

## EFEITO DO ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATOS

*Effect of omega-3 fatty acid in the healing process of colonic anastomosis in rats*

Tiago Jacometo Coelho de **CASTILHO**<sup>1</sup>, Antônio Carlos Ligocki **CAMPOS**<sup>1</sup>, Eneri Vieira de Souza Leite **MELLO**<sup>2</sup>

Trabalho realizado no <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR e <sup>2</sup>Laboratório de Ciências Morfofisiológicas, Departamento de Ciências Morfofisiológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

**RESUMO - Racional:** O uso de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa tem sido estudado no contexto de cicatrização e regeneração do tecido, principalmente devido a suas propriedades imunorreguladoras, antioncogênicas e anti-inflamatórias. Estudos anteriores demonstraram efeitos benéficos com o uso de imunonutrição enteral contendo vários farmaconutrientes (L-arginina, ômega-3, oligoelementos), mas a ação individual de cada componente na cicatrização de anastomose colônica permanece incerto. **Objetivo:** Avaliar a influência da suplementação no pré-operatório com ácidos graxos ômega-3 na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos eutróficos. **Método:** Quarenta ratos Wistar, machos adultos, pesando 234,4±22,3 g foram divididos em dois grupos: grupo controle recebeu a suplementação de azeite de oliva (rico em ômega-9) por gavagem por sete dias e o grupo estudo recebeu ômega-3 em forma de emulsão isocalórica e isovolumétrica, também por gavagem, na dose de 100 mg/kg/dia por sete dias no pré-operatório. Ambos os grupos foram submetidos à duas colotomias seguidas de anastomose colônica, em cólon direito e cólon esquerdo, respectivamente. Foram avaliados a evolução do peso dos animais, morbimortalidade e realizados testes tensiométrico e de densitometria do colágeno dos corpos de prova. **Resultados:** Não houve diferenças na evolução do peso e na morbimortalidade entre os grupos. O valor da força de tração máxima do grupo controle foi de 1,9±0,3N e no grupo estudo de 1,7±0,2, p=0,357. Houve, no entanto, maior quantidade de colágeno tipo I (p=0,0126) na anastomose no grupo estudo. O índice de maturação do colágeno foi calculado para os grupos (1,74±0,71 - grupo controle; 1,67±0,5 - grupo estudo, p=0,719). **Conclusões:** A suplementação pré-operatória com ácido graxo ômega-3 está associada ao aumento da deposição de colágeno do tipo I em anastomoses de cólon em ratos no 5º dia do pós-operatório, mas não exerce influência na resistência tênsil de colorrafia ou no índice de maturação do colágeno.

**DESCRIPTORIOS:** Omega-3. Cicatrização de feridas. Anastomose colônica. Ratos.

### Correspondência:

Tiago Jacometo Coelho de Castilho  
E-mail: ticastilho@yahoo.com.br

Fonte de financiamento: Conselho Nacional de Pesquisa (CNPQ)

Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 30/04/2015

Aceito para publicação: 20/08/2015

**HEADINGS** - Omega-3. Wound healing. Colonic anastomosis. Rats

**ABSTRACT - Background:** The use of long-chain polyunsaturated fatty acids has been studied in the context of healing and tissue regeneration mainly due to its anti-inflammatory, immunoregulatory and antioncogenic properties. Previous studies have demonstrated beneficial effects with the use of enteral immunonutrition containing various farmaconutrients such as L-arginine, omega-3, trace elements, but the individual action of each component in the healing of colonic anastomosis remains unclear. **Aim:** To evaluate the influence of preoperative supplementation with omega-3 fatty acids on the healing of colonic anastomoses of well-nourished rats. **Methods:** Forty Wistar adult male rats, weighing 234.4±22.3 g were used. The animals were divided into two groups: the control group received for seven days olive oil rich in omega-9 oil through an orogastric tube, while the study group received isocaloric and isovolumetric omega-3 emulsion at a dose of 100 mg/kg/day, also for seven days. Both groups were submitted to two colotomies followed by anastomosis, in the right and left colon, respectively. Parameters evaluated included changes in body weight, anastomotic complications and mortality, as well as maximum tensile strength by using a tensiometer and collagen densitometry at the anastomotic site. **Results:** There were no differences in body weight or mortality and morbidity between groups. The value of the maximum tensile strength of the control group was 1.9±0.3 N and the study group 1.7±0.2, p=0.357. There was, however, a larger amount of type I collagen deposition in the study group (p=0.0126). The collagen maturation index was 1.74±0.71 in the control group and 1.67±0.5 in the study group; p=0.719). **Conclusions:** Preoperative supplementation of omega-3 fatty acid in rats is associated with increased collagen deposition of type I fibers in colonic anastomoses on the 5<sup>th</sup> postoperative day. No differences were observed in the tensile strength or collagen maturation index.

## INTRODUÇÃO

Imunonutrição é definida como a utilização de nutrientes específicos em fórmulas que promovem através de diferentes mecanismos de ação, os efeitos sobre os sistemas inflamatório e imunológico<sup>4,10,14,22</sup>.

Inicialmente testada em modelos animais, essas fórmulas começaram a ser utilizadas em doentes previamente desnutridos que seriam submetidos a procedimentos cirúrgicos. Claros benefícios foram obtidos na recuperação pós-operatória, com taxa reduzida de morbidade, tempo de internação hospitalar e a duração da ventilação mecânica em unidades de terapia intensiva<sup>21</sup>. No entanto, o uso destas fórmulas se espalhou e estudos começaram a mostrar efeito positivo também em indivíduos bem nutridos<sup>8,15,23,24,25,26</sup>.

No entanto, devido à complexidade do mecanismo da interação entre os processos de absorção, nas membranas e na sinalização intracelular, sabe-se que as fórmulas consistindo de aminoácidos, ácidos graxos essenciais, oligoelementos, vitaminas, nucleotídeos e nucleosídeos, foram eficazes quando utilizados em conjunto, enquanto que o uso isolado de nutrientes específicos foi associado a claros benefícios em menor número e resultados divergentes<sup>5</sup>.

O uso de ácidos graxos de cadeia longa poli-insaturados tem sido estudado no contexto de cicatrização e regeneração do tecido, devido principalmente às suas propriedades anti-inflamatórias, imunoreguladoras e antioncogênicas. No entanto, estudos realizados em modelos em rato de colite induzida resultaram em resultados negativos, em que o uso de ômega-3 foi negativo, resultando na deterioração da colite<sup>16,29</sup>.

As suas propriedades anti-inflamatórias surgem de processos tais como a substituição parcial de ácido araquidônico em membranas celulares, e assim, redução na produção de derivados considerados pró-inflamatórios, tais como a prostaglandina E2. Há também redução na quimiotaxia de monócitos e neutrófilos, modulando a resposta inflamatória nas suas fases iniciais. Também notáveis são os seus efeitos imunoreguladores, reduzindo a proliferação de linfócitos T citotóxicos, em resposta às citocinas pró-inflamatórias, a produção de mediadores, tais como o óxido nítrico e do fator de necrose tumoral<sup>1,2,13,28</sup>.

Assim, apesar do fato de que os ácidos graxos ômega-3 desempenharem papel claro na resposta inflamatória, a suplementação com ômega-3 e do seu papel no contexto global da cicatrização da anastomose colônica ainda é desconhecido<sup>4</sup>.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da suplementação pré-operatória com ácidos graxos ômega-3 na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

## MÉTODOS

Quarenta ratos machos adultos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia mammalia), pesando 234,4±22,3 g obtidos na Universidade Estadual de Maringá foram aclimatados e receberam individualmente ad libitum dieta padrão antes do procedimento cirúrgico. Sete dias antes da operação, o grupo controle (GAO) recebeu suplementação diária de óleo de oliva, enquanto o grupo de estudo (GOM), recebeu emulsão de ômega-3 como emulsões isocalóricas e isovolumétricas na dose de 100 mg/kg/dia por via orogástrica.

Ambos os grupos receberam a suplementação de ácidos graxos através de uma sonda orogástrica colocada sem anestesia, e foram submetidos à duas colotomias seguidas de anastomoses com pontos separados de náilon 6-0 no cólon direito e esquerdo, respectivamente. No 5º dia de pós-operatório, os ratos foram mortos. Os parâmetros avaliados incluíram alterações no peso corporal, complicações de anastomose e mortalidade, bem como força de tração máxima usando um tensiômetro e densitometria do colágeno no local da anastomose. A análise estatística foi realizada utilizando o teste t de Student, teste de Mann-Whitney, exato de Fisher e Z-teste para comparação de proporções, com p<0,05.

## RESULTADOS

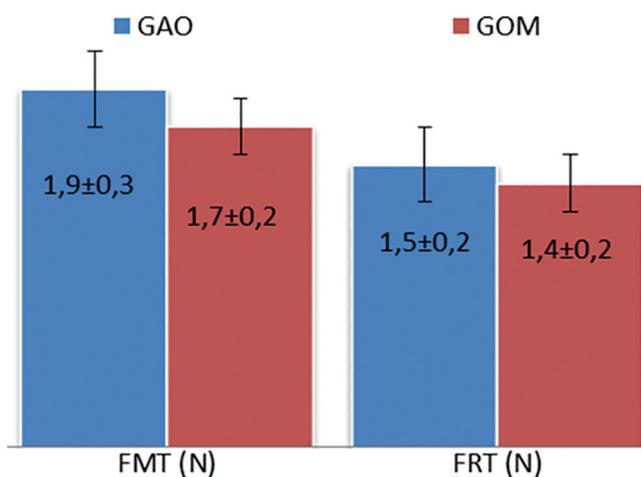
Vazamentos anastomóticos ocorreram em quatro animais em cada grupo. A taxa de mortalidade no grupo GAO foi de 35,0% (n=7) e 10,0% (n=2) no grupo GOM, p=0,1973. Não houve diferenças no peso médio no início do experimento, no 7º, 14º, 21º dias, no dia da operação e no do sacrifício, respectivamente (Tabela 1).

TABELA 1 - Peso médio±erro padrão (EP) por grupo (g)

| Dias(D) | GAO (n=20) |   |     | GOM (n=20) |   |     | p     |
|---------|------------|---|-----|------------|---|-----|-------|
|         | Média      | ± | DP  | Média      | ± | DP  |       |
| D0      | 292,3      | ± | 4,4 | 284,3      | ± | 5,3 | 0,343 |
| D7      | 322,3      | ± | 5,0 | 313,1      | ± | 5,6 | 0,208 |
| D14     | 348,4      | ± | 5,5 | 339,0      | ± | 6,5 | 0,323 |
| D21     | 369,7      | ± | 6,2 | 363,4      | ± | 6,9 | 0,695 |
| DCx     | 349,7      | ± | 6,4 | 344,0      | ± | 7,2 | 0,561 |
| DSx     | 321,0      | ± | 8,8 | 316,1      | ± | 3,8 | 0,857 |

D0=primeiro dia de estudo; DCx=dia da operação; DSx=dia do sacrifício; GOM=grupo ômega-3; GAO grupo=azeite de oliva; p=significância estatística (teste de Mann-Whitney)

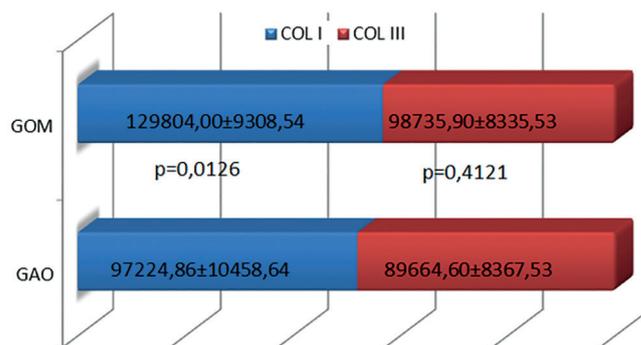
O valor da força de tração máxima do grupo GAO foi de 1,9±0,3 N e o grupo GOM 1,7±0,2, p=0,357 (Figura 1). A força de ruptura de grupos GAO e GOM também foram semelhantes (1,5±0,2 vs 1,4±0,2, respectivamente, p=0,3572).



p=significância estatística; FMT=força máxima de ruptura (p=0,6028); FRT=força total de ruptura (p=0,3572); N=Newtons; GAO= grupo de azeite de oliva; GOM=grupo omega-3 (teste de Mann-Whitney)

FIGURA 1 – Comparação entre a força máxima de tensão dos grupos GAO e GOM

Houve, no entretanto, quantidade maior de deposição de colágeno tipo I (p=0,0126) no grupo GOM (Figura 2)



COL I=colágeno tipo I; COL III=colágeno tipo III; GAO=grupo azeite de oliva; GOM=grupo ômega-3; SEM=erro-padrão; p=significância estatística

FIGURA 2 – Distribuição de colágenos tipo I e III entre os grupos GOM e GAO

O índice de maturação do colágeno (CMI) no local da anastomose foi calculado para ambos os grupos (GAO - 1,74±0,71; GOM - 1,67±0,5; p=0,719) e nenhuma diferença foi detectada (Tabela 2).

**TABELA 2** - Média  $\pm$  erro-padrão para o índice de maturação do colágeno nos grupos GAO e GOM

| Grupos | CMI |       |       |      | p     |
|--------|-----|-------|-------|------|-------|
|        | n   | Média | $\pm$ | DP   |       |
| GAO    | 13  | 1,74  | $\pm$ | 0,71 | 0,719 |
| GOM    | 18  | 1,67  | $\pm$ | 0,5  |       |

CMI=índice de maturação do colágeno; GAO=grupo azeite de oliva; GOM=grupo ômega-3; SEM=erro-padrão; p=significância estatística (teste de Mann-Whitney)

## DISCUSSÃO

A cicatrização de feridas do intestino após anastomose depende de processos de reconstituição, proliferação e diferenciação equilibrados.

As células intestinais podem ser feridas por procedimentos cirúrgicos, doenças inflamatórias, ou substâncias tóxicas luminares, apesar da sua função de barreira. O processo de cicatrização começa com envolvimento das células epiteliais circundantes que perdem a sua polaridade colunar, tornando-se células achatadas que migram para a área desnuda para restaurar a barreira intestinal<sup>12</sup> e, não importante onde o processo de cura está localizado, as fases de cicatrização tendem a ocorrer em sequência determinada: inflamatória, proliferativa e maturação. Cada fase tem a sua própria duração particular e tipo de célula envolvida.

Tipos celulares, tais como neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e até mesmo as plaquetas desempenham papel fundamental através da secreção de fatores de quimioatração, interações inter celulares e são vulneráveis a vasto tipo de interferências, promovido principalmente pelo estado nutricional do hospedeiro, presença ou não de processo inflamatório e estresse oxidativo. Neste caso, as citocinas pró-inflamatórias - interleucina-1 (IL-1), IL-6 e factor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) - e também eventos autócrinos, parácrinos e endócrinos podem afetar tais fatores<sup>17</sup>.

Todas estas interações de citocinas pró-inflamatórias ajudam a controlar a infecção e preparar para o reparo do tecido, promovendo e efetuando atividade fagocítica, estimulando a migração de queratinócitos, quimiotaxia de fibroblastos e regulando a remodelação das proteínas da matriz extracelular<sup>12,17</sup>.

Neste cenário, o papel de imunonutrição na cicatrização da anastomose do cólon depende do desempenho fisiológico e interações moleculares específicas dos elementos envolvidos. Ambos, macro e micronutrientes com atividades imunomoduladores, foram identificados, e a razão para a utilização de tais formulações em pacientes cirúrgicos é a necessidade de reduzir ou atenuar a resposta inflamatória em tempos específicos durante a recuperação cirúrgica<sup>22</sup>.

A inflamação é parte do processo de cicatrização. O ômega-9 do azeite de oliva foi escolhido como controle isocalórico por causa da sua atividade neutra na inflamação. A utilização do óleo de soja mais habitual, apresentada na maioria dos emulsões lipídicas, pode resultar na estimulação do processo inflamatório, devido ao seu rico teor de ácido linoléico, um precursor pró-inflamatório.

Muitos estudos têm demonstrado claro benefício da utilização de imunomodulação de fórmulas enterais por vários mecanismos, porque aumenta o estado imunitário em vários aspectos<sup>11</sup>. No entanto, o uso de componentes individuais presentes nessas fórmulas não trouxe tais evidências positivas, e a literatura é divergente no que se refere à seus resultados<sup>4,5</sup>. Os ácidos graxos ômega-3 poli-insaturados têm sido mostrados jogando papel importante nos mecanismos envolvendo sinalização celular que culmina com efeito anti-inflamatório. Por exemplo, eles reduzem a produção de TNF- $\alpha$  por macrófagos, bem como a produção de citocinas pró-inflamatórias e óxido nítrico<sup>1,7,9,18</sup>.

A capacidade de resposta imune para gerar resposta inflamatória é eventualmente modificada pela adição de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 na dieta. A membrana celular

modifica as suas características, que mostra melhor fluidez, áreas de domínio de lipídeos, e maior ou menor afinidade para certas vias que, em última análise, modula a função leucocitária. Como resultado, existe competição para as mesmas vias enzimáticas como o ácido araquidônico (AA), mas diminuindo a geração de eicosanóides inflamatórios. Ele também reduz a capacidade dos macrófagos para apresentar antígenos<sup>1,3,13,6,17,20,27,30</sup>. Uma possível consequência da administração de ômega-3 seria a redução do processo de cicatrização, particularmente na resistência à ruptura, uma vez que atenua a fase inflamatória do processo de cura. Portanto, a conclusão de que a administração de ácidos graxos ômega-3 não reduz a resistência à tração é importante.

O ômega-3 pode também atuar por competição ocupando os receptores LTB4, bloqueando os sinais de transdução para a síntese de proteína G, ou mesmo na sinalização celular através da inibição da ativação de fosfolipase C induzida por TNF- $\alpha$ , impedindo ou atrasando os sinais celulares<sup>1,27,30</sup>.

Esta rede envolvendo fatores pró e anti-inflamatórias entre um estado nutricional e administração exógena de ômega-3, afeta o equilíbrio do processo de cicatrização intestinal em seus diversos aspectos que ainda são objeto de estudo de muitos pesquisadores em todo o mundo.

## CONCLUSÕES

A suplementação pré-operatória de ômega-3 está associada à deposição aumentada de fibras do colágeno tipo I em anastomoses de cólon em ratos no 5º dia pós-operatório. Não foram observadas diferenças na força de ruptura ou no índice de maturação do colágeno.

## REFERÊNCIAS

- Calder PC. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res.* 1998 Apr; 31(4): 467-490. doi: 10.1590/S0100-879X1998000400002.
- Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids.* 2001 Sep; 36(9): 1007-1024. doi: 10.1007/s11745-001-0812-7.
- Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory process and inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res.* 2008 May; 52(8):885-897. doi: 10.1002/mnfr.200700289.
- Chow O, Barbul A. Immunonutrition: Role in Wound Healing and Tissue Regeneration. *Advances in Wound Care.* 2014 Jan; 3(1):46-48. doi: 10.1089/wound.2012.0415.
- Corrêa-Neto MP, Campos ACL, Branco AB, Matias JEF. Efeito da suplementação dietética de arginina na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2009 Nov; 22(1):7-14. PMID: 559771.
- Eisner F, Jacob P, Frick JS, Feilitzsch M. Immunonutrition with long-chain fatty acids prevents activation of macrophages in the gut wall. *J Gastrointest Surg.* 2011 Mar; 15(5): 853-859. doi: 10.1007/s11605-011-1431-z
- Endres S, Reza Ghorbani BS, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, Van Der Meer JWM. 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 Feb; 320(5): 265-271. doi: 10.1056/NEJM198902023200501.
- Flesch AG, Poziomyck AK, Damin DC. The therapeutic use of symbiotics. *Arq Bras Cir Dig.* 2014 Jul-Sep; 27(3):206-9.
- Grimm H, Mayer K, Maysen P, Eigenbrodt E. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. *British Journal of Nutrition.* 2002 Mar; 87(Suppl.1): S59-S67. doi: 10.1079/BJN2001457.
- Guimarães MV, Moreira GH, Rocha LP, Nicoluzzi JE, de Souza CJ, Repka JC. L-arginine action in cutaneous flap evolution under nicotine exposure in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2013 Jan-Feb; 40(1):49-54.
- Heys SD, Walker LG, Smith I, Ermin O. Enteral nutritional supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Ann Surg.* 1999 Apr; 229(4): 467-477. PMID: 1191731.
- Iizuka M, Konno, S. Wound healing of intestinal epithelial cells. *World J Gastroenterol.* 2011 May; 17(7): 2161-2171. doi: 10.3748/wjg.v17.i17.2161

13. Kuratko CN. Proliferation of colonic lymphocytes in response to inflammatory cytokines is lower in mice fed with fish oil than in mice fed with corn oil. *Cancer Lett.* 2000 Jan; 148(1):27-32. doi: 10.1016/S0304-3835(99)00266-9.
14. Magalhães CR, Malafaia O, Torres OJ, Moreira LB, Tefil SC, Pinheiro Mda R, Harada BA. Liver regeneration with l-glutamine supplemented diet: experimental study in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2014 Mar-Apr; 41(2):117-21.
15. Marimuthu K, Varadhan K, Ljungqvist O, Lobo D. A Meta-Analysis of the Effect of Combinations Of Immune Modulating Nutrients on Outcome in Patients Undergoing Major Open Gastrointestinal Surgery. *Annals Of Surgery.* 2012 Jun; 6(255):1060-1068. doi: 10.1097/SLA.0b013e318252edf8.
16. Matsunaga H, Hokari R, Kurihara C, Okada Y, Takebayashi K, Okudaira K, Watanabe C, Komoto S, Nakamura M, Tsuzuki Y, Kawaguchi A, Nagao S, Itoh K, Miura S. Omega-3 fatty acids exacerbates DSS-induced colitis through decreased adiponectin in colonic subepithelial myofibroblasts. *Inflamm Bowel Dis.* 2008 May; 10(14):1348-1357. doi: 10.1002/ibd.20491.
17. McDaniel JC, Belury M, Ahijevych K, Blakely W.  $\omega$ -3 fatty acids effect on wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008 May-June; 16(3): 337-345. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00388.x
18. Novak TE, Babcock TA, Jho DH, Helton WS, Espat NJ. NF-kappa B inhibition by omega-3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription. *Am J Physiol Lung Cell Physiol.* 2003 Jan; 284(1): L84. doi: 10.1152/ajplung.00077.2002.
19. Paschoal VA, Vinolo MA, Crisma AR, Magdalon J, Curi R. Eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acid differentially modulate rat neutrophil function in vitro. *Lipids.* 2013 Feb; 48(2): 93-103. doi: 10.1007/s11745-012-3726-6.
20. Sherrington EJ, Sanderson P, Calder PC. The effect of dietary lipid manipulation on macrophage cell surface molecule expression. *Biochemical Society Transactions.* 1995 May; 23(2): 272S. PMID: 7672298.
21. Silveira TM, Sousa JB, Stringhini ML, Freitas AT, Melo PG. Nutritional assessment and hand grip strength of candidates for surgery of the gastrointestinal tract. *Arq Bras Cir Dig.* 2014 Apr-Jun; 27(2):104-8.
22. Suchner U, Kuhn KS, Fürst P. The scientific basis of immunonutrition. *Proc Nutr Soc.* 2000 Nov; 59(4): 553-563. doi: 10.1017/S0029665100000793.
23. Thieme RD, Cutchma G, Chieferdecker ME, Campos AC. Nutritional risk index is predictor of postoperative complications in operations of digestive system or abdominal wall? *Arq Bras Cir Dig.* 2013 Nov-Dec; 26(4):286-92.
24. Turnock A, Calder PC, West AL, Izzard M, Morton RP, Plank LD. Perioperative Immunonutrition in Well-Nourished Patients Undergoing Surgery for Head and Neck Cancer: Evaluation of Inflammatory and Immunologic Outcomes. *Nutrients.* 2013 Apr; 5(4):1186-1199. doi: 10.3390/nu5041186.
25. Waitzberg DL, Torrinhas RS. Fish oil lipid emulsions and immune response: what clinicians need to know. *Nutr Clin Pract.* 2009 Aug-Sept; 24(4):487-499. doi: 10.1177/0884533609339071.
26. Weimann A, Braga M, Harsanyi L, Laviano A, Ljungqvist O, Soeters P, Kemen JM, Hiesmayr JM, Horbach T, Kuse ER, Vestweber KH. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including Organ Transplantation. *Clinical Nutrition.* 2006 Apr; 25(2): 224-244. doi: 10.1016/j.clnu.2006.01.015.
27. Werner S, Grose R. Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines. *Physiol Rev.* 2003 July; 83(3): 835-870. PMID: 12843410.
28. Whiting CV, Bland PW, Tarlton JF. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids reduce disease and colonic proinflammatory cytokines in a mouse model for colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2005 Apr; 11(4): 340-349. doi: 10.1097/01.MIB.0000164016.98913.7c.
29. Woodworth HL, McCaskey SJ, Duriancik DM, Clinthorne JF, Langohr IM, Gardner EM, Fenton JI. Dietary fish oil alters T lymphocyte cell populations and exacerbates disease in a mouse model inflammatory colitis. *Cancer Res.* 2010 Oct; 20(70): 7960-7969. doi: 10.1158/0008-5472.
30. Yagaloff KA, Franco L, Simko B, Burghardt B. Essential fatty acids are antagonists of the leukotriene B4 receptor. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 1995 May; 52(5): 293-297. doi: 10.1016/0952-3278(95)90029-2.