

# Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3 w leczeniu nieswoistego zapalenia jelita u psów

Dariusz Kamola, Adam Prostek, Hanna Kosińska, Jacek Wilczak

z Katedry Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Nieswoiste zapalenie jelita i nietolerancja pokarmowa są najczęściej występującymi zaburzeniami funkcjonowania przewodu pokarmowego u psów (1). Nieswoiste zapalenie jelita jest grupą przewlekłych enteropatii o nawracającym i długofalowym charakterze. Zazwyczaj objawia się ono dolegliwościami z obszaru układu pokarmowego, takimi jak: biegunki, wymioty oraz zaburzenia łaknienia, połączone z zmianami histopatologicznymi błony śluzowej jelita (2). Występują nacieki

komórkowe w obszarze blaszki właściwej jelita. Dominujący typ komórek naciekających jest podstawą do klasyfikacji rodzaju nieswoistych zapaleń jelita (3). Najczęściej spotykanymi postaciami tego zapalenia są: limfocyтарно- plazmocyтарne zapalenie jelita cienkiego, limfocyтарно- plazmocyтарne zapalenie jelita cienkiego i okrężnicy, limfocyтарно- plazmocyтарne zapalenie okrężnicy oraz eozynofilowe zapalenie okrężnicy (4). U psów nieswoiste zapalenie jelita najczęściej występuje

w początkowym odcinku jelita cienkiego (75% przypadków), możliwe jest jednak zajęcie całego przewodu pokarmowego od początku dwunastnicy do końca jelita grubego.

Jako czynniki wywołujące nieswoiste zapalenie jelita wymienia się najczęściej czynniki środowiskowe, bakteryjne, alergeny oraz efekty niepożądane stosowania leków (1, 4, 5, 6). Część badaczy donosi także o możliwym genetycznym podłożu tej choroby (7, 8, 9). Dokładna etiologia choroby nie jest jednak znana. Za najbardziej prawdopodobną uznaje się hipotezę autoagresji immunologicznej wywołanej zmniejszoną tolerancją w stosunku do rodzimej mikroflory jelitowej. Świadczy o tym pojawienie się we krwi przeciwciał przeciwko *Saccharomyces cerevisiae*, których oznaczenie u ludzi jest jednym z dodatkowych badań diagnostycznych w kierunku nieswoistego zapalenia jelita (10). Za możliwe przyczyny wystąpienia nadmiernej reakcji układu odpornościowego

przyjmuje się naruszenie bariery błony śluzowej jelit, zaburzenie składu mikroflory jelitowej oraz funkcjonowania układu odpornościowego (11, 12, 13).

Ze względu na idiopatyczny charakter choroby jest diagnozowana niejako przez wykluczenie, co w znacznym stopniu opóźnia i utrudnia postawienie prawidłowej diagnozy. Wytuczne Światowego Stowarzyszenia Lekarzy Małych Zwierząt (World Small Animal Veterinary Association – WSAVA) zalecają diagnozowanie w oparciu o:

- wykluczenie znanych przyczyn przewlekłego zapalenia jelita,
- badanie endoskopowe żołądka i jelit z pobraniem próbek biopsyjnych,
- oznaczenie wybranych wskaźników procesu zapalnego, takich jak białka ostrej fazy: białko C-reaktywne (CRP) i surowiczy amyloid A (SAA), określenie statusu immunologicznego oraz ogólnych parametrów stanu zdrowia (4, 14).

Jergens i wsp. (14) opracowali punktowy system oceny aktywności nieswoistego zapalenia jelita (CIBDAI) u psów, który ułatwi diagnozę stanu pacjenta. W celu ustalenia stanu zwierzęcia w 4-stopniowej skali bada się 6 wskaźników:

- 1) aktywność fizyczną zwierzęcia,
- 2) apetyt,
- 3) częstotliwość występowania wymiotów,
- 4) konsystencję kału oraz obecne w nim elementy niestrawione,
- 5) częstotliwość oddawania kału oraz
- 6) spadek masy ciała.

Oceny dokonuje się na podstawie sumy punktów (14). W przebiegu nieswoistego zapalenia jelit częstą chorobą towarzyszącą jest przerost mikroflory jelita cienkiego.

Ze względu na nieznajomość bezpośredniej przyczyny choroby możliwe jest jedynie leczenie objawowe. Pierwotną formą terapii jest zastosowanie chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych (metronizadol i tylozyna) w celu opanowania przerostu mikroflory jelita cienkiego i możliwych zakażeń, a następnie podawanie leków immunosupresyjnych (prednizon, cyklosporyna), a także iniekcje witaminy B<sub>12</sub>. W przeciwieństwie terapii stosowanej u ludzi, rzadko podaje się niesteroidowe leki przeciwzapalne, takie jak mesalazyna i sulfasalazyna-sulfonamid o działaniu przeciwzapalnym (15). Długotrwałe antybiotykoterapia i immunosupresja są utrudnione ze względu na nabywanie przez mikroorganizmy antybiotykooporności i poważne zmniejszenie ogólnej odporności zwierzęcia. Z tego powodu wskazane jest jednoczesne wprowadzenie interwencji żywieniowej w połączeniu ze stosowaniem chemoterapeutyków. Polega ona na zmianie źródeł białka w diecie na takie, z którymi pies nie miał do tej pory do czynienia, a więc nie miał okazji się na nie uczulić.

Wskazane jest również wzbogacenie pokarmu o bakterie probiotyczne w celu optymalizacji składu mikroflory jelitowej oraz kontrolowanie poziomu spożywanego tłuszczu w związku z ryzykiem wystąpienia biegunek tłuszczowych.

Częstym dodatkiem funkcjonalnym do diety są wielonienasycone kwasy tłuszczowe (16). Głównym celem modyfikacji profilu tłuszczowego diety pacjenta jest zmiana proporcji kwasów n-3/n-6, na korzyść kwasów n-3. Wynika to ze zdolności kwasów tłuszczowych n-3 do hamowania produkcji cytokin prozapalnych przez komórki układu odpornościowego (17, 18). Najważniejszymi z punktu widzenia hamowania procesów zapalnych związkami lipidowymi są: kwas arachidonowy (AA) należący do grupy kwasów z rodziny n-6 oraz kwasy dokozaheksaenowy (DHA) i eikozapentaenowy (EPA), należące do grupy n-3. Głównym źródłem kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 są oleje pochodzenia roślinnego. W organizmie większość kwasów n-6 jest metabolizowana do kwasu arachidonowego, który następnie przy udziale cyklooksygenazy 2 (COX-2) i lipooksygenazy (LOX) jest metabolizowany do bardzo silnych mediatorów prozapalnych, takich jak prostaglandyna E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) i leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>). LTB<sub>4</sub> jest aktywatorem procesu zapalnego w nieswoistym zapaleniu jelit, działa on przez stymulację produkcji interleukiny 6 (IL-6) i modulację wydzielania innych cytokin, posiada także właściwości chemotaktyczne i proagregacyjne w stosunku do neutrofilów, stymulując ich przyleganie do śródbłonna naczyniowego oraz degranulację (19).

W naturze kwasy n-3 produkowane są głównie przez plankton morski, jednak

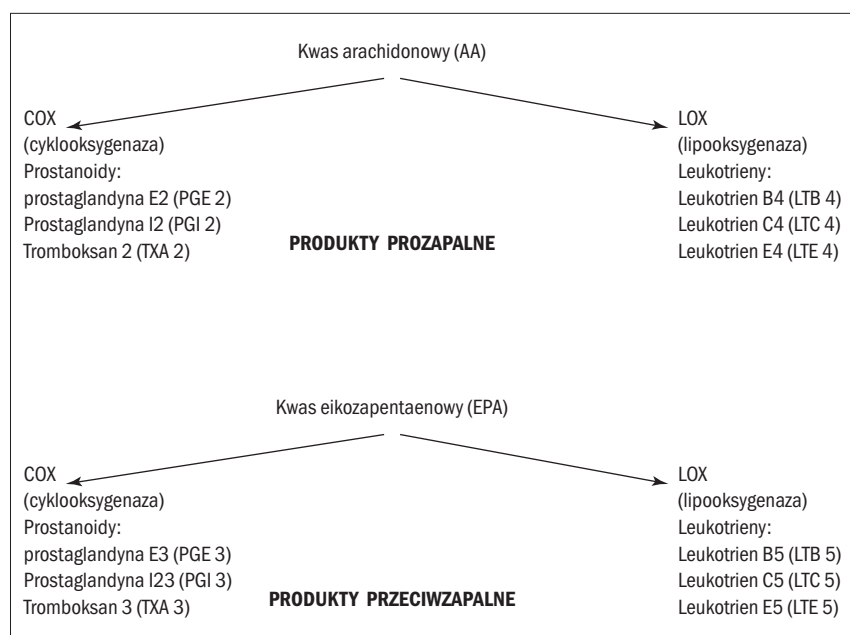
## Role of n-3 polyunsaturated fatty acids in the inflammatory bowel disease treatment in dogs

Kamola D., Prostek A., Kosińska H., Wilczak J.  
Department of Physiological Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the presentation of novel approach in the treatment of idiopathic chronic enteritis in dogs. The inflammatory bowel disease (IBD), in dogs is hard to diagnose and to treat successfully. Standard method of therapy with antimicrobials, metronidazole and tylosine and immunosuppressive drugs, prednisone and cyclosporine A, has limited efficacy and presents numerous side effects. Typical adjunctive therapy in IBD treatment is the change of protein source. Recently, experimental data have indicated that diet supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA), can help to inhibit lymphocytic-plasmacytic enteritis in dogs. N-3 PUFA were shown to reduce production of pro-inflammatory mediators such as PGE2, PGI2, TXA2, LTB4, LTC4 and LTE4. They are also substrates for protectins and resolvins – the anti-inflammatory compounds. It has been confirmed that administering of n-3 PUFA with nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), acts synergistically and improves IBD treatment in dogs.

**Keywords:** dog, inflammatory bowel diseases, n-3 PUFA, protectins, resolvins.

jego najważniejszym źródłem w żywieniu ludzi i zwierząt są zimnowodne ryby morskie. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe n-3 wykazują dwa główne mechanizmy działania przeciwzapalnego. Pierwszy mechanizm opiera się na konkurencji



Ryc. 1. Porównanie produktów przemiany kwasu arachidonowego i kwasu eikozapentaenowego (EPA) pod wpływem cyklooksygenazy (COX) i lipooksygenazy (LOX; 21)

**Tabela 1.** Zestawienie funkcji biologicznych lipidowych mediatorów przeciwzapalnych – prowęgaszeniowych: rezolwin (Rv), protektyny (PD) i mazeryny (MaR), wynikających z ich oddziaływania na neutrofile, makrofagi, komórki dendrytyczne, limfocyty i płytki krwi (28)

<b>Neutrofile</b>	RvE1 / RvE2 / RvD1 / AT-RvD1 / PD1	hamowanie mobilizacji neutrofilów
	PD1 ekspresja CCR5	zmniejszenie transmigracji przez śródbłonek naczyń i nabłonki
	RvE/ AT-RvD1	zmniejszenie ekspresji L-selektyny i CD18 na neutrofilach i monocytach hamowanie interakcji leukocytów z śródbłonkiem naczyniowym
	MaR1	zmniejszenie migracji neutrofilów wzrost migracji monocytów
<b>Makrofagi</b>	RvE1	zwiększenie fagocytozy obumierających (apoptotycznych) neutrofilów zwiększenie usuwania fagocytów drogą układu limfatycznego
	PD1	zmniejszenie uwalniania TNF przez makrofagi pochodzące ze szpiku
	PD1 / RvE1	stymulacja fagocytozy apoptotycznych tymocytów przez makrofagi zmniejszenie interakcji leukocytów z śródbłonkiem naczyniowym
	RvD1	zmniejszenie uwalniania cytokin prozapalnych przez makrofagi
	MaR1	stymulacja fagocytozy zymosanu przez makrofagi
<b>Komórki dendrytyczne</b>	RvE1	zmniejszenie wytwarzania IL-12 przez komórki dendrytyczne pobudzenie rozwoju populacji komórek dendrytycznych indukujących apoptozę limfocytów T
<b>Limfocyty</b>	PD1	spadek migracji limfocytów T spadek sekrecji TNF $\alpha$ i INF $\gamma$
	RvE1 / RvD1	wzrost ekspresji CCR5 na limfocytach T
<b>Płytki krwi</b>	RvE1	spadek zależnej od ADP i receptora TBX aktywacji agregacji płytek krwi (nie wpływa na agregację wywołaną przez kolagen)

między kwasem eikozapentaenowym i kwasem arachidonowym o dostęp do COX i LOX (20, 21). W reakcjach katalizowanych przez COX i LOX z kwasu eikozapentaenowego powstają prostaglandyny i tromboksany serii 3 oraz leukotrieny serii 5, które wykazują dużo słabsze właściwości prozapalne lub w niektórych przypadkach nawet przeciwzapalne w odróżnieniu od analogicznych związków serii 2 i 4 (ryc. 1.; 22, 23, 24).

Drugim mechanizmem przeciwzapalnym tych kwasów jest z powstawaniem z nich nowych związków o charakterze przeciwzapalnym. Związkami tymi są rezolwiny i protektyny. Nazwa rezolwiny pochodzi od angielskiego określenia okoliczności ich produkcji „resolution phase interaction products”, co może być tłumaczone jako „produkty interakcji powstające w fazie wchłaniania/wygaszania stanu zapalnego” (25, 26). Powstają one na drodze transformacji kwasu dokozaheksaenowego (DHA). Synteza rezolwin wymaga udziału kilku rodzajów enzymów i współpracy co najmniej dwu typów komórek występujących w obszarze procesu zapalnego, które przekazują sobie półprodukty do dalszej syntezy (24). Kwas dokozaheksaenowy jest przekształcany do rezolwin typu D (RvD1–6), protektyny (PD1), neuroprotektyny (NPD1) oraz mazeryny (MaR1; 27). Rezolwiny serii D posiadają zdolność do zmniejszania ilości powstających chemokin oraz naciekania przez limfocyty, protektyna PD1 zaś hamuje migrację do wysięku limfocytów, neutrofilów i monocytów.

Pod wpływem hamowania COX przez kwas acetylosalicylowy (aspirynę) następuje synteza nowych grup rezolwin. Z kwasu

dokozaheksaenowego, przy udziale acylowanej COX-2, powstaje dodatkowo sześć rezolwin (AT-RvD 1-6) oraz protektyna (AT-PD1). Hamowanie COX-2 przez kwas acetylosalicylowy otwiera również szlak przemian kwasu eikozapentaenowego – na drodze tej powstają rezolwiny serii E (RvE1 i RvE2), które hamują aktywność jądrowego czynnika  $\kappa$ B, migrację neutrofilów do ogniska zapalenia, produkcję interleukiny – IL12, uwalnianie cytokin prozapalnych przez makrofagi oraz stymulują makrofagi do fagocytozy obumierających neutrofilów, posiadają one także zdolność do zaburzenia procesu agregacji płytek krwi zależnego od tromboksanów (tab. 1.; 19, 24, 27). Optymalną proporcją kwasów n-3 (sumy EPA i DHA) do kwasu acetylosalicylowego jest 10:1, czyli około 3–4 g oleju rybiego na 100 mg kwasu acetylosalicylowego.

Na podstawie przytoczonych danych można uznać, że włączenie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych do diety psów w trakcie leczenia nieswoistego zapalenia jelit może przynieść wymierne korzyści terapeutyczne. Długotrwałe dolegliwości bólowe związane z tym zapaleniem są przyczyną narastającego stresu, co może się objawiać wzrostem agresji. Oprócz właściwości przeciwzapalnych, wielonienasycone kwasy tłuszczowe wykazują zdolność do redukcji stresu zwierząt przez stymulację syntezy serotoniny. Badania na szczurach wykazały niższy poziom agresji i mniejszą reakcję na stresory u zwierząt z dietą wzbogaconą w n-3 wielonienasycone kwasy tłuszczowe (29). Przy stosowaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych należy zachować właściwe

proporcje kwasów n-6 do n-3, które powinny wynosić od 1:1 do 3:1, przy czym nie należy przekraczać dziennego zalecanego spożycia tych związków (100 mg oleju rybiego/kg m.c.) ze względu na możliwość wystąpienia efektów ubocznych, takich jak obniżona krzepliwość krwi.

## Piśmiennictwo

- Allenspach K., Gaschen F.: Canine chronic enteropathies: A review. *Swiss Arch. Vet. Med.* 2003, **145**, 209-222.
- Craven M., Simpson J.W., Ridyard A.E., Chandler M.L.: Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995–2002). *J. Small Anim. Pract.* 2004, **45**, 336-342.
- Day M.J., Bilzer T., Mansell J., Wilcock B., Hall E.J., Jergens A., Minami T., Willard M., Washabau R.: Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *J. Comp. Pathol.* 2008, **138**, Suppl 1, S1–43.
- Kolodziejska-Sawerska A., Rychlik A.: Przydatność badań klinicznych, laboratoryjnych, endoskopowych oraz histopatologicznych w rozpoznawaniu nieswoistych zapaleń jelit u psów. *Życie Wet.* 2012, **87**, 201-205.
- German A.J., Helps C.R., Hall E.J., Day M.J.: Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German shepherd dogs with small intestinal enteropathies. *Dig. Dis. Sci.* 2000, **45**, 7-17.
- Bhatia V., Tandon R.K. Stress and the gastrointestinal tract. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2005, **20**, 332-339.
- Kathrani A., House A., Catchpole B., Murphy A., German A., Werling D., Allenspach K.: Polymorphisms in the TLR4 and TLR5 gene are significantly associated with inflammatory bowel disease in German shepherd dogs. *PLoS ONE* 2010, **5**, 15740.
- Kathrani A., House A., Catchpole B., Murphy A., Werling D., Allenspach K.: Breed-independent toll-like receptor 5 polymorphisms show association with canine inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens* 2011, **78**, 94-101.
- Andersen V., Christensen J., Ernst A., Jacobsen B.A., Tjnneland A., Krarup H.B., Vogel U.: Polymorphisms in NF- $\kappa$ B, PXR, LXR, PPAR $\gamma$  and risk of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* 2011, **17**, 197-206.
- Wen Z., Fiocchi C.: Inflammatory bowel disease: autoimmune or immune-mediated pathogenesis? *Clin. Dev. Immunol.* 2004, **11**, 195-204.
- McCann T.M., Ridyard A.E., Else R.W., Simpson J.W.: Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic

- inflammatory bowel disease. *J. Small Anim. Pract.* 2007, **48**, 620-625.
12. Sauter S.N., Allenspach K., Blum J.W.: Cytokine mRNA abundance in intestinal biopsies from dogs with chronic diarrhea. *Vet. Med. (Praha)* 2007, **52**, 353.
  13. Malewska K., Rychlik A., Nieradka R., Kander M.: Treatment of inflammatory bowel disease (IBD) in dogs and cats. *Pol. J. Vet. Sci.* 2011, **14**, 165-171.
  14. Jergens A.E., Schreiner C.A., Frank D.E., Niyo Y., Ahrens F.E., Eckersall P. d., Benson T.J., Evans R.: A Scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2003, **17**, 291-297.
  15. Hamera M., Tarchalska-Krynska B.: Perspektywy zastosowania leków przeciwleukotrienowych. *Alerg. Astma Immun.* 2000, **5**, 103-110.
  16. Simopoulos A.P.: Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 2002, **21**, 495-505.
  17. 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.J., Wolff S.M., Dinarello C.A.: 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**, 265-271.
  18. Robinson D.R., Urakaze M., Huang R., Taki H., Sugiyama E., Knoell C.T., Xu L., Yeh E.T.H., Auron P.E.: Dietary marine lipids suppress continuous expression of interleukin-1 $\beta$  gene transcription. *Lipids* 1996, **31**, 23-31.
  19. Czerwionka-Szaflarska M., Zielińska-Duda H., Murawska S.: Czy LC-PUFA omega - 3 mogą być szansą na poprawę skuteczności leczenia nieswoistych zapaleń jelit u dzieci i młodzieży? *Pediatrics współczesna, Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnie Dziecka* 2007, **9**, 153-158.
  20. Cleland L.G., James M.J., Proudman S.M.: Fish oil: what the prescriber needs to know. *Arthritis Research and Therapy* 2005, **8**, 202.
  21. Maroon J.C., Bost J.W.:  $\omega$ -3 Fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. *Surg. Neurol.* 2006, **65**, 326-331.
  22. Calder P.C.: n-3 Polyunsaturated fatty acids and inflammation: From molecular biology to the clinic. *Lipids* 2003, **38**, 343-352.
  23. Calder P.C.: Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie* 2009, **91**, 791-795.
  24. Dzińska-Olczak M., Nowak J.: Leczenie przeciwzapalne w chorobie zwyrodnieniowej stawów z uwzględnieniem kwasów tłuszczowych mega 3 i omega 6. *Pol. Merkuriusz Lek.* 2012, **32**, 329-334.
  25. Jelinska M., Tokarz A.: Nowe oblicza starych znajomych – przeciwzapalne metabolity n-3 WNK. Część I – pochodne EPA. *Bromatol Chem Toksykol* 2011, **44**, 313-318.
  26. Serhan C.N., Clish C.B., Brannon J., Colgan S.P., Chiang N., Gronert K.: Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J. Exp. Med.* 2000, **192**, 1197-1204.
  27. Nowak J.: Pochodne wielonienasyconych kwasow tluszczowych omega-3 i omega 6 o potencjale przeciwzapalnym i protekcyjnym. *Magazyn Lekarza Okulisty* 2009, **3**, 265.
  28. Nowak J.: Przeciwzapalne „prowygaszeniowe” pochodne wielonienasyconych kwasow tluszczowych omega 3 i omega 6. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2010, **64**, 115-132.
  29. Pakala R., Pakala R., Sheng W.L., Benedict C.R.: Vascular smooth muscle cells preloaded with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid fail to respond to serotonin stimulation. *Atherosclerosis* 2000, **153**, 47-58.