

Właściwości i rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt

Bożena Bałasińska, Michał Jank, Gustaw Kulasek

z Katedry Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Tłuszcz postrzegany jest jako „najgorszy” spośród wszystkich składników żywności. Przypisuje mu się odpowiedzialność za rozwój wielu chorób, w tym otyłości, cukrzycy typu 2 i nowotworzenia. Ponieważ tłuszcze z pokarmu wpływają na stężenie cholesterolu we krwi, to tym samym mają również wpływ na rozwój chorób układu krążenia. Jednocześnie tłuszcz jest najlepszym związkiem energetycznym spośród wszystkich składników żywności; 1 g tłuszczu dostarcza organizmowi 37 kJ. Ponadto tłuszcz umożliwia absorpcję rozpuszczalnych w nim witamin i innych hydrofobowych związków biologicznie aktywnych, np. karotenoidów. Dlatego ważne jest, aby nie eliminować tłuszczu z diety, ale zwracać uwagę na ilość i rodzaj spożywanego tłuszczu. Ma to szczególne znaczenie z punktu widzenia profilaktyki i leczenia chorób metabolicznych, które

dotyczą nie tylko ludzi, ale również zwierząt, zwłaszcza towarzyszących.

Charakterystyka chemiczna tłuszczu

Termin tłuszcz (lipidy) jest bardzo szeroki i w zależności od przyjętych kryteriów możemy dokonać różnej jego klasyfikacji. Ze względu na stan skupienia mówimy o tłuszczach ciekłych i stałych. Na podstawie budowy chemicznej tłuszcze można podzielić na proste i złożone.

Tłuszcze proste są estrami wyższych kwasów tłuszczowych i glicerolu (ryc. 1). W obrębie tej grupy dodatkowo można mówić o mono-, di- i triacyloglicerolach, ponieważ glicerol ma trzy grupy wodorotlenowe, które mogą być zestryfikowane. W przypadku mono- i diacylogliceroli istotne będzie czy zestryfikowana jest grupa przy pierwszym, drugim czy trzecim węglu glicerolu.

Mówimy wtedy o konfiguracji sn-1, sn-2, sn-3. Kolejnym aspektem jest rodzaj kwasu tłuszczowego, który występuje w cząsteczce tłuszczu. Cząsteczkę glicerolu mogą estryfikować trzy takie same cząsteczki kwasu tłuszczowego lub trzy różne, ale również dwie jednakowe i jedna różna (ryc. 2). Jeżeli jeszcze do tego powiemy, że te różne kwasy tłuszczowe mogą przybierać odpowiednie położenie sn-1, sn-2 czy sn-3, to widzimy już na przykładzie najprostszych połączeń w cząsteczce tłuszczu, jak szeroka i zróżnicowana jest to grupa związków.

Oprócz tłuszczów prostych można wyróżnić tłuszcze złożone, w których oprócz kwasów tłuszczowych i glicerolu mogą występować jeszcze aminy, cukry, alkohole, zarówno łańcuchowe, jak i cykliczne, np. cholesterol. Dodatkowo glicerol estryfikować mogą również kwasy nieorganiczne, np. kwas fosforowy, mówimy wtedy o fosfolipidach. Nie jest więc łatwo sklasyfikować tę grupę związków. To co jest charakterystyczne dla tej klasy związków, to obecność w nich kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe, a szczególnie wielonienasycone kwasy tłuszczowe, będą stanowiły temat tego opracowania.

Kwasy tłuszczowe

Kwasy tłuszczowe zbudowane są z łańcucha węglowego zakończonego grupą

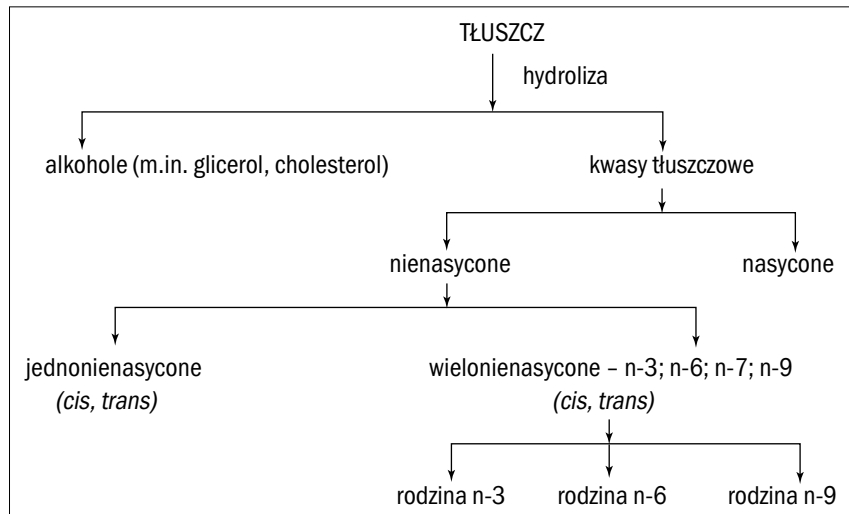
Properties and the role of polyunsaturated fatty acids in health protection of human and animal

Bałaśńska B., Jank M., Kulasek G., Department of Physiological Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

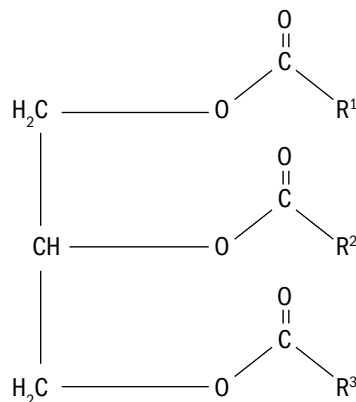
The aim of this paper was to present current knowledge on the role of polyunsaturated acids (PUFA), in health protection in human and animal. Fat is considered as the worst food ingredient. It is often treated as responsible for the development of many diseases including obesity, type 2 diabetes mellitus and neoplasms. Since the fats consumed influence the blood cholesterol level, they are also related with the development of circulatory system diseases. At the same time the fat is best energy source among all food ingredients and 1g of fat gives 37kJ of energy. Moreover, fat allows for the absorption of fat-soluble vitamins and other hydrophobic, biologically active compounds i.e. carotenoids. Polyunsaturated fatty acids are also substrates for synthesis of eicosanoids, which are pro- or anti-inflammatory factors. Because icosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) show anti-inflammatory effect they become a subject of special interest in medicine and also in veterinary medicine. Therefore the fat should not be eliminated from the diet but its amount and type should be carefully monitored. This is of importance for the prevention and treatment of metabolic diseases occurring not only in humans but also in animals, especially in companion ones.

Keywords: polyunsaturated fatty acids, health, animals.

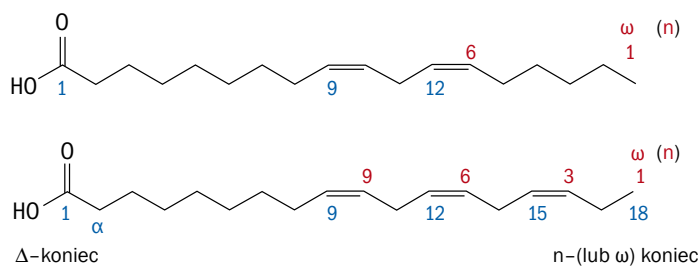
karboksylową (COOH). W ich budowie można więc wyróżnić dwie grupy, które znajdują się na końcach łańcucha, z jednej strony jest to grupa metylowa $-CH_3$, z drugiej grupa karboksylowa $-COOH$. Pozycje podstawnika bądź występowanie wiązania podwójnego w łańcuchu można podawać, licząc węgle zarówno od jednej, jak i drugiej strony i stąd wyróżniamy n lub czasami nazywany ω -koniec (przy grupie CH_3) albo Δ -koniec (przy grupie COOH) łańcucha węglowego (ryc. 3). Zgodnie z obecnie obowiązującą nomenklaturą przyjmuje się liczenie od n -końca. Choć liczba atomów węgla w łańcuchu kwasów tłuszczowych może być bardzo zróżnicowana (od 4 do 80), to powszechnie występujące w żywności kwasy tłuszczowe zawierają od 14 do 24 atomów węgla. Kwasy tłuszczowe występujące u ssaków mają zwykle parzystą liczbę atomów węgla w łańcuchu (do 24). Kwasy o nieparzystej liczbie atomów węgla występują w niewielkich ilościach przede wszystkim u zwierząt o intensywnych procesach fermentacji w przewodzie pokarmowym. Kwasy o krótkim łańcuchu, takie jak kwas propionowy



Ryc. 1. Schemat hydrolizy tłuszczu



Ryc. 2. Struktura triacylogliceroli. R^1, R^2, R^3 - kwasy tłuszczowe (takie same lub różne) w pozycjach sn-1, sn-2, sn-3



Ryc. 3. Struktura kwasów tłuszczowych

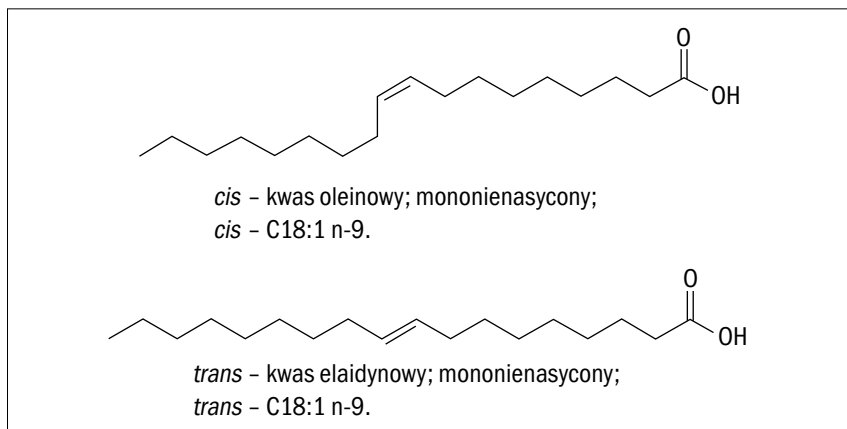
(3 atomy węgla) czy masłowy (butylowy – 4 atomy węgla) powstają podczas fermentacji polisacharydów w jelicie grubym. Kwas butylowy wzbudza obecnie coraz szersze zainteresowanie ze względu na rolę jaką odgrywa w zabezpieczeniu przed chorobami jelita grubego. Kwasy o krótkim łańcuchu węglowym często nazywane są lotnymi kwasami tłuszczowymi. Kwasy tłuszczowe zawierające od 14 do 18 atomów węgla nazywane są długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi, a kwasy 20-węglowe i powyżej – kwasami bardzodługołańcuchowymi.

Atomy węgla w łańcuchach kwasów tłuszczowych mogą być połączone wiązaniami pojedynczymi i wówczas są to kwasy tłuszczowe nasycone (saturated fatty acids – SFA). Jeżeli w łańcuchu węglowym pomiędzy atomami węgla występuje jedno lub więcej wiązań podwójnych, to są to kwasy nienasycone, przy czym, jeżeli w cząsteczce jest tylko jedno wiązanie podwójne, są to kwasy tłuszczowe mononienasycone (monounsaturated fatty acids – MUFA). Jeżeli w łańcuchu znajduje się więcej niż jedno wiązanie podwójne, wówczas są to kwasy

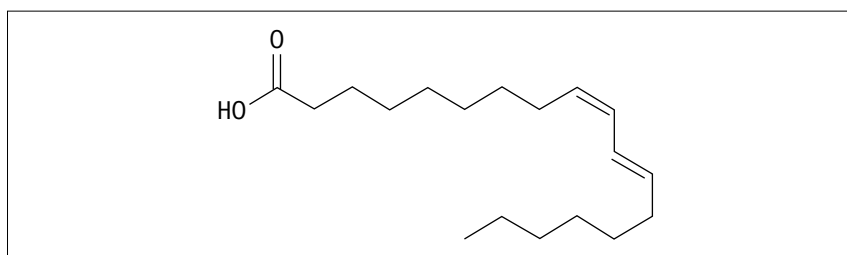
wielonienasycone (polyunsaturated fatty acids – PUFA).

Wiązania podwójne w łańcuchach kwasów tłuszczowych wpływają dodatkowo na występowanie izomerii przestrzennej *cis* i *trans* (ryc. 4). W organizmach żywych i żywności występują przede wszystkim izomery *cis*, tzn. podstawniki znajdujące się przy różnych węglach połączonych wiązaniem podwójnym znajdują się po jednej stronie wiązania. W izomerach *trans* podstawniki występują po dwóch stronach wiązania podwójnego. Położenie kilku wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym względem siebie może być również zróżnicowane. Wiązania podwójne rozdzielone od siebie dwoma wiązaniami pojedynczymi określamy jako wiązania podwójne izolowane. Taki układ wiązań występuje najczęściej. Dwa wiązania podwójne oddzielone od siebie jednym wiązaniem pojedynczym to układ wiązań sprzężonych (skoniugowanych; ryc. 5), a leżące przy jednym węglu to układ skumulowany. W organizmach człowieka i innych ssaków występują kwasy nienasycone zawierające od 1 do 6 wiązań podwójnych, przy czym, szczególnie u zwierząt przeżuwających, mogą występować kwasy tłuszczowe zawierające wiązania sprzężone; kwasy te dodatkowo mogą przyjmować konfigurację *trans*.

Położenie wiązania podwójnego w łańcuchu węglowym wyznacza tzw. serie (rodziny) kwasów tłuszczowych i klasyfikuje je jako kwasy tłuszczowe n-3, n-6, n-7, n-9, co oznacza, że pierwsze wiązanie podwójne znajduje się przy 3 lub 6 itd. węglu łańcucha, licząc od n-końca, czyli grupy $-CH_3$. Dlatego oprócz nazw zwyczajowych, które ciągle funkcjonują, obecnie stosuje się bardzo precyzyjny zapis metodą cyfrowo-literową. Sposób odczytywania takiego zapisu, np. kwasu linolenowego (ALA) – C18:3 n-3 jest następujący: C – atom węgla (często tę literę się opuszcza), liczba 18 wskazuje liczbę atomów węgla w łańcuchu, cyfra 3 po dwukropku (bez spacji) mówi ile wiązań podwójnych występuje w łańcuchu (można powiedzieć, że kwas ten jest trienem, bo ma trzy wiązania podwójne), po spacji litera n (lub ω) i cyfra 3 informuje, że pierwsze wiązanie podwójne występuje między węglem 3 i 4. Z takiego zapisu można również wnioskować, że każde następne wiązanie podwójne w tym łańcuchu jest izolowane, tzn., że jest rozdzielone co najmniej dwoma wiązaniami pojedynczymi. Kwas ten należy więc do rodziny n-3 (lub ω -3). Przez rodzinę kwasów tłuszczowych rozumie się wszystkie kwasy tłuszczowe, w których łańcuchu pierwsze podwójne wiązanie będzie występować przy tym samym węglu. Kwasy tłuszczowe w obrębie jednej rodziny różnić się będą długością łańcucha węglowego oraz liczbą wiązań podwójnych, które będą rozdzielone



Ryc. 4. Konfiguracja *cis* i *trans* kwasu C18:1 n-9



Ryc. 5. Sprzężony dien kwasu linolowego (LA)

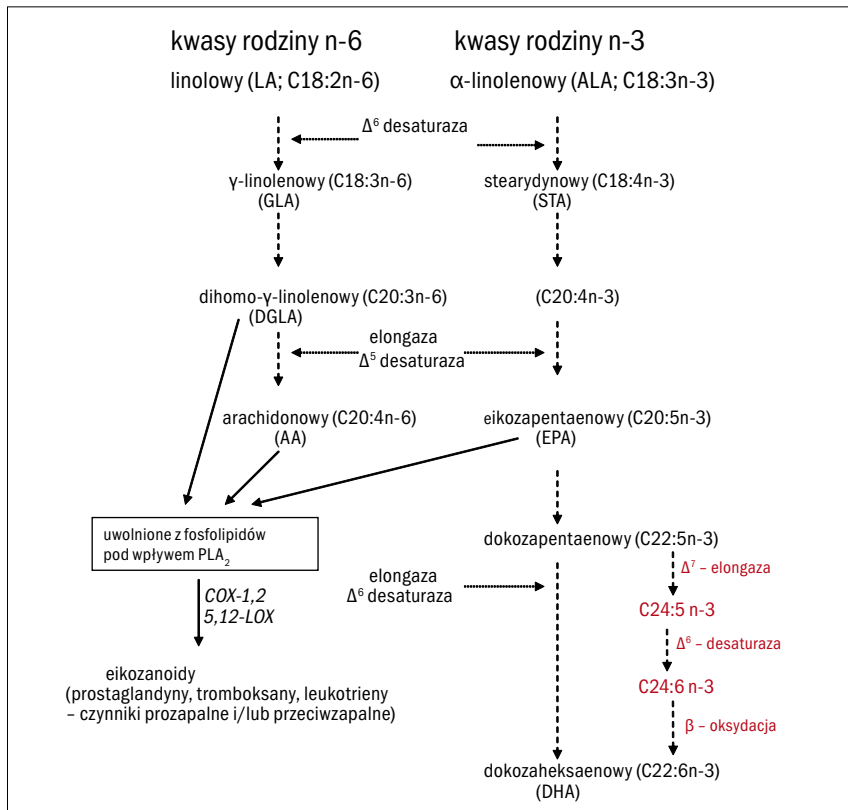
dwoma wiązaniami pojedynczymi. Pierwszy kwas z określonej rodziny, który jest prekursorem w syntezie następnych kwasów tej rodziny, nazywa się kwasem macierzystym. Stwierdzono, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe w organizmach ssaków należą do czterech rodzin: n-3 i n-6 oraz n-9 i n-7. Wszystkie wielonienasycone kwasy z rodzin n-7 i n-9 mogą być syntetyzowane przez organizmy ssaków, natomiast kwasy z rodzin n-3 i n-6 są to kwasy egzogenne i przynajmniej ich formy macierzyste muszą być dostarczone z pokarmem (przez łożysko, z mlekiem matki lub jako składnik diety dla osobników dorosłych). Dostarczone z pożywieniem kwasy macierzyste tych rodzin: linolowy (LA) i linolenowy (ALA) ulegają w organizmie przebudowie, w wyniku której następuje wydłużenie łańcucha węglowego (elongacja) oraz wprowadzenie dodatkowych wiązań podwójnych (desaturacja) (ryc. 6). W ten sposób w obrębie każdej z rodzin powstają kwasy dwudziestowęglowe (eikozenowe) oraz dwudziestodwuwęglowy (dokozaheksaenowy) kwas n-3. Trzeba również zaznaczyć, że chociaż w metabolizmie kwasów obu rodzin uczestniczą te same enzymy, to jednak przechodzenie kwasów jednej rodziny w drugą jest niemożliwe.

Znaczenie biologiczne kwasów tłuszczowych nienasyconych rodzin n-3 i n-6

Początkowe badania dotyczące roli kwasów tłuszczowych w żywych organizmach prowadzone były na początku XX wieku (1, 2).

Wykazano wówczas, że szczury otrzymujące dietę bez tłuszczu gorzej przyrastały, miały wyraźne zmiany skórne, z utratą owłosienia włącznie, i w końcu padały. Autorzy tych prac wskazywali, że spowodowane jest to nieobecnością w diecie kwasów LA i ALA. Uznano więc, że kwasy te są niezbędnymi składnikami diety dla szczurów (essential fatty acids – EFA). W następnych latach stwierdzono, że niezbędność tych kwasów w diecie dotyczy również człowieka i pozostałych ssaków, chociaż coraz częściej zaczęto podkreślać, że EFA to nie tylko LA i ALA, ale również inne wielonienasycone kwasy tłuszczowe, których niedobory objawiają się zakłóceniem wzrostu, funkcjonowania układu oddechowego, dermatozami, nasileniem metabolizmu energetycznego i uszkodzeniem nerek (3). Z kolei prof. Światosław Ziemiański z Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawie zaproponował precyzyjny termin w języku polskim: **niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT)**, który obejmuje w całości zagadnienie konieczności stosowania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie człowieka i zwierząt.

Ponowne zainteresowanie tłuszczem gwałtownie wzrosło na przełomie XX i XXI wieku, kiedy okazało się, że długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe uczestniczą w wielu procesach regulacyjnych na poziomie komórek, tkanek i całego organizmu. Największe zainteresowanie dotyczy sygnałowej roli metabolitów NNKT i ich pochodnych, zwłaszcza tych, które dotyczą procesów zapalnych. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe



Ryc. 6. Synteza wielonienasyconych kwasów długołańcuchowych z ich prekursorów – kwasów linolowego (LA) i α-linolenowego (ALA). Kwasy DGLA, AA, EPA, DHA są bardzo ważne w utrzymaniu integralności błon komórkowych, są prekursorami dla serii związków o charakterze pro- lub przeciwzapalnym. DHA jest konieczny do prawidłowego rozwoju mózgu oraz siatkówki oka u płodów i noworodków. Na czerwono zaznaczono alternatywną drogę syntezy DHA

są bowiem substratami w syntezie eikozanoidów – biologicznie aktywnych substancji o charakterze hormonów tkankowych. Wśród eikozanoidów można wyróżnić prostaglandyny, prostacykliny, tromboksany, leukotrieny i lipoksyny. Związki te powstają przy udziale enzymów: lipoksygenaz lub cyklooksygenaz i w zależności od substratu mogą tworzyć eikozanoidy cykliczne, monoenowe, dienowe lub trienowe. Eikozanoidy oddziałują na czynność wielu tkanek i narządów, przy czym szczególną rolę spełniają w regulowaniu czynności układu sercowo-naczyniowego. Prostacykliny wywierają silny wpływ na rozszerzenie naczyń wieńcowych i zwiększenie siły skurczu mięśnia sercowego. Tromboksany wpływają na agregację płytek krwi, a tym samym na powstawanie zakrzepów naczyniowych (4).

Znaczenie NNKT w medycynie weterynaryjnej zostało omówione po raz pierwszy w 1995 r. przez White (5). Również w Katedrze Nauk Fizjologicznych SGGW prowadzone są prace nad wpływem kwasów tłuszczowych na zdrowie zwierząt (6, 7). Podawanie w diecie kwasów tłuszczowych wiąże się nie tylko ze zdrowiem zwierząt, ale również z uzyskaniem produktów pochodzenia zwierzęcego wzbogaconych w NNKT i przeznaczonych dla człowieka (8, 9). O ogromnym zainteresowaniu NNKT może świadczyć liczba prac

oryginalnych i przeglądowych, która narasta wprost lawinowo (10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33). Ten wzrost zainteresowania łączy się również z rozwojem nowoczesnych metod analitycznych bioaktywnych kwasów tłuszczowych (34, 35).

Prace dotyczące roli tłuszczu w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt dotyczą nie tylko kwasów wielonienasyconych, ale również jednonienasyconych i nasyconych. Z prac tych wynika, że nasycone kwasy tłuszczowe, zwłaszcza kwasy: palmitynowy (16:0), mirystynowy (14:0) i laurowy (12:0), a w mniejszym stopniu stearynowy (18:0) podwyższają stężenie cholesterolu w lipoproteinach o niskiej gęstości (LDL-cholesterol). Nasycone kwasy tłuszczowe mogą być również czynnikiem sprzyjającym rozwojowi niektórych nowotworów zarówno u ludzi, jak i innych ssaków. Dlatego niektórzy autorzy zalecają, aby dzienne spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych u człowieka nie przekraczało 10% pobranej energii. Podobne, niekorzystne działanie wykazują także niektóre *trans* kwasy, powstające w wyniku utwardzania wielonienasyconych tłuszczów roślinnych (36). Z kolei wiele badań przeprowadzonych na ludziach wskazuje, że jednonienasycony kwas olejowy (18:1 n-9) występujący w znaczących ilościach w oliwie

chroni organizm człowieka przed rozwojem zmian aterosgennych (dieta śródziemnomorska). A zatem, kiedy ocenia się rolę kwasów tłuszczowych w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt, należy brać pod uwagę rodzaj spożywanego tłuszczu.

Tłuszcze w pokarmach występują głównie w formie triacylogliceroli, które w żołądku i w jelicie cienkim podlegają hydrolizie pod wpływem lipaz żołądkowej i trzustkowej. W wyniku tej reakcji powstają częściowo monoacyloglicerole i diacyloglicerole oraz uwalniają się kwasy tłuszczowe (14, 31). Kwasy tłuszczowe długołańcuchowe łączą się ze specjalnym białkiem (LBP), które ułatwia ich wchłanianie do limfy. Wchłanianie poszczególnych kwasów tłuszczowych jest zależne od pozycji jaką zajmują w cząsteczkach triacylogliceroli. Nasycone kwasy tłuszczowe znajdujące się w pozycjach sn-1 i sn-3 są słabo wchłaniane (36). Uwalnianie wolnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z zapasów tłuszczu jest również zróżnicowane i układa się w następującym porządku: EPA>AA<ALA<DHA<LA (37).

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe rodziny n-3

Macierzystą formą tej rodziny kwasów jest kwas linolenowy (ALA; 18:3 n-3), a bioaktywnymi formami jest kwas eikozapentaenowy (EPA; 20:5 n-3) oraz kwas dokozahexaenowy (DHA; 22:6 n-3) oraz ich pochodne – eikozanoidy powstałe z EPA i dokozanoidy z DHA. Ważnym kwasem tej rodziny okazuje się również kwas stearydynowy (STA; 18:4 n-3).

Najbogatszym i łatwo dostępnym źródłem **kwasu linolenowego** – ALA są oleje z nasion roślin oleistych, przede wszystkim z lnu (ok. 53%), rzepaku (ok. 9%) i soi (ok. 7%) (38). Wchłanianie ALA u człowieka wyznaczone metodą znaczonego ¹³C wynosi około 96%, ale konwersja do EPA i DHA jest niska. Burdge i wsp. (39) podawali pacjentom-mężczyznom kwas linolenowy znakowany stabilnym izotopem ¹³C i wykazali, że tylko 8 i ≤0,5% odnajdywano odpowiednio w EPA i DHA. W podobnym doświadczeniu na kobietach w okresie rozrodczym stwierdzono, że przemiana kwasu linolenowego do EPA i DHA była wyższa niż u mężczyzn i wynosiła 21 i 9% odpowiednio dla EPA i DHA (40). Inaczej rzecz się ma u gryzoni, u których synteza EPA i DHA z kwasu linolenowego jest kilkakrotnie bardziej wydajna niż u człowieka i innych ssaków (41, 28). Ponieważ ukazuje się coraz więcej prac wskazujących na niewielki udział ALA w syntezie EPA i DHA, to uzasadnione zaczyna być pytanie, czy wszystkie kwasy n-3 powinno traktować się łącznie (28, 42).

Kwas stearydynowy (STA; 18:4 n-3) występuje między innymi w oleju z ogórecznika, wiesiołka, jeżówki i w niektórych roślinach tropikalnych. Olej z nasion żmijowca (*Echium plantaginium*) zawiera około 12% STA, natomiast w odmianie uprawianej w Polsce (*Echium vulgare* L.) stwierdzono około 10% tego kwasu (43). Wydajność nasion z jednostki powierzchni jest jednak niska i dlatego rozpoczęto prace nad wyprodukowaniem soi transgenicznej, która wytwarzałaby kwasy stearydynowy i γ -linolenowy (18:3 n-6; GLA). W tym celu do genomu soi wprowadzono gen Δ^6 desaturazy z ogórecznika (*Borago officinalis* L.), odpowiedzialny za syntezę tych kwasów. Olej pochodzący z takiej transgenicznej soi z pokolenia T₁ zawierał od 3,4 do 28,7% kwasu γ -linolenowego i 4,2 do 28,7% kwasu stearydynowego (44, 45). Harris i wsp. (46) badali wpływ oleju sojowego z soi genetycznie zmodyfikowanej (około 20% kwasu stearydynowego) na wskaźniki sercowo-naczyniowe u pacjentów-ochotników z nadwagą. Ochotnicy z grupy doświadczalnej otrzymywali przez 16 tygodni po 20 ml oleju sojowego wzbogaconego w STA (3,7 g/d), zaś z grupy kontrolnej taką samą ilość oleju sojowego standardowego. Odkładanie się EPA w błonach krwinek czerwonych z kwasu stearydynowego wyniosło 16,6%, zaś z kwasu linolenowego tylko 0,1%. Doświadczenie to wykazało, że enzym Δ^6 desaturaza u badanych pacjentów był czynnikiem limitującym sprawne wykorzystywanie ALA do syntezy EPA. Również podawanie z pokarmem oleju z nasion żmijowca (*Echium plantaginium*), który zawiera kwas STA, zwiększa stężenie kwasu EPA w większym stopniu, niż przy podawaniu kwasu ALA (47). Podobne modyfikacje prowadzi się również na nasionach lnu, a otrzymany z tych nasion olej zawiera również znaczące ilości kwasu STA (48).

Kwas stearydynowy jest z jednej strony produktem przemian kwasu linolenowego, a z drugiej substratem do syntezy długołańcuchowych NNKT. Zatem dla ludzi lub zwierząt, u których system enzymatyczny jest upośledzony lub są uczuleni na preparaty rybne zawierające EPA i DHA można podawać preparaty roślinne, takie jak olej z ogórecznika lub z wiesiołka, które są bogate w STA (49, 50, 51). Przeprowadzone badania toksykologiczne na szczurach, którym podawano STA przez 28 lub 90 dni w ilości 1, 5; 3; 4 g/kg masy ciała nie wykazały ujemnego wpływu na zdrowie zwierząt, w tym na ich rozród (52). Wielu autorów proponuje więc zwiększenie w diecie olejów roślinnych zawierających STA, ponieważ według nich może być u ssaków pełnowartościowym zamiennikiem dla EPA, a przez to czynnikiem ograniczającym rozwój chorób, w których występuje

proces zapalny (alergie, astma, choroby naczyniowo-sercowe; 53, 46).

Źródłem **długołańcuchowych kwasów n-3 – EPA i DHA** są ryby oraz oleje z nich wytwarzane, a ostatnio coraz częściej hodowlane algi morskie. Najwięcej EPA i DHA zawierają łososie i szprotki. Wykonano również pierwsze próby podawania ludziom oleju z kryla, który różni się od oleju z ryb tym, że obecne w nim kwasy tłuszczowe znajdują się przede wszystkim w fosfolipidach, a nie jak w oleju z ryb w triacyloglicerolach (54).

Dobrym źródłem n-3 NNKT dla ludzi może być również tzw. żywność funkcjonalna, czyli produkty, które wzbogacone w biologicznie aktywne składniki będą wykazywać korzystne dla zdrowia działanie. Do żywności takiej mogą należeć jaja kur (kwasy NNKT gromadzą się w żółtku) i mięso tuczników żywionych karmami zawierającymi kwasy wielonienasycone. W Polsce dostępne są jaja kur żywionych dietą zawierającą algi morskie. Źródłem PUFA w żywieniu zwierząt jest mączka rybna (8, 55, 56).

Kwas eikozapentaenowy (EPA; 20:5 n-3) oprócz tego, że jest substratem w syntezie DHA, to jednak przede wszystkim warunkuje prawidłową syntezę eikozanoidów, które wykazują słabsze działanie prozapalne lub/i przeciwzapalne niż powstałe z kwasów rodziny n-6.

Kwas dokozaheksaenowy (DHA. 22:6 n-3) w największych stężeniach występuje w fosfolipidach siatkówki (około 45% wszystkich lipidów) oraz w niektórych obszarach mózgu (ok. 30%); szczególnie wysokie stężenie DHA stwierdzono w obszarach w pobliżu synaps nerwowych. U ssaków dużo DHA znajduje się w mięśni sercowym i w plemnikach (25, 27). Świadczy to o istotnej roli tego kwasu w prawidłowym funkcjonowaniu narządów i komórek.

Sprecher (57) zaproponował dodatkową drogę syntezy DHA, która przebiega poprzez elongację i desaturację kwasu dokozapentaenowego w mikrosomach, a następnie skracanie łańcucha węglowego do DHA, które zachodzi w peroksy-somach (ryc. 6). Jak wynika z ryciny 6, kwasy ALA i LA w przemianach metabolicznych współzawodniczą o te same enzymy, stąd istotne jest, aby w żywieniu zachowany był odpowiedni stosunek ilościowy tych kwasów, zwłaszcza że większe powinowactwo do enzymów wykazują kwasy n-3 niż n-6 (13).

Wiele publikacji dotyczy znaczenia kwasów EPA i DHA w prawidłowym rozwoju płodu. U ssaków w czasie ciąży, przede wszystkim w trzecim tryestrze, ma miejsce największa retencja DHA w układzie nerwowym płodu. U dzieci również istotne są pierwsze dwa lata po

urodzeniu. U płodów i nowo narodzonych dzieci przyspieszone gromadzenie DHA w ośrodkowym układzie nerwowym jest dodatnio skorelowane z retencją kwasu arachidonowego (AA, C20:4 n-6). U wcześniaków obserwuje się utrudnione gromadzenie DHA w mózgu i siatkówce (58). Chociaż w mleku matek karmiących nie stwierdza się zupełnego braku kwasu DHA, to jednak stężenie tego kwasu jest w dużym stopniu zależne od diety. Największe jest u kobiet spożywających dużo ryb, a najmniejsze u wegetarianek. Dodatek AA oraz DHA do diety u laktujących kobiet zwiększa stężenie tych kwasów w mleku (59, 60).

Na podstawie wielu badań dotyczących wpływu kwasów DHA i AA na rozwój płodów i nowo narodzonych dzieci sugeruje się więc wprowadzenie do diety ciężarnych i laktujących kobiet gotowych kwasów DHA i AA (61, 62). W USA już od 2002 r. rozpoczęto suplementację tymi kwasami odżywek dla dzieci (61). Wiele organizacji zajmujących się zdrowiem, m.in. amerykańska agencja rządowa – Food and Drug Administration (FDA) w 2004 r. uznała, że w dietach dla wszystkich ludzi powinny znaleźć się długołańcuchowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 – EPA i DHA. Nie wspomiano tam jednak nic o kwasie ALA – macierzystym kwasie tej rodziny oraz kwasie STA, co spowodowało głośny sprzeciw (63). Wiele bowiem prac wskazuje na duży udział kwasu ALA w zapobieganiu chorobom układu krążenia, a co za tym idzie na włączenie tego kwasu do diety ludzi (64). Te zalecenia FDA mogły wynikać z badań przedstawionych wcześniej, które wskazywały na niewielki udział kwasu ALA w syntezie długołańcuchowych kwasów EPA i DHA. Według zaleceń organizacji dietetycznych spożycie długołańcuchowych NNKT powinno wynosić przynajmniej 350 mg/dzień na dorosłą osobę, chociaż niektórzy twierdzą, że powinno wynosić nie mniej niż 500 mg/dzień (56, 65). W czerwcu 2008 r. w Baltimore (USA) odbyło się spotkanie, na którym dyskutowano aktualny stan wiedzy o znaczeniu DHA w żywieniu człowieka. Artykuły z tego spotkania, uzupełnione o wyniki dyskusji, zostały zamieszczone w podwójnym numerze *Prostaglandin, Leukotriens and Essential Fatty Acids* (2009, 81, zeszyt 2/3).

Wyniki badań wskazujące na duże znaczenie DHA w rozwoju młodych organizmów, a później w utrzymaniu zdrowia osobników starszych, powinny skłonić lekarzy weterynarii do większego zainteresowania wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi. NNKT w diecie zwierząt towarzyszących, jak i zwierząt gospodarskich mogą przyczynić się bowiem do lepszego utrzymania ich dobrostanu.

Tabela 1. Kwasy tłuszczowe nienasycone

Nazwa zwyczajowa	Zapis literowo-cyfrowy – rodzina	Numer węgla, przy którym występuje wiązanie podwójne – liczone od Δ -końca
Kwasy rodziny n-3		
Linolenowy – ALA (macierzysty dla rodziny n-3)	C18:3 n-3	Δ 9,12,15
Stearydynowy (STA)	C18:4 n-3	Δ 6,9,12,15
Eikozapentaenowy (EPA)	C20:5 n-3	Δ 5,8,11,14,17
Dokozaheksaenowy (DHA)	C22:6 n-3	Δ 4,7,10,13,16,19
Kwasy rodziny n-6		
Linolowy – LA (macierzysty dla rodziny n-6)	C18:2 n-6	Δ 9,12
γ -linolenowy (GLA)	C18:3 n-6	Δ 6,9,12
Sosnowy (pinolenic acid – PNA)	C18:3	Δ 5,9,12
Dihomo- γ -linolenowy (DGLA)	C20:3 n-6	Δ 8,11,14
Arachidonowy (AA)	C20:4 n-6	Δ 5,8,11,14
Kwasy endogenne rodziny n-9		
Kwas olejowy	C18:1	Δ 9
Mead acid	C20:3	Δ 3,8,11
Erukowy	C22:1 n-9	Δ 13
Kwasy endogenne rodziny n-7		
Kwas palmitooleinowy	C16:1 n-7	Δ 9

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe rodziny n-6

Macierzystym kwasem rodziny n-6 jest kwas linolowy (LA; C18:2 n-6). Inne ważne kwasy tej rodziny to kwasy: γ -linolenowy (GLA) i dihomo- γ -linolenowy (DGLA) oraz arachidonowy (AA). Krótko omówiony będzie również kwas sosnowy (PA), znany i stosowany od dawna na Dalekim Wschodzie, a który od kilku lat wzbudza duże zainteresowanie również w krajach Europy i Ameryki (tab. 1).

Kwas linolowy (LA; 18:2 n-6) jest macierzystym kwasem rodziny n-6, którego bogatym źródłem są oleje: słonecznikowy, rzepakowy, sojowy, wiesiołkowy. Olej z rzepaku dwuzerowego (canola oil) ma niezwykle korzystny stosunek (2:1) kwasu LA do kwasu ALA, które stanowią około 75% wszystkich kwasów tłuszczowych w tym oleju, dlatego też jest on bardzo dobrym źródłem kwasów NNKT. Kwas LA, ponieważ jest wbudowywany w ceramidy będące swoistym uszczelniaczem skóry (właściwości tych nie posiada kwas ALA), chroni organizm przed nadmierną utratą wody (66). Badania dotyczące kwasu LA pozwoliły ustalić zalecenia dietetyczna dla niektórych gatunków zwierząt, np. w diecie dla gryzoni powinien znajdować się przynajmniej w ilości 10% wszystkich kwasów. Wynika to m.in. z badań Igarashi i wsp. (67), którzy przez 15 tygodni szczurom samcom po odsadzeniu podawali dietę zawierającą tylko 2,3% kwasu linolowego. Okazało się, że dieta ta nie miała wpływu na przyrosty szczurów, ale obniżyła masę

jąder o 10%, obniżyła stężenie AA w osoczu i tkankach, zaś stężenie kwasu 20:3 n-9 (wskaźnik niedoboru kwasu LA) wzrosło. Wzrosło również stężenie kwasów EPA i DHA. We współczesnych dietach zwykle jest jednak nadmiar kwasu LA, a niedobór kwasu ALA oraz jego pochodnych EPA i DHA.

Kwas γ -linolenowy (GLA; 18:3 n-6) w organizmie ssaków powstaje z kwasu linolowego przy udziale enzymu Δ^6 desaturazy. GLA w znaczących ilościach występuje w olejach z nasion ogórecznika, wiesiołka i czarnej porzeczki. W oleju z wiesiołka dziwnego znajduje się ponad 10% kwasu γ -linolenowego (18:3 n-6), który w organizmie ssaków bardzo łatwo ulega wydłużeniu (elongacji) do kwasu DGLA. W ostatnich latach zwraca się również uwagę na przeciwnowotworowe działanie oleju z wiesiołka (19).

Kwas dihomo- γ -linolenowy (DGLA; C20:3 n-6 -) powstaje w organizmie ssaków z GLA. Źródłem pokarmowym DGLA są produkty pochodzenie zwierzęcego (mięso, jaja, ryby mleko – przede wszystkim siara). DGLA w postaci triacylogliceroli może być również wytwarzany przez grzyby *Mortirella alpina* metodami biotechnologicznymi (68). Badania toksykologiczne tego oleju przeprowadzone na szczurach nie wykazały różnic w wielu badanych wskaźnikach, co wskazuje na brak toksyczności tego preparatu dla szczurów.

Z DGLA powstają eikozanoidy, które działają przeciwzapalnie i przeciwnowotworowo (69, 70). DGLA jest uwalniany ze struktur błonowych przy udziale

cyclooxygenazy A_2 , a powstałe z niego eikozanoidy (prostaglandyna PGE_1 i tromboksan A_1), wykazują działanie przeciwzapalne i naczynio-relaksacyjne oraz przeciwagregacyjne. Z DGLA przy udziale enzymu 15-lipooksygenazyA powstaje kwas hydroksy-eikozatrienowy (15-HETE), który hamuje wytwarzanie leukotrienu B_4 (LTB_4) przez komórki nacieku zapalnego, w tym neutrofile. Działanie eikozanoidów wytwarzanych z DGLA jest podobne do działania eikozanoidów wytwarzanych z EPA.

Kwas arachidonowy (AA; 20:4 n-6) występuje w strukturach błonowych komórek. Przykładowo w fosfolipidach płytek krwi człowieka aż 25% występuje w postaci arachidonianu, ale w błonach innych komórek występuje w niższych stężeniach od kilku – do kilkunastu procent (71). AA znajdujący się w tkankach ssaków może być syntetyzowany z kwasu LA, ale jego stężenie zależy również od spożywanego pokarmu (mięso, jaja). Badania nad rolą kwasu AA wskazują, że jego brak może wywoływać zakłócenia w rozrodzie u ludzi i innych ssaków, np. kotek, ale nie kocurów (72, 73). Kwas AA uczestniczy w syntezie eikozanoidów prozapalnych. W medycynie i w weterynarii od dawna wykorzystuje się leki hamujące wytwarzanie prozapalnych eikozanoidów, są to kwas acetylosalicylowy (aspiryna) i inne inhibitory cyklooxygenazy 2 (COX2). Spożycie umiarkowanych ilości kwasu AA w diecie nie jest jednak szkodliwe dla ludzi (kilkaset mg/dzień), przy czym istotne jest, aby zachować w diecie odpowiednie proporcje spożycia kwasu EPA i/lub kwasu GLA (74, 75). Na podstawie wieloletnich badań, podobnie jak przy kwasie DHA, zaleca się podawanie AA ciężarnym.

Kwas sosnowy (pinolenic acid – PNA; C18:3). Pierwsze wiązanie podwójne w tym kwasie znajduje się przy 6 węglu, następne przy 9, ale kolejne przy 11, a nie przy 12, jak to jest w kwasach rodziny n-6. Stąd kwas sosnowy nie należy do rodziny n-6, chociaż pierwsze podwójne wiązanie występuje przy 6 węglu. Olej zawierający kwas sosnowy pozyskiwany jest z nasion drzew szpilkowych, głównie sosny koreańskiej. Po kilkutygodniowym stosowaniu oleju sosnowego u ludzi zaobserwowano obniżenie ciśnienia krwi (76, 77, 78). W badaniach z mysimi makrofagami wykazano, że kwas sosnowy ulega elongacji do kwasu C20:3, a nawet do kwasu o 22-węglowym łańcuchu (C22:3). Kwas sosnowy hamuje wytwarzanie eikozanoidów z DGLA i AA. Dotychczasowe badania nad działaniem kwasu sosnowego były ograniczone brakiem dostatecznie czystych jego preparatów. W 2008 r. Finowie opublikowali nową metodę syntezy czystego pinolenianu etylowego (79). Handlowe preparaty oleju z nasion sosny koreańskiej (pine-seed oil) zawierają nieco

ponad 15% kwasu sosnowego (76). Podejmuje się również próby wzbogacenia produktów kwasem sosnowym, np. w procesie transestryfikacji wzbogacić można olej ze śledzi, podnosząc w ten sposób wartość dietetyczną oleju rybnego (80).

Niedobory niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych

Pod koniec XX wieku opisano szczegółowo objawy niedoborów NNKT u zwierząt laboratoryjnych, gospodarskich i u ludzi, które objawiają się zakłóceniem wzrostu, funkcjonowania układu oddechowego, dermatozami, nasileniem metabolizmu energetycznego, uszkodzeniem nerek, podatnością na zakażenia, zakłóceniem w ostrości widzenia i osłabieniem procesów zapamiętywania (81). Obecnie trwają intensywne prace nad wybraniem dobrego wskaźnika stanu zaopatrzenia organizmu w NNKT. Berra i wsp. (29) na podstawie własnych prac i prac innych zespołów badawczych wnioskuje, że najlepszym i najprostszym wskaźnikiem jest oznaczenie stosunku AA do DHA w pełnej krwi pacjentów. Powinien on być niższy od 15. Opisana została również szybka i tania metoda oceny stanu NNKT u ludzi poprzez oznaczenie poziomów tych kwasów w próbkach krwi z nakłutego palca, bez nakłuwania żyły (82). Wydaje się, że metodę tę można zaadaptować do badań na zwierzętach towarzyszących, pobierając krople krwi przez nakłucie małżowiny usznej. Innym wskaźnikiem może być obecność we krwi kwasu Mead (20:3 n-9; nazwa kwasu pochodzi od nazwiska jego odkrywcy). Przy niedoborze w organizmie kwasu AA na jego miejsce jest wytwarzany endogeny kwas Mead, pochodna kwasu olejowego, z którego jednak nie mogą być wytwarzane odpowiednie eikozanoidy. Kwas ten jest wytwarzany tylko wtedy, gdy równocześnie występuje niedobór kwasów ALA i LA, trzeba jednak zaznaczyć, że deficyt kwasów z rodziny n-6 jest u człowieka bardzo rzadki. Uznaje się, że przy dietach typu zachodniego stosunek Mead:AA powinien wynosić około 0,2 (83). Kiedy stosunek ten wynosi Mead:AA ≥ 4 , jest to uznawane za przejaw deficytu NNKT (3). Po wykonaniu wielu badań stężenia NNKT w różnych krajach u dzieci i kobiet karmiących uznano, że dobrym wskaźnikiem niedoboru n-3 NNKT u nich, może być oznaczenie w czerwonych krwinkach kwasu Mead oraz odpowiednio wyznaczenie stosunków stężenia kwasu Mead do stosunków stężenia kwasów C22:5 n-6/20:4 n-6 oraz 22:5 n-6/22:6 n-3 (81). Wskaźnik ten nie może być jednak brany pod uwagę u kotów, które wydają bardzo niską aktywność enzymu Δ^6 desaturazy i dlatego kwas Mead nie jest przydatny w badaniach niedoboru NNKT u tych zwierząt (72).

Podsumowanie

W wyniku systematycznych badań stwierdzono, że w utrzymaniu zdrowia ludzi i zwierząt jednym z podstawowych czynników jest rodzaj spożywanego tłuszczu (np. nasycone, nienasycone). Kwasy wielonienasycone (NNKT) są składnikami budulcowymi komórek i składnikami fosfolipidów błon komórkowych. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe pełnią w organizmie również wiele ważnych funkcji. Odgrywają istotną rolę w transporcie i metabolizmie cholesterolu, powodując obniżenie jego stężenia w osoczu krwi, wykazują działanie obniżające ciśnienie krwi, coraz więcej badań wskazuje również na ich działanie antynowotworowe, są także substratami do syntezy eikozanoidów. Udowodniono, że działanie kwasów wielonienasyconych rodzin n-3 i n-6 oraz ich metabolitów – eikozanoidów oprócz tego, że jest wielokierunkowe, to również jest różne dla obu tych grup związków. W związku z tym ważne jest, aby w organizmach ludzi i zwierząt była zachowana odpowiednia proporcja kwasów z rodziny n-3 do n-6, zwłaszcza że te same enzymy uczestniczą w ich metabolizmie. Te wzajemne relacje pomiędzy kwasami n-3 i n-6 można regulować poprzez odpowiednią dietę, w której z rodziny n-3 powinny się raczej znaleźć kwasy EPA i DHA, a nie tylko ALA, ponieważ przekształcanie ALA do EPA i DHA jest mało wydajne. Ponieważ w licznych badaniach udowodniono prozdrowotne działanie EPA, DHA, AA, to preparaty zawierające te kwasy będą duże zainteresowanie wśród lekarzy medycyny oraz lekarzy weterynarii i są zalecane w dietoprofilaktyce oraz jako wspomagające w leczeniu wielu chorób.

Piśmiennictwo

- Burr G.O., Burr M.M.: On the nature and rôle of the fatty acids essential in nutrition. *J. Biol. Chem.* 1930, **86**, 587-621.
- Burr G.O., Burr M.M.: A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.* 1929, **82**, 345-367.
- Holman R.: Essential fatty acid deficiency. *Progr. Chem. Fats Other Lipids* 1971, **9**, 275-348.
- Huwiler A., Pfeilschifter J.: Lipids as targets for novel anti-inflammatory therapies. *Pharmacol. Therap.* 2009, **124**, 96-112.
- White P.D.: *Essential Fatty Acids in Veterinary Medicine*. Bayer 51368, Leverkusen 1995.
- Kulasek G., Ostaszewski P.: Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) w dietoprofilaktyce i dietoterapii psów i kotów. W: *IV Sympozjum żywienia psów, kotów i innych zwierząt amatorskich* (red. Jamroz D. i wsp.). Wrocław 26-27 czerwca 1997, str. 13-36.
- Balasińska B.: *Wpływ diety loch wzbogaconej w nasionną rzepakową i lnu na skład kwasów tłuszczowych i ekspresję genów w tkankach oraz rozwój jelita cienkiego u nowo narodzonych prosiąt*. Rozprawy Naukowe i Monografie. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2007.
- Kulasek G., Krasicka B., Świerczewska E.: Jaja i tuszki drobiowe wzbogacone w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe – nowe kierunki produkcji drobiarskiej. *Drobiarstwo* 1996, **1**, wrzesień/październik, 5-9.
- Palmquist D.L.: Omega-3 fatty acids in metabolism, health, and nutrition and for modified animal product foods. *Professional Anim. Scientist* 2009, **25**, 207-249.

- Carlson S.E.: Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant development. *Semin. Neonatol.* 2001, **6**, 437-449.
- Watkins B.A., Li Y., Seifert M.F.: Nutraceutical fatty acids as biochemical and molecular modulators of skeletal biology. *J. Amer. Coll. Nutr.* 2001, **20**, 410S-416S.
- Sinclair A.J., Attar-Bashi N.M., Li D.: What is the role of α -linolenic acid for mammals. *Lipids* 2002, **37**, 1113-1123.
- Simopoulos A.P.: The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 2002, **56**, 365-379.
- Mu H., Hoy C.E.: The digestion of dietary triacylglycerols. *Progr. Lipid Res.* 2004, **43**, 105-133.
- Burdge G.C., Calder P.C.: Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in the human adults. *Reprod. Nutr. Develop.* 2005, **45**, 581-597.
- Burdge G.C., Calder P.C.: Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: metabolic perspective. *Nutr. Rev.* 2006, **19**, 26-52.
- McCann J.C., Ames B.N.: Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral test in humans and animals. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2005, **82**, 281-292.
- Simopoulos A.P.: Evolutionary aspect of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic disease. *Biomed. Pharmacother.* 2006, **60**, 502-507.
- Kapoor R., Huang Y.-S.: Gamma linolenic acid: an anti-inflammatory omega-6 fatty acid. *Curr. Pharmac. Biotechnol.* 2006, **7**, 531-534.
- Givens D.L., Gibbs R.A.: Very long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in the food chain in the UK and the potential of animal-derived foods to increase intake. *Nutr. Bull.* 2006, **31**, 104-110.
- Bourre J.-M.: Dietary omega-3 fatty acids for women. *Biomed. Pharmacother.* 2007, **61**, 105-112.
- Guil-Guerrero J. L.: Stearidonic acid (18:4 n-3): metabolism, nutritional importance, medical uses and natural sources. *Europ. J. Lipid Sci. Technol.* 2007, **109**, 1226-1236.
- Appleton K.M., Hayward R.C., Gunnell D., Peters T., Rogers P.J., Kessler D., Ness A.R.: Effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on depressed mood: systematic review of published trials. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2006, **84**, 1308-1316.
- Innis S.M.: Fatty acids and early human development. *Early Human Develop.* 2007, **83**, 761-766.
- Lagarde M.: Docosahexaenoic acid: Nutrient and precursor of bioactive lipids. *Europ. J. Lipid Sci. Technol.* 2008, **110**, 673-678.
- Lunn J., Buttriss J.L.: Incorporating omega-3 in the food chain – why, were and how? *Nutr. Bulletin* 2008, **33**, 250-256.
- Surette M.E.: The science behind dietary omega-3 fatty acids. *Canad. Med. Assoc. J.* 2008, **178**, 177-180.
- Anderson B.M., Ma D.W.L.: Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? *Lipids Health Dis.* 2009, **8**, 33-53.
- Berra B., Montofrano G., Negroni M., Corsetto P., Rizzo A.M.: Biomarkers of long-chain PUFA omega-3 fatty acids and the human nutritional status. *Lipid Technol.* 2009, **21**, 3235.
- Dutta-Roy A.K.: Transport of fatty acid across the human placenta: A review. *Progr. Lipid Res.* 2009, **48**, 52-61.
- Niot L., Poirier H., Trang Tran T.T., Besnard P.: Intestinal absorption of long-chain fatty acids: Evidence and uncertainties. *Progr. Lipid Res.* 2009, **48**, 101-115.
- Ramakrishnan U., Imhoff-Kunsch B., DiGirolamo A.M.: Role of docosahexaenoic acid in maternal and child mental health. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2009, **89**(suppl.), 958S-962S.
- Das S., Paul B.N., Sengupta J., Datta A.K.: Beneficial effects of fish oil to human health: a review. *Agric. Rev.* 2009, **30**, 199-205.
- Ruiz-Rodriguez A., Reglero G., Ibañez E.: Recent trends in the advanced analysis of bioactive fatty acids. *J. Pharmac. Biomed. Anal.* 2001, **10**, 305-326.
- Sahena E., Zaidul I.S.M., Jinap S., Karim A.A., Abbas K.A., Njorulani N.A.N., Omar A.K.M.: Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. *J. Food Engin.* 2009, **95**, 240-253.
- Decker E.A.: The role of stereoispecific saturated fatty acid positions on lipid nutrition. *Nutr. Rev.* 1996, **54**, 108-110.
- Connor W.E., Lin D.S., Colvis C.: Differential mobilization of fatty acids from adipose tissue. *J. Lipid Res.* 1996, **37**, 2141-2147.
- Barceló-Coblijn G., Murphy E.J.: Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progr. Lipid Res.* 2009, **48**, 355-374.
- Burdge G.C., Wootton S.A.: Conversion of α -linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Brit. J. Nutr.* 2002, **88**, 411-420.
- Burdge G.C., Jones A.E., Wootton S.A.: Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids are principal products of

- α -linolenic acid metabolism in young men. *Brit. J. Nutr.* 2002, **88**, 355-363.
41. Brenna J.T., Salem N., Sinclair A.J., Cunnane S.C.: α -linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostagland. Leukotr. Essent. Fatty Acids* 2009, **5**, 85-91.
 42. Stanley J.C.: Confusion over different types of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technol.* 2009, **21**, 17-18.
 43. Stolyhwo A., Mol J.: Changes in the content of γ -linolenic C18:3 (n-6) and stearidonic C18:4 (n-3) acids developing seeds of viper's bugloss *Echium vulgare* L. *Acta Biochim. Polon.* 2007, **54**, 741-746.
 44. Sato S., Xing A., Ye X., Schwaiger B., Kinney A., Graef G., Clemente T.: Production of γ -linolenic acid and stearidonic acid in seeds of marker-free transgenic soybean. *Crop Sci.* 2004, **44**, 646-652.
 45. Ursin V.M.: Modification of plant lipids for human health: Development of functional land-based omega-3 fatty acids. *J. Nutr.* 2003, **133**, 4271-4274.
 46. Harris W.S., Lemke S.L., Hansen S.N., Goldstein D.A., DiRienzo M., Su H., Nemet M.A., Taylor M.L., Ahmed G., George C.: Stearidonic acid-enriched soybean oil increased the omega-3 index an emergin cardiovascular risk marker. *Lipids* 2008, **43**, 805-811.
 47. Miles E.A., Banerjee T., Calder P.C.: The influence of different combinations of γ -linolenic, stearidonic and eicosapentaenoic acids on the fatty acid composition of blood lipids and mononuclear cells in human volunteers. *Prostagland. Leukotr. Essent. Fatty Acids* 2004, **70**, 529-538.
 48. Ruiz-López N., Haslam R.P., Venegas-Calderón M., Larson T.R., Graham I.A., Napier J.A., Sayanova O.: The synthesis and accumulation of stearidonic acid in transgenic plants: novel source of "heart-healthy" omega-3 fatty acids. *Plant Biotechnol. J.* 2009, **7**, 704-716.
 49. James M.J., Ursin V.M., Cleland L.G.: Metabolism of stearidonic acid in human subjects: comparison with the metabolism of other n-3 fatty acids. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2003, **77**, 1140-1145.
 50. Guil-Guerrero J., López-Martinez J., Gómez-Mercado F., Campra-Madrid P.: Gamma-linolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae. *Europ. J. Lipid Sci. Technol.* 2006, **108**, 43-47.
 51. Kitesa S.M., Young P.: Echium oil is better than rapeseed oil in enriching poultry meat with n-3 polyunsaturated fatty acids, including eicosapentaenoic acid and docosapentaenoic acid. *Brit. J. Nutr.* 2009, **101**, 709-715.
 52. Hammond B.G., Leman J.K., Ahmed G., Miller K.D., Kirpatrick J., Fleeman T.: Safety assessment of SDA soybean oil. Results of a 28-day gavage study and 90-day/one generation reproduction feeding study in rats. *Regulat. Toxicol. Pharmacol.* 2008, **52**, 311-323.
 53. Whelan J.: Dietary stearidonic acid is a long chain (n-3) polyunsaturated fatty acid with potential health benefits. *J. Nutr.* 2009, **139**, 5-10.
 54. Maki K.C., Reeves M.S., Farmer M., Griinari M., Berge K., Vik H., Haubacher R., Rains T.M.: Krill oil supplementation increases plasma concentrations of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in overweight, obese men and women. *Nutr. Res.* 2009, **29**, 609-615.
 55. Howe P., Meyer B., Record S., Baghurst K.: Dietary intake of long-chain ω -3 polyunsaturated fatty acids; contribution of meat sources. *Nutrition* 2006, **22**, 4753.
 56. Sioutis S., Coates A.M., Buckley J.D., Murphy T.W., Channon H.A., Howe P.R.C.: n-3 enrichment pork with fish-meal: effect on production and consumer acceptability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2008, **110**, 701-706.
 57. Sprecher H.: Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 2000, **1486**, 219-231.
 58. Carlson S.E., Neuringer M.: Polyunsaturated fatty acid status and neurodevelopment: A summary and critical analysis of the literature. *Lipids* 1999, **34**, 171-178.
 59. Fleith M., Clandinin M.T.: Dietary PUFA for preterm and term infants: Review of clinical studies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2005, **45**, 205-229.
 60. Weseler A.R., Dirix C.E.H., Bruins M.J., Hornstra G.: Dietary arachidonic acid-dose-dependently increases the arachidonic acid concentration in human milk. *J. Nutr.* 2008, **138**, 2190-2197.
 61. Merritt R.J., Auestad N., Kruger C., Buchanan S.: Safety evaluation of sources of docosahexaenoic acid and arachidonic acid for use in infant formulas in newborn piglets. *Food Chem. Toxicol.* 2003, **41**, 897-904.
 62. Hess H.A., Corl B.A., Lin X., Jacobi S.K., Harrell R.J., Blikslager A.T., Odle J.: Enrichment of intestinal mucosal phospholipids with arachidonic and eicosapentaenoic acids fed suckling piglets in dose and time dependent. *J. Nutr.* 2008, **138**, 2164-2171.
 63. Fitzpatrick K.: Frustrations about the omega-3 debate. *Inform* 2009, **20**, 142-143.
 64. Zatonski W., Campos H., Willett W.: Rapid declines in coronary heart disease mortality in Eastern Europe are associated with increased consumption of oils rich in α -linolenic acid. *Europ. J. Epidemiol.* 2008, **23**, 3-10.
 65. Bauch A., Lindtner O., Mensink G.B.M., Niemann B.: Dietary intake and sources of long-chain n-3 PUFAs in German adults. *Europ. J. Clin. Nutr.* 2006, **60**, 810-812.
 66. Hansen H.S., Jensen B.: Essential function of linoleic acid esterified in acylglycosylceramide and acylceramide in maintaining epidermal water permeability barrier. Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, arachidonate, columbinolate and α -linolenate. *Biochim. Biophys. Acta* 1985, **834**, 357-363.
 67. Igarashi M., Cao F., Kim H.-W., Ma K., Bell J.M., Rapaport S.I.: Dietary n-6 PUFA deprivation for 15 weeks reduces arachidonic acid concentrations while increasing n-6 PUFA concentrations in organs of post-weaning male rats. *BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 2009, **1791**, 132-139.
 68. Kawashima H., Akimoto K., Higashiyama K., Fujikawa S., Shimizu S.: Industrial production of dihomone- γ -linolenic acid by $\Delta 5$ desaturase-defective mutant of *Mortierella alpina* 15-4 fungus. *J. Amer. Oil Chem. Sci.* 2000, **77**, 1135-1139.
 69. Heard, Charles M.; Gallagher, Simon J.; Congiatu, Costantino; Harwood, John; Thomas, Christopher P. Preferential p-p complexation between tamoxifen and borage oil/g linolenic acid: Transcutaneous delivery and NMR spectral modulation. *J. Pharmaceutics.* 2005, **302**, 47-55.
 70. Karia C., Harwood J., Morris A., Heard C.: Simultaneous permeation of tamoxifen and γ -linolenic acid across excised human skin. Further evidence of the permeation of solvated complexes. *Intern. J. Pharmaceutics.* 2004, **271**, 305-309.
 71. von Schacky C., Fischer S., Weber P.C.: Long-term effects of marine omega-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. *J. Clin. Invest.* 1985, **76**, 1626-1631.
 72. Pawlosky R.J., Salem N.: Is arachidonic acid necessary for feline reproduction? *J. Nutr.* 1996, **126**, 1081S-1095S.
 73. Morris J.G.: Do cats need arachidonic acid in diet for reproduction? *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2004, **88**, 131-137.
 74. Calder P.C.: Dietary arachidonic acid: harmful, harmless or helpful? *Brit. J. Nutr.* 2007, **98**, 451-453.
 75. Kusumoto A., Ishikura Y., Kawashima H., Kiso Y., Takai S.: Effects of arachidonate-enriched triacylglycerol supplementation on serum fatty acids in platelet aggregation in healthy male subjects with a fish diet. *Brit. J. Nutr.* 2007, **98**, 626-635.
 76. Sugano M., Ikeda I., Matsu W., Oka T.: Influence of Korean pine (*Pinus koraiensis*)-seed oil containing *cis*-5, *cis*-9, *cis*-12 octadecatrienoic on polyunsaturated fatty acids metabolism, eicosanoid production and blood pressure of rats. *Brit. J. Nutr.* 1994, **72**, 775-783.
 77. Makarenko S.P., Konenkina T.A., Putilina T.E., Donskaya L.I., Muzalevskaia O.V.: The composition of fatty acids in the endosperm and embryo lipids of *Pinus sibirica* and *P. sylvestris* seeds. *Russian J. Plant Physiol.* 2008, **55**, 480-485.
 78. Chung L.-T., Tsai P.-J., Lee C.-L.: Uptake and incorporation of pinolenic acid reduces n-6 polyunsaturated fatty acid and downstream prostaglandin formation in murine macrophage. *Lipids* 2009, **44**, 217-224.
 79. Kaltia S., Matikainen J., Ala-Peajari M., Hase T.: Synthesis of ethyl 5z,9z,12z-octadecatrienoate (ethyl pinolenate) and methyl 12z,15z-octadecatrienoate. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 2008, **85**, 561-565.
 80. Kim I.H., Hill C.G.: Lipase-catalyzed acidolysis of menhaden oil with pinolenic acid. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 2006, **83**, 109-115.
 81. Fokkema M.R., Smit E.N., Martini I.A., Woltit H.A., Boersma E.R., Muskiet F.A.J.: Assessment of essential fatty acid and 3-fatty acid status by measurement of eruthrocyte 20:3 ω 9 (Mead acid), 22:5 ω 6/20:4 ω 6 and 22:5 ω 6/22:6 ω 3. *Prostagland. Leukotrien. Essential Fatty Acids.* 2002, **67**, 345-356.
 82. Bailey-Hall E., Nelson E.B., Ryan A.S.: Validation of a rapid measure of blood PUFA levels in humans. *Lipids* 2008, **43**, 181-186.
 83. Strijbosch R.A.M., Lee S., Arsenault D.A., Andersson C., Gura K.M., Bistrrian B.R., Puder M.: Fish oil prevents essential fatty acid deficiency and enhances growth: clinical and biochemical implications. *Metabolism* 2008, **57**, 698-707.