

# Zašto je važno zdravlje bioloških membrana

## The importance of biological membranes' health

Alena Buretić-Tomljanović

**Sažetak.** Membranski sustav stanice dinamična je struktura koja prožima čitavu citoplazmu i u kojoj su pojedine membrane u stalnoj i kontroliranoj mijeni i interakciji. Lipidi, kao jedna od glavnih strukturnih komponenti biomembrana, jesu kompozicijski složene molekule bez dobro definirane molekulske strukture, ali s raznovrsnim potencijalnim ulogama. Znanstvena istraživanja omogućila su bolje upoznavanje uloge lipida u održavanju stanične homeostaze i sveukupnog zdravlja organizma. Biološke membrane posrednici su u interakciji stanica sa staničnom okolinom i prijenosu informacija prema jezgri. Okolišni čimbenici, ponajprije određeni nutrijenti (masne kiseline i drugi), putem specifičnih transkripcijskih čimbenika i/ili epigenetičkih mehanizama reguliraju aktivnost brojnih gena čime moduliraju interpretaciju našeg nasljeđa. Masne kiseline, naročito višestrukonezasićene (engl. *polyunsaturated fatty acids*; PUFA), ključna su strukturna i funkcijska komponenta membranskih fosfolipida. Sadržaj PUFA (posebice dokozaheksaenske kiseline, ali i drugih) u membranskim fosfolipidima regulira transportne i signalne procese (organizaciju i funkciju lateralnih domena) te modulira fizikalna, kemijska i električna svojstva bioloških membrana. Njihova neuravnotežena lipidna kompozicija (posebice nedostatak PUFA iz obitelji n-3, kolesterola i/ili određenih sfingolipida) može prouzročiti stres endoplazmatskog retikuluma, što će remetiti membransku dinamiku, potaknuti upalne procese u stanicama, dugoročno narušavati staničnu homeostazu i ubrzati fiziološki proces starenja. PUFA-e, njihovi derivati te mononezasićene i zasićene masne kiseline posjeduju različit upalni potencijal što upućuje na važnost relativne zastupljenosti specifičnih masnih kiselina u prehrani čovjeka. Esencijalne PUFA-e čovjek mora unijeti prehranom, a stanična i fiziologija bioloških membrana zahtijevaju kontinuirani unos i prethodno formuliranih dugolančanih PUFA tijekom razvojnih procesa i u adultoj dobi. Dugotrajna prisutnost upalnih procesa niskoga stupnja, koja bi mogla biti povezana s abnormalnom kompozicijom bioloških membrana, u znanstvenoj je literaturi prepoznata kao osnova neurodegenerativnih, psihijatrijskih i drugih kroničnih bolesti čovjeka.

**Ključne riječi:** dokozaheksaenska kiselina; kronične bolesti; lipidi; membrane; prehrana; upala

**Abstract.** Biological membranes of the cell compose a dynamic structure spread throughout the cytoplasm. The lateral organization of membranes changes according to the composition of the two bilayers, enabling signalling processes and substantial interactions between different organellar and the cellular membrane. Lipids, one of the main structural components of biological membranes show high compositional complexity, no well-defined molecular structure, and versatile functions. Scientific research enabled deeper insight into functional capabilities of different lipid molecules in maintaining cellular homeostasis and health in general. Biological membranes mediate environmental influences and signal transfer to the cell nucleus. Through the specific transcription factors and/or epigenetic mechanisms, nutrients (fatty acids and others), act as important environmental factors, regulate numerous genes' expression, and modulate the phenotypic expression of the individuals' genes. Fatty acids, especially polyunsaturated fatty acids (PUFA) represent the main structural and functional component of the membrane phospholipids. PUFA content (mainly docosahexaenoic acid, but also others) of the phospholipids modulate physical, chemical, and electrical features of the biological membranes. Unbalanced membrane lipid composition (deficit of n-3 family of PUFA, cholesterol, and/or particular sphingolipids) may disturb membrane dynamics and cellular homeostasis initiating endoplasmic reticulum stress, inflammatory processes, and

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,  
Rijeka

Primljeno: 10. 9. 2014.

Prihvaćeno: 29. 10. 2014.

**Dopisni autor:**

Prof. dr. sc. Alena Buretić-Tomljanović,  
dipl. ing.

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci  
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka  
e-mail: alenabt@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

speeding up aging. PUFA, their derivatives, monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids possess versatile inflammatory potential that points to the relevance of the relative content of different fatty acids in the human diet. Essential PUFA must be available in the human diet, but cellular and membrane physiology also demands continuous dietary intake of long-chain PUFA from early development throughout the lifetime. Low-grade inflammation processes, that might be related to the biological membranes' composition and physiology, are widely recognized in the scientific literature as basis for neurodegenerative, psychiatric and other chronic diseases in humans.

**Key words:** chronic disease; diet; docosahexaenoic acid; inflammation; lipids; membranes

### POPIS KRATICA

Ab – amyloid beta; AD – Alzheimer's disease; ALA – alpha-linolenic acid (18:3n-3); Apo E – apolipoprotein E; Apo J – apolipoprotein J; APP – amyloid-precursor protein; ARA – arachidonic acid (20:4n-6); BMR – basal metabolic reactions; bAPP – beta-amyloid protein; CSF – cerebrospinal fluid; cPLA2 – cytosolic phospholipase A2; CRP – C-reactive protein; CVD – cardiovascular disease; DGLA – dihomogamma linolenic acid; DHA – docosahexaenoic acid (22:6n-3); DM – diabetes mellitus; DPA – docosapentaenoic acid (22:5n-3); EDSS – expanded disability status scale; EPA – eicosapentaenoic acid (20:5n-3); ER – endoplasmic reticulum; GLA – gamma linolenic acid; GLUT-4 – glucose transporter 4; GPI – glycosylphosphatidylinositol; GWAS – genome-wide association studies; HDL – high density lipoprotein; HMG-CoA – high mobility group coenzyme A; IL-1 – interleukin 1; IL-1 $\beta$  – interleukin 1 $\beta$ ; IL-6 – interleukin 6; iPLA2 – calcium-independent phospholipase A2; IR – insulin receptor; LA – linoleic acid (18:2n-6); LCPUFA – long chain polyunsaturated fatty acids; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; MUFA – monounsaturated fatty acids; NF $\kappa$ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NPD1 – neuroprotectin D1; OA – oleic acid (18:1n-9); PE – phosphatidylethanolamine; PC – phosphatidylcholine; PE-DHA – phosphatidylethanolamine containing docosahexaenoic acid; SFA – saturated fatty acids; PPAR – peroxisome proliferator-activated receptors; PUFA – polyunsaturated fatty acids; SORL1 – sortilin-related receptor 1; TLR 3 – Toll-like receptor 3; TLR 4 – Toll-like receptor 4.

### UVOD

Višestanični organizmi građeni su od stanica koje čine njihovu osnovnu funkcijsku jedinicu. Sve funkcijske jedinice komuniciraju izravno ili neizravno te zajednički, međusobnom suradnjom, održavaju pojedini organizam na životu. Sadržaj stanice eukariotskog tipa uobičajeno je opisati kao jezgru i citoplazmu obavijene staničnom membranom. No pogledom na submikroskopsku strukturu stanice eukariotskog tipa uočavamo za pravo obilje membrana. Stanična membrana na površini osigurava integritet stanice, omogućuje komunikaciju s drugim stanicama kao i odgovarajući odgovor stanice na spektar podražaja iz stanične okoline. Jezgra, smještena centralno u stanicama životinjskog tipa sadrži genom zaštićen dvjema membranama. Nadalje, sustav membrana prožima čitavu citoplazmu tvoreći citoplazmatske odjeljke – organele, koji posjeduju specifične uloge. Membranski sustav jedne stanice dinamična je struktura u kojoj su pojedine membrane u stalnoj mijeni i interakciji. Sile koje upravljaju tim procesima ne razumijemo u potpunosti. Osim toga, membrane različitih tkiva posjeduju različitu kompoziciju koja je složena i specifična i mora se trajno održavati. Neke od važnih zadaća bioloških membrana jesu održavanje različitog sadržaja vodenih otopina s jedne i druge strane, sidrenje integralnih i perifernih proteina, regulacija izmjene tvari sa staničnom okolinom. No biološke membrane posjeduju niz drugih specifičnih i esencijalnih uloga koje omogućuju i održavaju život ne samo pojedine stanice već i organizma u cjelini. Zdravlje membrana esencijalno je za normalan stanični metabolizam, zdravlje svih organskih sustava (posebice živčanog i kardiovaskularnog), regulaciju upalnih procesa, utječe na brzinu starenja i pojavu kroničnih bolesti. Složena kompozicija (raznovrsnost molekula) i složena organizacija (specifično organizirane domene) kao temeljne značajke bioloških membrana svjedoče o njihovim esencijalnim funkcijama.

### ORGANIZACIJA BIOLOŠKIH MEMBRANA

Biološke membrane građene su od velikog broja raznovrsnih molekula lipida, proteina i ugljikohidrata. Lipidi su dugo smatrani isključivo struktur-

nom komponentom membrana koja omogućuje funkciju biološki važnih molekula proteina. Lipidi, za razliku od DNA i proteina, ne posjeduju definiranu molekularnu strukturu već postoje u velikom broju različitih molekula od kojih u membranama nalazimo fosfolipide, sfingolipide i kolesterol. Složena kompozicija lipida je konstanta organizacije stanične i citoplazmatskih membrana i predstavlja temelj za njihovu normalnu funkciju<sup>1</sup>.

Molekule lipida su u membranama u stalnim interakcijama djelovanjem slabih fizičkih sila (van der Waalsovih, elektrostatskih i hidrofobnih). No velik broj interakcija, posebice najbrojnijih molekula fosfolipida, u vodenoj sredini osigurava njihovo spontano organiziranje u micelle ili dvosloj. Današnje poznavanje strukture i uloge bioloških membrana znatno nadilazi činjenice poznate iz modela Singera i Nicolsona prema kojem fosfolipidi tvore polupropusnu barijeru između dviju vodenih sredina ili čine matriks za integralne i periferne proteine koji se slobodno lateralno pokreću<sup>2</sup>. Taj je model upućivao na zaključak da je organizacija molekula u membranama donekle slučajna, odnosno, da lateralna gibanja pridonose njihovu nasumičnom rasporedu. Novije spoznaje upućuju da biološke membrane posjeduju specifičnu transverzalnu i lateralnu suborganizaciju koja uključuje različitu debljinu pojedinih hidrofobnih domena (udaljenost između polarnih skupina molekula lipida), neslučajnu raspodjelu lipidnih molekula i njihovo specifično udruživanje (prepoznavanje strukture i orijentacije susjednih lipidnih molekula), specifično udruživanje molekula lipida s membranskim proteinima, te postojanje transverzalnih i lateralnih pritisaka u dvosloju koji nastaju kao mehanička posljedica djelovanja suprotnih sila unutar vrlo tankog dvosloja (4 – 5 nm)<sup>3,4</sup>. Unatoč tome, razjašnjenje membranske organizacije i dalje je jedan od najtežih problema biološke znanosti. Membranski lipidi jesu uobičajeno okružje čak jedne trećine staničnih proteina koji za svoju normalnu funkciju zahtijevaju specifičan lipidni okoliš. Različiti transportni proteini, receptori ili enzimi smjestit će se u ili uz one domene membrane koje im bolje „pristaju”, što upućuje da lipidna komponenta membrana upravlja tim interakcijama. U zdravim

membranama postoji kooperativnost molekula lipida i proteina u održavanju uravnoteženih pritisaka kroz membranu, što omogućuje normalnu dinamiku membranskih domena, membransku funkciju i održanje integriteta<sup>3</sup>.

Lateralna suborganizacija membrana odnosi se na prisutnost tzv. lipidnih splavi, kaveola i klatrinom obloženih jažica. Prema hipotezi Simonsa i van Meera<sup>5,6</sup> molekule sfingolipida i kolesterola, koje su više zastupljene u splavima negoli okolnim dijelovima membrane, udružene su u tvorbe

Zdravlje membrana esencijalno je za normalan stanični metabolizam, zdravlje svih organskih sustava (posebice živčanog i kardiovaskularnog), regulaciju upalnih procesa, utječe na brzinu starenja i pojavu kroničnih bolesti. Složena kompozicija (raznovrsnost molekula) i složena organizacija (specifično organizirane domene) kao temeljne značajke bioloških membrana svjedoče o njihovim esencijalnim funkcijama.

veće debljine i gustoće (zbog dužih i ravnijih acilnih lanaca) u lokaliziranim, ali ne i oštro ograničenim područjima membrana. Glavna uloga lipidnih splavi prepoznata je u procesima staničnog sortiranja i signaliziranja, budući da se upravo nedostatak kolesterola i sfingomijelina u membranama povezuje s poremećajima signalnih procesa. Lipidne splavi opisuju se i kao mjesta sidrenja perifernih proteina vezanih na lipide pomoću GPI-sidara. Literatura o lipidnim splavima sve je obimnija iako je njihovo postojanje *in vivo* još uvijek kontroverzno zbog nedostatka adekvatne tehnologije za vizualiziranje tako sitnih struktura i dinamične prirode samih domena<sup>7</sup>. Druge lateralne domene kao kaveole, klatrinom obložene jažice i domene izvan splavi bitno se razlikuju sastavom lipida i proteina.

Biološke membrane karakterizira dinamička heterogenost, što znači da su membranske domene promjenjive. Remodeliranje membranskih domena događa se stalno i s obzirom na okolnosti, npr. prilikom fuzije dviju membrana, promjene oblika membrana pri stvaranju citoplazmatskih izdanaka i sl.)<sup>7</sup>. Visokoorganizirana i dinamična priroda ključna je za održavanje specifične morfologije i funkcije bioloških membrana. Upoznavanje složene

nosti membranske organizacije i biofizike bioloških membrana još je u začetku. Tek treba istražiti na koji način lipidna organizacija membrana omogućuje uobičajene funkcije, kao što su transport tvari, prijenos signala, fuzije membrana, stvaranje vezikula ili enzimske reakcije. Heterogena dinamika membranskih domena čini biološke membrane osjetljivima na djelovanje vanjskih i unutarnjih fizičkih (temperatura i tlak) i kemijskih čimbenika (metaboliti ili lijekovi) koji bi mogli modulirati membransku organizaciju i funkciju<sup>3</sup>. Iz

Nutrijenti su jedan od najutjecajnijih okolišnih čimbenika koji su tijekom ranih stupnjeva biološke evolucije obavljali zadaću primitivnih hormona potičući sintezu i pohranu energije koja se koristila u razdobljima kada nutrijenti nisu bili dostupni. Taj se evolucijski mehanizam održao u višestaničnim organizmima u kojima nutrijenti upravljaju ekspresijom gena uključenih u energetski metabolizam, staničnu diferencijaciju i stanični rast, ali i hormonima reguliranim signalnim procesima. Značajni nutrijenti koji reguliranjem genske aktivnosti (transkripcije, RNA prekrajanja, translacije i posttranslacijskih modifikacija) određuju sadržaj različitih proteina u stanicama, kompoziciju membrana i ravnotežu metaboličkih procesa jesu masne kiseline.

navedenog slijedi da bi neuravnotežen i/ili manjkav sastav lipida bioloških membrana mogao bitno utjecati na membransku organizaciju i dinamiku te rezultirati abnormalnom funkcijom membranskih proteina ili s membranom udruženih enzima, ali također remetiti i unutarstanične međumembranske interakcije.

#### KOMPOZICIJA BIOLOŠKIH MEMBRANA

Biološke membrane izgrađuje nekoliko vrsta lipidnih spojeva koje prema kemijskoj strukturi svrstavamo u dvije grupe. Prva sadrži molekule s polarnim čeonim skupinama i nepolarnim lancima masnih kiselina: glicerofosfolipide (fosfolipide) i sfingolipide, a drugu čini steroid kolesterol. Fosfolipidi su važni spojevi građeni od trivalentnog alkohola glicerola na kojem su na mjestima prvih dviju hidroksilnih skupina vezani lanci masnih kiselina. Na položaju sn-1 vezana je zasićena, a na

položaju sn-2 nezasićena masna kiselina. Na mjestu treće skupine vezani su fosfat i polarna skupina koja određuje vrstu molekule fosfolipida. Zbog amfifilne prirode molekula fosfolipida masne kiseline su u biološkim membranama raspoređene u dva sloja. S obzirom na varijabilnost duljine lanaca masnih kiselina (od 14 do 24 atoma ugljika), stupanj nezasićenosti (do najviše 6 dvostrukih kovalentnih veza u lancu), kao i s obzirom na specifičnost polarne skupine, molekule fosfolipida su nevjerojatno raznovrsne. Masne kiseline s  $\geq 20$  atoma ugljika jesu dugolančane. U membranama jedne stanice postoji više od 1 000 različitih molekula fosfolipida. Različiti fosfolipidi asimetrično su raspoređeni u dvosloju. Fosfatidilserin, fosfatidilglicerol i fosfatidilinozitol čije su polarne skupine pri pH 7 negativno nabijene (čime pridonose negativnom električnom potencijalu stanične membrane), kao i neutralni fosfatidiletanolamin, više su zastupljeni u unutarnjem sloju dvosloja okrenutom prema citosolu, dok su neutralni fosfatidilkolin i sfingomijelin (jedini sfingolipid koji je ujedno i fosfolipid) više zastupljeni u vanjskome sloju. Asimetrična raspodjela fosfolipida značajka je i membrana organela<sup>8-10</sup>. Funkcijska važnost asimetrične raspodjele fosfolipida očituje se u činjenici da je prelaženje molekula fosfolipida iz jednog sloja membrane u drugi termodinamički ograničeno. Fosfolipidi se selektivno sintetiziraju na citosolnoj strani ER-a, a enzimski se prenose i ugrađuju u suprotni sloj dvosloja. Asimetrija sastava fosfolipida u membranama ključan je čimbenik membranskih fuzija i dioba, interakcija membranskih lipida s proteinima i procesa prijenosa signala. Gubitak specifične membranske asimetrije za stanicu znači gubitak normalnih staničnih funkcija, poticanje apoptoze i pojavu različitih bolesti.

Asimetriji membrana pridonose i sfingolipidi koji su redovito smješteni u dijelu dvosloja okrenutom od citosola. U odnosu prema fosfolipidima, sfingolipidi su u membranama značajno manje zastupljeni. Poput fosfolipida sadrže polarnu čeonu skupinu i dva nepolarna lanca vezana za dugolančani amino-alkohol sfingozin. Sfingolipidima pripadaju sfingomijelin i glikosfingolipidi, poput cerebrozida ili gangliozida. Sfingolipidi su, zajedno s kolesterolom, u većoj mjeri zastupljeni u la-

teralnim membranskim domenama, tzv. lipidnim splavima, u kojima im se pripisuje uloga u procesima stanične signalizacije, no obilno su zastupljeni u mijelinskoj ovojnici živčanih vlakana.

Osim navedenih, membrane posjeduju važne fizičke značajke poput elastičnosti ili fluidnosti koje su regulirane sadržajem kolesterola i sastavom masnih kiselina najbrojnijih molekula fosfolipida. Fluidnost membrane je neophodna za odvijanje transportnih procesa, iako možda utječe i na druge funkcijske značajke membrane. Kolesterol ima dvojnju zadaću u membranama: istovremeno ih čini fluidnima i čvrstim. Naime, molekule kolesterola umetnute između molekula fosfolipida sprječavaju međusobno čvrsto povezivanje susjednih lanaca masnih kiselina dok istovremeno kolesterol djeluje kao membranski stabilizator održavajući normalnu dinamiku i funkciju membrana u slučajevima promijenjenih temperaturnih ili drugih uvjeta. Stoga, u membranama kolesterol održava vrlo osjetljivu ravnotežu između stanja fluidnosti („nereda” u nizu acilnih lanaca molekula fosfolipida, propusnosti membrane) i stanja čvrstoće („reda” u nizu acilnih lanaca, nepropusnosti membrane). U eksperimentalnim modelima membrana kojima nedostaje kolesterol, membrane ne mogu održavati optimalan stupanj fluidnosti već, ovisno o temperaturi, poprimaju stanje prevelike čvrstoće ili prevelike fluidnosti<sup>11</sup>.

Za održavanje fluidnosti i elastičnosti membrana ključna je građa molekula fosfolipida, odnosno, činjenica da je na sn-2 položaju glicerola u molekuli fosfolipida vezana nezasićena masna kiselina. Nezasićene masne kiseline u lancu sadrže barem jednu (mononezasićene) ili dvije do šest (višestrukonezasićene) dvostrukih kovalentnih veza od kojih svaka tvori jedno koljeno koje savija dugi lanac. Acilni lanci molekula PUFA imaju više koljena zbog čega su savijeni i poprimaju zavijenu konformaciju. Zbog toga se slabije povezuju sa susjednim zasićenim lancima koji su ravni i dulji. Stoga će fluidnost membrane biti veća uz veći broj dvostrukih kovalentnih veza, odnosno, veći stupanj nezasićenosti lanaca masnih kiselina. PUFA-e su više zastupljene u unutarnjem, citosolnom dijelu dvosloja pa je taj dio dvosloja fluidniji u odnosu prema vanjskom. Njihova prisutnost pridonosi i

asimetriji raspodjele kolesterola u membrani, budući da se kolesterol bolje povezuje sa zasićenim acilnim lancima masnih kiselina na položajima sn-1 glicerola, a odmiče se od onih višestrukonezasićenih lanaca. Na taj način sadržaj PUFA, naročito DHA, u citosolnom sloju pridonosi lateralnoj organizaciji kolesterola u membrani i potiče njegovo premještanje u suprotni dio dvosloja. U vanjskom dijelu dvosloja kolesterol se dobro povezuje sa sfingolipidima<sup>12</sup>. Dva navedena mehanizma osiguravaju veću koncentraciju kolesterola u vanjskom sloju membrane što pridonosi formiranju i stabilizaciji domena lipidnih splavi. Uklanjanjem kolesterola iz svoje neposredne okoline DHA povećava fluidnost, što je značajka dijelova membrana koji se lako spajaju s drugim membranama ili, pak, otpuštaju vezikule (npr. u transGolgijevoj mreži) i modulira debljinu membrane (zbog izuzetne fleksibilnosti svoju terminalnu metilnu skupinu može približiti staničnoj površini). Na temelju opisanog može se zaključiti da uravnotežena lipidna kompozicija bioloških membrana osigurava asimetriju, fluidnost, ali i elastičnost koje su nužne za normalno odvijanje svih membranskih funkcija.

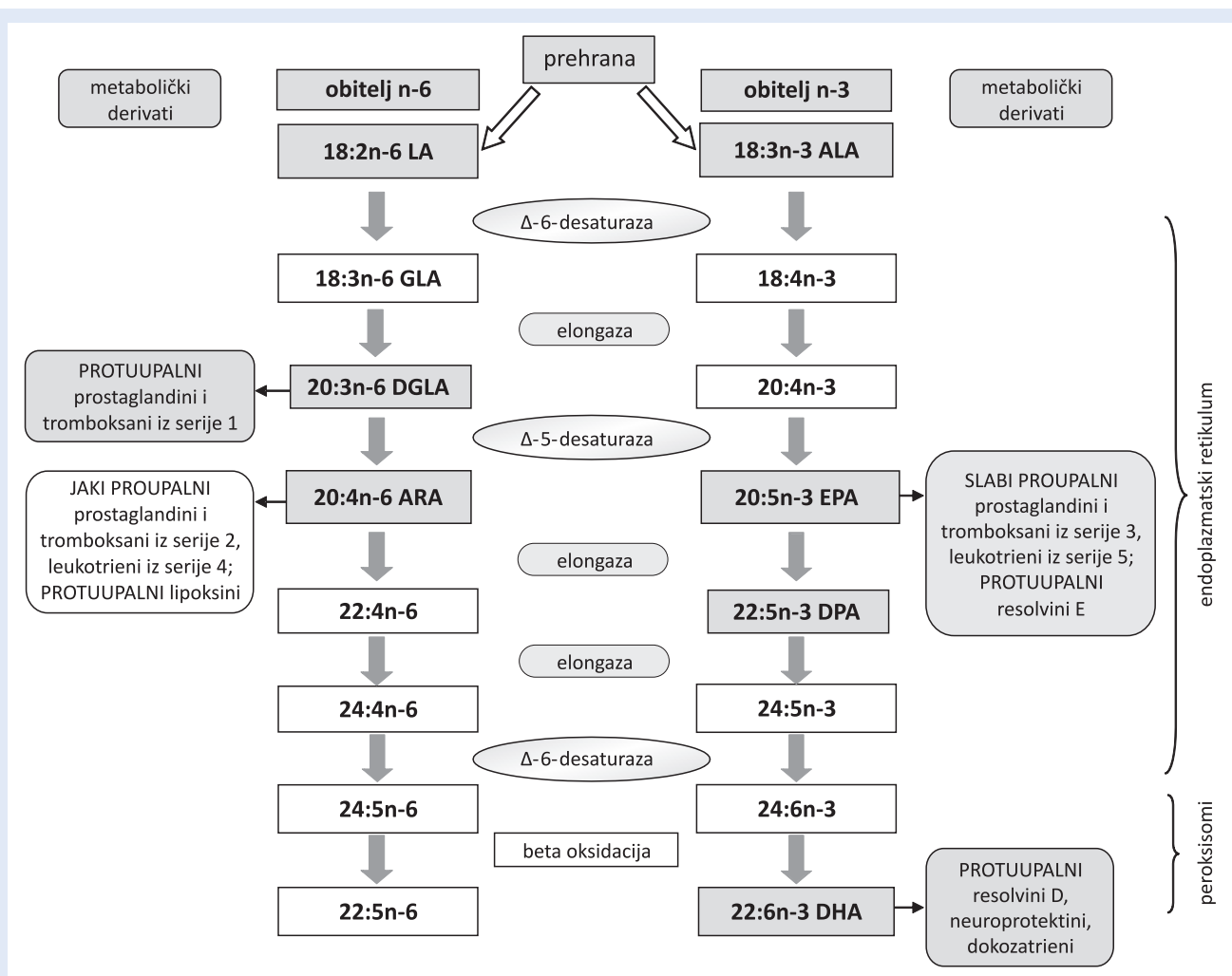
#### ULOGA FOSFOLIPIDA U BIOLOŠKIM MEMBRANAMA

Iako se može činiti da smo dosad iscrpili sve značajke i uloge lipida u biološkim membranama, zapravo smo tek na početku. Godine 1953. otkriveno je da neurohormon acetilkolin može potaknuti metabolizam fosfatidilinozitola aktivacijom enzima PLC, čime je dokazana uloga molekula fosfolipida u procesima staničnog signaliziranja<sup>13</sup>. Unatoč činjenici da su derivati fosfatidilinozitola u membranama najmanje zastupljena skupina fosfolipida, to su ključne molekule u procesima signaliziranja pomoću iona kalcija<sup>14</sup>. Porast razine iona kalcija u citosolu zbog aktivacije signalnog puta fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata aktivira novi niz enzima među kojima i enzim cPLA2 koji se translocira na membranu gdje s položaja sn-2 fosfolipida katalizira otpuštanje višestrukonezasićene masne kiseline ARA. ARA je moćan drugi glasnik koji se u citosolu može nizom enzima (ciklooksigenaze, lipoksigenaze, epoksigenaze, enzimska obitelj citokroma P450) metabolizirati u

raznovrsne eikozanoide (spojeve građene od 20 atoma ugljika: prostaglandine, leukotriene, tromboksane, lipoksine ili hidroksieikozatetraensku kiselinu). Ti su spojevi moćni medijatori upalnih procesa u stanici, pokreću nishodne procese staničnog signaliziranja i stanične proliferacije. U stanicama sisavaca PLA2 čini superobitelj enzima s 19 različitih izoformi koje su, s obzirom na značajke, svrstane u šest skupina. Iako uloga svake pojedine izoforme nije poznata, sve su glavne grupe enzima PLA2 prisutne u stanicama mozga i uključene u složenu signalnu mrežu živčanih stanica. Enzim PLA2 iz grupe 6, citosolna fosfolipaza neovisna o kalciju (iPLA2) katalizira otpuštanje DHA sa sn-2 položaja molekula fosfolipida, najčešće fosfatidiletanolamina. DHA je PUFA koja sadrži 22 atoma ugljika i šest dvostrukih veza u acilnom lancu. Otpušten, DHA se može ponovno

ugraditi u molekulu fosfolipida ili enzimski metabolizirati u različite dokozanoide (spojeve građene od 22 atoma ugljika: protektine i resolvine). Istraživanja na štakorima pokazala su da se najveći dio masnih kiselina otpuštenih tijekom signalnih procesa ponovno ugrađuje u membranske fosfolipide (~97 % radioaktivno obilježene ARA i ~90 % DHA ponovno se ugrađuje, dok se ostatak upućuje na beta oksidaciju u mitohondrije ili se enzimski prevodi u eikozanoide, odnosno, dokozanoide)<sup>15</sup>. Dokozanoidi sudjeluju u unutarstaničnoj signalizaciji, ali su im učinci suprotni onima eikozanoida. Za razliku od većine eikozanoida koji potiču upalne procese u stanici djelovanje dokozanoida je protuupalno, neuroprotektivno i antiapoptotičko<sup>16</sup> (slika 1).

Osim neurohormona, nishodnu kaskadu fosfatidilinozitola mogu potaknuti citokini i čimbenici rasta

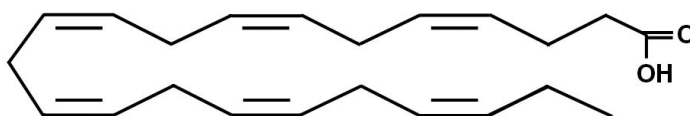


Slika 1. Put sinteze višestrukonezasićenih masnih kiselina iz obitelji n-3 i n-6 i njihovi metabolički derivati.

što membranske fosfolipide upliće u regulaciju procesa staničnog rasta i preživljavanja (regulaciju citoskeleta, stanični rast i diobu, egzocitozu, apoptozu, signaliziranje u živčanom sustavu i dr.)<sup>17-20</sup>.

Nadalje, relativni udio PUFA u membranskim fosfolipidima, u odnosu na ukupne masne kiseline u tim molekulama, određuje brzinu BMR-a, regulira stanične energetske procese i prosječno trajanje života svake vrste. Ovaj fenomen objašnjava tzv. *pacemaker* hipoteza metabolizma. Svaku vrstu karakterizira specifična zastupljenost PUFA u membranskim fosfolipidima. Toplokrvni organizmi posjeduju znatno viši udio PUFA u membranskim fosfolipidima u odnosu na životinje bez stalne tjelesne temperature i, posljedično, viši BMR. U ptica i sisavaca BMR je obrnuto proporcionalan veličini tijela. Manji sisavci imaju viši udio PUFA i viši BMR, pa žive kraće. Kako se volumen tijela povećava BMR se smanjuje, a time i stupanj zastupljenosti PUFA u membranama. Na koji način su BMR i udio PUFA u membranama povezani? PUFA-e, posebice DHA, ali i one s četiri ili pet dvostrukih veza vrlo su fleksibilne i aktivne molekule. Njihove jednostruke veze u dugim acilnim lancima gibaju se i rotiraju oko dvostrukih, više rigidnih veza. Rapidnim gibanjima molekula PUFA u citosolnom dijelu dvosloja nastaju lateralne sile koje utječu na aktivnost membranskih enzima. Veći udio PUFA u membrani znači veći lateralni pritisak, odnosno, veću enzimsku aktivnost membrani pridruženih enzima. To upućuje da je BMR izravno povezan s događajima na membrani. Primjerice, razina aktivnosti Na/K-crpke u sisavaca dobro korelira s lateralnim pritiscima u membrani<sup>21</sup>. Stanica u mirovanju potroši gotovo polovicu energije samo na funkciju ionskih crpki: natrijsko-kalijske (Na/K-ATPaza) u staničnoj membrani, protonske (ATP sintaza) u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani i kalcijске u membrani ER-a. Prema *pacemaker* hipotezi metabolizma udio PUFA (posebice DHA) u tkivima čovjeka očekivano je manji negoli u manjih sisavaca<sup>22</sup>. No specifičnost je ljudskog mozga, kao što je i slučaj u mozgu dupina, da u membranskim fosfolipidima pohranjuju veće količine molekula DHA, znatno više negoli u drugim tkivima. Poslije masnog tkiva najveću količinu lipida u tijelu sadrži ljudski mozak (čak 35 % tih lipida čine LPUFA). Miš, primjerice, po-

sjeduje podjednak sadržaj DHA-a u svim tkivima. Veći udio DHA-a, molekula s najvećim brojem dvostrukih veza, implicira viši lateralni pritisak u membranama živčevlja, viši BMR, a može se objasniti činjenicom da mozak za svoj rad troši znatnu količinu energije. Pohranom veće količine DHA-a u odnosu prema drugim tkivima mozak čovjeka mogao je osigurati veću brzinu membranskih metaboličkih reakcija, što je preduvjet za brz i učinkovit odgovor živčanog sustava na podražaje iz okoline<sup>22</sup>. Molekula DHA (slika 2) pojavila se u pri-



Slika 2. Strukturna formula dokozaheksaenske kiseline (22:6n-3).

rodi prije otprilike 600 milijuna godina. Njezine fizičke, stereokemijske i elektromagnetne značajke, kakve ne posjeduje niti jedna druga molekula PUFA u prirodi, kao i činjenica da je DHA, u odnosu prema drugim masnim kiselinama, više zastupljena u membranama živčanih stanica, mitohondrija i retine upućuju na zaključak da je upravo ta molekula omogućila konverziju fotona svjetlosti u elektricitet, razvoj fotoreceptora i evoluciju živčanog sustava, posebice mozga<sup>23</sup>. Okolnost da su membranski fosfolipidi u mozgu zadržali veći udio PUFA (DHA), unatoč većoj veličini tijela, u odnosu na manje sisavce, mogla je biti ključan čimbenik koji je omogućio najprije pojavu svjesnosti, a zatim i kulturnu evoluciju čovjeka temeljenu na učenju i bihevioralnoj adaptaciji<sup>23,24</sup>.

#### DOKOZAHEKSAENSKA KISELINA – KLJUČNA MOLEKULA MEMBRANSKE ORGANIZACIJE I NEURALNE SIGNALIZACIJE

Prije rasprave o mnogobrojnim značajkama molekule DHA u biološkim membranama, posebice membranama u živčanom sustavu, potrebno je istaknuti par činjenica vezanih uz metabolizam masnih kiselina. Masne kiseline su raznovrsne molekule određene duljinom acilnih lanaca i stupnjem nezasićenosti. Ljudski organizam može sintetizirati zasićene i mononezasićene masne kiseline, ali ne i PUFA-e zbog nedostatka odgovara-

jućih enzima. PUFA-e pripadaju obiteljima n-6 i n-3 masnih kiselina ovisno o položaju prve dvostruke veze počevši od karboksilnog kraja molekule. Esencijalne PUFA-e, LA iz obitelji n-6 i ALA iz obitelji n-3 čovjek mora unijeti biljnom i/ili animalnom prehranom. LA i ALA se, najvećim dijelom u jetri, radom istih enzima, elongaza i desaturaza, metaboliziraju u masne kiseline duljih lanaca i višeg stupnja nezasićenosti (slika 1). ARA pripada obitelji n-6 i relativno se lako (2 koraka desaturacije i 1 korak elongacije) sintetizira iz LA. Osim toga, nalazimo je u uobičajenoj hrani, npr. biljnim uljima, proizvodima od žitarica, orašastim plodovima i mesu. DHA pripada obitelji n-3, njezina sinteza je složenija, uključuje tri koraka desaturacije, sintezu lanca od 24 atoma ugljika te deacilaciju koja se događa u peroksisomima, što zahtijeva unos, metabolizam i transport molekule iz peroksisoma u citosol. Samo se 1 % prehranom uzetog ALA-a metabolizira u DHA, najvećim dijelom u jetri, (aktivnost desaturaza je ograničavajući čimbenik) iz čega slijedi da većinu potrebnog DHA-a organizam mora dobiti prehranom. Dobro je poznato da su bogat izvor LCPUFA iz obitelji n-3 (EPA-e i DHA) morski organizmi.

Već je navedeno da je DHA u stanicama animalnog tipa, osim u membranama mozga, više zastupljen i u unutarnjim membranama mitohondrija, zatim u sinaptosomima, sinaptičkim vezikulama, mikrosomima i konusima rasta neurona<sup>25</sup>. Važno je pitanje zbog čega te membrane akumuliraju upravo DHA, a ne neku drugu molekulu PUFA, primjerice DPA koji se lakše sintetizira, a jednako dobro kao i DHA podržava membransku fluidnost. Analiza građe fotoreceptora različitih grupa organizama (od osjetila za vid jednostavnih organizama dinoflagelata, preko glavonožaca i riba sve do sisavaca) potvrdila je visoku zastupljenost DHA u molekulama membranskih fosfolipida. S obzirom na esencijalnu ulogu unutarnje mitohondrijske membrane u prijenosu elektrona i stvaranju protonskog gradijenta, činjenica da je u toj membrani obilno zastupljen DHA navodi na zaključak da su te značajke nekako povezane. Istraživanja upućuju da molekule DHA posjeduju svojstva koja bi mogla omogućiti prijenos elektrona temeljen na principima kvantne mehanike<sup>26,27</sup>. U stanju najniže energije molekula DHA poprima

oblik dviju paralelnih zaravnjenih ploha od kojih svaku tvore tri dvostruke kovalentne veze. Mnoštvo molekula DHA u tom slučaju može se poravnati jedna uz drugu. Takve jedinstvene značajke mogle bi modulirati kvantni prijenos i mobilnost pi-elektrona<sup>23,28</sup>. U evoluciji mozga to je moglo značiti sposobnost integriranja (kohezije) velikog broja moždanih regija, što bi se moglo povezati s pojavom svjesnosti u prirodi. Ključnu ulogu molekula DHA u razvoju i funkciji mozga podupire činjenica da u nedostatku DHA-a i ARA mozak postaje disfunkcionalan<sup>29,30</sup>. U prirodi nema druge molekule koja bi mogla zamijeniti molekulu DHA koja nepromijenjena upravlja neuralnom signalizacijom 600 milijuna godina. Stoga, DHA je u CNS-u glavna molekula membranske organizacije i funkcije. Održavajući organizaciju membrana, DHA u CNS-u osim fluidnosti regulira diferencijaciju neurona, neurogenezu, prijenos živčanih podražaja, održava sinapsu i sinaptičku plastičnost, a time modulira procese pamćenja, učenja i drugih kognitivnih sposobnosti. Nadalje, DHA je važna molekula u kontroli upalnih procesa u CNS-u i drugim tkivima.

#### POREMEĆAJI LCPUFA I OSTALIH MEMBRANSKIH LIPIDA U NEURODEGENERATIVNIM, PSIHIJATRIJSKIM I DRUGIM BOLESTIMA

Prema prethodno navedenom LCPUFA, posebno DHA, neophodni su za organizaciju stanične i ostalih membrana, funkcije s membranom udruženih proteina te za čitav niz staničnih funkcija. Stoga bi njihov nedostatak te posljedične promjene lipidne organizacije membrana mogao biti uzrok disfunkcije membrana i brojnih staničnih procesa. U membranama s visokim sadržajem DHA, kao što su stanične membrane neurona, oligodendrocita i astrocita te membrane mitohondrija, taj bi nedostatak mogao biti povezan s abnormalnim razvojem živčevlja, gubitkom normalne sinaptogeneze, neurogeneze, neuroprijenosa i poremećajima oksidacijskog metabolizma nužnog za proizvodnju stanične energije. Upravo su navedeni poremećaji karakteristični za neuropsihijatrijske i neurodegenerativne bolesti<sup>31-35</sup>. Oksidacijski metabolizam, primjerice, posredovan je velikim enzimskim kompleksima usidreni-



ma u unutarnju mitohondrijsku membranu. S time su povezani viši udio proteina (~75 % mase membrane) i veća zastupljenost DHA u unutarnjoj membrani mitohondrija u odnosu prema drugim membranama u stanici. Tijekom normalnog odvijanja oksidativne fosforilacije, u kojoj se konstantno troši kisik, stvaraju se niske, fiziološke razine reaktivnih spojeva kisika, međutim, disfunkciju mitohondrija zbog nedostatka LCPUFA (DHA) u membrani pratit će njihovo pojačano stvaranje. Budući da je životni vijek slobodnih radikala kratak ( $10^{-10}$  s) svoje štetne učinke ostvaruju na udaljenosti od 2-3 nm od mjesta nastanka, pa oštećuju obilno prisutne membranske proteine i fosfolipide. DHA, kao molekula s najviše dvostrukih veza, ujedno je i najpodložnija peroksidaciji. Veća oksidacijska oštećenja membranskih proteina i lipida u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani uzrokovat će gubitak mitohondrijskog membranskog potencijala i poticati apoptozu<sup>36</sup>. U pacijenata sa shizofrenijom proteomske studije su potvrdile abnormalnu ekspresiju brojnih proteina od kojih je čak polovica uključena u funkciju mitohondrija i neutralizaciju slobodnih radikala<sup>37</sup>. Osim u shizofreniji disfunkcija mitohondrija potvrđena je tijekom procesa starenja, ali i u drugim bolestima poput depresije, demencije, ishemijskog moždanog udara i drugih neurodegenerativnih bolesti<sup>36,38</sup>.

Istraživanja sadržaja masnih kiselina u membranama pacijenata s neurodegenerativnim i psihijatrijskim bolestima podupiru hipotezu o disfunkciji membrana, posebno onih čija funkcija ovisi o visokom sadržaju DHA. Iako su čimbenici koji moduliraju sadržaj masnih kiselina membranskih fosfolipida mnogobrojni (spol, dob, prehrana, stil života, uzimanje lijekova i dr.), brojne studije upućuju da je promijenjen sadržaj masnih kiselina, pogotovo onih dugolančanih bitna značajka niza neurodegenerativnih i duševnih bolesti. U odnosu na zdrave ispitanike, značajan manjak n-3 LCPUFA, ponajprije DHA i EPA-e potvrđen je u membranama stanica periferne krvi u osoba s demencijom (u osoba sa sindromom predemencije, odnosno, prisutnim kognitivnim deficitima posebno je izražen manjak EPA) i depresijom<sup>39,40</sup>. U pacijenata sa shizofrenijom manjak LCPUFA (DHA, EPA i DPA) u perifernim membranama (eritrociti i

fibroblasti kože) potvrđen je i u onih s prvom epizodom bolesti (koji još nisu započeli farmakoterapiju), kao i u kroničnih pacijenata koji niz godina uzimaju antipsihotičnu terapiju<sup>41-44</sup>. U pacijenata s prvom epizodom bolesti manjak PUFA jače je izražen, pa se smatra značajkom koja prethodi pojavi psihopatologije, a ne posljedicom bolesti<sup>41</sup>. U shizofreniji, bipolarnom poremećaju i depresiji *post mortem* su pronađeni značajni deficiti DHA u orbitofrontalnom dijelu kore velikog mozga, međutim, manjak DHA nije potvrđen u amigdali, hipokampusu i entorinalnom dijelu korteksa<sup>45-47</sup>. Suprotno tome, u CSF-u pacijenata sa shizofrenijom Kale i sur.<sup>42</sup> pronašli su povišene razine DHA i DPA, u odnosu prema kontroli, dok su razine u plazmi bile podjednake u obje skupine ispitanika. Što se tiče sadržaja ARA u membranama, rezultati studija su uglavnom neusklađeni (neke su studije objavile manjak ARA, dok druge to nisu pronašle)<sup>44,48,49</sup>. Nadalje, promjena sadržaja LCPUFA membranskih fosfolipida opisana je u mozgu ili perifernim tkivima u slučajevima Parkinsonove bolesti (deficit DHA) i multiple skleroze<sup>25,50-52</sup>. Rizik za pojavu multiple skleroze povezuje se s visokim unosom zasićenih masti, tj. nebalansiranim omjerom zasićenih u odnosu prema nezasićenim masnim kiselinama u prehrani<sup>53,54</sup>. Omjer zasićenih i ukupnih nezasićenih masnih kiselina u membranama eritrocita pacijenata s multiplom sklerozom popravio se nakon 6 mjeseci terapije biljnim uljima s visokim sadržajem PUFA (18:2n-6, 18:3n-6, 18:3n-3, 18:4n-3) i mononezasićene OA. Povećanje udjela nezasićenih masnih kiselina u membranama pacijenata pratilo je poboljšanje imunoloških značajki i simptoma bolesti procijenjenih EDSS-om<sup>51</sup>. *Post mortem* analiza sadržaja masnih kiselina gornje temporalne vijuge pokazala je da postoje sličnosti u pacijenata s multiplom sklerozom i bipolarnim poremećajem (viša razina zasićenih masnih kiselina, ukupnih PUFA, posebno LA, ARA i DHA, a značajno smanjen sadržaj OA) čime su se te dvije bolesti bitno razlikovale od shizofrenije i depresivnog poremećaja<sup>50</sup>.

U slučajevima AD-a manjak DHA u perifernim tkivima nije uvijek prisutan, međutim, dokazani su manjak LCPUFA u cerebrospinalnoj tekućini i mozgu (posebno PE-DHA u odnosu na zdrave osobe iste dobi) i manjak HDL-C-a u cirkulaciji,

što u konačnici uzrokuje nemogućnost učinkovitog obnavljanja mijelinske ovojnice<sup>55,56</sup>. Zapravo, razvoju AD-a najvjerojatnije pridonose poremećaji sveukupnog metabolizma lipida koji uključuju metabolizam kolesterola, DHA i sfingolipida<sup>56</sup>. Proteini implicirani u patologiju AD-a, APP i različite sekretaze, jesu integralni i periferni membranski proteini. Ta činjenica, kao i uloga kolesterola u kontroli aktivnosti sekretaza, upućuje na zaključak da je promijenjeno lipidno mikrokružje ključan čimbenik u patologiji AD-a<sup>56,57</sup>. Na dez-

Biološke membrane fasciniraju svojom složenošću ništa manje negoli genom. Membrane predstavljaju zaseban informacijski sustav čiji je kod značajan poput koda nasljeđa. Svaki novi organizam, osim što nasljeđuje genetički materijal, nasljeđuje i membranski sustav na staničnoj površini i u citoplazmi.

organizaciju lipidnog dvosloja u domenama lipidnih splavi ili njihovom mikrokružju upućuje činjenica da sekretaza „reže“ na neuobičajenom mjestu unutar hidrofobne transmembranske domene bAPP-a, čime nastaju netopljivi peptidi sa svojstvom agregacije<sup>16,56</sup>. Njihovo progresivno nakupljanje i agregacija u prepoznatljive plakove upućuje na pretjerano stvaranje slobodnih radikala, oksidacijski stres, te ekspresiju proupalnih i proapoptotičkih gena. Navedene promjene rezultiraju ireverzibilnim gubitkom stanične homeostaze i disfunkcijom neurona<sup>58,59</sup>. Na isti zaključak navode i rezultati GWAS analiza pacijenata s AD-om koje su kao potencijalne gene kandidate za AD detektirale gene povezane s upalnim odgovorom i procesima vezanima uz membranske lipide<sup>60</sup>. U patologiju AD-a moguće su uključeni poremećaji endogene *de novo* sinteze kolesterola u glija stanicama (nedostatak prekursora kolesterola), mehanizmi transporta kolesterola prema neuronima (uloga ApoE i ApoJ) ili neravnoteža amiloidne razgradnje APP-a koju mogu uzrokovati manjak kolesterola i DHA u membranama. Manjak DHA utvrđen je u ponsu, bijeloj tvari u frontalnom dijelu mozga i hipokampusu. S druge strane, utvrđene su povišena peroksidacija DHA, smanjena aktivnost enzima iPLA2 (enzima koji otpušta DHA iz molekula fosfolipida) i smanjena razina NPD1

(derivata DHA), što upućuje na oksidacijski stres i upalu u stanicama mozga prisutnima u ranim, kao i kasnim fazama bolesti. NPD1 je impliciran i u neurobiologiji bAPP-a. DHA i/ili NPD1 utječu i na funkciju drugih membranskih i s membranom udruženih proteina i lipoproteina, primjerice na receptor transmembranskog sortiranja SORL1 i na serumski nosač lipida ApoE koji kontrolira razgradnju bAPP-a i sekretazom posredovanu sintezu Ab peptida<sup>16,61</sup>. Nadalje, u AD-u je utvrđen poremećaj metabolizma sfingolipida: u membranama CNS-a je pronađena povišena razina ceramida koji posjeduje neurotoksično djelovanje i potiče apoptozu, dok je razina sfingomijelina smanjena (osim u CFS-u u kojem je visoka). U AD-u postoji manjak složenih gangliozida, i višak onih jednostavnih, kao i značajan manjak (58 % – 93 %) sulfatida (manje zastupljene skupine sfingolipida koja se pojavljuje kao sastavni dio mijelina, a sintetizira se u oligodendrocitima i Schwannovim stanicama)<sup>56</sup>.

Uzevši o obzir navedeno o poremećajima u AD-u može se uočiti da tu bolest karakterizira smanjena sinteza glavnih sastojaka mijelina: kolesterola, sfingomijelina i sulfatida. Kao potencijalni klinički marker u ranoj dijagnozi AD-a predložen je, među ostalima, omjer sulfatida i fosfatidilinozitola<sup>62</sup>. Osim APP patologije, AD karakterizira i patološka hiperfosforilacija proteina *tau* čija je uloga stabilizacija sustava mikrotubula. Hiperfosforilacija *tau* uzrokuje njegovu disocijaciju i posljedičnu dezorganizaciju mikrotubula. Budući da su mikrotubuli blisko povezani s citoplazmatskim membranskim sustavom njihov raspad uzrokuje urušavanje citoplazme, tj. gubitak specifične morfologije i funkcije citoplazmatskih organela te staničnu smrt. Različiti dokazi upućuju da je *tau* patologija u AD-u povezana s omjerom n-3/n-6 masnih kiselina u membrani, kao i s promijenjenim metabolizmom kolesterola i sfingolipida, pa je vrlo vjerojatno da su patološke manifestacije u neuronima pacijenata s AD-om posljedica djelovanja više čimbenika<sup>63</sup>. Mapstone i sur. predložili su panel od 10 lipidnih spojeva važnih za integritet staničnih membrana koje se može odrediti u perifernoj cirkulaciji u ranoj dijagnozi neurodegeneracije i prekliničkoj fazi AD-a (mogu predvidjeti početak bolesti u roku od 2 – 3 godine s točnošću od 90 %)<sup>64</sup>.

Poremećaj metabolizma lipida, s time povezani poremećaji dinamike membrana i energetskih procesa u stanicama mogli bi biti temeljni mehanizmi nastanka i drugih bolesti, primjerice, neosjetljivosti prema inzulinu i DM-a tipa 2.

Neosjetljivost prema inzulinu povezana je i s gojaznošću, povišenim krvnim tlakom, hiperlipidemijom, koronarnom bolesti srca, aterosklerozom, ubrzanim starenjem, rakom, infekcijama i traumom<sup>65,66</sup>. Rezultati istraživanja upućuju da je kod neosjetljivosti prema inzulinu zapravo poremećen promet membrana u stanici, budući da izostaje adekvatna ekspresija receptora za unos glukoze (poremećena je fuzija vezikula koje sadrže receptor sa staničnom površinom). Poremećaj se očituje u skeletnim mišićima, jetri, masnom tkivu, ali i drugim tkivima. Osjetljivost prema inzulinu osigurava antioksidacijski i antiupalni učinak, budući da balansira stanične energetske reakcije. Inzulin dodatno potiče aktivnost delta-5- i delta-6-desaturaza, čime olakšava pretvorbu esencijalnih PUFA u dugolančane<sup>65,67-69</sup>. Osjetljivost prema inzulinu može se modulirati vrstom lipida u prehrani. Prehrana u kojoj prevladavaju zasićene masti smanjit će osjetljivost, dok će prisutnost LCPUFA (naročito DHA-a i EPA-e) povećati osjetljivost prema inzulinu. Slijedi da će LCPUFA-e ugradnjom u biološke membrane osigurati uvjete za adekvatnu ekspresiju receptora GLUT-4. Moduliranjem funkcije desaturaza inzulin dodatno potiče endogenu sintezu LCPUFA, čime pridonosi održavanju zdravih i sastavom uravnoteženih membrana.

U pacijenata sa shizofrenijom, uz dokazan manjak LCPUFA i promijenjen sastav membrana, postoji sklonost razvoju hiperlipidemije, DM-a tipa 2 i koronarne bolesti srca. Rizik se može dodatno povećati terapijskim uvođenjem pojedinih antipsihotika<sup>70</sup>. Navedene činjenice upućuju na izravnu povezanost manjka LCPUFA u prehrani, poremećenog sastava i dinamike membrana i pojave neosjetljivosti prema inzulinu. Sve više dokaza upućuje da PUFA-e moduliraju rizik za pojavu i progresiju raka<sup>71-73</sup>. Pokazano je da u primarnim kanceroznim stanicama DHA-a može potaknuti apoptozu koju prati promjena arhitekture membrana, npr. izlaganje fosfatidilserina u vanjskom membranskom sloju (na staničnoj površini).

#### DUGOLANČANE PUFA-E TIJEKOM RAZVOJA ORGANIZMA I FIZIOLOŠKOG PROCESA STARENJA (ULOGA U ETIOLOGIJI SHIZOFRENIJE I ALZEIMEROVE BOLESTI)

Kako bismo bolje razumjeli patologiju dviju bolesti (shizofrenije koja osim neurodegenerativne, posjeduje i neurorazvojnu komponentu i neurodegenerativne, Alzheimerove bolesti) najprije ćemo razmotriti potrebe organizma za LCPUFA-ma tijekom prenatalnog razvoja, ranog djetinjstva i adolescencije te promjene koje se događaju tijekom fiziološkog procesa starenja u zdravih ljudi. Već je navedeno da tijekom prenatalnog razvoja mozak pohranjuje veće količine DHA-a počevši od trećeg mjeseca gestacije do poroda, kada udio DHA-a u odnosu prema ukupnim masnim kiselinama u kori velikog mozga iznosi ~9%. Tijekom postnatalnog razdoblja mozak nastavlja nakupljati DHA (dojenjem, a zatim prehranom) sve do približno 20. godine života, kada udio DHA-a u korteksu iznosi ~15%<sup>34</sup>. Mozak iz cirkulacije neselektivno uzima sve molekule PUFA, ali dok molekule DHA-a ugrađuje, one kraćega ili manje nezasićenoga lanca češće upućuje na beta oksidaciju<sup>15,74</sup>. Dnevni gubitak DHA-a iz mozga zdravog odraslog čovjeka (signalni procesi, sinteza dokozanoida, beta oksidacija, genska regulacija i dr.) iznosi oko 4,5 – 5,0 mg<sup>75</sup>. S obzirom na slabu sposobnost pretvorbe esencijalnog ALA-a u DHA (0,5 – 1,0%), za održavanje moždanih struktura potrebno je dnevno unijeti 1000 – 1500 mg ALA-a, što ne pokriva potrebe čitavog organizma. Udio DHA-a u membranama prijevremeno rođene djece hranjene formulom koja je sadržavala pretežito ALA manji je u odnosu prema djeci rođenoj u terminu<sup>76,77</sup>. Također je pokazano da uzimanje dodatka prehrani koji sadrže esencijalnu masnu kiselinu ALA neće bitnije povisiti udio DHA-a u membranama eritrocita, majčinom mlijeku ili sivoj tvari mozga<sup>34</sup>, što upućuje da ostatak potreba organizam mora pokriti unosom prethodno formuliranih molekula DHA. Poluživot molekula DHA u tkivima sisavaca iznosi oko 2,5 godina, što znači da se tijekom života moraju nadomještati novim molekulama<sup>78</sup>. Gubitak DHA-a iz membrana ne ovisi o promjenama razine kalcija u citosolu (vezanima za procese signalizacije), jer DHA iz mem-

branskih fosfolipida uglavnom mobilizira o kalciju neovisna iPLA2. Za razliku od DHA-a, ARA-u iz membranskih fosfolipida mobilizira cPLA2 koju aktivira povećanje razine iona kalcija u citosolu. Tijekom fiziološkog procesa starenja između 30. i 100. godine života u mozgu se događa smanjivanje volumena (najviše u svojoj tvari frontalnog režnja i repu hipokampusu) kao i smanjivanje sadržaja fosfolipida (43 %) i proteina (36 %), koje je praćeno proporcionalnim slabljenjem kognitivnih sposobnosti. U frontalnom korteksu udio dvaju glavnih fosfolipida PE i PC smanji se za 20 – 30 %<sup>75,79,80</sup>. Iz navedenog se može zaključiti da se ugradnja DHA-a u membranske fosfolipide nakon dovršenog razvoja organizma i tijekom fiziološkog procesa starenja postepeno usporava, zbog čega dolazi do smanjivanja njezina sadržaja u membranama. Studije koje su pokušale istražiti mogu li se uvođenjem specifičnih PUFA u terapiju (uglavnom kombinacije različitih doza EPA-e i DHA-a) postići poboljšanja kliničkih simptoma u slučajevima depresije, demencije, shizofrenije, Alzheimerove i kardiovaskularnih bolesti, ili prepoznati podgrupe pacijenata koji bi mogli dobro reagirati na dodatke farmakoterapiji utvrdile su sljedeće: 1) razine PUFA u plazmi pacijenata i zdravih osoba su vrlo varijabilne i preklapaju se iako su srednje vrijednosti u pacijenata niže; 2) studije su vrlo različite s obzirom na početno stanje PUFA u plazmi i membranama pacijenata, s obzirom na vrstu i omjer pojedinih PUFA u dodacima terapiji, te s obzirom na trajanje istraživanja pa se zapravo ne mogu uspoređivati; 3) dodaci PUFA u terapiji kratkoročno su više utjecali na promjenu razine cirkulirajućih PUFA u plazmi negoli u membranama, što upućuje na potrebu provođenja longitudinalnih, metodološki drugačije postavljenih istraživanja<sup>81-91</sup>. Još jedan važan nedostatak dosadašnjih studija je taj što je u kontrolnoj skupini kao placebo učestalo korištena OA, mononezasićena masna kiselina iz maslinova ulja koja je dugo smatrana neutralnom, a zapravo ima učinke slične onima n-3 PUFA<sup>92</sup>. Ti rezultati upućuju da se kompozicija membrana čovjeka mijenja sporije u odnosu prema promjenama u prehrani, što je u skladu s istraživanjima na drugim sisavcima<sup>93</sup>. Drugim riječima, proces ponovne ugradnje PUFA u membrane je ograničen i dodatno reguliran, za-

sad nedovoljno poznatim čimbenicima. Upravo je za shizofreniju tipičan poremećaj ponovne ugradnje PUFA u molekule membranskih fosfolipida koji nalikuje onom u starijih osoba<sup>94,95</sup>. Upravo zbog toga jedna od hipoteza kojima se pokušava objasniti etiologija bolesti predlaže da je shizofrenija bolest ubrzanog starenja<sup>96,97</sup>. U pacijenata sa shizofrenijom ili Alzheimerovom bolesti gubitak DHA-a i drugih LCPUFA iz membranskih fosfolipida veći je negoli u njihovih zdravih vršnjaka. Pojava kliničkih simptoma shizofrenije približno se podudara s vremenom završetka normalnog razvoja mozga, što može upućivati na neadekvatnu dostupnost DHA-a i drugih LCPUFA tijekom prenatalnog i ranog postnatalnog perioda neophodnih za normalan razvoj organskih sustava, posebno živčanog. Može se očekivati da je i za održavanje funkcija organizma, kao i učinkovitu prevenciju neurodegenerativnih, kardiovaskularnih i drugih kroničnih bolesti neophodno osigurati adekvatan unos LCPUFA (DHA). Ako sve navedeno sumiramo, slijedi da je čovjek tijekom cijeloga života ovisan o unosu prethodno formuliranih molekula DHA prehranom<sup>98</sup>. Budući da su membrane glavno mjesto njihove pohrane, mogući mehanizam koji održava homeostazu metaboličkih procesa u organizmu mogao bi uključivati normalnu organizaciju i funkciju sustava membrana u stanicama. Problem deficita PUFA u membranama pacijenata sa shizofrenijom ne rješava se niti dugogodišnjim uzimanjem antipsihotika, budući da kronični pacijenti pokazuju membranske deficite PUFA, kao i oni s prvom epizodom bolesti. Nedavno istraživanje mehanizma djelovanja atipičnih antipsihotika u tretmanu shizofrenije može nam objasniti na koji način ti antipsihotici mogu umanjiti simptome bolesti, a da pritom ne "poprave" strukturu membrana. Zapravo, antipsihotici će biti više učinkoviti uz viši sadržaj LCPUFA u membranama. Pokazano je da su atipični antipsihotici amfilne molekule koje se interkaliraju u unutarnji, citoplazmatski membranski sloj čime remete organizaciju membranskih fosfolipida. Na taj način enzimu cPLA2, čija je aktivnost u pacijenata sa shizofrenijom znatno povišena, čine nedostupnim glavni supstrat, ARA<sup>1</sup>. Dakle, djelovanjem atipičnih antipsihotika sprječava se daljnji gubitak ARA iz membrane, ali se ne

popravlja sadržaj DHA-a i EPA-e<sup>43</sup>. Veća zastupljenost PUFA u membranama pacijenata pogoduje ugradnji i boljem učinku atipičnih antipsihotika zbog sličnih biokemijskih svojstava molekula.

Što se tiče kardiovaskularnih bolesti, rizik za njihovu pojavu može se procjenjivati omega-3 indeksom koji predstavlja omjer zastupljenosti EPA-e i DHA-a u odnosu na zastupljenost ukupno 26 masnih kiselina mjenjenih u membranama eritrocita. Niža vrijednost indeksa povezana je s višim rizikom. Kao i u slučajevima ostalih bolesti postoje bitna neslaganja između kliničkih i epidemioloških studija, što upućuje na potrebu za drugačije dizajniranim kliničkim studijama i u kardiologiji<sup>99,100</sup>.

#### UPALNI PROCESI U NEURODEGENERATIVNIM, PSIHIJATRIJSKIM I DRUGIM BOLESTIMA

Sve više znanstvenih rezultata upućuje na postojanje dugotrajnih upalnih procesa niskoga stupnja u nizu kroničnih i degenerativnih bolesti: metaboličkom sindromu, inzulinskoj rezistenciji, DM-u tipa 2, Alzheimerovoj i Parkinsonovoj bolesti, multiploj sklerozi, shizofreniji, demenciji, depresiji i drugima<sup>66,101-109</sup>. Poznato je da su masne kiseline i njihovi metaboliti stresori koji potiču ili suzbijaju upalni imunološki odgovor<sup>66</sup>. Masne kiseline posjeduju varijabilan upalni potencijal. Prevelika zastupljenost zasićenih i/ili transmasnih kiselina (nezasićene masnoće koje nisu uobičajene u prirodi, već nastaju kao sporedni produkti tijekom procesa hidrogeniziranja biljnih ulja) u prehrani, u odnosu na nezasićene, rezultira poremećajima signalnih procesa na membranama, metaboličkim promjenama u stanicama, infiltracijom imunoloških stanica u tkiva i sintezom proupalnih spojeva, čime nastaje upalni proces niskoga stupnja<sup>110</sup>. Dakle, upalne procese mogu modulirati masnoće iz prehrane. Upalno stanje niskoga stupnja karakteriziraju povišene razine CRP-a, NF- $\kappa$ B RNA, IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , derivata ARA-e i drugih proupalnih spojeva. Uravnotežena sinteza proupalnih i antiupalnih spojeva važan je fiziološki mehanizam svakog zdravog organizma. U mozgu, sinteza proupalnih spojeva fiziološki je važna u održavanju homeostaze i neophodna u održavanju strukturne plastičnosti mozga (neuroplastičnosti). Neuroplastičnost je, pak, nužna za procese učenja i memorije, kognitivnu fleksibil-

nost i mogućnost modifikacije ponašanja. Dokazano je da stresni događaji tijekom života uvjetuju pojavu strukturnih promjena u mozgu bez klinički izražene psihopatologije, te da mogu značajno modulirati razinu NF- $\kappa$ B i drugih proupalnih spojeva u plazmi<sup>66</sup>. Pokus Szabóa i sur. dokazao je povezanost smanjene neuroplastičnosti (procijenjene promjenom volumena hipokampusa nakon dva mjeseca provođenja kognitivnih vježbi) i prisutnosti upalnih procesa niskoga stupnja uvjetovanih stresnim događajima tijekom prethodnih godinu dana<sup>111</sup>. Među mjenjenim proupalnim markerima u krvnoj plazmi najbolju je prediktivnu vrijednost pokazala razina NF- $\kappa$ B, transkripcijskog čimbenika koji je važna komponenta upalnih signalnih putova u stanici. Dugotrajni (višegodišnji) upalni procesi u stanicama koji nadjačaju one antiupalne mogli bi biti temelj kroničnih ili neurodegenerativnih bolesti i u konačnici izazivati pojavu klinički prepoznatljivih simptoma. Osim neuravnoteženog unosa različitih lipida, upali niskoga stupnja mogu pridonositi i drugi okolišni čimbenici, poput prevelikog energetskeg unosa i abdominalne debljine, pušenja, stresnih događaja u životu (socijalne izolacije, usamljenosti, niskog socioekonomskog statusa, brige o teško bolesnim osobama i dr.), nedovoljne tjelesne aktivnosti, nedostatka sna, smanjene propusnosti crijeva, nedovoljnog unosa vitamina D i drugih čimbenika.

Dugotrajni upalni procesi niskoga stupnja (sinteza proupalnih citokina, TNF-alfa i drugih proupalnih molekula) u stanicama potiču otpuštanje iona Ca<sup>2+</sup> iz cisterni ER-a što može uzrokovati stres ER-a<sup>112,113</sup>. Za funkciju ER-a ključna je visoka koncentracija iona kalcija u lumenu, pa stres ER-a remeti glavne funkcije toga organela kao što su: sinteza lipidnih spojeva, uklanjanje pogrešno smotanih proteina i regulacija koncentracije iona kalcija u citosolu. Fluktuacija citosolne koncentracije iona kalcija je glavni čimbenik koji regulira dinamiku sustava membrana u stanicama<sup>114-115</sup>.

Fluktuacije koncentracije iona Ca<sup>2+</sup> povezane su s promjenom morfologije citoplazmatskih organela, komunikacijom unutarstaničnih membrana (membrana ER-a sa staničnom membranom, membrana jezgre i mitohondrija i dr.), transportom vezikula i sekrecijskim putem proteina<sup>116-117</sup>.

Membrane neprestano cirkuliraju kao odgovor na vanjske ili unutarnje podražaje. Primjerice, Golgijeve cisterne oblikuju se spontano kao odgovor na vezikule koje se otpuštaju iz tranzicijskog ER-a<sup>118</sup>. Koncentracija Ca<sup>2+</sup> u citosolu izravno ili neizravno modulira funkciju brojnih proteina među kojima su kinaze, fosfataze, fosfolipaze i transkripcijski čimbenici<sup>119</sup>. Pojava stresa ER-a može biti potaknuta mikrookolišnim čimbenicima poput hipoksije, hipoglikemije ili prehrane s visokim udjelom masti ili ugljikohidrata, pa se stres ER-a može povezati s pojavom dijabetesa, srčanih, neurodegenerativih i psihijatrijskih bolesti<sup>112,113</sup>. Neuravnotežen unos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina prehranom sve se češće spominje kao moguć okolišni čimbenik i u patologiji demencije i multiple skleroze<sup>31,120,121</sup>. Nedostatci n-3 PUFA, ali i vitamina D, vitamina B12, folne kiseline i antioksidacijskih vitamina (C i E) u prehrani pokazali su korelaciju s pojavom i pogoršanjem simptoma multiple skleroze<sup>121</sup>. Viši omjer (PUFA + MUFA)/SFA ili manja zastupljenost SFA-a i transmasnih kiselina u prehrani također su korelirali s nižim rizikom za pojavu demencije<sup>31,120</sup>. Prisutnost upalnih procesa može se dokazati i u AD-u još u prekliničkoj fazi bolesti, u odsutnosti amiloidnih plakova. To podupire hipotezu da su amiloidni plakovi posljedica, a ne uzrok bolesti<sup>122</sup>. Proupalne spojeve IL-1 $\beta$  i S100 u ranoj fazi bolesti izlučuju mikroglija, imunološke stanice mozga. Ovo gledište podupiru i istraživanja moždanog tkiva fetusa i novorođenčadi sa sindromom Down koji posjeduju tri kopije APP gena smještenog na kromosomu 21q. U njih su pronađene morfološke promjene mikroglije i astrocita poput onih u AD-u kao i prekomjerna ekspresija upalnih citokina unatoč odsutnosti amiloidnih plakova<sup>123,124</sup>. Drugim riječima, u slučaju AD-a, prekomjerna ekspresija IL-1 i upalni procesi u mozgu mogu trajati duži niz godina i prethode pojavi kliničkih simptoma<sup>125</sup>. Iako je funkcija upalnih procesa da uklanjaju oštećene stanice, oni moraju biti ograničenog karaktera. Kronični upalni procesi postepeno oštećuju sve veći broj neurona u konačnici uzrokujući njihovu disfunkciju i propadanje. Eksperimentalni dokazi upućuju da IL-1 također potiče hiperfosforilaciju proteina *tau*, a njegova prekomjerna ekspresija potvrđena je i u Parkinsonovoj

bolesti u kojoj se dovodi u vezu s razvojem Lewyjevih tjelešaca<sup>126,127</sup>. U perifernim tkivima IL-1 $\alpha$  i IL-1 $\beta$  secerniraju monociti, makrofagi i dendritične stanice. To su moćni medijatori upale čije je djelovanje posredovano s NF- $\kappa$ B. IL-1 $\beta$  djeluje štetno na stanice gušterače potičući staničnu smrt i pojavu rezistencije prema inzulinu, što je u skladu s već dokazanom povezanošću AD-a s DM-om tipa 2 i defektima funkcije mitohondrija<sup>66,128</sup>.

Sve više podataka iz literature upućuje na povezanost upalnih procesa i imunoloških funkcija organizma. Dugotrajni upalni procesi niskog stupnja i promijenjen imunološki odgovor organizma značajni su čimbenici i u etiologiji psihijatrijskih bolesti poput shizofrenije i depresije. Upalni procesi niskog stupnja prethode pojavi psihotičnih ili depresivnih epizoda. Budući da shizofrenija posjeduje neurorazvojnu komponentu, vrlo je vjerojatno da su upalni procesi prisutni već tijekom fetalnog doba te da onemogućuju adekvatan razvoj imunoloških mehanizama. Povećana sinteza proupalnih i kemotaksijskih citokina potiče infiltraciju perifernih T-limfocita i upalne procese u mozgu te modulira funkciju imunoloških stanica mozga (mikroglije)<sup>129,130</sup>. U shizofreniji je dokazana i oslabljena funkcija monocita/makrofaga nakon simuliranja izloženosti patogenima (povećana ekspresija TLR-3 i TLR-4, a smanjena ekspresija IL-1 $\beta$ ) što upućuje na supresiju imunoloških funkcija<sup>131</sup>. Masnoće iz prehrane također mogu modulirati imunološke funkcije mehanizmom koji uključuje TLR<sup>132</sup>. Hipotezu o supresiji imunoloških funkcija podupiru činjenice da pacijenti sa shizofrenijom rijetko obolijevaju od reumatoidnog artritisa, a također ih karakterizira poremećen odgovor dendritičkih stanica nakon systemske ili lokalne aplikacije otopine vitamina B3 (niacina). Neosjetljivost prema niacinu očituje se izostankom sinteze jakog proupalnog prostaglandina E2 te posljedičnim izostankom vazodilatacije i crvenila kože. Više od 80 % pacijenata sa shizofrenijom pokazuje oslabljen niacinski odgovor ili reakcija u potpunosti izostaje<sup>43,133</sup>. Iako je niacinski odgovor organizma dijelom genetički uvjetovan, u pacijenta se veća osjetljivost prema niacinu ne uspostavlja niti dugogodišnjom terapijom antipsihoticima<sup>43,134</sup>. Poremećaj osjetljivosti prema niacinu stoga bi mogao istovremeno biti posljedica pore-

mećaja signalnih procesa na staničnoj membrani (npr. zbog smanjene ekspresije i/ili osjetljivosti niacinskih receptora) i supresije imunološkog odgovora organizma. Upalni procesi niskoga stupnja prisutni tijekom embrionalnog/fetalnog razvoja i kasnije tijekom ranog djetinjstva/adolescencije prethode pojavi prve psihotične epizode i obično su praćeni blažim kognitivnim deficitima i poremećajima socijalnog funkcioniranja. Pojavu psihotičnih epizoda bolesti prati i pretjerana sinteza dopamina u srednjem mozgu<sup>135</sup>. Terapija antipsihoticima u shizofreniji može uravnotežiti sintezu i otpuštanje neurotransmitera (dopamina i acetilkolina), ali ne rješava u potpunosti upalne procese, što upućuje da su upalni (patološki) procesi i dalje prisutni. Dugotrajna prisutnost slabih upalnih procesa u shizofreniji ponovno nas vraća na već više puta spomenut manjak sadržaja PUFA (posebno DHA-a) u membranama, posljedičnu dizorganizaciju i disfunkciju stanične i citoplazmatičkih membrana te promjene metaboličkih procesa u stanicama mozga i perifernim stanicama.

Upalni procesi u mozgu također su temelj pojave rezistencije prema inzulinu i DM-a tipa 2. Receptori za inzulin izraženi su u mozgu, što upućuje na važnost signalizacije inzulinom u funkcijama mozga. Eksperimentalno izazvana disfunkcija IR-a u mozgu potiče pojačan unos hrane, nakupljanje triglicerida u masnom tkivu, rezistenciju prema inzulinu, hiperinzulinemiju, hipertrigliceridemiju, odnosno značajke metaboličkog sindroma te posljedično pojavu DM-a tipa 2. Zbog nakupljanja triglicerida (zbog prevelikog energetskeg unosa prehranom) mijenja se fiziologija masnog tkiva i potiče infiltracija imunoloških stanica koje otpuštaju upalne spojeve (Th1 odgovor)<sup>66,108</sup>. Ako se prisjetimo ranije navedenog, disfunkcija IR-a u mozgu može biti posljedica disfunkcije membrana i stresa ER-a zbog neadekvatnog sastava i organizacije bioloških membrana.

Navedena saznanja upućuju da bi različite kronične bolesti mogle imati zajedničku osnovu: dugotrajni (dugogodišnji) upalni procesi niskoga stupnja koji mogu biti posljedica različitih čimbenika, uključujući neuravnotežen unos lipida prehranom. Slijede neuravnotežen sastav, organizacija i disfunkcija membrana, promijenjena funkcija brojnih proteina (receptora i enzima), neuravno-

težen metabolizam lipida i ugljikohidrata, neravnoteža proupalnih i antiupalnih procesa u stanicama i organizmu, stres ER-a, oksidacijski stres, ubrzano starenje i pojava simptoma kroničnih bolesti. S obzirom na ranije navedeno, dostupnost esencijalnih masnih kiselina (n-6 i n-3 PUFA) tijekom prenatalnog razvoja, ranog djetinjstva, a moguće i adolescencije moglo bi djelovati preventivno na pojavu kroničnih bolesti čovjeka<sup>136-139</sup>. Stoga bi PUFA-e i njihovi metabolički derivati mogli biti antiupalne, antihipertenzivne, antiaterosklerotične, kardioprotektivne, neuroprotektivne i citoprotektivne molekule<sup>140-142</sup>. Zdravlje membrana u kojima su molekule PUFA pohranjene i zdravlje ljudskog organizma općenito, ako izuzmemo slučajeve teških nasljednih bolesti zbog genetičkih mutacija, ovisi o dugoročnom balansiranom unosu n-6 i n-3 PUFA prehranom, kao i balansiranom unosu ukupnih PUFA i MUFA u odnosu prema ukupnim SFA. Dok su SFA poznati jaki medijatori upale, mehanizmi djelovanja MUFA još nisu u potpunosti jasni. Izuzetak su SFA kratkoga lanca (C4–C12), kakve nalazimo u mlijeku i kokosovom ulju, koje se brzo metaboliziraju i također pokazuju antivirusno, antimikrobno, antitumorsko i imunološko djelovanje<sup>143</sup>. No balansirani unos n-6 i n-3 PUFA regulirat će endogenu sintezu SFA i MUFA u organizmu iz nelipidnih izvora, metabolizam glukoze, uravnotežiti funkciju krvno-moždane barijere, imunološke i brojne druge funkcije. Kao što je već navedeno, biološke membrane ne reagiraju dobro (brzo) na nagle promjene količine PUFA u prehrani, no čimbenik na koji biološke membrane dobro reagiraju jest omjer PUFA dviju obitelji: n-6/n-3. Taj je omjer bitno poremećen u današnjoj prehrani čovjeka.

#### ULOGA PREHRANE U POJAVI KRONIČNIH BOLESTI ČOVJEKA

Prehrana je glavni izvor PUFA. LA (n-6) i ALA (n-3) jesu esencijalne masne kiseline, a endogena konverzija ALA u DHA iznosi oko 1 %. Ta će konverzija biti još i manja ako u prehrani prevladavaju zasićene masnoće, ili zbog nedostatka minerala (cink i željezo) neophodnih za funkciju desaturaza. Na proces konverzije dodatno utječu spolni hormoni, pa je konverzija slabija u muškaraca negoli u žena, budući da estrogen i progesteron potiču, a testosteron smanjuje funkciju tih enzima u jetri<sup>144</sup>.

DHA i druge dugolančane PUFA-e koje do stanica stižu cirkulacijom aktiviraju nekoliko obitelji specifičnih transkripcijskih čimbenika: PPAR, SREBP i NFκB. Putem PPAR-a i SREBP-a (iz grupe jezgrinih receptora) koji djeluju kao senzori statusa PUFA u organizmu, PUFA-e reguliraju aktivnost nekoliko stotina gena uključenih u biosintezu lipida i regulaciju staničnih energetske procesa, kao i ekspresiju gena važnih za razvoj, metabolizam i funkciju stanica mozga<sup>145,146</sup>. Stoga će nedostatak DHA-a i drugih PUFA u organizmu prouzročiti disregulaciju sveukupnog metabolizma lipida, glukoze i stanične energetike u mozgu i perifernim tkivima. Kako možemo današnji način života i stil prehrane povezati s metaboličkim poremećajima i porastom incidencije kroničnih bolesti čovjeka? Stil života naše vrste, čiji se razvoj tijekom evolucije temeljio na prehrani iz mora, divljim životinjama i plodovima nađenima u prirodi (lovci i sakupljači), počeo se bitno mijenjati uvođenjem agrikulture i uzgoja životinja prije otprilike 10 000 godina (početak neolitika). No tijekom posljednjih dvije stotine godina, a naročito posljednjih 50 godina, znatno su se promijenili stil života i način prehrane povezani s industrijalizacijom. Naročito se to odnosi na zapadnjački stil života i prehranu. U SAD-u su, primjerice, kronične bolesti i zdravstveni problemi koji se mogu povezati s neadekvatnom prehranom jedna od najvećih prijetnji općem zdravlju nacije<sup>147</sup>. U porastu su gojaznost, kardiovaskularne bolesti, DM tipa 2 (347 milijuna ljudi u svijetu ima dijabetes) hipertenzija, hiperlipidemija, depresija, poremećaj pažnje s hiperaktivnošću, autizam, Alzheimerova demencija, rak i druge bolesti, a povećana je i smrtnost povezana s navedenim zdravstvenim problemima<sup>66</sup>. Slični problemi u većoj ili manjoj mjeri pogađaju i druge dijelove svijeta. Iako u suvremenoj prehrani postoji niz bitnih razlika u odnosu na prehranu naših daljnjih predaka (konzumiranje mlijeka i mliječnih proizvoda, žitarica, rafiniranih šećera, biljnih ulja, alkohola) jednu su važnu razliku donijeli industrijska proizvodnja hrane i način uzgoja životinja. U mesu moderno uzgojenih životinja prevladavaju n-6 PUFA-e i SFA, dok je sadržaj n-3 PUFA vrlo nizak<sup>148,149</sup>. U industriji hrane, ali i kućanstvima, također se učestalo koriste biljna ulja, bogata n-6 PUFA-ma. Primjerice u ulju kukuruza omjer n-6/n-3 iznosi 58 : 1 (sadrži najviše LA)<sup>150</sup>.

Stoga suvremena prehrana donosi neravnotežu unosa n-6 i n-3 PUFA u organizam. Dok bi idealan omjer n-6/n-3 bio 1 : 1 (može se tolerirati i do 4 : 1), u tipičnoj suvremenoj prehrani on iznosi i do 25 : 1. Ako se prisjetimo da se isti enzimi natječu za pretvorbu esencijalnih masnih kiselina u one dužega lanca, jasno je da će njihov supstrat biti LA (n-6), a ne ALA (n-3). Nadalje, industrija hrane hidrohenizira tekuća biljna ulja, a u tom procesu nastaju transmasne kiseline. Manjak n-3 PUFA u suvremenoj prehrani nije jedini čimbenik koji narušava ljudsko zdravlje, tu su još deficiti makro- i mikronutrijenata, deficiti vlakana, poremećaji acido-bazne ravnoteže, povećana kalorijska vrijednost prehrane, manjak tjelesne aktivnosti, nedovoljno izlaganje sunčevoj svjetlosti i drugo. Povoljne učinke na ljudsko zdravlje pokazuje mediteranska prehrana u kojoj su znatno zastupljeni povrće, mahunarke, voće, žitarice, umjereno do znatno konzumiranje ribe, manji unos SFA-a i veći unos MUFA (maslinovo ulje), umjeren unos mesa i mliječnih proizvoda (uglavnom sira i jogurta) te umjereni unos alkohola (uglavnom vina). Studija Trichopoulou i sur., koja je istražila prehrabene navike populacije starije od 60 godina u različitim europskim zemljama, utvrdila je manju smrtnost i dulje trajanje života u onih čija je prehrana bila sličnija mediteranskoj<sup>151</sup>. Glavni zaključak studije je da se procjenom kvalitete prehrane može predvidjeti stopa smrtnosti i preživljavanja populacije, a naglasak je na vrsti konzumiranih lipida. Slične rezultate dobila je i danska studija van Dama i sur.<sup>152</sup> U mediteranskoj prehrani OA iz maslinova ulja donekle zamjenjuje učinak n-3 PUFA, budući da suzbija upalne procese u stanicama, djeluje antitumorski i citoprotektivno te na taj način pomaže u sprječavanju mnogih bolesti<sup>153-155</sup>. Budući da posjeduje samo jednu dvostruku vezu manje je podložna peroksidaciji u odnosu prema DHA-u. U populacijama u kojima OA nije dostupna, zdravlje i dulji život osigurava prisutnost n-3 PUFA u prehrani. Mehanizmi kojima OA ostvaruje povoljne učinke na zdravlje nisu dobro poznati.

#### SLOŽENOST FENOTIPSE EKSPRESIJE – MEMBRANE KAO POSREDNICI U MEĐUDJELOVANJU GENOMA I OKOLIŠA

Biološke membrane fasciniraju svojom složnošću ništa manje negoli genom. Membrane pred-



stavljaju zaseban informacijski sustav čiji je kod značajan poput koda nasljeđa. Svaki novi organizam, osim što nasljeđuje genetički materijal, nasljeđuje i membranski sustav na staničnoj površini i u citoplazmi. Membrane su posrednici u interakciji stanice sa staničnom okolinom i prijenosu informacija prema jezgri. Masne kiseline i steroidni hormoni važni su regulatori genske aktivnosti. Pitanje je je li genska aktivnost značajka genoma *per se* ili je ona poticana vanjskim čimbenicima. Epigenetika i njezina uloga u regulaciji genske ekspresije (modifikacije kromatina) upućuju da su čimbenici okoline ključni u tome procesu<sup>156-158</sup>. Okolišni čimbenici određuju interpretaciju nasljeđa. Varijabilnost naših gena čini nas sposobnima odgovoriti na podražaje iz okoliša na različit, individualno specifičan način<sup>159</sup>. Genom i okoliš u trajnoj su interakciji. Genom svake vrste prilagođava se okolišu u smislu postizanja ravnoteže, odnosno, odabirom onih genetičkih svojstava koja će osigurati optimalan prosjek opstanka neke populacije. Jedan od primjera jest varijabilnost broja genskih kopija gena za amilazu. Amilaza razgrađuje škrob, a izlučuje se u usnoj šupljini. Čovjek u svojem genomu sadrži različit broj kopija gena *AMY1*, a broj kopija gena korelira s razinom amilaze u slini i zastupljenosti škroba u prehrani<sup>160</sup>.

Utjecaji okoliša uključuju različite fizičke, kemijske, osjetilne i psihičke podražaje (interakcije s drugim organizmima, prirodom, psihički doživljaji, misli i drugo). Ipak, nutrijenti su jedan od najutjecajnijih okolišnih čimbenika koji su tijekom ranih stupnjeva biološke evolucije obavljali zadaću primitivnih hormona potičući sintezu i pohranu energije koja se koristila u razdobljima kada nutrijenti nisu bili dostupni. Taj se evolucijski mehanizam održao u višestaničnim organizmima u kojima nutrijenti upravljaju ekspresijom gena uključenih u energetske metabolizam, staničnu diferencijaciju i stanični rast, ali i hormonima reguliranim signalnim procesima<sup>161</sup>. Značajni nutrijenti koji reguliranjem genske aktivnosti (transkripcije, RNA prekrivanja, translacije i posttranslacijskih modifikacija) određuju sadržaj različitih proteina u stanicama, kompoziciju membrana i ravnotežu metaboličkih procesa jesu masne kiseline<sup>162-165</sup>. Vrlo slabe mogućnosti biosinteze DHA-a čovjek je tijekom evo-

lucije prevladao prehranom iz mora. Prehrana iz mora odredila je sadržaj DHA-a i veličinu ljudskog mozga i veličinu mozga drugih sisavaca koji se prehranjuju u moru. Nije slučajno da mozak delfina teži 1,8 kg, a mozak zebre koja ima sličnu tjelesnu masu tek 360 g<sup>23</sup>. Funkcija mozga i živčanog sustava temelji se na adekvatnoj opskrbi lipidima, posebno specifičnim masnim kiselinama i kolesterolom. U membranama svih stanica, ali posebice onima u živčanom sustavu ključna je LCPUFA – DHA (masna kiselina s najvećim stupnjem nezasićenosti). DHA je konstanta signalnih procesa živčanog sustava tijekom više stotina milijuna godina biološke evolucije za koje su se vrijeme u molekulama DNA događale mnogobrojne promjene čime su se proteini, kao izravni produkti gena, „prilagođavali” lipidnom membranskom mikrokružju. Zdravlje membrana ključno je za ravnotežu staničnih metaboličkih, energetskih i električnih procesa, za fiziološki proces starenja te ravnotežu upalnih i imunoloških procesa, čime zadire u zdravlje svih organskih sustava i organizma u cjelini. Redoviti balansirani (n-6/n-3) unos PUFA prehranom mogao bi imati učinak kao istovremeno uzimanje statina, beta blokatora, aspirina i diuretika. PUFA-e i njihovi metaboliti snižavaju razinu LDL-C, reguliraju krvni tlak, inhibiraju HMG CoA-reduktazu i angiotenzin konvertirajući enzim, smanjuju ekspresiju proupalnih citokina, pospješuju sintezu dušikova monoksida u endotelu, sprječavaju sljepljivanje trombocita<sup>141,142</sup>. DHA je i važan sastojak membrana spermija, osiguravajući im adekvatnu pokretljivost<sup>166</sup>.

Na temelju navedenog može se očekivati da bi dugoročnim, adekvatnim unosom PUFA organizam mogao nadvladati djelovanja mnogih štetnih čimbenika okoline. Pokus s *agouti* mišicama svjedoči o tome da se djelovanjem okolišnih čimbenika (u ovom slučaju prehranom) može nadvladati učinak štetnih, dominantnih genetičkih mutacija. *Agouti* miševi imaju žuto krzno, pretili su i skloni CVD-u, dijabetesu i raku. U pokusu u kojem su skotne *agouti* ženke dobile prehranu obogaćenu folnom kiselinom, vitaminom B12, betainom i kolinom, okotile su zdrave potomke smeđeg krzna. One koje su dobile uobičajenu prehranu okotile su miševe žutog krzna koji su uskoro postali pretili i dobili dijabetes<sup>167</sup>. Prehrana trudnica i njihov

endokrini status bitno utječu na fenotip potomaka tako što epigenetičkim mehanizmima mijenjaju funkciju brojnih gena, i to ne samo onih koji pokazuju fenomen genomskog upisa, već i onih koje ne zahvaća navedeni fenomen, npr. geni za glukokortikoidni receptor ili PPAR<sup>168,169</sup>. Epigenetički su mehanizmi aktivni prije koncepcije, za vrijeme prenatalnog i ranog postnatalnog razvoja, što upućuje da se tijekom ranog razvoja organizma uspostavljaju epigenetički obrasci koji mogu predstavljati sklonost prema određenim kroničnim bolestima. Fenotipska ekspresija i dugoročne posljedice ranih razvojnih procesa u smislu stvaranja podložnosti za kronične bolesti rezultat su složenih genetičkih, razvojnih i okolišnih interakcija.

Neadekvatna kompozicija i organizacija membrana znače imunološki kompromitiran organizam, nemogućnost adekvatnog odgovora na stres (bilo koje vrste: infekti, stresni doživljaji i dr.), sklonost pojavi autoimunih bolesti, raniju pojavu kroničnih bolesti i teže kliničke simptome uvjetovane mogućom interakcijom s pojedinim „rizičnim“ genetičkim varijantama (polimorfizmima)<sup>66</sup>. Većina znanstvenika suglasna je da kroničnim bolestima moguće zajednički pridonosi velik broj genetičkih polimorfizama od kojih svaki zasebno posjeduje slab učinak. Okolišni čimbenici omogućuju da se „više rizične“ ili „manje rizične“ genetičke varijante izraze kao bolest. To bi značilo da će u konačnici dvije osobe s jednako neuravnoteženim sastavom membrana obje oboljeti, uz mogućnost da ona s „više rizičnim“ genetičkim varijantama oboli ranije.

Zaključno, postoji potreba za longitudinalnim, dobro dizajniranim istraživanjima koja bi mogla dokazati povoljan učinak prehrane s uravnoteženim omjerima n-6/n-3 PUFA, PUFA/SFA i PUFA/MUFA na mnogobrojne aspekte ljudskoga zdravlja<sup>1,22,52</sup>. Uključivanje esencijalnih i dugolančanih n-3 i n-6 PUFA u prehranu u ravnotežnom omjeru, naročito tijekom trudnoće (od drugog tromjesečja nadalje), tijekom laktacije i djetinjstva, ali i tijekom cijeloga života, mogao bi biti važan preduvjet zdravlja<sup>107,170-178</sup>. Važno je educiranje trudnica o važnosti prehrane tijekom prenatalnog razvoja ploda, posebice mozga. Program uvođenja folne kiseline kao suplementa prije začeća i tijekom prvog tromjesečja potrebno je dopuniti pro-

gramom nadopune prehrane s n-3 PUFA-ma od početka drugog tromjesečja pa do barem navršene druge godine života djeteta. Brzina promjena u prehrambenim navikama čovjeka daleko je nadišla mogućnosti adaptacije našega genoma. Osim nutrijenata na fiziologiju stanica i genom utječu različite kemikalije i lijekovi, pa treba voditi računa i o štetnim posljedicama dugoročne uporabe lijekova koji inhibiraju funkcije važnih enzima u organizmu.

**Izjava o sukobu interesa:** autorica izjavljuje da ne postoji sukob interesa.

## LITERATURA

1. Oruch R, Lund A, Pryme IF, Holmsen H. An intercalation mechanism as a mode of action exerted by psychotropic drugs: results of altered phospholipid substrate availabilities in membranes? *J Chem Biol* 2010;3:67-88.
2. Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 1972;175:720-31.
3. Bagatolli LA, Ipsen JH, Simonsen AC, Mouritsen OG. An outlook on organization of lipids in membranes: Searching for a realistic connection with the organization of biological membranes. *Prog Lipid Res* 2010;49:378-89.
4. Sonnino S, Prinetti A. Membrane domains and the "lipid raft" concept. *Curr Med Chem* 2013;20:4-21.
5. Simons K, van Meer G. Lipid sorting in epithelial cells. *Biochemistry* 1988;27:6197-202.
6. van Meer G, Simons K. Lipid polarity and sorting in epithelial cells. *J Cell Biochem* 1988;36:51-8.
7. Shim SH, Xia C, Zhong G, Babcock HP, Vaughan JC, Huang B et al. Super-resolution fluorescence imaging of organelles in live cells with photoswitchable membrane probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:13978-83.
8. Holthuis JC, Levine TP. Lipid traffic: floppy drives and a superhighway. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:209-20.
9. Schneiter R, Brügger B, Sandhoff R, Zellig G, Leber A, Lampl M et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) analysis of the lipid molecular species composition of yeast subcellular membranes reveals acyl chain-based sorting/remodeling of distinct molecular species en route to the plasma membrane. *J Cell Biol* 1999;146:741-54.
10. Zachowski A. Phospholipids in animal eukaryotic membranes: transverse asymmetry and movement. *Biochem J* 1993;294:1-14.
11. Dufourc EJ. Sterols and membrane dynamics. *J Chem Biol* 2008;1:63-77.
12. Stillwell W, Shaikh SR, Zerouga M, Siddiqui R, Wassall SR. Docosahexaenoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts. *Reprod Nutr Dev* 2005;45:559-79.
13. Hokin MR, Hokin LE. Enzyme secretion and the incorporation of P32 into phospholipids of pancreas slices. *J Biol Chem* 1953;203:967-77.
14. Hardie RC, Muallem S. Lipids in Ca<sup>2+</sup> signalling – an introduction. *Cell Calcium* 2009;45:517-20.

15. Chen CT, Green JT, Orr SK, Bazinet RP. Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;79:85-91.
16. Lukiw WJ, Bazan NG. Docosahexaenoic acid and the aging brain. *J Nutr* 2008;138:2510-4.
17. De Camilli P, Emr SD, McPherson PS, Novick P. Phosphoinositides as regulators in membrane traffic. *Science* 1996;271:1533-39.
18. Martin T. Phosphoinositide lipids as signaling molecules: common themes for signal transduction, cytoskeletal regulation, and membrane trafficking. *Annu Rev Cell Dev Biology* 1998;14:231-64.
19. Toker A. The synthesis and cellular roles of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *Curr Opin Cell Biol* 1998;10:254-61.
20. Toker A, Cantley LC. Signalling through the lipid products of phosphoinositide-3-OH kinase. *Nature* 1997;387:673-76.
21. Wu BJ, Else PL, Storlien LH, Hulbert AJ. Molecular activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase from different sources is related to the packing of membrane lipids. *J Exp Biol* 2001;204:4271-80.
22. Hulbert AJ. Membrane Fatty Acids as Pakemakers of Animal Metabolism. *Lipids* 2007;42:811-19.
23. Crawford MA, Broadhurst CL, Guest M, Nagar A, Wang Y, Ghebremeskel K et al. A quantum theory for the irreplaceable role of docosahexaenoic acid in neural cell signalling throughout evolution. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88:5-13.
24. Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH, Else PL. Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. *Biol Rev* 2005;80:155-69.
25. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci* 2000;18:383-99.
26. Avery J, Bay Z, Szent-Gyorgi A. On excitation of biological substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1961;47:1742-4.
27. Hackermüller L, Uttenthaler S, Hornberger K, Reiger E, Brezger B, Zeilinger A et al. Nature of biomolecules and fluorofullerenes. *Phys Rev Lett* [Internet]. 2003;91:090408. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://journals.aps.org/prl/abstract/10.1103/PhysRevLett.91.090408>
28. Zabelinskiĭ SA, Chebotareva MA, Shukoliukova EP, Ivanova VP, Krivchenko AL. About paired correlation of pi-electrons tissue lipid extracts of animals of different evolutionary levels. *Zh Evol Biokhim Fiziol* 2008;44:156-61.
29. Neuringer M, Connor WE, Van Petten C, Barstad I. Dietary omega-6 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkeys. *J Clin Invest* 1984;73:272-6.
30. Agrawal R, Gomez-Pinilla F. 'Metabolic syndrome' in the brain: deficiency in omega-3 fatty acids exacerbates dysfunctions in insulin receptor signalling and cognition. *J Physiol* 2012;590:2485-99.
31. Morris MC, Tangney CC. Dietary fat composition and dementia risk. *Neurobiol Aging* 2014;35 Suppl 2:S59-64.
32. Bennett SA, Valenzuela N, Xu H, Franko B, Fai S, Figeys D. Using neurolipidomics to identify phospholipid mediators of synaptic (dys)function in Alzheimer's Disease. *Front Physiol* [Internet]. 2013;4:168. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fphys.2013.00168/full>
33. McNamara RK, Jandacek R, Rider T, Tso P, Dwivedi Y, Pandey GN. Selective deficits in erythrocyte docosahexaenoic acid composition in adult patients with bipolar disorder and major depressive disorder. *J Affect Disord* 2010;126:303-11.
34. McNamara RK. Deciphering the role of docosahexaenoic acid in brain maturation and pathology with magnetic resonance imaging. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88:33-42.
35. Singh RB, Gupta S, Dherange P, De Meester F, Wilczynska A, Alam SE et al. Metabolic syndrome: a brain disease. *Can J Physiol Pharmacol* 2012;90:1171-83.
36. Eckert GP, Lipka U, Muller WE. Omega-3 fatty acids in neurodegenerative diseases: focus on mitochondria. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88:105-14.
37. Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, Huffaker SJ, Huang JT, Griffin JL et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry* 2004;9:684-97.
38. Mancuso M, Coppede F, Migliore L, Siciliano G, Murri L. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration. *J Alzheimers Dis* 2006;10:59-73.
39. Lin PY, Chiu CC, Huang SY, Su KP. A meta-analytic review of polyunsaturated fatty acid compositions in dementia. *J Clin Psychiatry* 2012;73:1245-54.
40. Lin PY, Huang SY, Su KP. A meta-analytic review of polyunsaturated fatty acid composition in patients with depression. *Biol Psychiatry* 2010;68:140-7.
41. Khan MM, Evans DR, Gunna V, Scheffer RE, Parikh VV, Mahalik SP. Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophr Res* 2002;58:1-10.
42. Kale A, Joshi S, Naphade N, Sapkale S, Raju MS, Pillai A et al. Opposite changes in predominantly docosahexaenoic acid (DHA) in cerebrospinal fluid and red blood cells from never-medicated first-episode psychotic patients. *Schizophr Res* 2008;98:295-301.
43. van der Kemp WJ, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR, Hulshoff Pol HE. A meta-analysis of the polyunsaturated fatty acid composition of erythrocyte membranes in schizophrenia. *Schizophr Res* 2012;141:153-61.
44. Nadalin S, Giacometti J, Jonovska S, Tomljanović D, Buretić-Tomljanović A. The impact of PLA2G4 and PTGS2 gene polymorphisms, and red blood cell PUFAs deficit on niacin skin flush response in schizophrenia patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;88:185-90.
45. Hamazaki K, Choi KH, Kim HY. Phospholipid profile in the postmortem hippocampus of patients with schizophrenia and bipolar disorder: no changes in docosahexaenoic acid species. *J Psychiatr Res* 2010;44:688-93.
46. Hamazaki K, Hamazaki T, Inadera H. Fatty acid composition in the postmortem amygdala of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 2012;46:1024-8.
47. Hamazaki K, Hamazaki T, Inadera H. Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem entorhinal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2013;210:346-50.

48. Maclean R, Ward PE, Glen I, Roberts, SJ, Ross BM. On the relationship between methylnicotinate-induced skin flush and fatty acids levels in acute psychosis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27: 927-33.
49. Messamore E, Hoffman WF, Yao JK. Niacin sensitivity and the arachidonic acid pathway in schizophrenia. *Schizophr Res* 2010;122:248-56.
50. McNamara RK, Rider T, Jandacek R, Tso P. Abnormal fatty acid pattern in the superior temporal gyrus distinguishes bipolar disorder from major depression and schizophrenia and resembles multiple sclerosis. *Psychiatry Res* 2014;215:560-7.
51. Rezapour-Firouzi S, Arefhosseini SR, Ebrahimi-Mamaghani M, Farhoudi M, Baradaran B, Ali TM et al. Erythrocyte membrane fatty acids in multiple sclerosis patients and hot-nature dietary intervention with co-supplemented hemp-seed and evening-primrose oil. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2013;10:519-27.
52. Stewart TM, Bowling AC. Polyunsaturated fatty acid supplementation in MS. *Int MS J* 2005;12:88-93.
53. Mehta LR, Dworkin RH, Schwid SR. Polyunsaturated fatty acids and their potential therapeutic role in multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol* 2009;5:82-92.
54. von Geldern G, Mowry EM. The influence of nutritional factors on the prognosis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2012;8:678-89.
55. Mulder M, Ravid R, Swaab DF, de Kloet ER, Haasdijk ED, Julk J et al. Reduced levels of cholesterol, phospholipids, and fatty acids in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients are not related to apolipoprotein E4. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998;12:198-203.
56. Grimm MO, Zimmer VC, Lehmann J, Grimm HS, Hartmann T. The impact of cholesterol, DHA, and sphingolipids on Alzheimer's disease. *Biomed Res Int [Internet]*. 2013;2013:814390. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/814390/>
57. Osenkowski P, Ye W, Wang R, Wolfe MS, Selkoe DJ. Direct and potent regulation of gamma-secretase by its lipid microenvironment. *J Biol Chem* 2008;283:22529-40.
58. Lukiw WJ. Gene expression profiling in fetal, aged and Alzheimer hippocampus – a continuum of stress-related signaling. *Neurochem Res* 2004;29:1287-97.
59. Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol* 2008;153:S200-15.
60. Tosto G, Reitz C. Genome-wide association studies in Alzheimer's disease: a review. *Curr Neurol Neurosci Rep [Internet]*. 2013;13:381. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11910-013-0381-0>
61. Carlo AS. Sortilin, a novel APOE receptor implicated in Alzheimer disease. *Prion* 2013;7:378-82.
62. Han X, Cheng H, Fryer JD, Fagan AM, Holzman DM. Novel role for apolipoprotein E in the central nervous system: modulation of sulfatide content. *J Biol Chem* 2003;278:8043-51.
63. Julien C, Tremblay C, Phivilay A, Berthiaume L, Emond V, Julien P et al. High-fat diet aggravates amyloid-beta and tau pathologies in the 3xTg-AD mouse model. *Neurobiol Aging* 2010;31:1516-31.
64. Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH et al. Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med* 2014;20:415-8.
65. Das UN. A defect in the activity of delta6 and delta5 desaturases may be a factor predisposing to the development of insulin resistance syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72:343-50.
66. Murphy AM, Lyons CL, Finucane OM, Roche HM. Interactions between differential fatty acids and inflammatory stressors-impact on metabolic health. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; Forthcoming.
67. Arbo I, Halle C, Malik D, Brattbakk HR, Johansen B. Insulin induces fatty acid desaturase expression in human monocytes. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71:330-9.
68. Saito E, Okada T, Abe Y, Odaka M, Kuromori Y, Iwata F et al. Abdominal adiposity is associated with fatty acid desaturase activity in boys: implications for C-reactive protein and insulin resistance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013;63:344-55.
69. Araya J, Rodrigo R, Pettinelli P, Araya AV, Poniachik J, Videla LA. Decreased liver fatty acid delta-6 and delta-5 desaturase activity in obese patients. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:1460-3.
70. Chintoh AF, Mann SW, Lam L, Giacca A, Fletcher P, Nobrega J et al. Insulin resistance and secretion in vivo: effects of different antipsychotics in an animal model. *Schizophr Res* 2009;108:127-33.
71. Azrad M, Turgeon C, Demark-Wahnefried W. Current evidence linking polyunsaturated fatty acids with cancer risk and progression. *Front Oncol [Internet]*. 2013;3:224. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fonc.2013.00224/full>
72. Jiang Y, Djuric Z, Sen A, Ren J, Kuklev D, Waters I et al. Biomarkers for personalizing omega-3 fatty acid dosing. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014; Forthcoming.
73. Aragón F, Perdígón G, de Moreno de LeBlanc A. Modification in the diet can induce beneficial effects against breast cancer. *World J Clin Oncol* 2014;5:455-64.
74. Chen CT, Bazinet RP.  $\beta$ -oxidation and rapid metabolism, but not uptake regulate brain eicosapentaenoic acid levels. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; Forthcoming.
75. Plourde M, Fortier M, Vandal M, Tremblay-Mercier J, Freemantle E, Bégin M et al. Unresolved issues in the link between docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2007; 77:301-8.
76. Martínez M, Mougán I. Fatty acid composition of human brain phospholipids during normal development. *J Neurochem* 1998;71:2528-33.
77. Farquharson J, Jamieson EC, Abbasi KA, Patrick WJ, Logan RW, Cockburn F. Effect of diet on the fatty acid composition of the major phospholipids of infant cerebral cortex. *Arch Dis Child* 1995;72:198-203.
78. Umhau JC, Zhou W, Carson RE, Rapoport SI, Polozova A, Demar N et al. Imaging incorporation of circulating docosahexaenoic acid into the human brain using positron emission tomography. *J Lipid Res* 2009;50:1259-68.
79. Borsonelo EC, Galduróz JC. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: review and propositions. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78: 237-45.

80. McNamara RK, Liu Y, Jandacek R, Rider T, Tso P. The aging human orbitofrontal cortex: decreasing polyunsaturated fatty acid composition and associated increases in lipogenic gene expression and stearoyl-CoA desaturase activity. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78:293-304.
81. Peet M. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci* 2008;45:19-25.
82. Sublette ME, Ellis SP, Geant AL, Mann JJ. Meta-analysis of the effects of eicosapentaenoic acid (EPA) in clinical trials in depression. *J Clin Psychiatry* 2011;72:1577-84.
83. Bloch MH, Hannestad J. Omega-3 fatty acids for the treatment of depression: systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2012;17:1272-82.
84. Lin PY, Su KP. A meta-analytic review of double-blind, placebo-controlled trials of antidepressant efficacy of omega-3 fatty acids. *J Clin Psychiatry* 2007;68:1056-61.
85. Freund-Levi Y, Vedin I, Hjorth E, Basun H, Faxälv Irving G, Schultzberg M et al. Effects of Supplementation with Omega-3 Fatty Acids on Oxidative Stress and Inflammation in Patients with Alzheimer's Disease: The OmegaAD Study. *J Alzheimers Dis* 2014; Forthcoming.
86. Kraguljac NV, Montori VM, Pavuluri M, Chai HS, Wilson BS, Unal SS. Efficacy of omega-3 fatty acids in mood disorders – a systematic review and metaanalysis. *Psychopharmacol Bull* 2009;42:39-54.
87. Zulyniak MA, Perreault M, Gerling C, Spriet LL, Mutch DM. Fish oil supplementation alters circulating eicosanoid concentrations in young healthy men. *Metabolism* 2013;62:1107-13.
88. Siriwardhana N, Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv Food Nutr Res* 2012;65:211-22.
89. Rizos EC, Ntzani EE, Bika E, Kostapanos MS, Elisaf MS. Association between omega-3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2012;308:1024-33.
90. Milte CM, Sinn N, Howe PR. Polyunsaturated fatty acid status in attention deficit hyperactivity disorder, depression, and Alzheimer's disease: towards an omega-3 index for mental health? *Nutr Rev* 2009;67:573-90.
91. Kim W, McMurray DN, Chapkin RS. n-3 polyunsaturated fatty acids--physiological relevance of dose. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2010;82:155-8.
92. Kwon B, Lee HK, Querfurth HW. Oleate prevents palmitate-induced mitochondrial dysfunction, insulin resistance and inflammatory signaling in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta* 2014;1843:1402-13.
93. Geiser F. Influence of polyunsaturated and saturated dietary lipids on adipose tissue, brain and mitochondrial membrane fatty acid composition of a mammalian hibernator. *Biochim Biophys Acta* 1990;1046:159-66.
94. Puri BK, Treasaden H. A human in vivo study of the extent to which 31-phosphorus neurospectroscopy phosphomonoesters index cerebral cell membrane phospholipid anabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009;81:307-8.
95. Weber-Fahr W, Englisch S, Esser A, Tunc-Skarka A, Meyer-Lindenberg A, Ende G et al. *Psychiatry Res* 2013; 214:365-73.
96. Okusaga OO. Accelerated aging in schizophrenia patients: the potential role of oxidative stress. *Aging Dis* 2013;5:256-62.
97. Shivakumar V, Kalmady SV, Venkatasubramanian G, Ravi V, Gangadhar BN. Do schizophrenia patients age early? *Asian J Psychiatr* 2014;10:3-9.
98. Janssen CI, Kiliaan AJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. *Prog Lipid Res* 2014;53:1-17.
99. von Schatsky C. Omega-3 fatty acids in cardiovascular disease – an uphill battle. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; Forthcoming.
100. von Schatsky C. Omega-3 index and cardiovascular health. *Nutrients* 2014;6:799-814.
101. Maxeiner HG, Marion Schneider E, Kurfiss ST, Brettschneider J, Tumani H, Bechter K. Cerebrospinal fluid and serum cytokine profiling to detect immune control of infectious and inflammatory neurological and psychiatric diseases. *Cytokine* 2014;69:62-7.
102. Kahn RS, Sommer IE. The neurobiology and treatment of first-episode schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2014; Forthcoming.
103. Singh B, Chaudhuri TK. Role of C-reactive protein in schizophrenia: an overview. *Psychiatry Res* 2014;216: 277-85.
104. Tabbaa M, Golubic M, Roizen MF, Bernstein AM. Docosahexaenoic acid, inflammation, and bacterial dysbiosis in relation to periodontal disease, inflammatory bowel disease, and the metabolic syndrome. *Nutrients* 2013;5:3299-310.
105. Das UN. Is type 2 diabetes mellitus a disorder of the brain? *Nutrition* 2002;18:667-72.
106. Berk M, Williams LJ, Jacka FN, O'Neil A, Pasco JA, Moylan S et al. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? *BMC Med* [Internet]. 2013;11:200. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/11/200>
107. Chapkin RS, Kim W, Lupton JR, McMurray DN. Dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid: emerging mediators of inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009;81:187-91.
108. Das UN. Perinatal supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids, immune response and adult diseases. *Med Sci Monit* 2004;10:HY19-25.
109. Hussain G, Schmitt F, Loeffler JP, Gonzalez de Aguilar JL. Fattening the brain: a brief of recent research. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2013;7:144. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fncel.2013.00144/full>
110. Chapkin RS, McMurray DN, Davidson LA, Patil BS, Fan YY, Lupton JR. Bioactive dietary long-chain fatty acids: emerging mechanisms of action. *Br J Nutr* 2008;100: 1152-7.
111. Szabó C, Kelemen O, Kéri S. Low-grade inflammation disrupts structural plasticity in the human brain. *Neuroscience* 2014;275:81-8.
112. Schönthal AH. Endoplasmic reticulum stress: its role in disease and novel prospects for therapy. *Scientifica (Caïro)* [Internet]. 2012;2012:857516. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/scientifica/2012/857516/>

113. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 2005; 115:2656-64.
114. Snapp E. Endoplasmic Reticulum Biogenesis: Proliferation and Differentiation. In: Mullins D (ed). *The Biogenesis of Cellular Organelles*. Landes Bioscience, [Internet]. 2004; 63-95. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.landesbioscience.com/curie/chapter/1936/>
115. Kraus A, Michalak M. Endoplasmic reticulum dynamics and calcium signaling. In: Krebs J, Michalak M (eds). *Calcium: A matter of life and Death*. New Comprehensive Biochemistry, Elsevier B.V. 2007; 41:199-218. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167730606410085>
116. Deng X, Wang Y, Zhou Y, Soboloff J, Gill DL. STIM and Orai: Dynamic Intermembrane Coupling to Control Cellular Calcium Signals. *J Biol Chem* 2009;284:22501-5.
117. Tubbs E, Theurey P, Vial G, Bendridi N, Bravard A, Chauvin MA et al. Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane (MAM) Integrity Is Required for Insulin Signaling and Is Implicated in Hepatic Insulin Resistance. *Diabetes* 2014; Forthcoming.
118. Lowe M, Nakamura N, Warren G. Golgi division and membrane traffic. *Trends Cell Biol* 1998;8:40-4.
119. Bootman MD. Calcium signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012;4:a011171
120. Barnard ND, Bunner AE, Agarwal U. Saturated and trans fats and dementia: a systematic review. *Neurobiol Aging* 2014;35 Suppl 2:S65-73.
121. Konikowska K, Regulska-Ilow B. The role of diet in multiple sclerosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2014;68: 325-33.
122. Griffin WS. Alzheimer's – Looking beyond plaques. *F1000 Med Rep [Internet]*. 2011;3:24. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://f1000.com/prime/reports/pubmed/22162727>
123. Wisniewski KE, Dalton AJ, McLachlan C, Wen GY, Wisniewski HM. Alzheimer's disease in Down's syndrome: clinicopathologic studies. *Neurology* 1985;35:957-61.
124. Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, Bruns GA, St George-Hyslop P, Van Keuren ML et al. Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987;235:880-4.
125. Palacios-Pelaez R, Lukiw WJ, Bazan NG. Omega-3 essential fatty acids modulate initiation and progression of neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol* 2010;41: 367-74.
126. Li Y, Liu L, Barger SW, Griffin WS. Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J Neurosci* 2003;23: 1605-11.
127. Griffin WS, Liu L, Li Y, Mrak RE, Barger SW. Interleukin-1 mediates Alzheimer and Lewy body pathologies. *J Neuroinflammation [Internet]*. 2006;3:5. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.jneuroinflammation.com/content/3>
128. Seneff S, Wainwright G, Mascitelli L. Nutrition and Alzheimer's disease: the detrimental role of a high carbohydrate diet. *Eur J Intern Med* 2011;22:134-40.
129. Debnath M, Berk M. Th17 Pathway-Mediated Immunopathogenesis of Schizophrenia: Mechanisms and Implications. *Schizophr Bull* 2014; Forthcoming.
130. Zakharyan R, Boyajyan A. Inflammatory cytokine network in schizophrenia. *World J Biol Psychiatry* 2014; 15:174-87.
131. Müller N, Wagner JK, Krause D, Weidinger E, Wildenauer A, Obermeier M et al. Impaired monocyte activation in schizophrenia. *Psychiatry Res* 2012;198:341-6.
132. Weatherill AR, Lee JY, Zhao L, Lemay DG, Youn HS, Hwang DH. Saturated and polyunsaturated fatty acids reciprocally modulate dendritic cell functions mediated through TLR4. *J Immunol* 2005;174:5390-7.
133. Nadalin S, Buretić-Tomljanović A, Rubeša G, Tomljanović D, Gudelj L. Niacin skin flush test: a research tool for studying schizophrenia. *Psychiatr Danub* 2010;22:14-27.
134. Lien YJ, Huang SS, Liu CM, Hwu HG, Faraone SV, Tsuang MT et al. A Genome-wide Quantitative Linkage Scan of Niacin Skin Flush Response in Families With Schizophrenia. *Schizophr Bull* 2013;39:68-76.
135. Howes OD, Williams M, Ibrahim K, Leung G, Egerton A, McGuire PK et al. Midbrain dopamine function in schizophrenia and depression: a post-mortem and positron tomographic imaging study. *Brain* 2013;136:3242-51.
136. Apte SA, Cavazos DA, Whelan KA, Degraffenried LA. A low dietary ratio of omega-6 to omega-3 fatty acids may delay progression of prostate cancer. *Nutr Cancer* 2013;65:556-62.
137. Valentine CJ. Maternal dietary DHA supplementation to improve inflammatory outcomes in the preterm infant. *Adv Nutr* 2012;3:370-6.
138. Cole GM, Frautschy SA. Docosahexaenoic acid protects from amyloid and dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Nutr Health* 2006;18:249-59.
139. van Meeteren ME, Teunissen CE, Dijkstra CD, van Tol EA. Antioxidants and polyunsaturated fatty acids in multiple sclerosis. *Eur J Clin Nutr* 2005;59:1347-61.
140. Das UN. Folic acid and polyunsaturated fatty acids improve cognitive function and prevent depression, dementia, and Alzheimer's disease—but how and why? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78:11-9.
141. Das UN. Essential fatty acids and their metabolites could function as endogenous HMG-CoA reductase and ACE enzyme inhibitors, anti-arrhythmic, anti-hypertensive, anti-atherosclerotic, anti-inflammatory, cytoprotective, and cardioprotective molecules. *Lipids [Internet]*. *Health Dis* 2008;7:37. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.lipidworld.com/content/7/1/37>
142. Das UN. Do polyunsaturated fatty acids behave like an endogenous "polypill"? *Med Hypotheses* 2008;70: 430-4.
143. German JB, Dillard CJ. Saturated fats: what dietary intake? *Am J Clin Nutr* 2004;80:550-9.
144. Childs CE, Romeu-Nadal M, Burdge GC, Calder PC. Gender differences in the n-3 fatty acid content of tissues. *Proc Nutr Soc* 2008;67:19-27.
145. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu Rev Nutr* 2005;25:317-40.
146. Nakamura MT, Cheon Y, Li Y, Nara TY. Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids* 2004; 39:1077-83.
147. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 2005;81:341-54.

148. Cordain I, Watkins BA, Florant GL, Kehler M, Rogers L, Li Y. Fatty acid analysis of wild ruminant tissues: evolutionary implications for reducing diet-related chronic disease. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:181-91.
149. Rule DC, Broughton KS, Shellito SM, Maiorano G. Comparison of muscle fatty acid profiles and cholesterol concentrations of bison, beef cattle, elk, and chicken. *J Anim Sci* 2002;80:1202-11.
150. Corn oil. [Internet]. [cited 2014 Sep 8]. Available from: [http://en.wikipedia.org/wiki/Corn\\_oil](http://en.wikipedia.org/wiki/Corn_oil)
151. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocké MC, Peeters PH et al. Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ* [Internet]. 2005;330:991. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.bmj.com/content/330/7498/991.long>
152. van Dam RM, Grievink L, Ocké MC, Feskens EJ. Patterns of food consumption and risk factors for cardiovascular disease in the general Dutch population. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1156-63.
153. Lee C, Barnett J, Reaven PD. Liposomes enriched in oleic acid are less susceptible to oxidation and have less proinflammatory activity when exposed to oxidizing conditions. *J Lipid Res* 1998;39:1239-47.
154. Carrillo C, Cavia Mdel M, Alonso-Torre SR. Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action: a review. *Nutr Hosp* 2012;27:1860-5.
155. Carrillo C, Cavia Mdel M, Alonso-Torre SR. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. *Nutr Hosp* 2012;27:978-90.
156. Singh SM, Murphy B, O'Reilly RL. Involvement of gene-diet/drug interaction in DNA methylation and its contribution to complex diseases: from cancer to schizophrenia. *Clin Genet* 2003;64:451-60.
157. Kirkbride JB, Susser E, Kundakovic M, Kresovich JK, Davey Smith G, Relton CL. Prenatal nutrition, epigenetics and schizophrenia risk: can we test causal effects? *Epi-genomics* 2012;4:303-15.
158. Strohman R. Maneuvering in the complex path from genotype to phenotype. *Science* 2002;296:701-3.
159. Rosoff PM. The myth of genetic enhancement. *Theor Med Bioeth* 2012;33:163-78.
160. Perry GH, Dominy NJ, Claw KG, Lee AS, Fiegler H, Redon R et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nat Genet* 2007;39:1256-60.
161. Clarke SD, Gasperikova D, Nelson C, Lapillonne A, Heird WC. Fatty acid regulation of gene expression: a genomic explanation for the benefits of the mediterranean diet. *Ann N Y Acad Sci* 2002;967:283-98.
162. Haast RA, Kiliaan AJ. Impact of fatty acids on brain circulation, structure and function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; Forthcoming.
163. Taha AY, Cheon Y, Faurot KF, Macintosh B, Majchrzak-Hong SF, Mann JD et al. Dietary omega-6 fatty acid lowering increases bioavailability of omega-3 polyunsaturated fatty acids in human plasma lipid pools. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014;90:151-7.
164. Joffe C, Nadjar A, Lebbadi M, Calon F, Laye S. n-3 LCPUFA improves cognition: the young, the old and the sick. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014;91:1-20.
165. Afshordel S, Hagl S, Werner D, Röhner N, Kögel D, Bazan NG et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids improve mitochondrial dysfunction in brain aging – Impact of Bcl-2 and NPD-1 like metabolites. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; Forthcoming.
166. Tavilani H, Doosti M, Abdi K, Vaisiraygani A, Joshaghani HR. Decreased polyunsaturated and increased saturated fatty acid concentration in spermatozoa from asthenozoospermic males as compared with normozoospermic males. *Andrologia* 2006;38:173-8.
167. Waterland RA, Jirtle RL. Transposable elements: targets for early nutritional effectson epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol* 2003;23:5293-300.
168. Gluckman PD, Hanson MA, Mitchell MD. Developmental origins of health and disease: reducing the burden of chronic disease in the next generation. *Genome Med* [Internet]. 2010;2:14 [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://genomemedicine.com/content/2/2/14>
169. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. *J Dev Orig Health Dis* 2010;1:6-18.
170. Ryan AS, Astwood JD, Gautier S, Kuratko CN, Nelson EB, Salem N Jr. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on neurodevelopment in childhood: a review of human studies. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2010;82:305-14.
171. Berseth CL, Harris CL, Wampler JL, Hoffman DR, Diersen-Schade DA. Liquid human milk fortifier significantly improves docosahexaenoic and arachidonic acid status in preterm infants. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014;91:97-103.
171. Cooper JK. Nutrition and the brain: what advice should we give? *Neurobiol Aging* 2014;35 Suppl 2:S79-83.
173. Dawczynski C, Massey KA, Ness C, Kiehntopf M, Stepanow S, Platzer M et al. Randomized placebo-controlled intervention with n-3 LC-PUFA-supplemented yoghurt: effects on circulating eicosanoids and cardiovascular risk factors. *Clin Nutr* 2013;32:686-96.
174. Coti Bertrand P, O'Kusky JR, Innis SM. Maternal dietary (n-3) fatty acid deficiency alters neurogenesis in the embryonic rat brain. *J Nutr* 2006;136:1570-5.
175. Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *Am J Clin Nutr* 2014;99:734S-41S.
176. Childs CE, Romijn T, Enke U, Hoile S, Calder PC. Maternal diet during pregnancy has tissue-specific effects upon fetal fatty acid composition and alters fetal immune parameters. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2010;83:179-84.
177. Das UN. Can essential fatty acids reduce the burden of disease(s)? *Lipids Health Dis* [Internet]. 2008;7:9. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.lipidworld.com/content/7/1/9>
178. Zhao Y, Calon F, Julien C, Winkler JW, Petasis NA, Lukiw WJ, Bazan NG. Docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 induces neuronal survival via secretase- and PPAR $\gamma$ -mediated mechanisms in Alzheimer's disease models. *PLoS One* [Internet]. 2011;6:e15816. [cited 2014 Sep 8]. Available from: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0015816>