

*Mikołaj Kopeć, Daniel Głębowski, Małgorzata Mazurek-Mochol¹,
Andrzej Pawlik*

ZNACZENIE KWASÓW OMEGA-3 I OLEJU RYBNEGO W DIECIE

Katedra Fizjologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *A. Pawlik*

¹ Zakład Periodontologii
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *E. Dembowska*

Słowa kluczowe: olej rybny, CHD, EPA, DHA, EPA/AA.

Key words: fish oil, CHD, EPA, DHA, EPA/AA.

Nowe wytyczne AHA (ang. *American Heart Association*), zalecają typ terapii statynami w oparciu o poziom ryzyka sercowo-naczyniowego pacjenta (1). Terapia statynami zmniejsza względne ryzyko choroby wieńcowej (ang. *coronary heart disease*, CHD) w przybliżeniu o 25%, jednak redukcja ryzyka bezwzględnego to zaledwie 3,4%. Podejście to sprawia, że wielu pacjentów leczonych statynami pozostaje w grupie wysokiego ryzyka CHD (2). Okazuje się, że spożywanie olejów pochodzenia rybnego, ma podobne skutki kliniczne, co terapia tłuszczami omega-3 (3). Może mieć to zastosowanie u pacjentów leczonych statynami z wysokim ryzykiem CHD.

Szwedzkie badania kohortowe, przeprowadzone na ponad 36 tysiącach kobiet, w ciągu 8 lat, wykazały związek pomiędzy zwiększeniem ilości tłustych ryb w diecie, a mniejszą częstością hospitalizacji z powodu niewydolności serca (4). Jednakże próby kliniczne, polegające na modyfikacji ilości spożywanego oleju rybnego, nie odnotowały znaczącego zmniejszenia zdarzeń sercowo-naczyniowych (ang. *cardiovascular disease*, CVD), wynikających z jego przyjmowania. Problem pojawił się, odkąd odnotowane zostały duże rozbieżności pomiędzy stężeniami osiąganymi w wyniku suplementacji olejem rybnym u poszczególnych pacjentów (5). W odpowiedzi na suplementację stałymi dawkami oleju rybnego, jedynie część pacjentów osiągała stężenie terapeutyczne. Najnowsze badania przyczyniły się do wyjaśnienia tego problemu. W tym artykule poruszono problem potencjalnych wad i korzyści, płynących z suplementacji kwasami omega-3.

Pomiary stężenia kwasów omega-3 mogą zostać wykonane zarówno w osoczu, surowicy, jak i w błonie komórkowej erytrocytów. Klinicznie użyteczne pomiary mieszczą się w indeksie omega-3, na który składają się takie elementy, jak procentowy udział kwasów eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA), współczynnik EPA/AA (kwas arachidonowy), oraz ilość EPA+DHA. Dostępne są różne metody laboratoryjne, w skład których wchodzi chromatografia gazowa, pomiar składu błony komórkowej erytrocytów oraz spektroskopia mas (5).

Kwestie sporne

Kontrowersje wokół wpływu kwasów omega-3 na CVD, nie zostały do końca wyjaśnione. Ostatnia metaanaliza, blisko 16,5 tysiąca pacjentów leczonych kwasami omega-3 i ilościowo zbliżonej grupy kontrolnej, nie wykazała satysfakcjonującego zmniejszenia występowania poważnych incydentów sercowo-naczyniowych. Metaanaliza ta nie obejmowała pomiaru stężeń kwasów omega-3 we krwi (6). W tej samej analizie, udowodniony został znaczący wpływ suplementacji kwasami omega-3 na zmniejszenie śmiertelności w przebiegu CVD. Singapursko-chińskie badania kwestionariuszowe dotyczyły diety ponad 890. tysięcy dorosłych Chińczyków, wraz z informacjami na temat śmierci ponad 63. tysięcy z nich. Na podstawie kwestionariuszy, oszacowano spożycie EPA, DHA i ALA (kwas α -linolenowy) pochodzących z diety. Kwasy te były związane ze zmniejszeniem liczby zgonów z powodu incydentów sercowo-naczyniowych (7). Hiszpańskie badania kohortowe EPIC (ang. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), także oszacowały za pomocą kwestionariuszy, udział kwasów omega-3 w diecie (8). W przeciwieństwie do badań singapurskich, hiszpańska kohorta, oceniając osiągnięte stężenia kwasów omega-3, nie odnotowała żadnego związku pomiędzy spożyciem EPA i DHA, a incydentami CVD zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn. Dwa badania dotyczące wpływu suplementacji 1 g kwasów omega-3 dziennie, zarówno po roku, jak i po 6,2 latach prowadzenia, nie odnotowały korzystnego wpływu na incydenty sercowo-naczyniowe (9). W żadnym z przeprowadzanych badań nie mierzono stężenia kwasów omega-3 we krwi. Jest to istotna różnica pomiędzy badaniami przeprowadzonymi przez MESA (ang. *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*), których pomiary stężeń kwasów omega-3, wskazywały na istotny statystycznie związek pomiędzy stężeniem EPA i DHA we krwi, a zmniejszeniem ryzyka względnego CVD. Wśród kwartyli badanych z najwyższym stężeniem EPA we krwi, ryzyko względne wyniosło 0,49, natomiast wśród kwartyli z najwyższym stężeniem DHA we krwi 0,39, w porównaniu do kwartyli z najniższymi stężeniami odpowiednio EPA i DHA (10). W odniesieniu do ALA i n-6 PUFA (ang. *polyunsaturated fatty acids*), nie wykazano istotnie statystycznego związku, co może być spowodowane suplementacją tylko 1 g kwasów omega-3, przez co próg skuteczności nie może być osiągnięty. Badania JELIS (ang. *Japan eicosapentaenoic acid (EPA) Lipid Intervention Study*) wykazały, że dobrze reagowały na suplementację kwasami omega-3 (39% zmniejszone ryzyko dużych incydentów wieńcowych) osoby, które nie osiągnęły docelowego poziomu LDL i cholesterolu nie-HDL (11).

Kwas linolowy (LA), w dużych stężeniach, występuje w olejach: szafranowym, słonecznikowym, bawełnianym, kukurydzianym i sojowym. Początkowo rekomendowano je jako zastępstwo tłuszczów zawierających nasycone kwasy tłuszczowe w diecie, lecz odkrycia *Sydney Diet Heart Study* sugerują, że mógł to być błąd. *Sydney Diet Heart Study* przeprowadziło randomizowaną próbę na grupie 458. mężczyzn w latach 1966–1973. Część grupy otrzymywała LA w postaci oleju słonecznikowego i wielonienasyconą margarynę, osiągając wyższy współczynnik śmierci w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio 17,6% i 11,8%, ryzyko względne wyniosło 1,62), co sugerowało, że zamiana kwasów nasyconych na LA zwiększa ryzyko zgonu z powodów zarówno CHD, jak i CVD. Szkodliwy wpływ LA, wy-

stępującego w preparatach zawierających kwasy omega-3, może istotnie osłabiać korzyści odnoszone z ich suplementacji.

Różnice osobnicze w odpowiedzi na leczenie kwasami omega-3

W próbach klinicznych, z użyciem oleju rybnego stosowano dawki 1 g dziennie, we wszystkich grupach badawczych. W badaniach wykazano, że podawanie 1 g EPA dziennie wpływa na zwiększenie całkowitej ilości EPA + DHA we krwi w zakresie od 3,6% do 5,4%. W przybliżeniu, 16% badanych osiągnęło poziom EPA + DHA poniżej 4,8% (12). Jest to istotna klinicznie informacja, odkąd zaobserwowano dramatyczny spadek nagłych zgonów wieńcowych u osób z poziomem DHA > 5% (12). Osobnicza zmienność odpowiedzi na tak powszechną dawkę, z powodu niemożności osiągnięcia stężenia terapeutycznego EPA + DHA we krwi, mogła pozostawić znaczną liczbę pacjentów w grupie wysokiego ryzyka CHD. Współczynnik EPA/AA, jest klinicznie istotnym pomiarem, który w odpowiedzi na stałą dawkę suplementacji, w zależności od genotypu, u poszczególnych osób może przyjmować różne wartości. Współczynnik EPA/AA > 0,75 został zakwalifikowany jako znacząco obniżający ryzyko poważnych incydentów wieńcowych (ang. *major coronary events*, MCE) w populacji japońskiej (13). Zbadano, iż wpływ spożycia oleju rybnego w ilości 4 g/d, w przybliżeniu zwiększa współczynnik EPA/AA z 0,12 do 0,9 (14). Oszacowano, że u 68% badanych uzyskano współczynnik EPA/AA w granicach 0,78–1,02, podczas gdy u 16% wynosił on mniej niż 0,78. Tak więc, mimo suplementacji kwasami omega-3 w ilości 4 g/d, średnio 16% badanych nie uzyskało określonego celu.

Część z tych zmienności osobniczych jest związana z uwarunkowanymi genetycznie różnicami w metabolizmie kwasów tłuszczowych. Zdolność do przewidzenia zmiany indeksu omega-3 pacjenta, w odpowiedzi na terapię kwasami omega-3, zależy także od takich czynników jak masa ciała. Zbadano indywidualną odpowiedź, ocenianą za pomocą indeksu omega-3, na suplementację EPA + DHA w ilości 0, 300, 600, 900 i 1800 mg/d. Uwzględniono wpływ masy ciała na model prognostyczny, zawierający dawkowanie EPA + DHA, które w zależności od przewidywanej zmiany odpowiedzi, mogło zmienić się od 68% do 70%, a przy uwzględnieniu kolejnych czynników takich jak pierwotny indeks omega-3, wiek, płeć, i aktywność fizyczna, dodatkowo udoskonalono zakres prognozowania odpowiedzi na leczenie, modyfikując dawkę pierwotną nawet o 78% (15).

Stężenia kwasów omega-3 w populacji

Stężenia kwasów omega-3 we krwi mogą różnić się w zależności od stylu życia (np. od spożycia ryb), obszaru geograficznego i zmienności genetycznych. U Japończyków, wymagających przezskórnej interwencji wieńcowej (ang. *percutaneous coronary intervention*, PCI), współczynnik EPA/AA wynosił 0,40, podczas gdy w grupie bezobjawowej wynosił 0,41 (16, 17). W każdym z tych dwóch badań odnotowano istotną statystycznie zależność pomiędzy wskaźnikiem EPA/AA a incydentami wieńcowymi.

Różnice są jeszcze bardziej wyraźne pomiędzy różnymi grupami etnicznymi. W *Physicians Health Study* badania osób rasy kaukaskiej, zmarłych w wyniku nagłej śmierci sercowej, wykazały średnie odchylenie standardowe EPA na poziomie (%) $1,72 \pm 0,59$, DHA – $2,12 \pm 0,65$ w grupie po przebytych nagłym zgonie sercowym

i EPA – $1,84 \pm 0,53$, DHA – $2,38 \pm 0,78$ w grupie kontrolnej (18). Jest to odzwierciedlenie średniego indeksu omega-3 o wartości 3,85% wśród grupy po przebytej nagłej śmierci sercowej, w porównaniu do 4,22% w grupie kontrolnej. Dla współczynnika EPA/AA odchylenie standardowe w Japonii wynosi $0,63 \pm 0,40$ (13).

Aby wyniki danego pacjenta miały zastosowanie kliniczne, ważne jest, aby porównać je do zakresu referencyjnego, określonego na podstawie populacji tej samej narodowości, ze względu na różnice w kwestiach dietetycznych i środowiskowych. Wiele, z wcześniej wspomnianych badań, zostało przeprowadzonych na populacji europejskiej bądź azjatyckiej, w których zróżnicowanie dietetyczne i inne czynniki mające wpływ na stężenie kwasów omega-3 we krwi, są odmienne od tych występujących na przykład w Stanach Zjednoczonych.

Cel terapeutyczny

Istotny klinicznie współczynnik EPA/AA, o wartości $> 0,75$, jest związany ze znacząco niższym ryzykiem CVD w populacji japońskiej. Współczynnik EPA/AA ma także związek ze stosunkiem prostaglandyny (PGI_3 i PGI_2), do tromboksanu (TxA_2) (19). Oceniono stosunek EPA/AA u ponad 3 tysięcy zdrowych, dorosłych Japończyków i opisano istotny statystycznie związek pomiędzy większą częstością incydentów CVD a niższym współczynnikiem EPA/AA (17). Widoczne to było zwłaszcza u pacjentów z poziomem CRP ≥ 1 mg/L. U badanych, ze współczynnikiem EPA/AA $< 0,29$, z jednoczesnym CRP ≥ 1 mg/L częstość wystąpienia incydentów CVD na tysiąc osób wyniosła 23,3, podczas gdy grupa z takim samym współczynnikiem EPA/AA, z CRP < 1 mg/L, posiadała częstość wystąpienia incydentów CVD na poziomie 8,2. Ryzyko CVD wzrastało liniowo 1,52 raza, na każde zwiększenie współczynnika EPA/AA o 0,20 w grupie z CRP ≥ 1 mg/L.

Wśród pacjentów z ostrym udarem niedokrwiennym, wczesne pogorszenie neurologiczne jest silnie związane z cukrzycą, wcześniejszym przebiegiem udaru, ChNS i współczynnikiem EPA/AA i DHA/AA. Badania wykazały także, że niski stosunek kwasów omega-3/omega-6, może sugerować pogorszenie neurologiczne, z ostrym udarem niedokrwiennym. Rola kwasów omega-3, u pacjentów po koronaroplastyce, pozostaje w kręgu zainteresowań badaczy, jednak danych na ten temat jest wciąż niewiele. Analiza poziomu kwasów omega-3 w osoczu, przeprowadzona na 284. pacjentach po koronaroplastyce, z przebytymi poważnymi incydentami kardiologicznymi (ang. *major adverse cardiac events*, MACE), związanych z koronaroplastyką wykazała, że wskaźnik EPA/AA $> 0,404$ w surowicy, miał związek z niską częstością występowania MACE (16). Wyniki te były istotne statystycznie, także po uwzględnieniu wieku, płci, występowania cukrzycy, nadciśnienia i palenia tytoniu.

Choroby nerek

Długotrwała hemodializa może mieć wpływ na poziom kwasów omega-3 we krwi i ryzyko choroby wieńcowej. W Japonii, na ponad 500 dializowanych pacjentach wykazano, że ich współczynniki EPA/AA i DHA/AA są istotnie zmniejszone, w porównaniu do grupy kontrolnej (20). Co ważne, bezwzględne stężenia EPA, DHA i AA nie są czynnikami predykcyjnymi dla CVD. U dializowanych pacjentów wykazano, że osoczowe stężenia kwasów omega-3 są niekorzystnie zmienione oraz, że niski stosunek kwasów omega-3/AA jest niezależnym czynnikiem prognostycznym CVD.

U pacjentów z nefropatią IgA, którym podawano 3,35 g kwasów omega-3 dziennie, poziom EPA zwiększył się z $0,8 \pm 0,5$ do $3,1 \pm 1,3\%$, a poziom DHA z $3,7 \pm 1,6$ do $6,5 \pm 1,3\%$. U pacjentów leczonych dawką 6,7 g/d poziomy te zwiększyły się odpowiednio z $0,9 \pm 0,6$ do $5,2 \pm 1,8\%$, i z $3,5 \pm 1,4$ do $7,1 \pm 1,6\%$ (21). U chorych z nefropatią IgA, którym podawano 4 g/d oleju rybnego, wskaźnik EPA/AA zwiększył się z $0,09 \pm 0,7$ do $0,45 \pm 0,4$. Obrazuje to jak znaczący wpływ mają różnice osobnicze w odpowiedzi na leczenie (21).

Zwapnienie naczyń wieńcowych

Prowadzone w Holandii badania wykazały, że spożywanie ryb miało związek ze wskaźnikiem uwapnienia tętnic wieńcowych (22). Porównano także poziomy kwasów tłuszczowych wśród Japończyków mieszkających w Japonii i w USA oraz osób rasy kaukaskiej, mieszkających w USA. Poziom kwasów omega-3 był dwukrotnie wyższy wśród przedstawicieli pierwszej grupy, w porównaniu do pozostałych. Częstość zwapnienia tętnic wieńcowych u Japończyków mieszkających w Japonii wynosiła 9,3%, podczas gdy dla pozostałych grup wynosiła blisko 30% (23). Różnice w występowaniu zwapnienia tętnic wieńcowych, wśród tych populacji, zatarły się po wyrównaniu poziomu kwasów omega-3. Zbadano także grupę 214 Japończyków i 152 osób rasy kaukaskiej, u których nie stwierdzono zwapnień w tętnicach wieńcowych. Po uwzględnieniu wieku, ciśnienia skurczowego, profilu lipidowego i występowania cukrzycy, okazało się, że pacjenci z Japonii mają znacznie mniejszą częstość występowania zwapnienia tętnic wieńcowych niż rasa kaukaska (23).

Zaburzenia psychiatryczne

Depresja i choroby psychiatryczne zyskały ostatnio na znaczeniu, jako czynnik mający związek z ryzykiem i następstwami CVD. Depresja, występująca po zawałe lub zabiegach sercowo-naczyniowych, przyczynia się do zwiększenia ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych. Kwasy tłuszczowe mają szczególne znaczenie dla właściwego funkcjonowania mózgu, przy czym kluczowa rola przypada kwasom omega-3. Retrospektywne badania, prowadzone z udziałem Japończyków po przebytych ostrym udarze niedokrwiennym wykazały, że współczynniki EPA/AA i DHA/AA były odwrotnie proporcjonalne do częstości występowania wczesnego pogorszenia neurologicznego (24).

Rak

Związek pomiędzy olejem rybnym i rakiem prostaty znany jest od 1994 r. Czynniki środowiskowe wydają się mieć wpływ na rozwój hormonozależnych nowotworów takich jak rak piersi czy prostaty. Zawartość tłuszczu w diecie była analizowana w związku z ryzykiem raka piersi i prostaty, jednak nie otrzymano jednoznacznych wniosków. Badania *in vitro* przeprowadzane na zwierzętach, wskazywały na protekcyjne działanie kwasów omega-3 na wzrost guzów (25). W obszernym przeglądzie epidemiologicznym określono, że w związku z brakiem badań, które zawierałyby istotne dane, takie jak rodzaj spożywanych ryb czy nasilenie tkankowej koncentracji kwasów omega-3, wnioskowanie na temat korelacji pomiędzy spożyciem ryb morskich a rakiem jest niemożliwe (26). W 2011 r. doniesiono,

że poziom DHA w surowicy związany był z zaawansowanym rakiem prostaty. Związek kwasów tłuszczowych z niezaawansowanym rakiem prostaty nie został jednak potwierdzony (27).

Metaanaliza 12. badań z 2013 r. określiła, że wysoki poziom EPA w surowicy był związany z obniżonym ryzykiem raka prostaty. Wykazano, że jednoczesny wzrost stężenia EPA i DHA może być związany z podwyższonym ryzykiem raka prostaty. W 2013 r. opublikowano raport opierający się na badaniu kwestionariuszowym spożycia ryb w diecie (28). Okazało się, że solone i wędzone ryby mogą zwiększać ryzyko zaawansowanego raka prostaty, podczas gdy spożywanie oleju rybnego może mieć protekcyjny wpływ na prostatę.

Czynniki środowiskowe

Zanieczyszczenie powietrza i jego szkodliwy wpływ na zdrowie, są przedmiotem zainteresowań wielu badań. Wskazują one, że ekspozycja na ozon i smog mogą nasilić zapadalność na anginę i CHD (29). Obniżona zmienność rytmu zatokowego (ang. *heart rate variability*, HRV) jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla nagłego zgonu sercowego, zawału serca, niewydolności serca i arytmii u pacjentów z CHD. Suplementacja kwasami omega-3 zapobiega obniżaniu HRV przez zanieczyszczenia powietrza z poziomu 54% do 7% (30). Zastosowanie w badaniach randomizowanej, podwójnie ślepej próby umożliwiła określenie potencjalnie ochronnego wpływu suplementacji 3 g/d kwasów omega-3 na osoby narażone na 2-godzinne działanie zanieczyszczeń powietrza w komorze eksperymentalnej (29). Badanie to wykazało, że zanieczyszczone powietrze indukuje ostre zmiany zachodzące w mięśniu sercowym i profilu lipidowym, głównie poprzez wpływ na triglicerydy i VLDL. Parametry te nie poprawiały się po suplementacji olejem z oliwek, natomiast po zastosowaniu suplementacji 3 g/d kwasami omega-3, uległy łagodnej redukcji.

PODSUMOWANIE

Kontrowersje odnośnie klinicznej roli wzmożonego spożycia tłustych ryb lub suplementacji kwasami omega-3 powoli się rozjaśniają. Występujące we krwi stężenia kwasów omega-3 wykazują bezpośredni związek z ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych. Kontrolowanie dawki kwasów omega-3 przyjmowanej przez pacjenta nie jest z kolei użyteczne w określaniu tego ryzyka, co spowodowane jest różnicami w osiągniętych stężeniach, u różnych pacjentów, przy suplementacji określoną dawką. Jak donoszono w raporcie JELIS, na korzyści ze spożywania oleju rybnego mogą mieć wpływ także inne czynniki ryzyka, takie jak poziomy cholesterolu LDL i cholesterolu nie-HDL. Co więcej, z badań prowadzonych ostatnio wynika, że poziomy EPA i DHA są odwrotnie proporcjonalne do stopnia ryzyka choroby wieńcowej (10). Stosunek EPA/AA także jest użytecznym klinicznie współczynnikiem, wykazującym silną zdolność predykcyjną, zwłaszcza w połączeniu z innymi czynnikami ryzyka.

Pacjenci dializowani i z nefropatią stanowili grupę pacjentów, która, jak pierwotnie uważano, mogłaby czerpać korzyści z oznaczania poziomu kwasów omega-3 we krwi, lecz okazała się zbyt niejednorodna w kwestii odpowiedzi na leczenie tymi kwasami.

Nieinwazyjne badanie zwapnienia tętnic wieńcowych, wśród populacji japońskiej i amerykańskiej, wykazało związek między częstością występowania tej jednostki a poziomem kwasów omega-3 we krwi. Niskie poziomy kwasów omega-3 we krwi mogą być także związane z pogorszeniem neurologicznym u pacjentów z udarami niedokrwiennymi.

Dalsze badania powinny być oczywiście kontynuowane, przy czym powinny skupić się na poziomach stężeń kwasów tłuszczowych we krwi i na tej podstawie modyfikować dawki suplementacyjne.

M. Kopeć, D. Głąbowski, M. Mazurek-Mochol, A. Pawlik

SIGNIFICANCE OF OMEGA-3 ACIDS AND FISH OIL IN DIET

PIŚMIENNICTWO

1. Stone N.J., Robinson J.G., Lichtenstein A.H., Goff Jr D.C., Lloyd-Jones D.M., Smith Jr S.C., Blum C., Schwartz J.S.: ACC/AHA Cholesterol Guideline Panel.: Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk in Adults: Synopsis of the 2013 ACC/AHA Cholesterol Guideline. *Ann. Intern. Med.*, 2014; 160(5): 339-43. – 2. Superko H.R., King 3rd S.: Lipid management to reduce cardiovascular risk: a new strategy is required. *Circulation.*, 2008; 117(4): 560-8. – 3. Levitan E.B., Wolk A., Mittleman M.A.: Fatty fish, marine omega-3 fatty acids and incidence of heart failure. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2010; 64(6): 587-94. – 4. Superko H.R., Superko S.M., Nasir K., Agatston A., Garrett B.C.: Omega-3 Fatty Acid Blood Levels: Clinical significance and Controversy. *Circulation.*, 2013; 128: 2154-61. – 5. Fuchs B., Süß R., Teuber K., Eibisch M., Schiller J.: Lipid analysis by thin-layer chromatography—a review of the current state. *J. Chromat. A.*, 2011; 1218: 2754-74. – 6. Wen Y.T., Dai J.H., Gao Q.: Effects of Omega-3 fatty acid on major cardiovascular events and mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr. Metab. Cardiovasc Dis.*, 2014; 24(5): 470-5. – 7. Koh A.S., Pan A., Wang R., Odegaard A.O., Pereira M.A., Yuan J.M., Koh W.P.: The association between dietary omega-3 fatty acids and cardiovascular death: the Singapore Chinese Health Study. *Eur. J. Prev. Cardiol.*, 2015; 22(3): 364-72. – 8. Amiano P., Machón M., Dorronsoro M., Chirlaque M.D., Barricarte A., Sánchez M.J., Navarro C., Huerta J.M., Molina-Montes E., Sánchez-Cantalejo E., Urbizberea M., Arriola L., Larrañaga N., Ardanaz E., Quirós J.R., Moreno-Iribas C., González C.A.: Intake of total omega-3 fatty acids, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and risk of coronary heart disease in the Spanish EPIC cohort study. *Nutr. Metab. Cardiovasc Dis.*, 2014; 24(3): 321-7. – 9. ORIGIN Trial Investigators, Bosch J., Gerstein H.C., Dagenais G.R., Diaz R., Dyal L., Jung H., Maggiono A.P., Probstfield J., Ramachandran A., Riddle M.C., Rydén L.E., Yusuf S.: N-3 fatty acids and cardiovascular outcomes in patients with dysglycemia. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 367(4): 309-18. – 10. de Oliveira Otto M.C., Wu J.H., Baylin A., Vaidya D., Rich S.S., Tsai M.Y., Jacobs D.R. Jr, Mozaffarian D.: Circulating and dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and incidence of CVD in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J. Am. Heart Assoc.*, 2013; 2(6): e000506.

11. Sasaki J., Yokoyama M., Matsuzaki M., Saito Y., Origasa H., Ishikawa Y., Oikawa S., Itakura H., Hishida H., Kita T., Kitabatake A., Nakaya N., Sakata T., Shimada K., Shirato K., Matsuzawa Y.: JELIS Investigators.: Relationship between coronary artery disease and non-HDL-C, and effect of highly purified EPA on the risk of coronary artery disease in hypercholesterolemic patients treated with statins: sub-analysis of the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). *J. Atheroscler Thromb.*, 2012; 19(2): 194-204. – 12. Rupp H., Wagner D., Rupp T., Schulte L.M., Maisch B.: Risk stratification by the “EPA+DHA level” and the “EPA/AA ratio”. *Herz.*, 2004; 29: 673-85. – 13. Tanaka K., Ishikawa Y., Yokoyama M., Origasa H., Matsuzaki M., Saito Y., Matsuzawa Y., Sasaki J., Oikawa S., Hishida H., Itakura H., Kita T., Kitabatake A., Nakaya N., Sakata T., Shimada K., Shirato K., JELIS Investigators, Japan.: Reduction in the recurrence of stroke by eicosapentaenoic acid for hypercholesterolemia patients: subanalysis of the JELIS Trial. *Stroke.*, 2008; 39: 2052-8. – 14. Laidlaw M., Holub B.J.: Effects of supplementation with fish

oil-derived n-3 fatty acids and alpha-linolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 77: 37-42. – 15. *Flock M.R., Skulas-Ray A.C., Harris W.S., Etherton T.D., Fleming J.A., Kris-Etherton P.M.*: Determinants of erythrocyte omega-3 fatty acid content in response to fish oil supplementation: a dose-response randomized controlled trial. *J. Am. Heart Assoc.*, 2013; 2(6): e000513. – 16. *Domei T., Yokoi H., Kuramitsu S., Soga Y., Arita T., Ando K., Shirai S., Kondo K., Sakai K., Goya M., Iwabuchi M., Ueeda M., Nobuyoshi M.*: Ratio of serum n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acids and the incidence of major adverse cardiac events in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Circ. J.*, 2012; 76(2): 423-9. – 17. *Ninomiya T., Nagata M., Hata J., Hirakawa Y., Ozawa M., Yoshida D., Ohara T., Kishimoto H., Mukai N., Fukuhara M., Kitazono T., Kiyohara Y.*: Association between ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of cardiovascular disease: the Hisayama Study. *Atherosclerosis.*, 2013; 231(2): 261-7. – 18. *Albert C.M., Campos H., Stampfer M.J., Ridker P.M., Manson J.E., Willett W.C., Ma J.*: Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 346(15): 1113-8. – 19. *Ohnishi H., Saito Y.*: Eicosapentaenoic Acid (EPA) reduces cardiovascular events: Relationship with the EPA/Arachidonic acid ratio. *J. Atheroscler Thromb.*, 2013; 20: 861-77. – 20. *Shoji T., Kakiya R., Hayashi T., Tsujimoto Y., Sonoda M., Shima H., Mori K., Fukumoto S., Tahara H., Shioi A., Tabata T., Emoto M., Nishizawa Y., Inaba M.*: Serum n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid profile as an independent predictor of cardiovascular events in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.*, 2013; 62(3): 568-76.

21. *Donadio J.V., Bergstralh E.J., Bibus D.M., Grande J.P.*: Is body size a biomarker for optimizing dosing of omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of patients with IgA nephropathy? *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006; 1(5): 933-9. – 22. *Heine-Bröring R.C., Brouwer I.A., Proença R.V., van Rooij F.J., Hofman A., Oudkerk M., Witteman J.C., Geleijnse J.M.*: Intake of fish and marine n-3 fatty acids in relation to coronary calcification: the Rotterdam Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010; 91(5): 1317-23. – 23. *Sekikawa A., Miura K., Lee S., Fujiyoshi A., Edmundowicz D., Kadowaki T., Evans R.W., Kadowaki S., Sutton-Tyrrell K., Okamura T., Bertololet M., Masaki K.H., Nakamura Y., Barinas-Mitchell E.J., Willcox B.J., Kadota A., Seto T.B., Maegawa H., Kuller L.H., Ueshima H., ERA JUMP Study Group.*: Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and incidence rate of coronary artery calcification in Japanese men in Japan and white men in the USA: population based prospective cohort study. *Heart.* 2013; 100(7): 569-73. – 24. *Suda S., Katsumata T., Okubo S., Kanamaru T., Suzuki K., Watanabe Y., Katsura K., Katayama Y.*: Low serum n-3 polyunsaturated fatty acid/n-6 polyunsaturated fatty acid ratio predicts neurological deterioration in Japanese patients with acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.*, 2013; 36(5-6): 388-93. – 25. *Ip C.*: Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997; 66(6): 1523S-1529S. – 26. *Terry P.D., Rohan T.E., Wolk A.*: Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancers of the breast and prostate and of other hormone-related cancers: a review of the epidemiologic evidence. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 77(3): 532-43. – 27. *Brasky T.M., Till C., White E., Neuhauser M.L., Song X., Goodman P., Thompson I.M., King I.B., Albanes D., Kristal A.R.*: Serum phospholipid fatty acids and prostate cancer risk: Results from the prostate cancer prevention trial. *Am. J. Epidemiol.*, 2011; 173(12): 1429-39. – 28. *Torfadottir J.E., Valdimarsdottir U.A., Mucci L.A., Kasperzyk J.L., Fall K., Tryggvadottir L., Aspelund T., Olafsson O., Harris T.B., Jonsson E., Tulinius H., Gudnason V., Adami H.O., Stampfer M., Steingrimsdottir L.*: Consumption of fish products across the lifespan and prostate cancer risk. *PLoS One.*, 2013; 17; 8(4): e59799. – 29. *Tong H., Rappold A.G., Diaz-Sanchez D., Steck S.E., Bernsten J., Cascio W.E., Devlin R.B., Samet J.M.*: Omega-3 fatty acid supplementation appears to attenuate particulate air pollution-induced cardiac effects and lipid changes in healthy middle-aged adults. *Environ Health Perspect.*, 2012; 120(7): 952-7. – 30. *Romieu I., Téllez-Rojo M.M., Lazo M., Manzano-Patiño A., Cortez-Lugo M., Julien P., Bélanger M.C., Hernandez-Avila M., Holguin F.*: Omega-3 fatty acid prevents heart rate variability reductions associated with particulate matter. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005; 172(12): 1534-40.