

Lýsisneysla eykur lifun músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae*

Sigurður Björnsson¹, Ingibjörg Harðardóttir², Eggert Gunnarsson³, Ásgeir Haraldsson¹

Björnsson S, Harðardóttir I, Gunnarsson E, Haraldsson Á

Dietary fish-oil supplementation increases survival in mice following *Klebsiella pneumoniae* infection

Læknablaðið 1997; 83: 289–93

Introduction: Epidemiological studies have shown that high intake of omega-3 fatty acids correlates with low incidence of various diseases such as cardiovascular diseases, asthma, diabetes mellitus and various auto-immune disorders. It may therefore be suggested that omega-3 fatty acids have substantial impact on the immune system. Studies of the effect of omega-3 fatty acids on survival in bacterial infections have however been contradicting. A Dutch study from 1991 showed increased survival in mice fed fish-oil following infection with *Klebsiella pneumoniae*. Because of the contradicting results the authors conducted a study with the hypothesis that fish-oil intake increases survival after severe *Klebsiella pneumoniae* infection.

Methods: Thirty mice were fed fish-oil enriched diet (10%), olive-oil enriched diet (10%) or standard chow diet. After six weeks the mice were injected intramuscularly with 1.6×10^2 cfu of *Klebsiella pneumoniae*. The survival was measured at regular time intervals for 120 hours.

Results: After 56 hours, 93% of the mice fed fish-oil were alive and 68% and 40% of the mice fed olive-

oil and standard chow respectively. The overall survival after 120 hours was 40% in the fish-oil group, 25% in the olive-oil group and 20% in the standard group. The survival after 120 hours of the mice fed the fish-oil enriched diet was significantly better when compared to the two other groups ($p=0.0034$).

Discussion: We conclude that fish-oil enriched diet increases survival of NMRI mice following infection with *Klebsiella pneumoniae* when compared to olive-oil supplementation or standard chow. We therefore conclude that the difference in survival is probably based on the effect of omega-3 fatty acid on the immune system. The immunological pathway is still unknown and our results encourage further studies.

Key words: fish-oil, survival, infection, mice, omega-3 fatty acid.

Ágrip

Inngangur: Faraldsfræðilegar rannsóknir hafa bent til þess að neysla lýsis, og þá fyrst og fremst ómega-3 fitusýra, verndi gegn ýmsum sjúkdómum til dæmis hjarta- og æðasjúkdómum, astma, sykursýki og ýmsum sjálfnæmis-sjúkdómum. Því er líklegt að ómega-3 fitusýrur hafi víðtæk áhrif á stýringu ónæmiskerfisins. Rannsóknir á áhrifum ómega-3 fitusýra á lifun í alvarlegum bakteríusýkingum hafa gefið mismunandi niðurstöður. Hollensk rannsókn frá 1991 sýndi aukna lifun músa á lýsisbættu fæði í alvarlegum bakteríusýkingum. Vegna þess að niðurstöður hafa verið mismunandi var frekari rannsókn þörf og í þessari rannsókn var sett fram sama tilgáta og í hollensku rannsókninni, að lýsisneysla væri verndandi í alvarlegum *Klebsiella pneumoniae* bakteríusýkingum.

Aðferðir: Sett var upp dýratilraun þar sem

Frá ¹Barnaspítala Hringins Landspítalanum, ²Raunvísindastofnun Háskóla Íslands, ³Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum. Fyrirspurnir, bréfaskipti: Ásgeir Haraldsson, Barnaspítala Hringins, Landspítalanum, 101 Reykjavík; sími: 560 1050; bréfsími: 560 1055; netfang: asgeir@rsp.is

Lykilorð: lýsi, lifun, sýkingar, mýs.

30 NMRI mýs voru aldar í sex vikur á lýsisbættu fæði (10%) en til samanburðar voru mýs aldar á venjubundnu eða ólífuolíubættu fæði (10%). Að því búnu voru mýsnar sýktar með $1,6 \times 10^2$ cfu (colony forming units, þyrpingarmyndandi einingar) af *Klebsiella pneumoniae* í vöðva. Eftir sýkingu var fylgst með lifun músanna í 120 klukkustundir.

Niðurstöður: Eftir 56 klukkustundir voru 93% músanna sem fengu lýsisbætt fóður lifandi, 68% músa sem fengu ólífuolíubætt fæði og aðeins 40% músanna sem fengu venjubundið fæði. Lifun músa sem fengu lýsisbætt fæði var 40% eftir 120 klukkustundir á meðan lifun músa sem fengu ólífuolíubætt eða venjubundið fæði var 25% og 20%. Lifun músa sem aldar voru á lýsisbættu fæði var marktækt betri en viðmiðunarhópa eftir 120 stundir ($p=0,0034$).

Ályktun: Lýsisbætt fæði eykur lifun NMRI músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae*. Höfundar telja að þessi munur á lifun sé fyrst og fremst vegna áhrifa ómega-3 fitusýra á ónæmiskerfið. Á hvaða hátt, er ekki að fullu vitað og því er þörf frekari rannsókna.

Inngangur

Í norðlægum löndum hefur um aldir lýsi verið talið stuðla að heilbrigði. Þorskalýsi inniheldur um það bil 20% af ómega-3 fitusýrum. Í venjulegu fæði Vesturlandabúa eru fjölómettadar ómega-3 fitusýrur í litlu magni. Þær eru hins vegar verulegur hluti af fituinntöku hjá þjóðum sem neyta mikils fisks eins og Eskimóum á Grænlandi (1). Faraldsfæðilegar rannsóknir hafa bent til þess að neysla lýsis veiti vernd gegn ýmsum sjúkdómum til dæmis hjarta- og æðasjúkdómum (2,3), astma (2), sykursýki (2) og ýmsum sjálfneðmissjúkdómum (4–6). Talið er að lýsi, og þá fyrst og fremst ómega-3 fitusýrur, hafi víðtæk áhrif á stýringu ónæmiskerfisins. Hollensk rannsókn frá 1991 sýndi aukna lifun músa á lýsisbættu fæði í alvarlegum bakteríusýkingum í samanburði við mýs á pálmaolíubættu fæði eða kornolíubættu fæði (7). Niðurstöður rannsókna á áhrifum lýsis á lífslíkur í alvarlegum bakteríusýkingum hafa þó verið misvísandi (7–10). Því var frekari rannsókn þörf og í þessari rannsókn settu höfundar fram sömu tilgátu og í hollensku rannsókninni, að lýsisneysla væri verndandi í alvarlegum *Klebsiella pneumoniae* bakteríusýkingum. Í rannsókninni sem hér er greint frá var ólífuolíubætt fæði notað sem viðmiðunarfæði í

Table I. Fatty-acid content (%) of fish-oil and olive-oil.

Fatty-acid	Fish-oil	Olive-oil
14:0	4.4	
16:0	11.5	11.2
16:1	7.2	0.8
18:0	2.7	2.5
18:1	21.0	9.6
18:3	0.8	0.7
18:4	2.5	
20:1	9.7	
20:4	nd	
20:5	9.3	
22:1	8.8	
22:4	nd	
22:5	1.2	
22:6	12.8	
unknown	6.5	1.7

nd: not detected

stað kornolíubættis fæðis eða pálmaolíubættis fæðis þar sem ólífuolía inniheldur mjög lítið af ómega-3 fitusýrum, eða innan við 1%.

Aðferðir og framkvæmd

Tilraunadýr: Niúttu kvenkyns NMRI mýs 27–29 g voru fengnar frá Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum. Þær voru aldar í þremur hópum, 30 saman í búi og fengu mismunandi fóður í sex vikur. Umhverfi og aðstæður voru þær sömu fyrir alla hópana.

Fæði: Grunnfæði var hefðbundið nagdýrafóður (Special Diets Services, Witham, Essex, England) sem innihélt enga sjávardýrafitu. Fituinnihald fæðisins var um 3%, þar af var soya olía um 0,5%. Í fódrið var bætt lýsi (þorskalýsi, Lýsi hf, Grandavegi) eða ólífuolíu (Filippo Berio, Italia). Fitusýrusamsetning lýsis og ólífuolíu sést í töflu I. Hópur I fékk venjubundið fæði að viðbættu lýsi (10%), hópur II fékk venjubundið fæði að viðbætti ólífuolíu (10%) og hópur III fékk venjubundið fæði án olíuviðbótar. Fæðið var blandað á tveggja daga fresti og geymt í kæli við 4°C. Allir hóparnir höfðu aðgang að fæðu og vatni að vild.

Framkvæmd: Eftir sex vikna fóðrun voru allar mýsnar sýktar í vöðva með *Klebsiella pneumoniae*. Bakteríustofninn (ATCC 43816) var fenginn frá sýkladeild Landspítalans. Bakteríulausn sem innihélt $8,2 \times 10^2$ cfu (colony forming units, þyrpingarmyndandi einingar) í 0,1 ml var sprautað í vöðva í hvort afturlæri á músunum í léttri etersvæfingu. Þær fengu því samtals $1,6 \times 10^2$ cfu af *Klebsiella pneumoniae*. Þessi skammtur veldur oftast banvænum sýk-

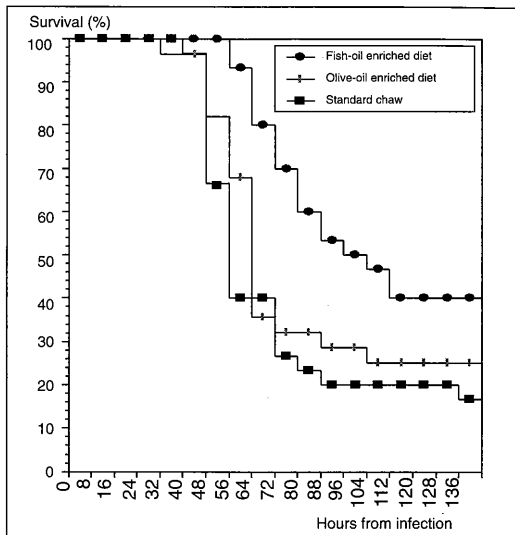


Fig. 1. Survival curves after infection with *Klebsiella pneumoniae*.

ingum í NMRI músam. Tvær og tvær mýs úr hverjum hópi voru sýktar í senn og þannig koll af kolli til að hindra skekkju vegna fjölgunar bakteríanna á meðan sýking fór fram. Lífur var athuguð á átta tíma fresti í fimm sólarhringa sem var fyrirfram ákveðinn lokapunktur tilraunarinnar. Fylgst var áfram með músunum í hálfan mánuð.

Tölfræði: Lífurferlar voru greindir með Kaplan-Meier log rank prófi. Annar samanturður var reiknaður með einföldu kíkvadratsprófi. Marktækur munur var settur við $p < 0,05$.

Niðurstöður

Tveimur sólahringum eftir sýkingu voru allar mýsnar sem fengið höfðu lýsibætt fæði (hópur I) lifandi, 80% músanna sem fengu ólífuolíubætt fæði (hópur II) voru lifandi og 68% músanna sem fengu venjubundið fóður (hópur III) (mynd 1). Eftir 56 tíma voru 93% músanna sem fengu lýsibætt fóður lifandi, 68% mýsa sem fengu ólífuolíubætt fæði og aðeins 40% músanna sem fengu venjubundið fæði. Einfalt kíkvadratspróf sýndi að eftir 56 tíma var marktækur munur á lífun músanna sem fengu lýsibætt fæði samanborið við lífun músanna sem fengu venjubundið fæði ($p < 0,0001$) og samanborið við lífun músanna sem fengu ólífuolíubætt fæði ($p < 0,002$). Þegar lífunartíminn allur fyrir mýs sem fengu lýsibætt fæði annars vegar

og mýs sem fengu annað hvort ólífuolíubætt fæði eða venjubundið fæði hins vegar var borinn saman með Kaplan-Meier log rank greiningu var munurinn marktækur ($p = 0,0034$ og $p = 0,032$). Ekki var marktækur munur á lífun músanna sem fengu ólífuolíubætt fæði og músanna sem fengu venjubundið fæði. Enginn munur var á þyngdaraukningu hópa á fóðrunartímanum. Eftir að tilrauninni lauk urðu ekki frekari afföll á músunum og ekki komu fram aðrar aukaverkanir.

Umræða

Niðurstöður rannsóknarinnar sýndu ótvírætt að lýsibætt fæði eykur lífun NMRI músanna eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae* borið saman við annað hvort ólífuolíubætt fæði eða venjubundið ófitubætt fæði. Munurinn á fitusýrusamsetningu fóðurs tilraunahópanna fólst aðallega í ómega-3 fitusýrunum. Ómega-3 fitusýruinnihald lýsis er um 20%. Ómega-3 fitusýrur eru í mjög litlu magni í venjulegu nagdýrafóðri og mjög lítið er af þeim í ólífuolíu, innan við 1%. Við teljum því líklegt að þessi munur á lífun sé fyrst og fremst vegna áhrifa ómega-3 fitusýra á ónæmiskerfið.

Áhrif lýsisneyslu á sýkingarferlið hefur verið rannsakað nokkuð. Flestar rannsóknanna hafa verið gerðar á tilraunadýrum. Þó frumubod-efni og fituefnaskipti manna og músanna séu um margt svipuð er ekki mögulegt að draga ályktanir af þessum niðurstöðum varðandi menn. Þær rannsóknarniðurstöður sem fyrir liggja virðast ennfremur mismunandi eftir sýkingarleið bakteríanna og eftir bakteríutegundum (7,8). Mörgum spurningum varðandi þetta ferli er því enn ósvarað.

Linoleic sýra 18:2 (ómega-6), linolenic sýra 18:3 (ómega-3) og arachidonic sýra 20:4 (ómega-6) eru þær þrjár fitusýrur sem eru mönnum og dýrum lífsnauðsynlegar. Arachidonic sýra er algengasta fitusýran í frumuhimnum en við neyslu ómega-3 fitusýra breytist fitusýrusamsetning himnunnar á þann veg að meira verður af eicosapentaenoic sýru á kostnað arachidonic sýru (11,12). Arachidonic sýra og eicosapentaenoic sýra eru forverar eikósanóíða, það er prostaglandína, prostacyklína, thromboxana og leukotríena. Eikósanóíðar eru mikilvægir miðlar í varnarkerfi líkamans gegn sýkingum samanber áhrif prostaglandína til hækkunar líkamshita (13). Þá hafa eikósanóíðar áhrif á ónæmiskerfið, bæði á bólgu- og

ónæmissvörun. Til dæmis valda prostaglandín E2 og prostacyklín I2 æðavíkkun (14) og leukotríen B4 veldur efnasækni hjá kornfrumum (15). Þá hindrar prostaglandín E2 fjölgun B og T frumna (16), myndun lymphókína (17), mót-efna (18), virkni átfrumna (19) og drápfumna (20). Eicosapentaenoic sýra er forveri eikós-anóíða af annarri fjölskyldu en arachidonic sýra. Úr eicosapentaenoic sýru myndast prostaglandín E3 í stað prostaglandín E2, leukotríen B5 í stað leukotríen B4, thromboxan A3 í stað thromboxan A2 og prostacyklín I3 í stað prostacyklín I2. Þeir eikósanóíðar og leukotríen sem mynduð eru úr eicosapentaenoic sýru eru flest hver minna virk en þau sem mynduð eru úr arachidonic sýru. Minnkað hlutfall arachidonic sýru í frumuhimnunnni eftir gjöf ómega-3 fitusýra eykur hlutfall eicosapentaenoic sýru og minna virkir systur-eikós-anóíðar eru myndaðir (21,22). Framleiðsla minna virkra eikósanóíða við lýsisneyslu kann að skýra minna bólgusvar einstaklinga með ýmsa sjálfnámissjúkdóma og hugsanlega aukna lifun músa eftir bakteríusýkingu.

Frumuböðefni (cýtókínar) myndast við áverka, hvers konar sýkingar og bólgur og gegna þar mikilvægu hlutverki við miðlun ónæmissvars. Rannsóknir hafa sýnt að lýsi hef-ur áhrif á myndun þeirra til dæmis í gegnum eikósanóíða. Til að mynda minnkar prostaglandín E2 framleiðslu á æxlisdrepsþætti (23,24). Einnig er hugsanlegt að lýsi hafi bein áhrif á framleiðslu frumuböðefna án þátttöku eikósanóíða. Áhrif lýsis á framleiðslu frumuböðefna virðast vera mismunandi í mönnum og nagdýrum. Lýsisneysla veldur minnkun á *ex vivo* framleiðslu æxlisdrepsþáttar og interleukín-1 í mónócýtum úr mönnum (4,25,26). Lýsisneysla eykur hins vegar *ex vivo* framleiðslu á æxlisdrepsþætti og interleukín-1 í átfrumum úr músum og rottum (23,27-30). Almenn er talið að myndun frumuböðefna sem svar við sýkingu sé nauðsynlegur þáttur í baráttu við sýkingarvaldinn en að of mikil myndun þeirra geti leitt til dauða.

Það skýrir ekki aukna lifun músa í þessari rannsókn að lýsi auki myndun frumuböðefna í músum. Meira liggur því að baki. Til dæmis hafa frumuböðefni ekki bara áhrif á staðbund- ið bólgusvar heldur hafa þau áhrif á bráðfasa- prótín, eins og CRP (31), blóðvatns sterkjulíki (amyloid) A (32), fíbrínógen (33), ónæmisglóbú- lín M og alfa-2 makróglóbúlín (34). Við sýk-

ingu verða því stórfelldar breytingar á framleiðslu þessara prótína. Áhrif lýsisneyslu á bráðfasaprótín, sem almennt eru talin hafa verndandi áhrif í sýkingum, hafa lítið verið könnuð. Þó minnkar lýsisneysla marktækt CRP í blóði liðagigtarsjúklinga (31).

Við sýkingu eykst framleiðsla eikósanóíða, frumuböðefna og margra bráðfasaprótína og er þeim ætlað að vernda lífveruna og koma í veg fyrir dauða hennar. Mjög mikil framleiðsla á þessum efnum eða brengluð samsetning þeirra getur aftur á móti leitt til ofsafengins svars ónæmiskerfisins sem leiðir til losts, dreifðrar blóðstorknunar og dauða. Það að lýs- isneysla auki marktækt lifun músa í alvarlegri bakteríusýkingu bendir til þess að lýsið dragi úr framleiðslu þessara efna, myndi í staðinn minna virk efni eða breyti hlutföllum og þar með samspili þessara efna. Þannig getur lýsis- neysla ráðið úrlitum um hvort lífveran lifir sýkinguna af. Frekari rannsóknir munu vænt- anlega leiða í ljós á hvern hátt lýsi breytir ónæmissvarinu.

Þakkir

Rannsókn þessi var styrkt að hluta af Rannsóknasjóði Háskóla Íslands. Sigurður Guðmundsson og Helga Erlendsdóttir aðstoðuðu við framkvæmd tilraunarinnar og sýklarannsóknadeild Landspítalans lagði til bakteríurnar. Sonja Vilhjálmsdóttir annaðist dýrahald og aðstoðaði við framkvæmd tilraunarinnar. Fitusýrumælingar voru gerðar hjá Lýsi hf. Örn Ólafsson, Landspítalanum, sá um tölfraðiút- reikninga.

HEIMILDIR

1. Bang H, Dyerberg J, Hjörne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand* 1976; 200: 69-73.
2. Kromann N, Green A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. *Acta Med Scand* 1980; 208: 401-6.
3. Kromhout D BE, de Lezenne Coulander C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 1985; 12: 1205-9.
4. Kremer JM, Jubiz W, Michalek A, Rynes RT, Bartholomew LE, Bigaouette J, et al. Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A double-blind, randomised, placebo-controlled, crossover study. *Ann Intern Med* 1987; 106: 497-503.
5. Bittner S, Tucker W, Cartwright I, Bleehen S. A double blind, randomised, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis. *Lancet* 1988; 1: 378-80.
6. Kelley VE FA, Izui A, Strom TB. A fish oil diet rich in eicosapentaenoic acid reduces cyclooxygenase metabo-

- lites, and suppresses lupus in MRL-1pr mice. *J Immunol* 1985; 134: 1914-9.
7. Blok WL, Vogels MT, Curfs JH, Eling WM, Buurman WA, van der Meer JW. Dietary fish-oil supplementation in experimental gram-negative infection and in cerebral malaria in mice. *J Infect Dis* 1992; 165: 898-903.
 8. Chang HR, Dulloo AG, Vladoianu IR, Piguet PF, Arsenijevic D, Girardier L, et al. Fish Oil Decreases Natural Resistance of Mice to Infection with *Salmonella typhimurium*. *Metabolism* 1992; 41: 1-2.
 9. Mascioli EA YI, Trimbo S, Leader L, Bistrrian BR, Blackburn GL. Endotoxin challenge after menhaden oil diet, effects on survival of guinea pigs. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 277-82.
 10. Clouva-Molyvdas P, Peck M, Alexander J. Short-term dietary lipid manipulation does not affect survival in two models of murine sepsis. *JPEN* 1992; 16: 343-7.
 11. Siess W RP, Scherer B, Kurzmam I, Böhlig B, Weber PC. Platelet-membrane fatty acids, platelet aggregation, and thromboxane formation during a mackrel diet. *Lancet* 1980; 1: 441-4.
 12. Strasser T FS, Weber PC. Leukotriene B5 is formed in human neutrophils after dietary supplementation with eicosapentaenoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 1540-3.
 13. Feldberg W, Gupta KP. Pyrogen fever and prostaglandin-like activity in cerebrospinal fluid. *J Physiol* 1973; 228: 41-53.
 14. Williams TJ. Prostaglandin E2, prostaglandin I2 and the vascular changes of inflammation. *Br J Pharmacol* 1979; 65: 517-24.
 15. Ford-Hutchinson A, Bray M, Doig M, Shipley M, Smith M. Leukotriene B, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes. *Nature* 1980; 286: 264-5.
 16. Webb DR, Nowowiejski I. Control of suppressor cell activation via endogenous prostaglandin synthesis, the role of T cells and macrophages. *Cell Immunol* 1981; 63: 321-8.
 17. Baker P, Fahey J, Munck A. Prostaglandin inhibition of T-cell proliferation is mediated at two levels. *Cell Immunol* 1981; 61: 52-61.
 18. Mattingly JA, Kemp JD. Suppression of secondary plaque-forming cell responses by rat splenic adherent cells, evidence for dependence on prostaglandin production. *Cellular Immunol* 1979; 48: 195-200.
 19. Bonta IL Parnham MJ. Immunomodulatory- anti-inflammatory functions of E-type prostaglandins. Minireview with emphasis on macrophage-mediated effects (review). *Int J Immunopharmacol* 1982; 4: 103-9.
 20. Droller MJ, Schneider MU, Perlmann P. Enhancement of natural and antibody-dependent lymphocyte cytotoxicity by drugs which inhibit prostaglandin production by tumor target cells. *Cell Immunol* 1978; 39: 154-64.
 21. Terano T, Salmon JA, Moncada S. Biosynthesis and biological activity of leukotriene B5. *Prostaglandins* 1984; 27: 217-32.
 22. Whitaker M, Wyche A, Fitzpatrick F, Sprecher H, Needleman P. Triene prostaglandins: Prostaglandin D3 and icosapentaenoic acid as potential antithrombotic substances. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 5919-23.
 23. Harðardóttir I, Kinsella J. Tumor necrosis factor production by murine resident peritoneal macrophages is enhanced by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1095: 187-95.
 24. Kunkel SL, Remick DG, Spengler M, Chensue SW. Modulation of macrophage-driven interleukin-1 and tumor necrosis factor by prostaglandin E2. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res* 1987; 17: 155-8.
 25. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnenmann G, van der Meer JW, et al. The effect of dietary supplementation with N-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989; 320: 265-71.
 26. Mølviig J, Pociot F, Worsaae H, Wogensen LD, Baek L, Christensen P, et al. Dietary supplementation with omega-3-polyunsaturated fatty acids decreases mononuclear cell proliferation and interleukin-1 beta content but not monokine secretion in healthy and insulin-dependent diabetic individuals. *Scand J Immunol* 1991; 34: 399-410.
 27. Lokesh BR, Sayers TJ, Kinsella JE. Interleukin-1 and tumor necrosis factor synthesis by mouse peritoneal macrophages is enhanced by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Immunol Lett* 1990; 23: 281-5.
 28. Harðardóttir I, Kinsella JE. Increasing the dietary (n-3) to (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio increases tumor necrosis factor production by murine resident peritoneal macrophages without an effect on elicited peritoneal macrophages. *J Nutrition* 1992; 122: 1942-51.
 29. Harðardóttir I, Whelan J, Kinsella JE. Kinetics of tumour necrosis factor and prostaglandin production by murine resident peritoneal macrophages as affected by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Immunology* 1992; 76: 572-7.
 30. Somers SD, Erickson KL. Alteration of tumor Necrosis Factor- α Production by Macrophages from Mice Fed Diets High in Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Fatty Acids. *Cellular Immunol* 1994; 153: 287-97.
 31. Faarvang KL, Nielsen GL, Thomsen BS, Teglbjerg KK, Hansen TM, Lervang H-H, et al. Fish-oil supplementation and rheumatoid arthritis a randomized, doubleblind trial. *Ugeskr Læger* 1994; 156: 3495-8.
 32. Cathcart E, Mortensen R, Leslie C, Conte J, Gonnerman W. A fish-oil diet inhibits amiloid P component (AP) acute phase responses in arthritis susceptible mice. *J Immunol* 1987; 139: 89-91.
 33. Saynor R, Gillott T. Changes in blood lipids and fibrinogen with a note on safety in a long term study on the effects of n-3 fatty acids in subjects receiving fish oil supplements and followed for seven years. *Lipids* 1992; 27: 533-8.
 34. Ernst E, Saradeth T, Achhammer G. n-3 fatty acids and acute-phase proteins. *Eur J Clin Invest* 1991; 21: 77-82.