n-3 w terapii chorób przebiegających z przewagą odpowiedzi Th-1

Wiele przewlekłych chorób zapalnych charakteryzuje się zaburzeniem równowagi limfocytów Th1/Th2 z dominacją profilu cytokin typu Th1 (IL-2, INF- γ , TNF- α) i zwiększoną produkcją eikozanoidów prozapalnych, w szczególności PGE₂, LTB₄ (141-144).

Zaobserwowano korzystny wpływ NNKT n-3 w wielu jednostkach chorobowych przebiegających z przewagą cytokin Th1, m.in.: chorobie Crohna, reumatoidalnym zapaleniu stawów, zapaleniu jelita grubego, łuszczycy (113-123). Zestawienie badań klinicznych dotyczących tych jednostek chorobowych, ilości przyjmowanego EPA + DHA, czas prowadzenia kuracji oraz krótki opis efektów klinicznych przedstawiono w tabeli 2.

5.1.3.2. Rola NNKT n-3 w terapii chorób przebiegających z przewagą odpowiedzi Th-2

Astma oskrzelowa jest przewlekłą chorobą zapalną dróg oddechowych cechującą się odwracalną obturacją oskrzeli, przerostem mięśni gładkich, nadwrażliwością na różnorodne bodźce wziewne i nadprodukcją śluzu, który pozostaje w ognisku zapalenia. W patogenezie astmy oskrzelowej istotną rolę odgrywają limfocyty CD4+, mastocyty, eozynofile oraz wytwarzane przez nie mediatory (145).

W przebiegu astmy atopowej zależnej od IgE dochodzi do zaburzenia równowagi limfocytów Th1/Th2 polegającego na przewadze limfocytów Th2. Naturalną konsekwencją przewagi limfocytów Th2 jest nadmierna produkcja cytokin IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF (146).

Mediatorami zapalenia alergicznego są leukotrieny C₄, D₄, E₄, D₂. Leukotrieny D₄ i E₄ działają przez połączenie z receptorem o wysokim powinowactwie R-Cys-LT₁ i przez połączenie z receptorem o niskim powinowactwie R-Cys-LT₂. Pobudzenie receptorów o wysokim powinowactwie powoduje skurcz oskrzeli, przesiek, skurcz naczyń, zwiększenie wydzielania śluzu, napływ neutrofilów i eozynofili, proliferację mięśniówki gładkiej.

Pobudzenie receptorów o niskim powinowactwie powoduje wzrost przepuszczalności naczyń (146). Prostaglandyna PGE₂ hamuje produkcję cytokin zależnych od limfocytów Th1 (IL-2, INF- γ) bez specjalnego wpływu na produkcję cytokin zależnych od limfocytów Th2 i stymuluje limfocyty B do produkcji przeciwciał klasy IgE (44). Obserwacje te skłoniły do przypuszczenia, iż dieta bogata w NNKT n-3 powinna mieć korzystny wpływ wspomagający leczenie i w prewencji chorób o podłożu alergicznym poprzez redukcję powstawania eikozanoidów (44). *Calder i Miles* w przeprowadzonych badaniach epidemiologicznych wykazali, iż dieta bogata w NNKT n-3 zapobiega chorobom alergicznym, a w populacjach ludzi, u których jest duże spożycie ryb, rzadziej występują te jednostki chorobowe (131). Liczne badania potwierdziły, iż dieta wzbogacona olejem rybim (DHA + EPA) u chorych na astmę oskrzelową powoduje poprawę kliniczną pacjentów (124-131). Obserwacje te bezpośrednio korelują ze spadkiem syntezy produkcji prostaglandyny PGE₂ i leukotrienów szeregu 4 w badaniach przeprowadzonych *ex vivo* na różnych komórkach układu immunologicznego (124, 125).

Tabela 2. Zestawienie badań klinicznych, ilości przyjmowanego EPA + DHA, czasu prowadzenia kuracji oraz krótki opis efektów klinicznych w jednostkach chorobowych wykazujących przewagę limfocytów Th1.

Choroba	Ilość niezależnie wykonanych badań z podwójnie ślepą próbą + grupa przyjmująca placebo	Dawka EPA + DHA (g/dzień)	Czas leczenia (tygodnie)	Krótki opis kliniczny otrzymanych wyników	Piśmiennictwo
Reumatoidalne zapalenie stawów	12	1-6,4	12-52	Wszystkie badania wykazały poprawę stanu klinicznego pacjentów (zredukowanie porannej sztywności stawów, ogólnej bolesności stawów, obrzęku, zwiększenie motoryki stawów).	Volker and Garg (116, 117); James and Cleland (118); Geusens (119); Calder (120);
Reumatoidalne zapalenie stawów (badania własne)	Bez podwójnie ślepej próby i grupy przyjmującej placebo	6,4 (olej rybi)	12	Badania przeprowadzono na grupie 6 osób. Badania wykazały poprawę stanu klinicznego pacjentów (zredukowanie porannej sztywności stawów, ogólnej bolesności stawów, obrzęków)	Tchórzewski (3)
Choroba Crohna	3	2,7 – 5,1	12-52	Dwa badania wykazały poprawę stanu klinicznego pacjentów (obniżenie częstości nawrotów choroby). Największy efekt leczniczy w postaci ustąpienia nawrotów choroby odnotowano podczas stosowania oleju rybiego w dawce 100 – 250 g/dzień przez okres dwóch lat. #	# - Belluzi and Miglio (113)
Zapalenie jelita grubego	4	1,8-5,4	12-52	W dwóch pracach wykazano poprawę stanu klinicznego i zmniejszenie dolegliwości chorobowych, wzrost wagi pacjentów. Dwa badania histopatologicznie wykazały poprawę błony śluzowej odbytu z możliwością zaprzestania stosowania prednizolonu. Jedno badanie wykazało brak poprawy klinicznej u pacjentów (w badaniach tych użyto niskich dawek EPA +DHA).	Rogers (114) Dichi (115)
Łuszczyca	3	1,8	8 -12	Wykazano zmniejszenie swędzenia, łuszczenia się i rumienia skóry. Jedno badanie nie wykazało poprawy.	Zibof (121), Maser (122), Danno (123)
Afty nawrotowe jamy ustnej (badania własne)	Bez podwójnie ślepej próby i grupy przyjmującej placebo	3-6,4	12	Zaobserwowano zmniejszenie częstości nawrotów i liczby aft.	Gurańska i Lewkowicz (4)
Bakteryjne nawracające infekcje górnych dróg oddechowych	3	1-6,4	12-52	Zmniejszenie częstości nawrotów infekcji górnych dróg oddechowych	Lewkowicz (5),
Osoby zarażone Wirusem HIV	1	1,8-5,4	12	Zwiększenie bezwzględnej liczby limfocytów CD4+	Luis Roman DA (158)

5.1.3.3. Rola NNKT n-3 w terapii pacjentów w stanie krytycznym

Coraz większą uwagę przywiązuje się do zastosowania preparatów zawierających wielonienasycone kwasy szeregu n-3 w żywieniu pozajelitowym (133-140). Badania prowadzone na zwierzętach wykazały korzystny wpływ wlewów dożylnych NNKT n-3 w eliminacji posocznicy wywołanej *E. coli* w porównaniu z terapią prowadzoną NNKT n-6, oraz lepszy stan ogólny zwierząt (137, 138). EPA + DHA powodowały lepszą eliminację bakterii *E. coli* poprzez zwiększenie właściwości fagocytarnych neutrofilów, makrofagów płuc (komórek Kupffera) przy jednoczesnym ograniczeniu intensywności procesu zapalnego w porównaniu z preparatami oleju sojowego (NNKT n-6). Żywienie parenteralne kwasami NNKT n-3 podczas sepsy poprawia rokowanie w badaniach zarówno przedklinicznych, prowadzonych na modelu zwierzęcym, jak i klinicznych na pacjentach. Badania wykonane w Klinice Chirurgii Uniwersytetu Filadelfia wykazały u pacjentów z posocznicą obniżenie zahamowania proliferacji limfocytów oraz redukcję wydzielania IL-2 pod wpływem DHA i EPA podawanych pozajelitowo. Obserwacje te zostały również potwierdzone przez lekarzy z Uniwersytetu w Giessen w badaniach nad wykorzystaniem kwasów DHA i EPA u chorych z posocznicą i zespołem AIDS (137, 138).

W 2001 w JAMA ukazała się analiza 326 artykułów naukowych publikowanych w latach 1990-2000 na temat związku pomiędzy dojelitowym żywieniem kwasami NNKT n-3 u 2419 chorych w krytycznym stanie, a powikłaniami infekcyjnymi i śmiertelnością. Wniosek był następujący: odżywianie pozajelitowe kwasami NNKT n-3 (EPA + DHA) zmniejsza ilość powikłań infekcyjnych u chorych w stanie terminalnym, sepsie, zespole AIDS, choć nie wykazano znaczącego wpływu na zmniejszenie całkowitej śmiertelności. Brak potwierdzenia wpływu NNKT na zmniejszenie śmiertelności autorzy upatrują w zbyt małych liczebnych grupach badanych, a także rodzaju wykonywanych badań i ich jakości metodologicznej (139).

5.1.4. Badania nad zastosowaniem oleju z wątroby rekina (preparatu BioMarine570[®]) w leczeniu wybranych jednostek chorobowych przeprowadzone przez Zakład Immunologii Klinicznej ICZMP

5.1.4.1. Nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych - streszczenie pracy (5)

W pracy oceniono wpływ preparatu BioMarine570[®] zawierającego olej z wątroby rekina o składzie: 120mg skwalenu, 120mg alkoksyglicerolii, 25mg kwasów tłuszczowych n-3 (EPA + DHA), 50 j. m. witaminy A i 5 j. m. witaminy D, na stan kliniczny i wybrane parametry immunologiczne osób z nawracającymi bakteryjnymi infekcjami górnych dróg oddechowych. Zbadano aktywność ludzkich neutrofilek oraz parametry układu dopełniacza, a także skład odsetkowy limfocytów T (CD3, CD4, CD8), limfocytów B (CD19) oraz komórek NK (CD16/CD56). W badaniach zaobserwowano poprawę kliniczną u chorych, a także wpływ przyjmowanego preparatu na wybrane parametry naturalnej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Badania składu odsetkowego subpopulacji limfocytów krwi obwodowej u osób chorych wykazały obniżony odsetek limfocytów B (CD19+) i limfocytów T CD8+ w porównaniu do osób zdrowych. Po leczeniu stwierdzono wzrost odsetka limfocytów T CD8+ i B (CD19+) do wartości obserwowanych u ludzi zdrowych. Odsetek poszczególnych subpopulacji limfocytów T, limfocytów B, komórek NK oraz wartości wskaźnika CD4/CD8 zestawiono w tabeli 3. U pacjentów przed rozpoczęciem leczenia zaobserwowano zmniejszoną produkcję RFT przez neutrofile stymulowane opsonizowanym zymosanem (OZ) oraz PMA (ester forbolu – stymulacja neutrofilek drogą pozareceptorową oksydazy NADPH). Po leczeniu istotnie wzrosła produkcja RFT przez neutrofile stymulowane OZ i PMA - wartości chemiluminescencji nie odbiegały od zakresu wartości prawidłowych. Chemiluminescencja spoczynkowa i stymulowana fMLP wzrosła istotnie w porównaniu do wartości obserwowanych przed rozpoczęciem kuracji. Wzrost produkcji RFT może być wynikiem pośredniego działania alkilogliceroli, które wpływają na wyrównanie poziomu czynnika aktywującego płytki (PAFu). Analizę średnich wartości produkcji reaktywnych form tlenu przez neutrofile spoczynkowe i stymulowane fMLP, OZ i PMA u pacjentów w fazie aktywnej (przed rozpoczęciem leczenia) i w okresie remisji choroby (po dwumiesięcznej kuracji) oraz osób zdrowych zestawiono na rycinie 2.

Poziom składowych C3c i C4, a także aktywność hemolityczna dopełniacza (CH50) były podwyższone w grupie pacjentów w fazie aktywnej choroby w stosunku do wartości

obserwowanych u osób zdrowych. Po leczeniu poziom składowej C4 układu dopełniacza oraz wartość CH50 zmniejszyły się znamienne w stosunku do wartości w fazie aktywnej choroby, jednakże nie powróciły do zakresu wartości prawidłowych (rycina 3). Badania układu składowych dopełniacza, które jednocześnie możemy traktować jako wskaźnik remisji choroby (białka późne ostrej fazy) wykazały przydatność tego typu preparatów w przewlekłych procesach zapalnych.

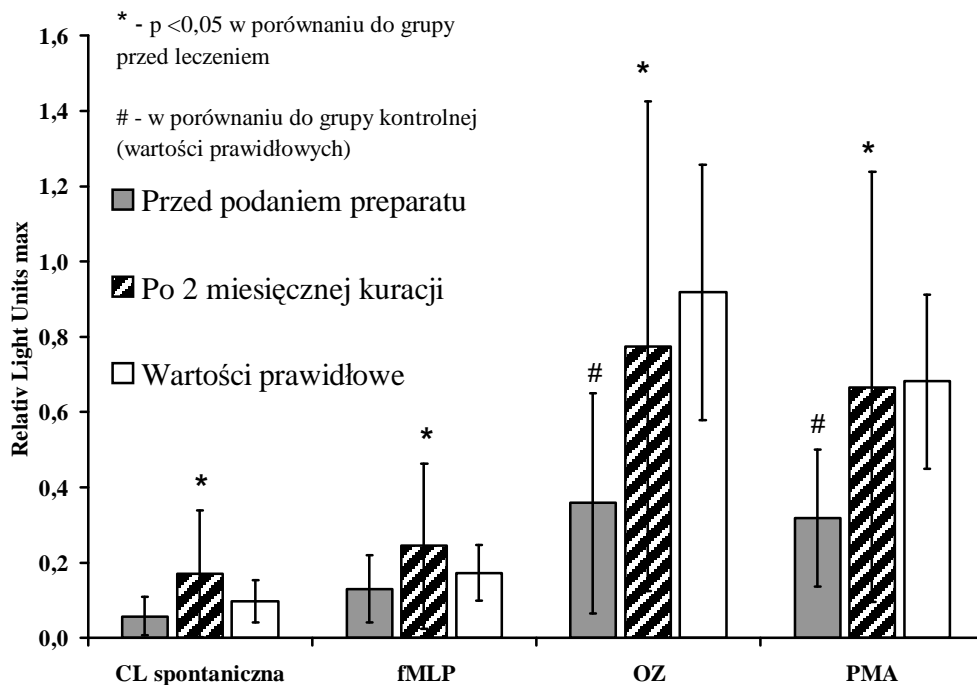
Badania te jednoznacznie sugerują możliwość wykorzystania olejów otrzymywanych z wątroby ryb morskich także w terapii uzupełniającej i wspomagającej leczenie nawracających i ostrych infekcji bakteryjnych.

Tabela 3. Porównanie wartości odsetkowych limfocytów T i ich subpopulacji, limfocytów B, komórek NK w grupie osób przed i po leczeniu oraz wartości referencyjnych. Dane przedstawiono jako wartości średnie \pm SD.

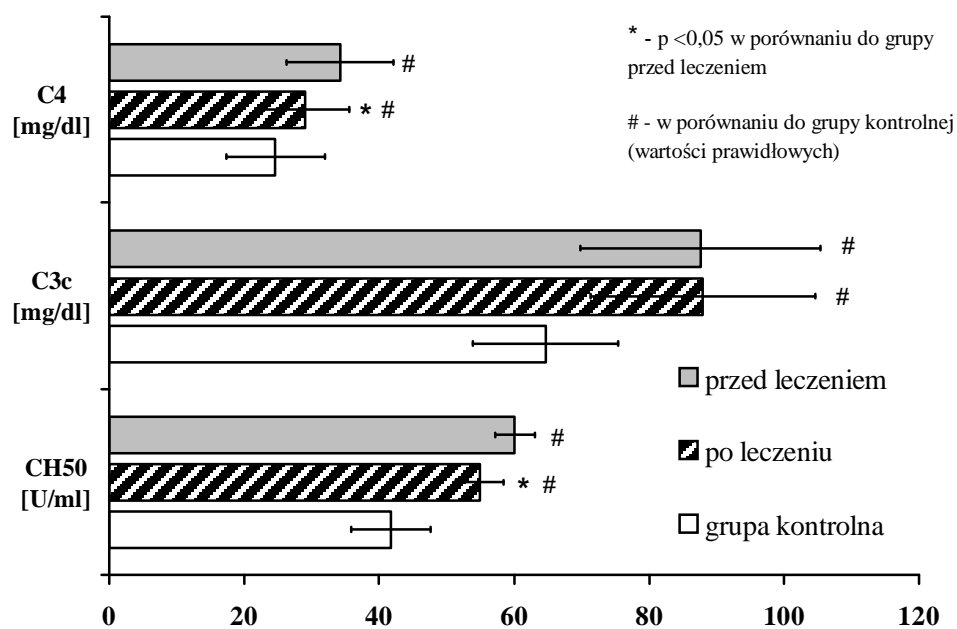
	Przed leczeniem	Po leczeniu	Wartości referencyjne
CD3	70,69 \pm 8,240	69,54 \pm 5,607	69,4 \pm 6,20
CD4	46,00 \pm 9,361	44,69 \pm 7,729 #	45,2 \pm 7,20
CD8	28,75 \pm 8,719 *	31,46 \pm 14,063 #	33,8 \pm 5,50
CD19	10,15 \pm 5,640 *	12,85 \pm 4,793	13,3 \pm 4,10
NK	16,92 \pm 7,112	17,92 \pm 5,484	17,6 \pm 5,90
CD4/CD8	1,62 \pm 0,606 *	1,70 \pm 0,859 *	1,38 \pm 0,340

* - $p \leq 0,05$ porównanie do wartości referencyjnych

- $p \leq 0,05$ porównanie do wartości przed leczeniem



Rycina 2. Ocena produkcji reaktywnych form tlenu przez neutrofile przed i po leczeniu u osób chorych oraz wartości referencyjne. Dane przedstawiono jako wartości średnie \pm SD.



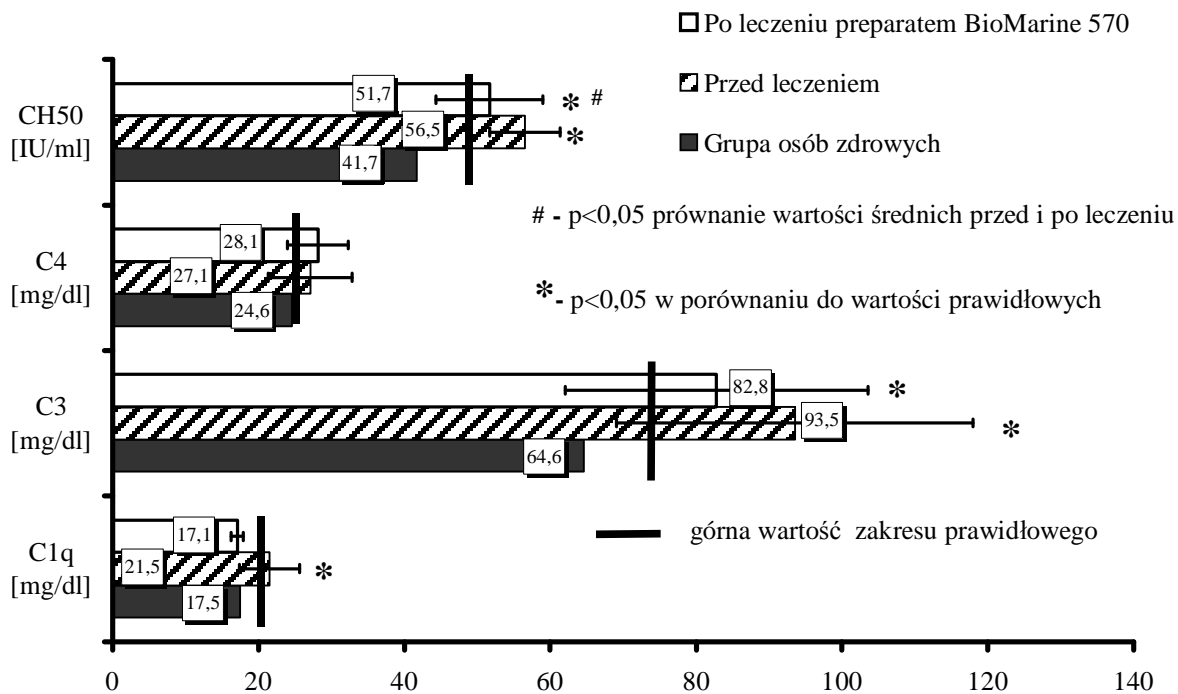
Rycina 3. Poziom składowych układu dopełniacza C3c i C4 oraz wartość aktywności hemolitycznej układu dopełniacza (CH50) u pacjentów przed i po leczeniu oraz grupy kontrolnej. Dane przedstawiono jako wartości średnie \pm SD.

5.1.4.2. Reumatoidalne zapalenie stawów – streszczenie pracy (3)

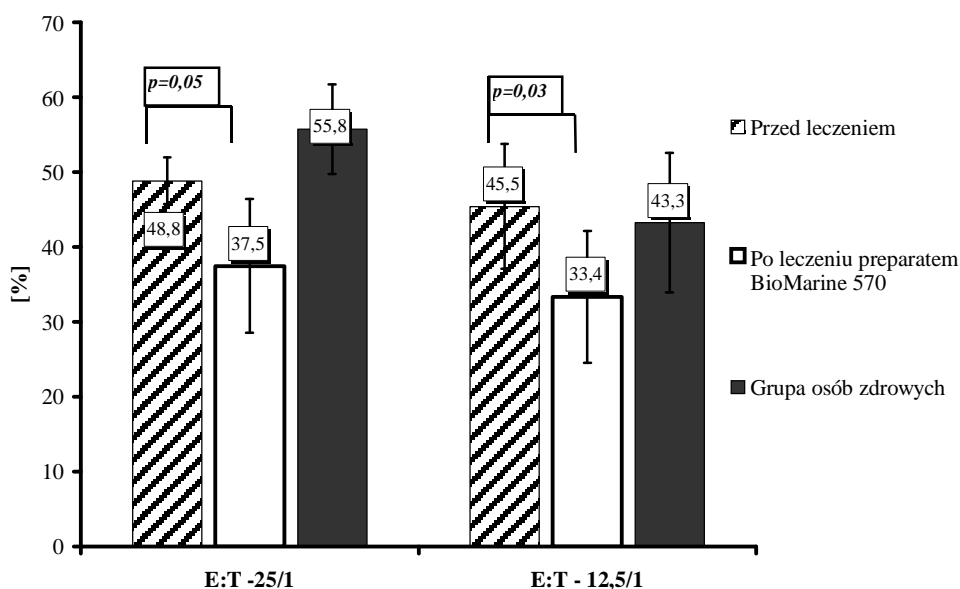
W przewlekłym reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) dochodzi do przewagi odpowiedzi limfocytów Th1, która doprowadza do produkcji cytokin prozapalnych i eikozanoidów. Ze względu na swój przeciwzapalny charakter (hamujący wpływ na produkcję eikozanoidów, cytokin prozapalnych, ekspresję molekuł adhezyjnych) NNKT n-3 znalazły zastosowanie w leczeniu i zapobieganiu skutkom RZS i innych chorób o patogenezie autoimmunizacyjnej. Początkowo badania wykazały przydatność EPA i DHA w zahamowaniu zapalenia stawów na modelu zwierzęcym RZS (116). Stwierdzono, że limfocyty krwi obwodowej chorych na RZS spożywających olej rybi charakteryzują się obniżoną produkcją IL-1 (117). W badaniach nad zastosowaniem oleju z ryb w leczeniu RZS zaobserwowano poprawę kliniczną polegającą na zmniejszeniu objawów porannej sztywności, bolesności i obrzęku stawów (116-120) (tabela 2).

W pracy oceniono wpływ preparatu BioMarine570[®] zawierającego olej z wątroby rekina o składzie: 120mg skwalenu, 120mg alkoksygliceroli, 25mg kwasów tłuszczowych n-3 (EPA + DHA), 50 j. m. witaminy A i 5 j. m. witaminy D, na stan kliniczny i wybrane parametry immunologiczne osób cierpiących na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Badania wykonano u 10 osób z rozpoznaniem w oparciu o kryteria ARA reumatoidalnym zapaleniem stawów. Wszyscy badani cechowali się zaawansowanym procesem chorobowym, nie poddającym się leczeniu preparatami przeciwzapalnymi. Stosowano u nich leczenie immunosupresyjne metatreksatem (10 mg tygodniowo), a także doraźnie leki przeciwzapalne i przeciwbólowe. U wszystkich pacjentów wykonano następujące badania: poziom składowych układu dopełniacza C1q, C3c, C4 oraz jego aktywność hemolityczną (CH50), wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT) przez neutrofile krwi obwodowej, oraz aktywność komórek NK. U chorych na RZS stwierdzono zmniejszenie wytwarzania RFT przez neutrofile w porównaniu do wyników uzyskanych u zdrowych. Wcześniejsza preaktywacja TNF- α nie wpływała istotnie na kierunek zmian w produkcji RFT. Po okresie leczenia stwierdzono normalizację w produkcji RFT pod wpływem stymulacji fMLP, częściową normalizację po stymulacji opsonizowanym zymosanem i brak wpływu na stymulację pozareceptorową PMA. Zmniejszenie poziomu RFT obserwowane po kuracji preparatem jest najprawdopodobniej wynikiem działania przeciwzapalnego NNKT n-3 (kwasów DHA i EPA). U chorych przed rozpoczęciem leczenia odnotowano również podwyższone poziomy składowej C3, C4 oraz aktywność hemolityczną układu dopełniacza CH50 (rycina 4). Po okresie leczenia preparatem BioMarine570[®] stwierdzono istotne zmniejszenie C1q, C3 i CH50. Zmniejszyła się również aktywność komórek NK ocenianych

w proporcjach E:T 25:1 oraz 12,5:1 w porównaniu do wartości obserwowanych przed leczeniem (rycina 5). Uzyskane wyniki uzupełniają wiedzę o właściwościach immunomodulujących NNKT n-3 wskazując, iż mechanizm ich działania może opierać się również na modyfikacji parametrów odporności naturalnej poprzez m.in. zmniejszenie aktywności komórek NK, aktywności składowych dopełniacza, a także modyfikacji generowania RFT przez neutrofile.



Rycina 4. Porównanie średnich wartości stężenia składowych układu dopełniacza C3c, C4, C1q i aktywności hemolitycznej CH50 przed i po leczeniu preparatem BioMarine570[®] u osób chorych na RZS oraz osób zdrowych.



Rycina 5. Porównanie średnich wartości aktywności komórek NK przed i po leczeniu preparatem BioMarine 570 u osób chorych na RZS oraz u osób zdrowych.

5.1.4.3. Afty nawrotowe jamy ustnej – streszczenie pracy (4)

Stosowanie preparatu oleju z wątroby rekina o składzie: 120mg skwalenu, 120mg alkoksygliceroli, 25mg kwasów tłuszczowych n-3 (EPA + DHA), 50 j. m. witaminy A i 5 j. m. witaminy D, przyjmowanego w dawce 3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy istotnie zmniejsza częstotliwość występowania i ilość aft. Po zaprzestaniu przyjmowania leku u większości pacjentów afty powracały, ale z nasileniem mniejszym niż przed leczeniem.

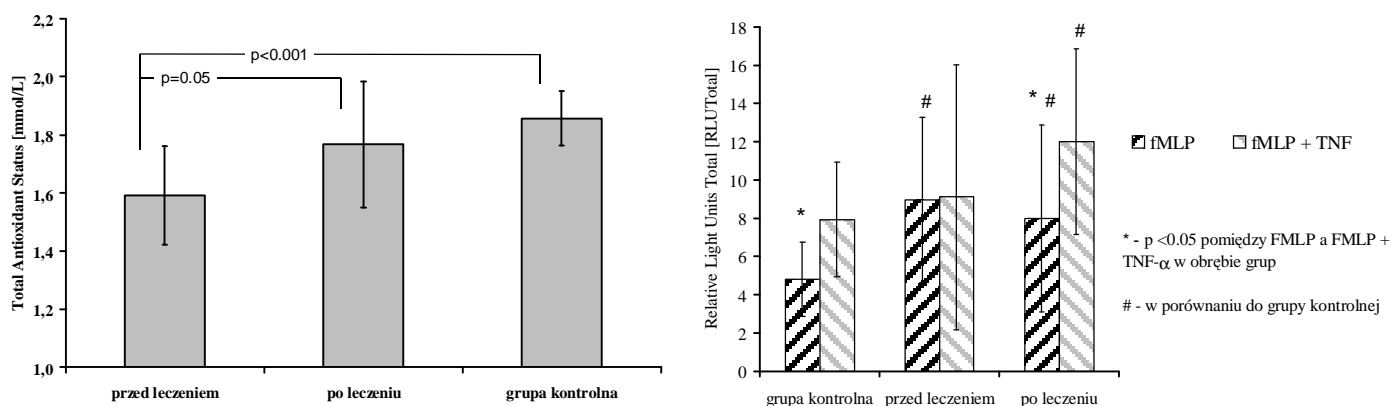
Ostatecznie leczenie nie doprowadziło do normalizacji wszystkich badanych parametrów immunologicznych. Zdecydowanie poprawiła się odpowiedź neutrofilii na stymulację receptorowozależną (fMLP, opsonizowany zymosan) i nie zmieniła się na stymulację pozareceptorową (PMA). Doszło do wzrostu odsetka limfocytów T CD3, powrotu do zakresu wartości prawidłowych odsetka limfocytów B i limfocytów T CD3/HLA-DR+. Ponadto po leczeniu znacząco obniżył się poziom składowej C4 dopełniacza oraz wartość CH50 aktywności hemolitycznej dopełniacza, zbliżając się do zakresu wartości prawidłowych.

W układzie badawczym, gdzie sprawdzano zdolność TNF- α do wywołania efektu preaktywacji neutrofilii *in vitro*, TNF- α przed rozpoczęciem leczenia nie zwiększał produkcji

RFT przez neutrofile stymulowane fMLP, natomiast po leczeniu efekt wzmocnienia był taki sam, jak u ludzi zdrowych (rycina 6b) (1). Obserwacje te mogą wskazywać na to, iż neutrofile stały się ponownie wrażliwe na działanie czynników preaktywujących *in vivo* (1, 147).

Odotowano również wpływ preparatu na wzrost właściwości antyoksydacyjnych osocza (rycina 6a) (1). Jest to prawdopodobnie uwarunkowane właściwościami przeciwutleniającymi związków zawartych w oleju z wątroby rekina, gdyż nie zaobserwowano, aby ten preparat wpłynął na zmniejszenie wytwarzania RFT przez neutrofile niestymulowane (1, 140). Poprawa właściwości antyoksydacyjnych osocza ma istotne znaczenie w profilaktyce chorób ze zwiększonym wytwarzaniem RFT (1).

Dzięki właściwościom regulującym rozwój i przebieg procesu zapalenia, preparat na bazie oleju z wątroby rekina bogaty w kwasy NNKT szeregu n-3, jest przydatny w leczeniu aft nawrotowych jamy ustnej.



Rycina 6a, 6b. Analiza wpływu preparatu oleju z wątroby rekina na właściwości antyoksydacyjne osocza (6a) oraz na zjawisko preaktywacji ludzkich neutrofilów (6b). Terapia Monitorowana 2001 (1).

6. Zastosowanie diety wzbogaconej w tłuszcze rybne u kobiet ciężarnych, w okresie laktacji oraz w prawidłowym rozwoju dziecka

Badania i opracowania naukowe dotyczące zastosowania olejów rybnych w okresie laktacji dotyczą głównie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych szeregu n-3. W okresie ciąży NNKT n-3 przechodzą przez łożysko do organizmu płodu (148, 149). Zapotrzebowanie na NNKT n-3 gwałtownie wzrasta po 31 tygodniu ciąży, kiedy zaczyna się aktywne tworzenie układu nerwowego - komórek i szlaków przewodnictwa nerwowego płodu (150). Ilość NNKT n-3 dostarczanych noworodkowi zależna jest od składu pokarmu

otrzymywanego wraz z mlekiem matki (151). Stwierdzono, iż podawanie DHA kobietom w okresie laktacji ma korzystny wpływ na rozwój noworodka. Odnotowano również dodatnią korelację pomiędzy ilością przyjmowanego przez kobiety ciężarne kwasu DHA, a wagą urodzeniową, obwodem głowy oraz długością ciała noworodka (152). Wcześnieiki pozbawione naturalnego mleka matki, a karmione mieszankami z dodatkami DHA wykazały poprawę rozwoju ocenianą w skali Bayley'a (153).

Większość odżywek dla dzieci posiada bardzo wysoki stosunek NNKT n-6 do n-3. Fizjologicznie w mleku matki stosunek NNKT n-6 do n-3 wynosi 6:1. Proponuje się, aby zawartość NNKT n-3 w odżywkach dla dzieci wynosiła 0,6 – 0,8 g/dobę, a stosunek n-6 do n-3 powinien wynosić od 5:1 do maksymalnie 15:1, a połowa NNKT n-3 w tej odżywiec powinna być w postaci DHA (154, 155).

7. Dawkowanie

7.1. Dawki terapeutyczne

Na podstawie danych piśmienniczych oraz własnych badań prowadzonych w Zakładzie Immunologii Klinicznej I-CZMP w Łodzi ustalono optymalną dawkę terapeutyczną w chorobach z udziałem przewlekłych procesów zapalnych. Zalecana dawka terapeutyczna oleju z wątroby rekina wynosi 1,8 – 6,4 g/dzień (3, 4, 5). Badania zespołu pod kierunkiem prof. Brohult'a wykazały skuteczność terapii z użyciem oleju rybiego w podobnych dziennych dawkach (0,3-2,6 g/ dzień) (12, 35-37).

Badania prof. Nestel'a prowadzone nad zastosowaniem olejów rybich udowodniły, iż najbardziej optymalna dieta w skład której wchodzi kwasy tłuszczowe powinna zawierać około: 8% nasyconych kwasów tłuszczowych, 13% jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, 7% NNKT n-6 i 2% NNKT n-3 (156).

Dokładne dawki przyjmowania kwasów tłuszczowych opracowano jedynie dla NNKT. Federacja FAO/WHO zaleca dla osoby dorosłej ogółem 18 g NNKT, tzn. 6-7% całkowitej energii dziennej, w tym n-6 14g (4,8% energii), kwas alfa linolenowy 3g (1,2% energii), EPA i DHA 0,8g (0,27% energii). Zalecany stosunek NNKT n-6 do n-3 w dziennej racji pokarmowej powinien wynosić 4:1, a stosunek kwasu alfa-linolenowego do EPA i DHA także 4:1. W celach terapeutycznych poziom dobowego spożycia EPA + DHA wynosi 7 g (157). Niestety podobnych dawek dla spożycia olejów rybich traktowanych razem nie ustalono.

7.2. Profilaktyka chorób serca oraz przeciwnowotworowa

Dziennie spożycie olejów rybich bogatych w związki skwalenu, alkoksylglicerole oraz kwasy tłuszczowe n-3 (EPA + DHA) u osoby dorosłej powinno wynosić około 18 g, tj. około 6-7% całkowitej dziennej energii pokarmowej, w tym zawartość kwasów n-3: linolowego – 3 g, EPA i DHA – 0,8 g. Zalecany stosunek n-6 do n-3 w dziennej racji pokarmowej powinien wynosić 4:1. Ze względu na ubogą w NNKT n-3 dietę w naszym kraju zachodzi konieczność suplementowania nimi codziennych posiłków (24).

8. Przeciwwskazania

W badaniach prowadzonych zarówno na zwierzętach, jak i na ludziach nie zaobserwowano, aby przyjmowanie preparatów olejów rybich miało działanie toksyczne, alergizujące, teratogenne, karcinogenne. Badania na związkach skwalenu i alkilgliceroli oddzielnie (nie w mieszaninie pod postacią oleju) również nie wykazały podobnego działania. Jedynym oznaczalnym składnikiem, który może mieć znaczenie w przypadku przedawkowania leku są wielonienasycone kwasy tłuszczowe szeregu n-3. Niekorzystne działanie może wystąpić po przekroczeniu dawki 4g na dobę NNKT n-3. Ze względu na to, iż zawartość kwasów NNKT n-3 w jednej kapsułce wynosi 25 mg (dawka 20 kapsułek na dobę to 0,5g NNKT n-3) niemożliwym jest przekroczenie dopuszczalnej dziennej dawki stosując się do zaleceń przyjmowania preparatu podanego przez producenta. Niemniej jednak autorzy sugerują wzięcie pod uwagę następujących możliwości wystąpienia objawów niepożądanych:

1. nasilenie działania leków przeciwzkrzepowych
2. wydłużenie czasu krzepnięcia krwi
3. podbiegnięcia krwawe

U chorych na hemofilię i przyjmujących leki przeciwzkrzepowe stosować należy pod ścisłą kontrolą lekarską.

9. Streszczenie

Oleje uzyskiwane z ryb od wielu lat znane są jako środki działające korzystnie na organizm ludzki. Wraz z rozwojem wiedzy na temat zaangażowania układu immunologicznego w patogenezę wielu chorób, prowadzone były badania dotyczące skuteczności olejów z ryb w leczeniu schorzeń o podłożu zapalnym, autoimmunizacyjnym czy nowotworów. Nowoczesne techniki diagnostyki immunologicznej umożliwiły wykazanie wpływu związków zawartych w olejach ryb na układ immunologiczny oraz powiązanie działania leczniczego tych substancji ze zmianami niektórych parametrów odporności.

Dieta bogata w kwasy tłuszczowe uzyskane z ryb powoduje spadek poziomu kwasu arachidonowego oraz wzrost poziomu kwasów eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego w błonach komórkowych komórek immunokompetentnych, wspomaga syntezę czynnika aktywującego płytki. W przypadku aktywacji komórki, obniża produkcję eikozanoidów prozapalnych (PGE_2 i LT_4) i zwiększa ilość produktów przemiany kwasu eikozapentaenowego (PGE_3 i LTA_5), które mają kilkakrotnie mniejszą aktywność biologiczną niż ich analogi, syntetyzowane z kwasu arachidonowego. Sugeruje się, że kwasy tłuszczowe posiadają właściwości immunoregulacyjne zarówno przeciwzapalne (przez kwasy DHA i EPA) jak i wspomagają układ immunologiczny w przewlekłych stanach zapalnych poprzez dostarczanie niezbędnych substratów do syntezy czynnika aktywującego płytki (PAFu). Zachwianie „równowagi” np. w podaży pomiędzy obiema rodzinami szeregu n-6 oraz n-3, wynikające z przewagi w diecie olejów roślinnych (NNKT n-6), lub niedoboru NNKT n-3, może prowadzić do zaburzeń ze strony układu immunologicznego, klinicznie objawiających się m.in. przewlekłymi procesami zapalnymi, chorobami o podłożu autoimmunizacyjnym (schemat 2). Z kolei dziedziczny brak syntezy związków estrów gliceroli (alkilogliceroli), opisany jako zespół Zellwegera, charakteryzuje się m.in. brakiem PAFu i wszelkimi z tym związanymi konsekwencjami.

Badania kliniczne nad dietą bogatą w tłuszcze rybne, zawierające związki alkilogliceroli, skwalenu oraz wielonienasycone kwasy szeregu n-3, wykazały ich korzystny wpływ na układ krążenia: obniżają one ciśnienie krwi, regulują gospodarkę lipidową, hamują syntezę TXA_2 , fibrynogenu, PAF i pobudzają syntezę PGE_3 , a więc są pomocne w leczeniu miażdżycy i jej powikłań (zatorów, zakrzepów, zawałów). Obniżając krzepliwość krwi, zmniejszają ryzyko zawałów i udarów mózgu. Wykazano również skuteczne działanie (wspomagające leczenie) oleju z ryb w leczeniu łuszczycy, chorób przemiany materii (cukrzyca, otyłość) oraz w początkowym okresie rozwoju stwardnienia rozsianego, chorobie reumatycznej, w stanach po przeszczepach narządów, w trakcie chemioterapii przeciwnowotworowej.

	Alkoksyglicerole	związki skwalenu	WKT n-3	BioMarine 570 (120 mg skwalenu, 120 mg alkoksygliceroli, 25 mg kwasów tłuszczowych n-3 (EPA + DHA))
Stężenie w osoczu (przy dawce 1,8 – 6,4 g/dzień)	0,4-1,8 g/l	brak danych	1 mmol/l	brak danych
Dawka bezpieczeństwa ¹	brak danych	brak danych	4g na dobę	brak danych
Maksymalna zalecana dzienna dawka ¹	brak danych	brak danych	brak danych	6,4 g/dzień
Mechanizm działania	<p>1. Bezpośrednio - ↑ syntezy PAF</p> <p>1. Pośrednio - ↑ syntezy i aktywacja czynników prozapalnych (agregacje płytek krwi, zwiększa przepuszczalność naczyń poprzez bezpośrednie działanie na mięśniówkę naczyń (skurcz mięśni gładkich) jak i pośrednio poprzez działanie i aktywację innych komórek immunokompetentnych (stymulując je do uwalniania leukotrienów, tromboksanu, reaktywnych form tlenu). Jest silnym czynnikiem chemotaktycznym i primingującym neutrofile. PAF może działać ogólnoustrojowo wywołując m.in. skurcz oskrzeli, obniżenie ciśnienia krwi)</p> <p>2. Wspomaganie hematopoezy wszystkich linii komórkowych: układu białokrwinkowego – mieloblastycznego, limfoblastycznego, megakariocytarnego jak i układu czerwonokrwinkowego</p>	<p>1. ↑ naturalnej nieswoistej bariery ochronnej organizmu (naturalny komponent wydzieliny gruczołów łojowych skóry)</p> <p>2. Bezpośrednie działanie opsonizujące patogeny i tym samym ułatwienie ich prezentacji komórkom immunokompetentnym</p> <p>3. ↓ biosyntezy cholesterolu</p> <p>4. ↑ aktywności komórek NK, limfocytów o fenotypie CD3+</p> <p>5. ↑ aktywności fagocytarnej neutrofilii krwi obwodowej</p>	<p>1. ↓ metabolizmu kwasu arachidonowego (AA)</p> <p>2. ↓ syntezy LTB₄, 6-trans LTB₄ i 20-hidroks LTB₄ przez neutrofile i monocyty</p> <p>3. ↓ produkcji IL-1 i TNF-α przez monocyty</p> <p>4. ↓ produkcji IL-6 oraz IL-8 przez komórki śródbłonna</p> <p>5. ↓ produkcji IL-2, IL-6 IFN-γ, oraz GM-CSF przez limfocyty</p> <p>6. ↓ ekspresji cząsteczek adhezyjnych: selektyny E, ICAM-1 i VCAM-1 na komórkach endotelialnych</p> <p>7. ↓ ekspresji cząsteczek adhezyjnych na neutrofilach i makrofagach</p> <p>8. ↓ produkcji reaktywnych form tlenu przez neutrofile krwi obwodowej</p> <p>9. ↓ właściwości fagocytarnej neutrofilii i monocytów krwi</p> <p>10. ↓ ekspresji genów dla COX-2, TNF-α, IL-1α po stymulacji cytokinami prozapalnymi</p> <p>11. ↑ pojemności antyoksydacyjnej osocza</p>	<p>1. ↓ ciśnienia krwi</p> <p>2. ↓ syntezy Lp(a)</p> <p>3. ↑ syntezy HDL</p> <p>4. ↓ syntezy VLDL</p> <p>5. ↑ pojemności antyoksydacyjnej osocza</p> <p>6. UKŁAD DOPELNIACZA (↓ poziomu C3c, C4, C1q, czynnika B, a także aktywność hemolityczna dopełniacza (CH50))</p> <p>7. SUBPOPULACJE LIMFOCYTÓW (↑ wskaźnika CD4/CD8, ↓ HLA DR, brak wpływu na CD4/CD25 – komórki regulatorowe)</p> <p>8. CYTOKINY syntetyzowane przez PBMC (u ludzi zdrowych ↑ INF-γ, ↑ TNF-α, ↑ IL-2, ↓ IL-10, ↓ IL-1, brak wpływu IL-4, IL-5)</p> <p>9. KOMÓRKI FAGOCYTUJĄCE (↑ właściwości bójczych, fagocytarnej)</p> <p>10. KOMÓRKI NK ↓ aktywności</p>

Zastosowanie terapeutyczne preparatu BioMarine 570

Lp.	Jednostka chorobowa	proponowana dawka	uzyskany efekt	możliwy mechanizm działania
1	Nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)	Poprawa kliniczna, skrócenie przebiegu choroby	↑ limfocytów T CD8+ i komórek B (CD19+), ↑ produkcji RFT oraz właściwości fagocytarnej przez neutrofile krwi obwodowej w kontakcie z patogenami (zarówno bakterie G- jak I G+)
2	Reumatoidalne zapalenie stawów	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)	Zmniejszenie objawów porannej sztywności, bólesności i obrzęku stawów	Działanie wspomagające leczenie konwencjonalne ↓ syntezy C1q, C3c, C4 oraz jego aktywność hemolityczną (CH50), ↓ wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT) przez neutrofile krwi obwodowej, oraz aktywność komórek NK
3	Afty nawrotowe jamy ustnej	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)	zmniejsza częstotliwość występowania i ilość aft	↑ wskaźnika CD4/CD8, ↑ INF-γ, ↑ TNF-α, ↑ IL-2, ↓ IL-10, ↓ IL-1.
4	choroba Crohn'a i zapalenie jelita grubego	1,8 – 6,4 g/dzień	poprawa stanu klinicznego pacjentów (obniżenie częstości nawrotów choroby). Największy efekt	↓ produkcji IL-2, IL-6 IFN-γ, oraz GM-CSF przez limfocyty, ↓ ekspresji cząsteczek adhezyjnych na neutrofilach i makrofagach

			lecznicy w postaci ustąpienia nawrotów choroby odnotowano podczas stosowania oleju rybiego w dawce 100 – 250 g/dzień przez okres dwóch lat (113)	
5	łuszczyca	1,8 – 6,4 g/dzień	Wykazano zmniejszenie swędzenia, łuszczenia się i rumienia skóry. Jedno badanie nie wykazało poprawy.	m.in. ↑ INF-γ, ↑ TNF-α, ↑ IL-2, ↓ IL-10, ↓ IL-1 produkowanych przez PBMC
6	astma oskrzelowa	1,8 – 6,4 g/dzień	poprawa kliniczna	redukcję powstawania eikozanoidów (PGE ₂ i leukotrienów szeregu 4)
7	alergia	1,8 – 6,4 g/dzień	Poprawa kliniczna	↓ eikozanoidów, ↓ cytokin prozapalnych charakterystycznych dla limfocytów Th1, ↓ chemotaksji leukocytów i osłabienie ich odpowiedzi, ↑ potencjału antyoksydacyjnego osocza
8	profilaktyka chorób układu krążenia	1,8 g/dzień		↓ Tromboxan (TXA ₂), ↓ Prostagliny (PGI ₂), ↓ Leukotrieny (LTB ₄), ↓ Kwas arachidonowy (AA), ↓ Fibrynogen, ↓ Czynnik aktywujący płytki krwi (PAF) ↓ Płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) ↓ Cytokiny (IL-1, TNF-α) ↓ Cholesterol całkowity
9	działanie wspomagające w terapii nowotworów	alkiloglicerole (0,3-2,6 g dziennie)	Działanie osłonowe w przebiegu radioterapii (mniejszy odsetek zgonów spowodowanych nowotworem po 5 latach od terapii)	↓ Trójglicerydy (TG) w surowicy, ↓ Ciśnienie krwi, ↓ Lepkość krwi (viscosity), ↓ Frakcje Lipoprotein osocza VLDL, ↓ Lp(a). ↑ HDL (transport zwrotny cholesterolu), ↑ Czynnik relaksacyjnego naczyń (EDRF NO)

¹ Brak danych w piśmiennictwie naukowym określającym dawkę bezpieczeństwa oraz **Maksymalną zalecaną dzienną dawkę** zarówno dla olejów rybich jak i poszczególnych jego składników.

Badania nad zastosowaniem terapeutycznym i profilaktycznym preparatu BioMarine 570 w aspekcie badań immunologicznych przeprowadzone przez Zakład Immunologii Klinicznej I-CZMP w Łodzi

W badaniach nad zastosowaniem preparatu BioMarine w wybranych jednostkach chorobowych oraz profilaktyce przewlekłych i ostrych stanów zapalnych (prowadzonych na zdrowych ochotnikach) oceniano wybrane parametry charakterystyczne dla mechanizmów wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej (tabela 2). Analizie poddano m.in. wpływ przyjmowanego preparatu na zdolność neutrofilów do zabijania patogenów na drodze tlenowo-zależnej, aktywność układu dopełniacza, aktywność i liczbę komórek NK, ocenę podstawowych subpopulacji limfocytów, w tym komórek regulatorowych CD4/CD25, profil cytokin charakterystyczny dla limfocytów helperowych Th1 i Th2, oraz cytokin prozapalnych w hodowlach komórek jednojądrzastych, całkowitą pojemność antyoksydacyjną osocza. Na podstawie tych badań wykazano, iż preparat zdecydowanie poprawia odpowiedź układu immunologicznego w stosunku do patogenów, łagodzi i zmniejsza dolegliwości u chorych na RZS czy afty nawrotowe jamy ustnej. Stwierdzono, iż preparat z jednej strony wykazuje działanie prozapalne ((najprawdopodobniej poprzez „sieć cytokinową”) - wzrost TNF- α , INF- γ , IL-2 przy jednoczesnym spadku IL-10, oraz zwiększenie zdolności do generacji reaktywnych form tlenu przez neutrofile stymulowane), z drugiej strony we wszystkich badaniach odnotowano spadek aktywności układu dopełniacza (manifestujący się m.in. spadkiem poziomu C3c, C4, C1q, czynnika B, a także zmniejszeniem aktywności hemolitycznej CH50), oraz zwiększenie całkowitej pojemności antyoksydacyjnej osocza, a więc parametrów świadczących o remisji procesów zapalnych, jak i zwiększeniu bariery ochronnej przed negatywnymi skutkami stresu oksydacyjnego charakterystycznego dla przewlekłych i ostrych stanów zapalnych. Obserwowany dualizm w działaniu na układ immunologiczny jest wynikiem uruchomienia własnych mechanizmów regulujących układ immunologiczny w zależności od aktualnych potrzeb organizmu (związki zawarte w tego typu olejach są jedynie substratami do tworzenia substancji biologicznie aktywnych (m.in. PAF, prostaglandyn), których powstawanie regulowane jest przez szereg procesów enzymatycznych, co pozwala na swobodny wybór drogi wspomaganie układu immunologicznego - zależnego od aktualnych potrzeb organizmu).

Tabela 2.

	dawka (czas przyjmowania preparatu)	Charakterystyka grupy badanej (liczebność)	Oczekiwany efekt terapeutyczny	Uzyskany efekt zmian w parametrach immunologicznych	Możliwy mechanizm działania
Działanie w profilaktyce przewlekłych i ostrych stanów zapalnych (wysłane do druku –Polski Merkuriusz Lekarski)	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez 30 dni)	Osoby zdrowe nie przyjmujące żadnych leków, nie zgłaszające żadnych dolegliwości w momencie rozpoczęcia kuracji (10)	Podano jedynie ocenę subiektywną przyjmowanego preparatu (żadna z osób badanych nie zgłaszała dolegliwości podczas, jak i po kuracji preparatem	1. UKŁAD DOPEŁNIACZA (↓ poziomu C3c, C4, C1q, czynnika B, a także aktywność hemolityczna dopełniacza (CH50)) 2. SUBPOPULACJE LIMFOCYTÓW (↑ wskaźnika CD4/CD8, ↓ HLA DR, brak wpływu na CD4/CD25 – komórki regulatorowe) 3. CYTOKINY syntetyzowane przez PBMC (u ludzi zdrowych ↑ INF-γ, ↑ TNF-α, ↑ IL-2, ↓ IL-10, ↓ IL-1, brak wpływu IL-4, IL-5) 4. KOMÓRKI FAGOCYTUJĄCE (↑ właściwości bójczych, fagocytarnych) 5. KOMÓRKI NK ↓ aktywności	Wzrost syntezy PAF wywołany alkoksyglicerolami (obserwowany wzrost cytokin prozapalnych, aktywność komórek fagocytujących i NK) z jednoczesnym działaniem przeciwzapalnym WKTn-3 (obniżenie aktywności układu dopełniacza, wzrost całkowitej pojemności antyoksydacyjnej osocza, ↓ HLA DR)
Reumatoidalne zapalenie stawów Tchórzewski H, Banasik M, Głowacka E, Lewkowicz P.: Modyfikujący wpływ niektórych składowych oleju z wątroby rekina na odporność naturalną u ludzi. Pol Merk Lek.. 2002, 76, 329	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)	Badania wykonano u osób z rozpoznanym w oparciu o kryteria ARA reumatoidalnym zapaleniem stawów. Wszyscy badani cechowali się zaawansowanym procesem chorobowym, nie poddającym się leczeniu preparatami przeciwzapalnymi. Stosowano u nich leczenie immunosupresyjne metatreksatem (10 mg tygodniowo), a także doraźnie leki przeciwzapalne i przeciwbólowe. (10)	Zmniejszeniem objawów porannej sztywności, bólesności i obrzęku stawów	Działanie wspomagające leczenie konwencjonalne ↓ syntezy C1q, C3c, C4 oraz jego aktywność hemolityczną (CH50), ↓ wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT) przez neutrofile krwi obwodowej, oraz aktywność komórek NK	
Afty nawrotowe jamy ustnej Lewkowicz P, Lewkowicz N, Tchórzewski H.: Immunomodulujące właściwości preparatu z wątroby rekina. Problemy Ter Mon. 2001, 12, 189. Gurańska N, Lewkowicz P, Urbaniak B i wsp.: Ocena skuteczności leczenia aft nawrotowych olejem z wątroby rekina w aspekcie badań klinicznych i immunologicznych. Pol Merk Lek, 2001, 63, 38	1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)	Osoby cierpiące na afty nawrotowe. (15)	zmniejsza częstotliwość występowania i ilość aft	↑ wskaźnika CD4/CD8, ↑ INF-γ, ↑ TNF-α, ↑ IL-2, ↓ IL-10, ↓ IL-1.	

<p>Nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych</p> <p>Lewkowicz P, Lewkowicz N, Głowacka E, Tchórzewski H.: Rola alkilogliceroli, skwalenu i wielonienasyconych kwasów omega 3 w zwalczaniu infekcji bakteryjnych – modyfikacja naturalnych (wrodzonych) mechanizmów odporności. Problemy Ter Mon. 2002, 13, 163.</p>	<p>1,8 – 6,4 g/dzień (3 kapsułki 3 razy dziennie przez okres trzech miesięcy)</p>	<p>Osoby cierpiące na nawracające bakteryjne infekcje górnych dróg oddechowych (15)</p>	<p>Poprawa kliniczna, skrócenie przebiegu choroby</p>	<p>↑ limfocytów T CD8+ i komórek B (CD19+), ↑ produkcji RFT oraz właściwości fagocytarnych przez neutrofile krwi obwodowej w kontakcie z patogenami (zarówno bakterie G-jak I G+)</p>
---	---	---	---	---

10. Piśmiennictwo

1. Lewkowicz P, Lewkowicz N, Tchórzewski H.: Immunomodulujące właściwości preparatu z wątroby rekina. *Problemy Ter Mon.* 2001, 12, 189.
2. Allison A.: Squalene and squalene emulsions as adjuvants. *Methods A Comp. Methods in Enzymol.* 1999, 19, 87.
3. Tchórzewski H, Banasik M, Głowacka E, Lewkowicz P.: Modyfikujący wpływ niektórych składowych oleju z wątroby rekina na odporność naturalną u ludzi. *Pol Merk Lek.* 2002, 76, 329.
4. Gurańska N, Lewkowicz P, Urbaniak B i wsp.: Ocena skuteczności leczenia aft nawrotowych olejem z wątroby rekina w aspekcie badań klinicznych i immunologicznych. *Pol Merk Lek.* 2001, 63, 38.
5. Lewkowicz P, Lewkowicz N, Głowacka E, Tchórzewski H.: Rola alkilogliceroli, skwalenu i wielonienasyconych kwasów omega 3 w zwalczaniu infekcji bakteryjnych – modyfikacja naturalnych (wrodzonych) mechanizmów odporności. *Problemy Ter Mon.* 2002, 13, 163.
6. Pugliese PT, Jordan K, Cederberg H, Brohult J.: Some biological action of alkylglycerols from shark liver oil. *J Altern Complement Medicine.* 1998, 4, 87.
7. Mangold HK.: *Ether lipids.* 1993, Academic Press, London.
8. Blanc ML, Cress EA, Smith ZL, Snyder F.: Dietary supplementation with ether-linked lipids and tissue lipid composition. *Lipids* 1991, 26. 166.
9. Triggiani M, Schleimer RP, Warner JA, Chilton FD.: Differential synthesis of 1-acyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine and platelet-activating factor by human inflammatory cells. *J Immunol.* 1991, 147, 660.
10. Hichami A, Duroudier V, Leblais V, Vernhed L, LeGofic F, Ninio E, Legrand A.: Modulation of platelet-activating factor production by incorporation of natural occurring 1-o-alkylglycerols in phospholipids of human leukemic monocyte-like THP-1 cells. *Eur J Biochem.* 1997, 250, 242.
11. Gonzales M., Schemel R.: Dietary fish oils inhibit human breast carcinoma growth. *Lipids*, 1993, 9, 827.
12. Brohult A., et al.: Reduced mortality in cancer patients after administration of alkoxyglycerols. *Acta Obst. Gynecol. Scand.* 1988, 65, 779.
13. Carroll K.: Fish oil and cancer. Chandra R. K. (ed), *Health effects of fish and fish oils.* 1989, ARTS Biomedical Publishers and Distributors, St.John's Newfoundland, 398.

14. Andreesen R, Modelell ML, Weltzien HU, Common HH, Lori GW, Nlunder PG.: Selective destruction of human leukemic cells by alkylsophospholipids. *Cancer Res.* 1978, 38, 3984.
15. Heymans F, da Silva C, Marrec N, Gotfroid JJ, Castagna N.: Alkyl analogs of diacylglycerols as activators of protein kinase C. *FEBS.* 1987, 218, 35.
16. Daniel LW, Small GW, Schitt JD.: Alkyl-linked diglycerides inhibit protein kinase C activation by diacylglycerols. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988, 151, 291.
17. Marigny K, Pedrono F, Martin-Chouilly CAE, Youmine H, Saiag B, Legrand AB.: Modulation of endothelial permeability by 1-o-alkylglycerols. *Acta Physiol Scand.* 2002, 196, 263.
18. Hallgren B, Stallberg G, Boeryd B.: *Prog Chem Fats Other Lipids.* 1978, 16, 45.
19. Boeryd B, Hallgren B.: *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1980, 88a, 11.
20. Hoffman DR, Thomas VL, Snyder F.: Inhibition of cellular transport systems by alkyl phospholipids analogs in HL-60 human leukemia cells. *Biochem Biophys Acta.* 1992, 11, 27.
21. Boeryd B, Hallgren B, Stallberg G. *Br J Exp Pathol,* 1971, 52, 20.
22. Bloch K. Biogenesis and transformation of squalene. *Ciba Found. Symp.,* 1959, 1958, 4.
23. Stranberg TE, Tilvis RS, Mietinen TA.: Metabolic variables of cholesterol during squalene feeding in humans: comparison with cholestyramine treatment. *J Lipid Res.* 1990, 31, 1637.
24. Ziemiański.: Fizjologiczna rola kwasów tłuszczowych n-6 i n-3 w ustroju człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki cywilizacyjnych chorób metabolicznych (Ziemiański Ś red.). *Zbiór prac III sympozjum Sulejów* 1998.
25. Calder P: Fat chance of immunomodulation. *Immunol Today,* 1998, 19, 244.
26. Calder PC.: The effect of dietary fatty acids on the immune response and susceptibility to infection. *Nutrition, Immunity, and Infection in Infants and Children, edited by Robert M. Suskond.* Philadelphia 2001, VOL.45, 137.
27. Calder PC.: N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutr Res.* 2001, 21, 309.
28. Tchórzewski H.: Regulacja odczynu zapalnego, *Zapalenie. Patofizjologia i klinika.* Tchórzewski H i wsp. *Medpress.* Warszawa 1998, 13.

29. Baj Z.: Komórki i mediatory zapalne w chorobach naczyń, miażdżycy i chorobie niedokrwiennej serca, *Zapalenie - Patofizjologia i klinika*. Tchórzewski H i wsp. *Medpress*. Warszawa 1998, 145.
30. Wyczółkowska J.: Mediatory zapalenia. *Zapalenie. Patofizjologia i klinika*. Tchórzewski H i wsp. *Medpress*. Warszawa 1998, 47.
31. Schrakamp G, Roosenboom CFP, Schutgens RBH, Wanders RJA, Heymans HAS, Van Den Bosch H.: Alkyl dihydroxyacetonephosphate synthase in human fibroblasts and its deficiency in Zellweger syndrome. *J Lipid Res*. 1985, 26, 867.
32. Van Den Bosch H, Schrakamp G, Hardeman D, Zomer AWM, Wanders RJA, Schutgens RBH.: Ether lipid synthesis and its deficiency in peroxisomal disorders. *Biochimie (Paris)*. 1993, 75, 183.
33. Sturk A, Schaap MCL, Pris A Ten Cat JW, Govaerts LCP, Wanders RJA, Heymans HSA, Schutgens RBH.: Age related deficiency of the synthesis of platelet activating factor by leukocytes from Zellweger patients. *Blood*. 1987, 70, 460.
34. Berdel WE.: Ether lipids and analogs in experimental in cancer therapy. *Lipids*. 1997, 22, 970.
35. Brohult A.: Alkoksylglycerols and their use in radiation treatment. *Acta Radiol Suppl*. 1963, 233.
36. Brohult A., Brohult J. and Brohult S.: Effect of alkoxyglycerols on the serum ornithine carbonyl transferase in connection with radiation treatment. *Experientia*. 1972, 28, 146.
37. Brohult A., Brohult J. and Brohult S.: Regression of tumor growth after administration of alkoxyglycerols. *Acta Obst. Gynecol. Scand*. 1978, 57, 79.
38. Lubowe I and Welle FV. *Cosmetic and the skin*. Reinhold publishing corp. 1964.
39. Ohsava K, Watanabe T, Matsukava R, Yoshimuro J, Imaeda K.: The possible role of squalene and it's peroxide of the sebum in the occurrence of sunburn and protection from the damage cause by UV irradiation. *J Toxicol Sciences*. 1984, 9, 151.
40. Picardo M, Zompetta C, De Luca C, Amantea A, Faggioni A, Nazzaro-Porro M, Passi.: Squalene peroxides may contribute to ultraviolet light–induced immunological effects. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1991, 8, 105.
41. Ahn YK, Kin JH.: Effects of squalene on the immune response in mice (II), Cellular and non-specific immune response and antitumor activity of squalene. *Arch Pharmacol. Res*. 1992, 15, 20.

42. Sickle V, Algenastro MR, Wilson P, Coper JR, Marqat A, Flanagan NA.: Inhibition of cholesterol synthesis by cyklopropylaminederivatives of squalene in human hepatoblastoma cells in culture. *Lipids* 1992, 27, 157.).
43. Calder PC.: The effect of dietary fatty acids on the immune response and susceptibility to infection. *Nutrition, Immunity, and Infection in Infants and Children*, edited by Robert M. Suskond. Philadelphia 2001, VOL.45, 137
44. Calder PC: Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1998, 31, 467.
45. Calder PC.: More good news about fish oil. *Nutrition.* 2001, 17, 2001.
46. Calder PC.: N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? *Nutr Res.* 2001, 21, 309.
47. Kinsella JE, Lokesh B, Broughton S, Whelan J: Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells. *Nutrition* 1990, 6, 24.
48. Obata T, Nagakura T, Masaki T, Maekawa K, Yamashita K: Eicosapentaenoic acid inhibits prostaglandin D2 generation by inhibiting cyclo-oxygenase-2 in cultured human mast cells. *Clin Exp Allergy* 1999, 29, 1129.
49. Calder PC.: Dietary modification of inflammation with lipids. *Proceedings of the Nutrition Society* 2002, 61, 345.
50. Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Austen KF: Effects of dietary enrichment with eicosapentaenoic acid and docosaheksaenoic acid on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *New England J Med* 1985, 312, 1217.
51. Sperling RI, Benincaso AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR: Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J Clin Invest* 1993, 91, 651.
52. Tilley SL, Coffman TM and Koller BH.: Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest* 2001, 108, 15.
53. Lewis RA, Austen KF and Soberman RJ.: Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway: Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *New England J Med.* 1990, 323, 645.

54. Snijdewint FGM, Kalinski P, Wieringa EA, Bos JD and Kapsenberg ML.: Prostaglandin E2 differentially modulates cytokine secretion profiles in human T-helper lymphocytes. *J Immune*. 1993, 150, 5321.
55. Rola-Pleszczynski M and Stankova J. Cytokine gene regulation by PGE2, LTB4 and PAF. *Med Inflamm*. 1992, 1, 5.
56. Endres S, Ghorbani R, Kelley i wsp.: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *New Engl J Med*. 1989, 320, 265.
57. Chen LH and Zhao Y.: Eicosapentaenoic acids decreases lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor-alpha expression by inhibiting nuclear factor kappa B activation. *FASEB Journal*. 2001, 15, A258.
58. De Caterina R, Cybulski MI, Clinton SK and Libby P.: The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arterioscle Thromb*. 1994, 14, 1829.
59. Hayashi N, Tashiro T, Yamamori H I wsp.: Effects of intravenous omega-3 and omega-6 fat emulsion on cytokine production and delayed type hypersensitivity in burned rats receiving total parenteral nutrition. *J. Parenter. Enteral. Nutr*. 1998, 22, 363.
60. Blok WL, Katan MB, von der Meer JWM. Modulation of inflammation and cytokine production by dietary (n-3) fatty acids. *J Nutr*. 1996, 126, 1515.
61. Hughes D.: In vitro and in vivo effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on human monocyte function. *Proc Nutr Soc*. 1998, 57, 521.
62. Gallai V, Sarchielli P, Trequattrini A i wsp.: Cytokine secretion and eicosanoid production in the peripheral blood mononuclear cells of MS patients undergoing dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Neuroimmunol*. 1993, 56, 145.
63. Sinha B, Stoll D, Weber Pc and Endres S.: Polyunsaturated fatty acids modulate the synthesis of TNF- α and imterleukin-1 β by human mononuclear cells in vitro. *Cytokine*. 1991, 3, 475.
64. Khalfoun B, Thibault F, Watier H i wsp.: Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv. Exp. Med. Biol*. 1997, 400, 589.

65. McCann ME, Moore JN, Carrick JB and Barton MH.: Effect of intravenous infusion of omega-3 and omega-6 lipid emulsions on equine monocyte fatty acids composition and inflammatory mediator production in vitro. *Shock*. 2000, 14, 222.
66. Grimm H, Tibell A, Norrlind B i wsp.: Immunoregulation by parenteral lipids: impact of the n-3 to n-6 fatty acid ratio. *J Parenter Enteral Nutr*. 1994, 18, 417.
67. Tashiro T, Yamamori H, Takagi K i wsp.: n-3 versus n-6 polyunsaturated fatty acids in critical illness. *Nutrition*. 1998, 14, 551.
68. Meydanie SN, Endres S, Woods MM i wsp.: Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production, and lymphocyte proliferation: comparison between young, and older women. *J Nutr*. 1991, 121, 547.
69. Meydanie SN, Lichtenstein AH, Cornwall i wsp.: Immunologic effects of national cholesterol education panel step-2 diets with and without fish-derived n-3 fatty acid enrichment. *J Clin Invest* 1993, 92, 105.
70. Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR i wsp.: Dietary supplementation with eicosapentaenoic acid, but not with other long chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids, decreases natural killer activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001.
71. De Caterina R and Libby P.: Control of endothelial leukocyte adhesion molecules by fatty acids. *Lipids*. 1996, 31, 1829.
72. Kim DN, Schmee J and Thomas WA.: Dietary fish oil added to a hyperlipidemic diet for swine results in reduction in the excessive number of monocytes attached to the arterial endothelium. *Arteriosclerosis*. 1995, 81, 209.
73. Huges DA, Southon S and Pinder AC.: n-3 polyunsaturated fatty acids modulate the expression of functionally associated molecules on human monocytes in vitro. *J Nutr*. 1996, 126, 603.
74. Khalfoun B, Thibault G, Bardos P and Lebranchu Y. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human lymphocyte-endothelial cell adhesion. *Transplantation*. 1996, 62, 1649.
75. Sanderson P and Calder PC.: Dietary fish oil diminished lymphocyte adhesion to macrophage and endothelial cell monolayers. *Immunology*. 1998, 94, 79.
76. Sanderson P and Calder PC.: Dietary fish oil appears to inhibit the activation of phospholipase C- γ in lymphocytes.: *Biochemica et Biophysica Acta*. 1998, 1392, 300.
77. Sanders P, Yaqoob P and Calder PC. Effects of dietary lipid manipulation upon rat spleen lymphocyte functions and the expression of lymphocyte surface molecules. *J Nutr Environ Med*. 1995, 5, 119.

78. Miles EA, Wallace FA and Calder PH.: Dietary fish oil reduce intracellular adhesion molecule 1 and scavenger receptor expression on murine macrophages. *Atherosclerosis*. 2000, 152, 43.
79. Hughes DA, Pinder AC, Piper Z, Johnson IT and Lund EK.: Fish oil supplementation inhibits the expression of major histocompatibility complex class II molecules and adhesion molecules on human monocytes. *Amer J Clin Nutr*. 1996, 63, 267.
80. Miles EA, Thies F, Wallace FA, Powell JR i wsp.: Influence of age and dietary fish oil on plasma soluble adhesion molecule concentrations. *Clin Science*. 2001, 100, 91.
81. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE I wsp.: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *New Engl J Med*. 1989, 320, 265.
82. Schmidt EB, Pedersen JO, Ekelund S i wsp.: Cod liver oil inhibits neutrophils and monocyte chemotaxis in healthy males. *Artherosclerosis*. 1989, 77, 53.
83. Schmidt EB, Pedersen JO, Ekelund S i wsp.: Long term supplementation with n-3 fatty acids. ii. Effects on neutrophil and monocyte chemotaxis. *Scand J Clin Lab Invest*. 1992, 52, 229.
84. Fisher M, Levine PH, Weiner BH i wsp.: Dietary n-3 fatty acid supplementation reduces superoxide production and chemiluminescence in a monocyte-enriched preparation of leukocytes. 1990, 51, 804.
85. Thompson PJ, Misso NLA, Passarelli i wsp.: The effect of eicosapentaenoic acid consumption on human neutrophils chemiluminescence. *Lipids*. 1991, 26, 1223.
86. Halvorsen DA, Hansen JB, Grimmsgard S i wsp.: The effect of highly purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on monocyte phagocytosis in man. *Lipids*. 1997, 32, 935.
87. Curtis CL, Hughes CE, Flannery CR i wsp.: N-3 fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *J Biol Chem*. 2000, 275, 721.
88. Chandrasekar B and Fernandes G.: Decreased pro-inflammatory cytokines and increased antioxidant enzyme gene expression by n-3 lipids in murine lupus nephritis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994, 200, 893.
89. Robinson DR, Urakaze M, Huang i wsp.: Dietary marine lipids suppress continuous expression on interleukin-1 β gene expression. *Lipids*. 1996, 31, S23.
90. Wallace FA, Miles EA, Evans C i wsp.: Dietary fatty acids influence the production of Th1- but not Th2-type cytokines. *J. Leukoc. Biol*. 2001, 69, 449.

91. Xi S, Cohen D, Barve S and Chen LH. Fish oil suppressed cytokines and nuclear factor kappa B induced by murine AIDS virus infection. *Nutrition Research*. 2001, 21, 865.
92. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. PWN Warszawa. 1995, Wydawnictwo Naukowe PWN.
93. Kohno Y, Egawa Y, Itoh S: Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochem. Biophys. Acta Lipids and Lipid Metab*. 1995, 1256, 52.
94. Bang H, Dyerberg J, Sincler HM.: The composition of the Eskimos food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr*. 1980, 33, 2657.
95. Bang H, Dyerberg J: Fish consumption and mortality from coronary heart disease. *N. Engl. J. Med*. 1985, 313, 822.
96. Dyerberg J, Bang HO, Hjerne N.: Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr*. 1975, 28, 958.
97. Dyerberg J, Bang HO: Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* 1979, 11, 433.
98. Hirayama R: *Life-style and mortality. A lgescale census-based cohort study in Japan*. Karger Publishers, Basel, 1990.
99. Ziemiański Ś, Paneczko-Kresowska B, Okolska G: Effect of dietary fats on experimental hypertension. *Ann Nutr Metab*. 1985, 29, 223.
100. Berry EM, Hirsch J, Most J i wsp.: Dietary fat, plasma lipoproteins and immune function in middle-aged American men. *Nutrition and Cancer*. 1987, 9, 129.
101. Carroll KK.: *Tłuszcze pokarmowe a nowotwory. Czynniki Ryzyka*. 1996, 1, 54.
102. Carroll KK.: Experimental evidence of dietary factors in hormone-dependent cancers. *Cancer Research*. 1975, 35, 3374.
103. Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR i wsp.: Dietary supplementation with eicosapentaenoic acid, but not with other long chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids, decreases natural killer activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001.
104. Wigmore SL, Ross JA, Falconer JS i wsp.: The effect of polyunsaturated fatty acids on the progress of cachexia in patients with pancreatic cancer. *Nutrition*. 1996, 12, S27.
105. Barber MD, Fearon KC, Delmore G i wsp.: Should cancer patients with incurable disease receive parenteral or enteral nutritional support? *Eur J Cancer*. 1998, 34, 279.
106. Salem ML, Kishihara K, Abe K i wsp.: N-3 polyunsaturated fatty acids accentuate B16 melanoma growth and metastasis through suppression of tumoricidal function of T cells and macrophages *Anticancer. Res*. 2000, 20, 3195.

107. Chen ZY, Istfan NW: Docosahexaenoic acid, a major constituent of fish oil diets, prevents activation of cyclin-dependent kinases and S-phase entry by serum stimulation in HT-29 cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 2001, 64, 67.
108. Halgren B.: Therapeutic effects of ether lipids. *Ether lipids Academic Press* 1983 London.
109. Ikekawa T Umeji M, Manabe T, Yonoma S Irenida K, Miseniuma H, Ikekawa N.: Studies on antitumor activity of squalene and it's related compounds *Yakugoku Zasshi*. 1986, 106, 578.
110. Yakoni E, Melcer MS, Rapp HJ.: Tumour regression after intralesional injection of emulsified trehalose – 6,6,- dimykolate: efficacy increased with oil concentration. *In J Cancer*. 1997, 19, 818.
111. Yamguchi T, Nakagawa M, Hidaka K, Yoshida SH, Sasaki T, Akiyama S, Kuwano M.: Potentiation by sqalen of antitumor of 3-[(4-amino-2-methyl-5pyrimidynyl) methyl]-1-(2-chloroethyl)-nitrotezeula in murine tumour system. *J Canser Res*. 1985, 76, 1021.
112. Hirai O, Fujitsu T, Satoh H, Mori J, Kikuchi H.: Influence of squalene on the antitumour action of cell wall skeleton from *nocardia rubra*. *Oyo Yakuri Farmacometrics cs*. 1986, 31, 649.
113. Belluzzi A, Miglio F.: N-3 fatty acids in the treatment of Crohn's disease. In Kremer J editor. *Medical fatty acids in inflammation*. Basel: Birkhauser Verlag. 1998, 91.
114. Rodgers JB. N-3 fatty acids in the treatment of ulcerative colitis. In Kremer J editor. *Medical fatty acids in inflammation*. Basel: Birkhauser Verlag. 1998, 103.
115. Dichi I.: Comparison of omega-3 and sulfasalazine in ulcerative colitis. *Nutrition*. 2000, 16, 87.
116. Volker D.: Efficacy of fish oil concentrate in the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2000, 27, 2343.
117. Volker D, Garg M.: Dietary n-3 fatty acid supplementation in rheumatoid arthritis – mechanisms, clinical, outcomes, controversies, and future directions. *J Clin Biochem Nutr*. 1996, 20, 83.
118. James MJ, Cleland LG.: Dietary n-3 fatty acids and therapy for rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 1997, 27, 85.
119. Geusens PP.: N-3 fatty acids in the treatment of rheumatoid arthritis. In: Kremer J editor. *Medical fatty acids in inflammation*. Basel: Birkhauser Verlag. 1998, 111.

120. Calder PC.: n-3 fatty acids, and rheumatoid arthritis. In: Ransley JK, Donnelly JK, Read NW, editors. Food and nutritional supplements in health and disease. London: Springer Verlag. 2000c.
121. Ziboh VA. The role of n-3 fatty acids in psoriasis. In Kremer J editor. Medical fatty acids in inflammation. Basel: Birkhauser Verlag. 1998, 45.
122. Maser P.: Omega-3 fatty acid-based lipid infusion In patients with chronic plaque psoriasis J Am Acad Dermatol. 1998, 39, 421.
123. Danno K.: Combination therapy with low-dose etretinate and EPA for psoriasis. J Dermatol. 1998, 25, 703.
124. Black PN, Sharpe S: Dietary fat and asthma: is there a connection? Eur Respir J. 1997, 10, 6.
125. Broughton KS, Johnson CS, Pace BK i wsp.: Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. Am J Clin Nutr. 1997, 65, 1011.
126. Arm JP, Horton CE, Spur i wsp.: The effects of dietary supplementation with fish oil lipids on the airways response to inhaled allergen in bronchial asthma. Am Rev Respir Dis. 1989, 139, 1395.
127. Hodge L, Salome CM, Hughes JM i wsp.: Effect of dietary intake of omega-3 and omega-6 fatty acids on severity of asthma in children. Eur Res J. 1998, 11, 361.
128. Thien FCK, Menciahuerta JM, Lee TK.: Dietary fish oil effects on seasonal hay fever and asthma in pollen sensitive subjects. Am Rev Resp Dis. 1993, 147, 1138.
129. Dry J, Vincent D.: Effect of fish oil diet on asthma – Results of a 1-year double-blind study. Int Arch Allergy App Immunol. 1991, 95, 156.
130. Masuev KA.: The effect of dietary of omega-3 polyunsaturated fatty acids on late phase of allergic reaction in patients with bronchial asthma. Terap Ark. 1997, 96, 31.
131. Calder PC, Miles EA.: Fatty acids and atopic disease. Pediatr Allerg Immunol. 2000, 11, 29.
132. Kankaanpaa P, Sutas Y, Salminen S i wsp.: Dietary fatty acids and allergy. Ann. Med. 1999, 31, 282.
133. Georgieff M, Tugtekin IF.: Positive role of immune nutrition on metabolism in sepsis and multi-organ failure. Kidney. Int. Suppl. 1998, 64, 80.
134. Tashiro T, Yamamori H, Takagi i wsp.: n-3 versus n-6 polyunsaturated fatty acids in critical illness. Nutrition. 1998, 14, 551.

135. Heine J, Scheinichen D, Jaeger i wsp.: In vitro influence of parenteral lipid emulsions on the respiratory burst of neutrophils. *Nutrition*. 1999, 15, 540.
136. Pscheidl E, Schywalsky M, Tschakowsky K.: Fish oil-supplemented parenteral diets normalize splanchnic blood flow and improve killing of translocated bacteria in a low-dose endotoxin rat model. *Crit. Care. Med.* 2000. 28, 1489.
137. Lanza-Jacoby S, Flynn JT, Miller S.: Parenteral supplementation with a fish-oil emulsion prolongs survival and improves rat lymphocyte function during sepsis. *Nutrition*. 2001, 17, 112.
138. Mayer K, Grimm H, Grimminger F i wsp.: Parenteral nutrition with n-3 lipids in sepsis. *Br. J. Nutr.* 2002, 87, 69.
139. Heyland DK.: Should immunonutrition become routine in critically ill patients? *JAMA* 2001, 22-29, 286:944.
140. Yeh SL, Chang KY, Huang PC et al.: Effects of n-3 and n-6 fatty acids on plasma eicosanoids and liver antioxidant enzymes in rats receiving total parenteral nutrition.
141. Maes M, Christophe A, Bosmans E et al.: In humans, serum polyunsaturated fatty acid levels predict the response of proinflammatory cytokines to psychologic stress. *Biol. Psychiatry*. 2000, 15, 910.
142. Hughes DA, Pinder AC: N-3 polyunsaturated fatty acids inhibit the antigen-presenting function of human monocytes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71, 357.
143. Sanderson P, MacPherson GG, Jenkins CH i wsp.: Dietary fish oil diminishes the antigen presentation activity of rat dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.* 1997, 62, 771.
144. Zaloga GP, Marik P: Lipid modulation and systemic inflammation. *Crit Care Clin.* 2001, 17, 201.
145. Johnz-Różyk K.: Astma oskrzelowa a przewlekła obturacyjna choroba płuc. *Astma oskrzelowa i przewlekła obturacyjna choroba płuc*. Płusa T i Johnz-Różyk K. *Medpres*. Warszawa 2001, 11
146. Sładek K.: Mechanizm zapalenia w astmie i POChP. *Astma oskrzelowa i przewlekła obturacyjna choroba płuc*. Płusa T i Johnz-Różyk K. *Medpres*. Warszawa 2001, 84.
147. Lewkowicz P, Gurańska N and Tchórzewski H: The assessment of TNF- α induced priming of neutrophils using a whole blood chemiluminescence in some diseases with different pathogenesis. *Chemiluminescence at the Turn of the Millennium*. *Schweda-Werbedruck GmbH Dresden*. 2001 Part 2, 118.
148. Kuhn DC, Crawford M.: Placental essential fatty acid transport and prostaglandin synthesis. *Prog Lipid Res.* 1986, 25, 345.

149. Ruyle M, Connor WE, Anderson EN I wsp.: Placental transfer of essential fatty acids in human: venous arterial differences for docosahexaenoic acid in fetal umbilical erythrocytes. *Proc Natl Acad USA*. 1990, 87, 7902.
150. Martinez M.: Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr*. 1992, 120, S129.
151. Beijers RJW, Schaafsma A.: Long-chain polyunsaturated fatty acids content in Dutch preterm breast milk; differences in the concentrations of docosahexaenoic acid and arachidonic acid due to length of gestation. *Early Hum Dev*. 1996, 34, 164.
152. Foreman-van Drongelen MPh, Houwelingen ACV, Kester ADM i wsp.: Long-chain polyunsaturated fatty acids in pre-term infants: status at birth and its influence on postnatal levels. *J Pediatr*. 1995, 126, 611.
153. Carlson Se, Rhodes PG, Ferguson MG.: Docosahexaenoic acid status of parterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Nutr*. 1986, 44, 798.
154. Uauy RD, Birch DG, Birch EE i wsp.: Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very-low-birth weight neonates. *Pediatr Res*. 1990, 28, 485.
155. Uauy RD, Hoffman DR. Essential fatty acid requirements for normal eye and brain development. *Sem Perinatal*. 1991, 15, 449.
156. Nestel P.: Optimizing dietary fatty acids to prevent coronary heart disease. *Proceeding of the 14-th International Congress of Nutrition, Seoul 1989*.
157. FAO/WHO. 1994. Fats and oils in human nutrition. Food and nutrition paper no 57. FAO/WHO.
158. De Luis Roman DA.: Nutritional treatment for AIDS using an enterotropic peptide-based formula enriched with n-3 fatty acids *Eur J Clin Nutr*. 2001, 55, 1048