

Inmunomodulación ejercida por los ácidos grasos de la dieta en animales de experimentación y humanos

Por M.A. de Pablo Martínez, E. Ortega Morente, A.M^a. Gallego Cabrera, C. Álvarez Nieto y G. Álvarez de Cienfuegos López*

Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales,
Departamento de Ciencias de la Salud.
23071, Jaén (Spain). Tel.: +34-953-212160, Fax: +34-953-212141
E-mail: mapablo@ujaen.es

RESUMEN

Inmunomodulación ejercida por los ácidos grasos de la dieta en animales de experimentación y humanos

Una gran cantidad de estudios han puesto de manifiesto la acción de los ácidos grasos como agentes moduladores de la respuesta inmune de animales y humanos. En este artículo hacemos una revisión de los estudios llevados a cabo tanto en experiencias realizadas en cultivos *in vitro* como en ensayos *ex vivo*, los cuales demuestran que los ácidos grasos, generalmente de naturaleza insaturada participan en la modulación de una gran cantidad de parámetros que forman parte de la respuesta inmune. Se ha demostrado que los ácidos grasos insaturados están implicados en la reducción de la linfoproliferación, producción de citoquinas, actividad de las células natural killer, etc. Por otra parte, en este artículo tratamos de dilucidar cual es el mecanismo por el que los ácidos grasos ejercen esta acción: *i*) alteración de la fluidez de la membrana plasmática; *ii*) Formación de peróxidos lipídicos; *iii*) Producción de eicosanoides; *iv*) Modulación de la expresión de genes.

PALABRAS-CLAVE: Acido graso - Dieta - Regulación inmunológica - Revisión (artículo).

SUMMARY

Immunomodulation carried out by dietary fatty acids in experimental animals and humans

Several studies have reported that fatty acids act as modulatory agents of immune response of experimental animals and humans. In this paper, we do an overview of the performed studies by using of unsaturated fatty acids and their influence on several immunological parameters in studies carried out *in vitro* as well as *ex vivo*. It has been shown that unsaturated fatty acids are involved in the reduction of lymphocyte proliferation, cytokine production and natural killer cell activity. On the other hand, in this article we have reviewed the mechanisms by which fatty acids modulate the immune response: *i*) membrane fluidity alteration; *ii*) production of lipid peroxides; *iii*) eicosanoid production; *iv*) gene expression modulation.

KEY-WORDS: Diet - Fatty acid - Immunological regulation - Review (paper).

INTRODUCCIÓN

Las primeras observaciones que describen la influencia que los ácidos grasos ejercen en la modulación del sistema inmune datan de 1950. Swank

(1950) descubrió que sangre, células y otros tejidos de pacientes diagnosticados de esclerosis múltiple mostraban una gran deficiencia en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Posteriormente han surgido una gran cantidad de estudios sobre los efectos de la cantidad y tipo de grasas de la dieta en la respuesta inmune de humanos y animales de experimentación, prestando especial atención a los ácidos grasos poliinsaturados. De gran interés son los estudios epidemiológicos llevados a cabo en poblaciones tales como los Esquimales de Groenlandia, los cuales, y de forma habitual, consumen en su dieta una gran cantidad de aceite de pescado, muy rico en ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n-3* (ácido eicosapentaenoico, *20:5n-3*; ácido docosahexaenoico, *22:6n-3*) que pueden reducir la incidencia de desórdenes autoinmunes e inflamatorios (Kroman y Green, 1980). En este sentido, un gran número de estudios clínicos han descrito que la suplementación de aceite de pescado en las dietas tiene efectos muy beneficiosos en el tratamiento de los procesos inflamatorios (Grimminger *et al.*, 1993), artritis reumatoide (Kremer *et al.*, 1990), esclerosis múltiple (Bates *et al.*, 1989), psoriasis (Bittiner *et al.*, 1988) y lupus eritematoso sistémico (Das, 1994). De gran interés es el trabajo llevado a cabo por Linos *et al.*, 1991 quienes demostraron que el aceite de oliva, también es muy eficaz en la reducción de los síntomas característicos de la artritis reumatoide.

1. EFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS SOBRE DIFERENTES PARÁMETROS INMUNITARIOS

La adición de ácidos grasos a cultivos celulares *in vitro*, así como la suplementación de aceites en las dietas suministradas a animales de experimentación o humanos, pueden suprimir, o bien reducir, funciones tales como la proliferación de linfocitos de rata y de humanos (Calder *et al.*, 1991; Calder y Newsholme, 1992a; Soyland *et al.*, 1993), la producción de citoquinas (Calder y Newsholme, 1992b; Calder y

Tabla I

Influencia de los ácidos grasos insaturados sobre la función celular del sistema inmune de humanos y animales de experimentación

Funciones inmunes	Ácidos grasos		
	n-3	n-6	n-9
Proliferación de linfocitos	↓ Yaqoob <i>et al.</i> , 1995	↔ Jeffery <i>et al.</i> , 1996a	↓ Jeffery <i>et al.</i> , 1996b
Producción de IL-1	↓ Kremer <i>et al.</i> , 1990; de Pablo <i>et al.</i> , 1998b	↔ Billiar <i>et al.</i> , 1988	↓ de Pablo <i>et al.</i> , 1998b
Producción de IL-2	↓ Calder y Newsholme 1992a	↑ Yaqoob y Calder, 1995	↔ Yaqoob y Calder, 1995
Producción de TNF	↓ Endres <i>et al.</i> , 1989; ↑ Hardardottir y Kinsella 1991	↓ Billiar <i>et al.</i> , 1988	↔ de Pablo <i>et al.</i> , 1998b
Actividad de células NK	↓ Jeffery <i>et al.</i> , 1996a	↓ Yaqoob <i>et al.</i> , 1994	↓ de Pablo <i>et al.</i> , 1998a

Newsholme, 1992a), la expresión de marcadores de superficies celulares (Clader y Newsholme, 1992b) y la actividad de células natural killer (NK) (Yaqoob *et al.*, 1994; Yamashita *et al.*, 1991). La Tabla I recoge de forma resumida algunos de los principales efectos que los ácidos grasos insaturados producen sobre las células del sistema inmune.

1.1. Efecto sobre la proliferación de linfocitos

Los ácidos grasos insaturados como el ácido oleico, linoleico, araquidónico, α -linolénico, y γ -linolénico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico reducen la proliferación de linfocitos aislados de bazo de rata (Tsang *et al.*, 1977) y de sangre periférica de humanos (Tsang *et al.*, 1977, Meydani *et al.*, 1991) cuando se produce una estimulación con mitógenos específicos de células T como son la fitohemaglutinina (PHA) y la concanavalina A (Con A).

Está ampliamente descrito que la incorporación en la dieta de aceites, tales como el aceite de oliva, girasol y coco, provoca la supresión de la linfoproliferación en células de sangre periférica de rata estimuladas con A (Yaqoob y Newsholme, 1995) y en esplenocitos de ratón estimulados con lipopolisacárido (LPS), Con A, PHA y pokeweed mitogen (PWM) (de Pablo *et al.*, 1998a). Se ha observado que la reducción del proceso proliferativo de los linfocitos es dependiente de la concentración de los ácidos grasos en el medio, ya que en cultivos celulares a los cuales se les ha añadido ácido araquidónico a concentraciones inferiores a 1 $\mu\text{g/ml}$ se ha comprobado un aumento en la estimulación de los linfocitos de humanos procedentes de sangre periférica, en respuesta a PHA, mientras que concentraciones superiores a 20 $\mu\text{g/ml}$ suprimen la proliferación de estos linfocitos (Kelly y Parker, 1979). Por otra parte, dis-

tintos estudios han demostrado que la respuesta linfoproliferativa se altera no sólo por la concentración de ácidos grasos, sino también por la naturaleza de los mismos. De manera que los ácidos grasos saturados, como el mirístico y el palmítico, son menos eficaces en la inhibición de la proliferación celular que los ácidos grasos insaturados (Calder *et al.*, 1991; Calder y Newsholme, 1992a; Calder *et al.*, 1992; Soyland *et al.*, 1993).

1.2. Efecto sobre la producción de citoquinas

1.2.1. Efecto sobre la producción de interleuquina-1

La interleuquina-1 (IL-1) es una citoquina producida por las células mononucleares, cuya producción también se ha observado alterada por el efecto de los ácidos grasos. De hecho, un estudio ya clásico (Kremer *et al.*, 1990) realizado en humanos alimentados con una dieta suplementada con aceite de pescado (rico en ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3) durante 6 semanas reveló que las células mononucleares procedentes de sangre periférica eran capaces de reducir la producción de IL-1. En este mismo estudio, estos autores llegan también a la conclusión de que el aceite de oliva reduce la producción de IL-1, de una forma muy similar a la ejercida por los ácidos grasos de naturaleza poliinsaturada. Por otra parte, nuestros estudios llevados a cabo con ratones de experimentación de la raza Balb/c han revelado una reducción en la producción de IL-1, cuando los animales fueron alimentados con una dieta rica en aceite de oliva y durante diferentes períodos de tiempo (de Pablo *et al.*, 1998b). Sin embargo, en aquellos grupos alimentados con una dieta que contenía aceite de girasol o aceite de coco no se observó ninguna alteración en la producción de esta citoquina.

1.2.2. Efecto sobre la producción de interleuquina-2

En ensayos *ex vivo* realizados con cultivos de linfocitos de rata y humanos, alimentados con una dieta rica en ácidos grasos insaturados, se ha observado una reducción significativa de la producción de IL-2 cuando las células fueron estimuladas con Con A (Calder y Newsholme, 1992a; Calder y Newsholme, 1992b.). Por otra parte, Santoli y Zurier (1989) han demostrado que el ácido di-homo- γ linolénico reduce la producción de IL-2 en células mononucleares de sangre periférica de humanos de forma directa e independiente de los posibles cambios originados en los productos derivados de la ciclooxigenasa.

Por lo tanto, a raíz de lo anteriormente expuesto, no está claro si la reducción en los niveles de IL-2 se debe a un efecto directo de los ácidos grasos sobre la producción de esta citoquina, o bien a la reducción de los niveles de IL-1 (que estimula a los linfocitos T para producir IL-2). De hecho, no es descartable que la inhibición de la linfoproliferación pudiera deberse a una reducción en la síntesis de los receptores de IL-2 (rIL-2) (Soyland *et al.*, 1994).

1.2.3. Efecto sobre la síntesis del factor de necrosis tumoral

El factor de necrosis tumoral (TNF) es una citoquina de carácter polipeptídico sintetizada por macrófagos y linfocitos T en respuesta a una infección, a procesos inflamatorios o a transformaciones celulares. Este polipéptido estimula la producción de otras citoquinas proinflamatorias como son la IL-1 e IL-6.

En humanos, se ha comprobado que al suministrar dietas ricas en aceite de pescado se produce una disminución de la síntesis de TNF por parte de macrófagos procedentes de sangre periférica y estimulados con LPS (Endres *et al.*, 1989). Por el contrario, cultivos celulares de macrófagos peritoneales estimulados con LPS y procedentes de ratones alimentados con aceite de pescado, son capaces de producir más cantidad de TNF que los cultivos de macrófagos procedentes de ratones alimentados con aceite de maíz (Hardardottir y Kinsella, 1991). Nuestros estudios llevados a cabo con células peritoneales procedentes de ratones alimentados durante 3 meses con una dieta rica en aceite de oliva han demostrado que la producción de este factor aumenta muy ligeramente, aunque este incremento no ocurre de forma significativa (de Pablo *et al.*, 1998b). Por el contrario, la administración durante 2 meses de una dieta rica en aceite de coco reduce en un 17% la producción de TNF.

Plata-Salaman (1994) estima que los resultados contrapuestos sobre el efecto de los ácidos grasos en la producción de TNF se deben principalmente a dos causas: una de ellas de carácter metodológico (duración y clase de dietas, combinaciones con otros

nutrientes, diferencias en cuanto a los sistemas de cultivos *in vitro*, etc.) y otra de carácter biológico (especies, edad, peso, sexo, actividad, etc.).

1.3. Efecto sobre la actividad de las células natural killer (NK)

Las células NK son una subpoblación de linfocitos citotóxicos que se encuentran fundamentalmente en sangre y bazo. Estas células están implicadas en actividades biológicas, tales como inmunovigilancia frente a neoplasias, infecciones virales y producción de linfoquinas como es el interferón (IFN).

La actividad de las células NK está regulada por eicosanoides como la prostaglandina de la serie E₂ (PGE₂), que actúa como inhibidor (Brunda *et al.*, 1980); y también por derivados de la ruta de la lipoxigenasa como el leucotrieno de la serie B₄ (LTB₄) junto con el ácido 5-hidroxiperoxi-eicosatetraenoico (5-HPETE), que actúan como estimuladores (Rola Pleszczinski *et al.*, 1983; Bray y Brahmi, 1986). Barone *et al.*, (1989) han demostrado que una disminución en el contenido total de ácidos grasos en la dieta induce un incremento de la actividad de las células NK en humanos. Otros estudios confirman que ácidos grasos como el eicosapentaenoico y el docosahexaenoico reducen la actividad de las células NK en cultivos *in vitro* procedentes de sangre periférica de humanos (Yamashita *et al.*, 1991). Igualmente en ratas y ratones de experimentación se ha descrito que al suministrar dietas con una alta concentración de ácidos grasos de naturaleza insaturada (aceite de oliva, girasol, coco y pescado) se produce una reducción de la actividad de las células NK, superior a la que tiene lugar cuando se suministran dietas que contienen una baja concentración de ácidos grasos, o bien dietas ricas en ácidos grasos de naturaleza saturada (Yaqoob *et al.*, 1994; de Pablo *et al.*, 1998a).

2. REGULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE POR ÁCIDOS GRASOS

Actualmente no se conoce claramente el mecanismo mediante el cual los ácidos grasos modulan la respuesta inmune. Los ácidos grasos alteran la producción de mediadores que están directamente implicados en la comunicación celular (citoquinas, eicosanoides, etc.). Igualmente éstos parecen estar implicados en la modificación de la producción de moléculas de adhesión.

2.1. Alteraciones en la fluidez y composición de la membrana plasmática

Ácidos grasos como los de naturaleza poliinsaturada están implicados en los cambios producidos en la fluidez y composición de la membrana plasmática (Murphy, 1990). Este hecho provoca alteraciones en

una gran variedad de funciones celulares, como son la unión de moléculas a los receptores de superficie celular, quimiotaxis, señales de transducción y sensibilidad de la célula a la invasión por diferentes microorganismos (Stubbs y Smith, 1984). De hecho, cultivos *in vitro* de linfocitos estimulados con mitógenos a los que se les ha añadido distintos ácidos grasos de naturaleza saturada, como el ácido palmítico y el estearico, provocan una disminución en la fluidez de la membrana, mientras que ácidos grasos de naturaleza insaturada incrementan dicha fluidez (Calder *et al.*, 1994).

2.2. Formación de peróxidos

La presencia de dobles enlaces en los ácidos grasos insaturados los hacen sensibles a la peroxidación. Los lípidos peroxidados pueden ser tóxicos para las células (Horrobin, 1984), por lo que una posible explicación del efecto inhibitorio de algunos ácidos grasos insaturados sobre el proceso de proliferación de linfocitos podría ser la formación de peróxidos. Sin embargo, al incluir en los medios de cultivo sustancias antioxidantes, se ha podido comprobar que los procesos oxidativos de los lípidos no afectan a los procesos de proliferación celular (Calder y Newsholme, 1993 b; Soyland *et al.*, 1993). Por el contrario, Galli *et al.* (1994) destacan la importancia de los procesos de peroxidación lipídica y su incidencia sobre distintas patologías (cáncer, artritis reumatoide, aterogénesis y procesos inflamatorios). Estas enfermedades son menos frecuentes en aquellos países donde habitualmente se consume la dieta mediterránea, relacionándose este hecho con los componentes antioxidantes (vitamina E, carotenos y polifenoles) procedentes de los productos que integran dicha dieta, aunque otros autores afirman que los efectos del aceite de oliva sobre la respuesta inmune no deben de ser atribuidos a la acción de los antioxidantes, sino a la del ácido oleico (Jeffery *et al.*, 1996b).

2.2.1. Efectos de los antioxidantes

La vitamina E (tocoferol) es una sustancia natural con características antioxidantes que protege a la membrana plasmática de los procesos de peroxidación lipídica (Chow, 1991). Varios estudios han demostrado que la suplementación de dietas ricas con ácidos grasos de la serie *n-3* en animales de experimentación reducen los niveles de tocoferol en plasma, al comparar estos resultados con los obtenidos a partir de animales de experimentación alimentados con otras dietas de naturaleza saturada (Witting, 1974). La adición de vitamina E en los cultivos celulares *in vitro* reduce los efectos tóxicos inducidos por ácidos grasos poliinsaturados, como consecuencia de la oxidación (Meydani *et al.*, 1987, Calder y Newsholme, 1993b). Un estudio ya clásico describe

que las necesidades de vitamina E se incrementan al aumentar el consumo de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta (MacKenzie *et al.*, 1941). De hecho, se ha determinado que la capacidad de la vitamina E para proteger a la membrana plasmática de la célula de los procesos de oxidación es dependiente de la magnitud y duración del efecto tóxico inducido como consecuencia de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Meydani *et al.*, 1987).

2.3. Producción de eicosanoides

Los eicosanoides incluyen una serie de sustancias como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos cuyo principal precursor es el ácido araquidónico. Este ácido es liberado de la membrana plasmática por acción de la fosfolipasa A_2 y las cantidades y tipos de eicosanoides sintetizados dependerán de la disponibilidad de ácido araquidónico, de los tipos celulares, etc.

La producción de eicosanoides puede considerarse:

- a) Productos derivados de la ruta de la ciclooxigenasa que utiliza al ácido araquidónico o al ácido eicosapentaenoico como sustratos para la producción de prostaglandinas PGE_2 o PGE_3 , respectivamente; las cuales están implicadas en la regulación de numerosos procesos como son: disminución de la proliferación de células T (Goodwin y Ceuppens, 1983), producción de linfoquinas (Calder y Newsholme, 1992a; Calder y Newsholme, 1992b) y disminución de la actividad de células NK (Roder y Klein, 1979; Yaqoob *et al.*, 1994).
- b) Productos derivados de la ruta de la lipoxigenasa que utiliza al ácido araquidónico o al ácido eicosapentaenoico como sustratos para la producción de leucotrienos, del ácido 15-hidroxeicosatetraenoico (15-HETE) y de lipoxinas (Lx). En el caso de los leucotrienos, el más activo en las funciones inmunes es el LTB_4 (derivado del ácido araquidónico) seguido del LTB_5 (derivado del ácido eicosapentaenoico), los cuales poseen propiedades proinflamatorias y en algunos casos promueven un incremento en los niveles de IL-1 e IL-2, además de causar un incremento en la linfoproliferación (Rola-Pleszczinski *et al.*, 1983). El LTB_4 produce además un ligero aumento de la actividad de las células NK (Bray y Brahmi, 1986). Por el contrario, las lipoxinas se han revelado como sustancias capaces de reducir la actividad de células NK en humanos (Ramstedt *et al.*, 1985).

2.4. Alteración de la expresión de genes

La composición de los fosfolípidos de las membranas celulares pueden alterarse en función de los

ácidos grasos de la dieta. La hidrólisis de estos fosfolípidos (como el fosfatidil inositol y la fosfatidil colina) por acción de las fosfolipasas puede generar sustancias que actúan como segundos mensajeros, diacilglicerol e inositol trifosfato. El diacilglicerol a su vez activa algunas isoenzimas de PKC y también la enzima responsable de la liberación de otro segundo mensajero como es la ceramida. Recientemente se ha puesto de manifiesto que dietas con un alto contenido en ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico administradas a ratones de experimentación reducen la generación de diacilglicerol y ceramida en linfocitos estimulados por Con A (Jolly *et al.*, 1997). Estos resultados indican que los ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n-3* afectan a la actividad de fosfolipasas responsables de la producción de los segundos mensajeros que finalmente regulan la actividad y la producción de los factores de transcripción (Jump *et al.*, 1996), como por ejemplo es el factor kappa B (NFκB) implicado en la regulación de la síntesis de citoquinas (Kopp y Ghosh, 1995).

CONCLUSIONES

Los estudios previos han demostrado que los ácidos grasos ejercen una gran influencia sobre las funciones inmunes, dependiendo de una serie de factores como son la naturaleza, la concentración y la duración en el suministro de los ácidos grasos en la dieta de animales de experimentación y de humanos. De esta forma, los ácidos grasos modulan diferentes parámetros inmunológicos como son la linfoproliferación, la producción de citoquinas, la actividad de células NK, la actividad fagocítica de macrófagos/monocitos y células polimorfonucleares, etc. Sin embargo, el mecanismo por el cual los ácidos grasos regulan todos estos procesos permanece aún por aclarar. Aunque la formación de eicosanoides está implicada en estos procesos, la regulación de la expresión génica en células del sistema inmune por acción de los ácidos grasos parece tener una gran influencia en la modulación de la respuesta inmune. En cualquier caso y teniendo en cuenta la capacidad inmunosupresora de algunos ácidos grasos de naturaleza poliinsaturada, los estudios actuales se están enfocando fundamentalmente en la aplicación de éstos en el tratamiento de patologías caracterizadas por una sobreactivación del sistema inmune, como por ejemplo la artritis reumatoide, psoriasis, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- Barone, J., Herbert, J.R. and Reddy, M.M. (1989).—Dietary fat and natural killer cell activity.—*Am. J. Clin. Nutr.*, **50**, 861-867.
- Bates, D., Cartledge, N.E.F., French, J.M., Jackson, M.J., Nightingale, S., Shaw, D.A., Smith, S., Woo, E., Hawkins, S.A., Millar, J.H.D., Belin, J., Conroy, D.M., Gil, S.K., Sidey, M., Smith, A.D., Thopson, R.H.S., Zilkha, K., Gale, M. and Sinclair, H.M. (1989).—A double-blind controlled trial of long chain *n-3* polyunsaturated fatty acids in the treatment of multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Ps.*, **52**, 18-22.
- Billiar, T., Bankey, P., Svingen, B., Curran, R.D., West, M.A., Holma, R.T., Simons, R.L. and Cerra, R.B. (1988).—Fatty acids intake and kupffer cell function: fish oil alters eicosanoid and monokine production to endotoxin stimulation. *Surgery*, **104**, 343-349.
- Bittiner, S.B., Tucker, W.F.G. Cartwright, I. and Bleehen, S.S. (1988).—A double blind, randomised, placebo controlled trial of fish oil in psoriasis. *Lancet*, **i**, 378-380.
- Bray, R.A. and Brahmi, Z. (1986).—Role of lipooxygenation in natural killer cell activation. *J. Immunol.*, **136**, 1783-1790.
- Brunda, J., Heberman, R.B. and Holden, H.T. (1980).—Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins. *J. Immunol.*, **124**, 2682-2687.
- Calder, P.C., Bond, J.A., Bevan, S.J., Hunt, S.V. and Newsholme, E.A. (1991).—Effect of fatty acids on the proliferation of Concanavalin A-stimulated rat lymph node lymphocytes. *Int. J. Biochem.*, **23**, 579-588.
- Calder, P.C., Bevan, S.J. and Newsholme, E.A. (1992).—The inhibition of T-lymphocyte proliferation by fatty acids in via an eicosanoid-independent mechanism. *Immunology*, **75**, 108-115.
- Calder, P.C. and Newsholme, E.A. (1992a).—Polyunsaturated fatty acids suppress human peripheral blood lymphocyte proliferation and Interleukin-2 production. *Clin. Sci.*, **82**, 695-700.
- Calder, P.C. and Newsholme, E.A. (1992b).—Unsaturated fatty acids suppress interleukin-2 production and transferrin receptor expression by Concanavalin A-stimulated rat lymphocytes. *Med. Inflamm.*, **1**, 107-112.
- Calder, P.C. and Newsholme, E.A. (1993a).—The effect of triacylglycerols on lymphocyte proliferation. *Proc. Nutr. Soc.*, **52**, 55A.
- Calder, P. C. and Newsholme, E. A. (1993b).—Influence of antioxidant vitamins on fatty acid inhibition of lymphocyte proliferation. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **29**, 175-183.
- Calder, P.C., Yaqoob, P., Harvey, D.J., Watts, A. and Newsholme, E.A. (1994).—Incorporation of fatty acids by concanavalin A-stimulated lymphocytes and the effect on fatty acids composition and membrane fluidity. *Biochem. J.*, **300**, 509-518.
- Chow, C.K (1991).—Vitamin E and oxidative stress. *Free. Rad. Biol. Med*, **11**, 215-232.
- Das, U.N. (1994).—Beneficial effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the management of systemic lupus erythematosus and its relationship to the cytokine network. *Prostag. Leukot. Essent. Fatty Acids*, **51**, 207-213.
- De Pablo, M.A., Ortega, E., Gallego, A.M., Álvarez, C., Pancorbo, P.L. and Álvarez de Cienfuegos, G. (1998a).—Influence of diets containing olive oil, sunflower oil or hydrogenated coconut oil on the immune response of mice. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **25**, 11-23.
- De Pablo, M.A., Ortega, E., Gallego, A.M., Álvarez, C., Pancorbo, P.L. and Álvarez de Cienfuegos, G. (1998b).—The effect of dietary fatty acids manipulation on phagocytic activity and cytokine production by peritoneal cells from Balb/c mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **44**, 57-67.
- Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V.E., Georgilis, K., Lonnemann, G., Van der meer, J.W.M., Cannon, J.G., Rogers, T.S., Klempner, M.S., Weber, P.C., Schaefer, E.F., Wolff, S.M. and Dinarello, C.A. (1989).—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.*, **320**, 265-271.
- Galli, C., Petroni, A. and Visioli, F. (1994).—Natural antioxidants, with special reference to those in olive oil and cell protection. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2**, 67-68.
- Goodwin, J.S. and Ceuppens, J. (1983).—The regulation of immune responses by prostaglandins. *J. Clin. Immunol.*, **3**, 295-308.
- Grimminger, F., Fuhrer, D., Papavassilis, C., Sholotzer, E., Mayer, K., Heuer, K.U., Kiss, L., Walmrath, D., Piberhorfer, S., Lubbecke, F., Kramer, H.J., Stevens, J., Schutterle, G. and Seeger, W. (1993).—Influence of intravenous *n-3* lipid supplementation on fatty acid profiles and lipid mediator generation in a patient with severe ulcerative colitis. *Eur. J. Clin. Invest.*, **23**, 706-715.
- Hardardottir, I. and Kinsella, J.E. (1991).—Tumor Necrosis Factor production by murine resident peritoneal macrophages is enhanced by dietary *n-3* polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1095**, 187-195.
- Horrobin, D.F. (1984).—Essential fatty acids, lipid peroxidation and cancer on Omega-6 essential fatty acids: pathophysiology and roles in clinical medicine. p. 351-377, D. Horrobin, (Ed.), Wiley-Liss, New York.
- Jeffery, N.M., Sanderson, P., Sherrington, E.J., Newsholme, E.A. and Calder, P.C. (1996a).—The ratio of *n-6* to *n-3* polyunsaturated fatty acids in the rat diet alters serum lipid levels and lymphocyte functions. *Lipids*, **31**, 737-745.
- Jeffery, N.M., Yaqoob, P., Newsholme, E.A. and Calder, P.C. (1996b).—The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions appear to be due to oleic acid. *Ann. Nutr. Metab.*, **40**, 71-80.
- Jolly, C.A., Jiang, Y.H., Chapkin, R.S. and McMurray D.N. (1997).—Dietary (*n-3*) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion and the formation of diacylglycerol and ceramide. *J. Nutr.*, **127**, 37-43.
- Jump, D.B., Clarke, S.D., Thelan, A., Liimatta, M., Ren, B. and Badin, M. (1996).—Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Prog. Lipid. Res.*, **35**, 227-241.
- Kelly, J.P. and Parker, C.W. (1979).—Effects of arachidonic acid and other unsaturated fatty acids on mitogenesis in human lymphocytes. *J. Immunol.*, **122**, 1556-1562.
- Kopp, E.B. and Ghosh, S. (1995).—NF- κ B and rel proteins in innate immunity. *Adv. Immunol.*, **58**, 1-27.
- Kremer, J., Lawrence, D.L., Jubiz, W., Digiacomo, R., Rynes, R., Bartholomew, L.E. and Sherman, M. (1990).—Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis: clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum.*, **33**, 810-820.
- Kromann, N. and Green, A. (1980).—Epidemiological studies in the Upernavik District, Greenland. *Acta Med. Scand.*, **208**, 401-406.
- Linos, A., Kaklamanis, E., Kontomerkos, A., Konmantaki, Y., Gazi, S., Vaiopoulos, G., Tsokos, G.C. and Kaklamanis, P.H. (1991).—The effect of olive oil and fish consumption on rheumatoid arthritis: A case controlled study. *Scand. J. Rheumatol.*, **20**, 419-426.
- Mackenzie, G.G., Mackenzie, J. B. and McCollum, E.V. (1941).—Uncomplicated vitamin E deficiency in rabbit and its relation to the toxicity of cod liver oil. *J. Nutr.*, **21**, 225-232.
- Meydani, S.N., Shapiro, A.C., Meydani, M., Macauley, J.B. and Blumberg, J.B. (1987).—Effect of age and dietary fat (fish, corn and coconut oils) on tocopherol status of C57BL/6NIA mice. *Lipids*, **22**, 345-350.
- Meydani, S.N., Endres, S., Woods, M.M., Goldin, B. R., Soo, C., Morrill-Labrode, A., Dinarello, C. and Gorbach S.L. (1991).—Oral (*n-3*) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J. Nutr.*, **121**, 547-555.
- Murphy, M.G. (1990).—Dietary fatty acids and membrane protein function. *J. Nutr. Biochem.*, **1**, 68-79.
- Plata-Salaman, C.R. (1994).—Tumor Necrosis Factor (TNF) production in response to lipids: immunomodulatory activity with clinical applicability? *Nutrition*, **10**, 179-180.
- Ramstedt, U., Ng, J., Wigzell, H., Serhan, C.N. and Salmuelsson, B. (1985).—Action of novel eicosanoids lipoxin A and B on human natural killer cell cytotoxicity. Effects on intracellular cAMP and target cell binding. *J. Immunol.*, **135**, 3434-3438.
- Roder, J.C. and Klein, M. (1979).—Target-effector interaction in the natural killer cell system. *J. Immunol.*, **123**, 2785-2790.
- Rola-Pleszczynski, M., Gagnon, L., Sirois, P. (1983).—Leukotriene B₄ augments human natural cytotoxic cell activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **113**, 531-537.
- Santoli, D. and Zurier, R.B. (1989).—Prostaglandin E precursor fatty acids inhibit human IL-2 production by a prostaglandin E-independent mechanism. *J. Immunol.*, **143**, 1303-1309.
- Soyland, E., Nenseter, M.S., Baathen, L. and Drevon, C.A. (1993). Very long chain *n-3* and *n-6* polyunsaturated fatty acids inhibit proliferation of human T-lymphocytes *in vitro*. *Eur. J. Clin. Invest.*, **23**, 112-121.
- Soyland, E., Lea, T., Sandstad, B. and Debron, A. (1994).—Dietary supplementation with very long chain *n-3* fatty acids in man decreases expression of the interleukin-2 receptor (CD25) on mitogen-stimulated lymphocytes from patients with inflammatory skin diseases. *Eur. J. Clin. Invest.*, **24**, 236-242.
- Stubbs, C.D. and Smith, A.D. (1984).—The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochem. Biophys. Acta*, **119**, 89-137.
- Swank, R.L. (1950).—Multiple sclerosis: a correlation of its incidence with dietary fat. *Am. J. Med. Sci.*, **220**, 421-430.
- Tsang, W.M., Weyman C. and Smith, A.D. (1977).—Effect of fatty acid mixtures on phytohaematagglutinin stimulated lymphocytes from different species. *Biochem. Soc. Trans.*, **5**, 153-154.
- Witting, L.A. (1974).—Vitamin E-polyunsaturated lipid relationship in diet and tissues. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 952-959.
- Yamashita, N., Maruyama, M., Yamazaki, K., Hamazaki, T. and Yano, S. (1991).—Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on natural killer cell activity in human peripheral blood lymphocytes. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **59**, 335-345.
- Yaqoob, P., Newsholme, E.A. and Calder, P.C. (1994).—Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids. *Immunol. Lett.*, **41**, 241-247.
- Yaqoob, P., Newsholme, E.A. and Calder, P.C. (1995).—The effect of fatty acids on leukocyte subsets and proliferation in rat whole blood. *Nutr. Res.*, **15**, 279-287.
- Yaqoob, P. and Calder, P.C. (1995).—The effects of dietary lipid manipulation on the production of murine T-cell-derived cytokines. *Cytokine*, **7**, 548-553.