

Received: 2011.02.22  
Accepted: 2011.04.30  
Published: 2011.06.02

## Rola kwasu dokozaheksaenowego w czynności komórek nerwowych\*

### The role of docosahexaenoic acid in neuronal function

**Anna Walczewska, Tomasz Stępień, Dorota Bewicz-Binkowska, Emilia Zgórzyńska**

Zakład Interakcji Międzykomórkowych, Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

#### Streszczenie

Fosfolipidy neuronów, zwłaszcza kory mózgu, zawierają dużą ilość wielonienasyconego kwasu dokozaheksaenowego (DHA, C22: 6n-3). Podstawowym źródłem tego kwasu dla komórek nerwowych jest pokarm oraz synteza DHA w wątrobie i astrocytach z niezbędnego kwasu  $\alpha$ -linolowego (C18: 3n-3). Największy przyrost DHA w mózgu obserwuje się w okresie życia płodowego i przez pierwsze dwa lata życia dziecka. Odpowiednia ilość DHA w fosfolipidach błonowych determinuje wiele czynności komórek nerwowych i tym można tłumaczyć wyraźną ochronę DHA w mózgu podczas deficytu kwasu  $\alpha$ -linolowego w pożywieniu. Fosfolipidy z acylem DHA są w błonach mobilne, a błony plazmatyczne zbudowane z takich fosfolipidów są cieńsze, bardziej przepuszczalne dla jonów i małych cząsteczek oraz mają luźniejszą strukturę. Te wszystkie cechy błon zwiększają ich „dynamikę” w porównaniu z błonami zbudowanymi z innych fosfolipidów. Ponadto tworzą środowisko dla skondensowanych w błonach neuronalnych białek receptorowych, kanałowych i peryferyjnych. Od dostępności DHA dla neuronów zależy ilość fosfatydyloseryny w wewnętrznej warstwie lipidów błonowych, dzięki której zwiększa się przeżywalność neuronów w wyniku translokacji/aktywacji kinaz Akt i Raf-1/MEK. Obecność DHA w fosfolipidach błonowych ułatwia tworzenie się kompleksu białek v-SNARE/t-SNARE niezbędnego w procesie egzocytozy pęcherzyków synaptycznych i rozrastania się błon wypustek neuronalnych, co determinuje ich plastyczność. DHA odgrywa istotną rolę neuroprotekcijną. Stwierdzono hamowanie syntezy PGE<sub>2</sub> oraz ekspresji COX-1 w astrocytach hodowanych w obecności DHA, a oksygenazowe metabolity DHA, szczególnie neuroprotektyny D, mogą tłumić reakcje zapalne i zapobiegać uszkodzeniom lub apoptozie neuronów. Skutki obecności DHA w błonach komórek nerwowych i powstających z niego metabolitów, a także funkcje zależnej od DHA fosfatydyloseryny mogą wyjaśniać korzystne działanie suplementacji DHA w poprawie czynności mózgu i w chorobach neurodegeneracyjnych.

#### Słowa kluczowe:

**kwas dokozaheksaenowy • biosynteza LCPUFA • fosfatydyloseryna • neuroprotekcja • przeżywalność neuronów • rozrost neurytów • płynność błon**

#### Summary

Docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6n-3) is the most abundant polyunsaturated fatty acid in neuronal phospholipids, particularly in the cortex. The main source of DHA for neural cells is food, and hepatic and astroglia DHA synthesis from essential  $\alpha$ -linolenic acid (C18: 3n-3). Accretion of DHA in the brain is most intensive during fetal life and the first two years of life. An adequate level of DHA in cell membranes is important for many functions of neural cells and this is

\* Praca finansowana z tematu własnego nr 502-12-541 oraz z działalności statutowej Zakładu Interakcji Międzykomórkowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

presumably the reason for DHA saving in the adult mammalian brain during dietary  $\alpha$ -linoleic acid deficiency. DHA-containing phospholipids in membranes are flexible and membranes possessing a high content of them are quite thin, more permeable to ions and small molecules, have looser lipid packing, and finally are more “dynamic” than membranes composed of other fatty acid containing phospholipids. Furthermore, these membranes create an appropriate environment for integral proteins highly condensed in neurons, such as receptors, ion channels, enzymes, and peripheral proteins. The quantity of phosphatidylserine in the inner membrane lipid layer depends on the availability of DHA to neurons. Phosphatidylserine promotes neuronal survival by translocation/activation of kinase Akt and Raf-1/MEK. DHA present in membrane phospholipids facilitates v-SNARE/t-SNARE complex formation, which is necessary for fusion of synaptic vesicles and plasma membranes necessary for transmitter exocytosis, and neurite outgrowth-dependent plasticity. DHA plays an important neuroprotective role. DHA has been shown to inhibit PGE<sub>2</sub> synthesis and COX-1 expression in astrocytes, and DHA derivatives, especially neuroprotectins D, can suppress inflammatory responses, preventing neuronal damage or apoptosis. The results of high DHA content in neuronal membranes and formation of DHA derivatives, as well as the function of DHA-dependent phosphatidylserine, may explain the promising results supporting beneficial DHA supplementation in neurodegenerative diseases and improvement of brain function.

**Key words:** docosaheptaenoic acid • LCPUFA biosynthesis • phosphatidylserine • neuroprotection • neuronal survival • neurite outgrowth • membrane fluidity

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=945763>

**Word count:** 5476

**Tables:** –

**Figures:** 4

**References:** 168

**Adres autorki:** dr hab. Anna Walczewska, Zakład Interakcji Międzykomórkowych, Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź; e-mail: anna.walczewska@umed.lodz.pl

**Wykaz skrótów:** **AA** – kwas arachidonowy; **ACBP** – białko wiążące acylo-CoA (acyl-CoA binding proteins); **acylo-CoA** – acylokoenzym A; **Akt/PKB** – białkowa kinaza B (protein kinase B); **ALA** – kwas  $\beta$ -linolenowy; **Ask-1** – kinaza 1 indukowana sygnałami apoptotycznymi (apoptosis signal regulating kinase 1); **AT-COX2** – acetylowany kwasem acetylosalicylowym COX-2 (aspirin-triggered COX-2); **Bcl-2** – nadrodzina białek z domeną homologii BH o działaniu proapoptycznym i antyapoptycznym (B-cell leukemia/lymphoma protein 2); **CHO-K1** – komórki jajnikowe chomika chińskiego (chinese hamster ovary); **COX** – cyklooksygenaza; **DAG** – diacyloglicerol; **DHA** – kwas dokozaheksaenowy; **DPA** – kwas dokozapentaenowy; **EGF** – czynnik wzrostu naskórka (epidermal growth factor); **EPA** – kwas eikozapentaenowy; **ER** – siateczka śródplazmatyczna (endoplasmic reticulum); **FABP** – białko wiążące kwasy tłuszczowe (fatty acid binding protein); **FABPpm** – białko wiążące kwasy tłuszczowe zasocjowane z błoną plazmatyczną (plasma membrane-associated fatty acid binding protein); **FasL** – ligand receptora FAS (Fas-ligand); **FAT/CD36** – translokaza kwasów tłuszczowych homologiczna z ludzkim CD36 (fatty acids translocase); **FATP** – białko transportujące kwasy tłuszczowe (fatty acid transport protein); **HEK 293** – komórki nerki zarodka ludzkiego (human embryonic kidney); **IP3** – trifosfoinozytol; **iPLA<sub>2</sub>** – niezależna od wapnia fosfolipaza A<sub>2</sub>; **LA** – kwas linolowy; **LACS** – białko błonowe o aktywności syntetazy acylo-CoA (long chain fatty acyl-Co synthetase); **LCPUFA** – długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe (long chain polyunsaturated fatty acids); **LOX** – lipooksygenaza; **MAPK** – kinaza aktywowana mitogenami (mitogen-activated protein kinase); **NF $\kappa$ B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny  $\kappa$ B; **NIH-3T3** – mysie fibroblasty embrionalne; **NMR** – magnetyczny rezonans jądrowy; **NPD1** – neuroprotektyna powstająca z DHA w układzie nerwowym; **PC** – fosfatydylocholina; **PDGF** – czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego (platelet derived growth factor); **PGE<sub>2</sub>** – prostaglandyna E<sub>2</sub>; **PI** – fosfatydyloinozytol; **PI3K** – kinaza 3 fosfoinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase); **PKC** – białkowa kinaza C; **PLA<sub>2</sub>** – fosfolipaza A<sub>2</sub>; **PS** – fosfatydyloseryna; **Raf-1** – serynowo-treoninowa kinaza białek szlaku MAPK (RAF protooncogene serine/threonine-protein kinase); **RvD** – rezolwiny serii D; **SNAP** – rodzina małych białek synaptosomów (synaptosomal

N-ethylmaleimide-associate proteins); **SNARE** – receptory białek SNAP (soluble N-ethylmaleimide sensitive-factor attachment protein receptor); **sPLA<sub>2</sub>** – wydzielnicza fosfolipaza A<sub>2</sub>; **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **VAMP** – białko peryferyjne pęcherzyków synaptycznych (vessicle-associated membrane protein).

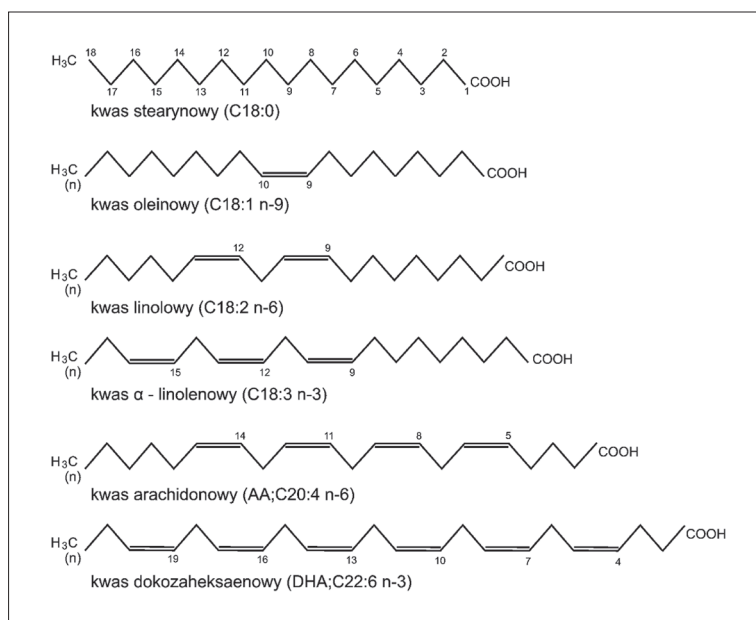
Komórki nerwowe obfitują w długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe (LCPUFA). W mózgu, a także w fotoreceptorach siatkówki występuje najwięcej kwasu dokozaheksaenowego (DHA; C22: 6) [132]. Lata 60 ub.w. przyniosły pierwsze doniesienia o dużej zawartości DHA w istocie szarej mózgu człowieka [118] oraz w pęcherzykach i błonach synaptycznych u szczura [20, 21]. Drugim co do ilości LCPUFA w mózgu jest kwas arachidonowy (AA; C20: 4) [132]. Oba kwasy tłuszczowe DHA i AA odgrywają odmienne role w czynności komórek. Wyniki badań ostatnich dekad wyraźnie wskazują, iż unikalny skład fosfolipidów błon komórek nerwowych ma istotne znaczenie dla ich czynności, a co za tym idzie do prawidłowego funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego.

### BIOSYNTeza DŁUGOŁAŃCUCHOWYCH PUFA

Kwasy tłuszczowe to podstawowe jednostki, z których w procesie estryfikacji powstają triacyloglicerole będące magazynem energii dla komórek oraz fosfolipidy i glikolipidy – główne składniki błon komórkowych. Kwasy tłuszczowe są alifatycznymi kwasami monokarboksylowymi. Jeśli w łańcuchu wodorowęglowym kwasu wszystkie wiązania między atomami węgla są pojedyncze, kwas tłuszczowy jest nasycony. Mogą także zawierać od jednego do sześciu wiązań podwójnych w konfiguracji *cis*, wtedy są to kwasy nienasycone. Rycina 1 przedstawia strukturę 18-węglowego nasyconego kwasu stearynowego wraz z numeracją węgli w łańcuchu oraz jednonienasyconego kwasu oleinowego. Numeracja węgli jest potrzebna do podania miejsca występowania podwójnego wiązania. Są dwa sposoby nazewnictwa PUFA. W jednym, oprócz liczby węgli w łańcuchu i liczby podwójnych wiązań wymienia się położenie każdego podwójnego wiązania licząc od węgla

numer jeden z grupą karboksylową i oznacza się je symbolem  $\Delta$ . Zatem systematyczna nazwa DHA brzmi kwas *cis*- $\Delta$  4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenowy, a AA – kwas *cis*- $\Delta$ 5,8,11,14-eikozatetraenowy (ryc. 1). Pełne nazwy kwasów tłuszczowych pozwalają prześledzić zmiany pozycji podwójnych wiązań podczas enzymatycznych reakcji biosyntezy kwasów tłuszczowych. Istnieje też sposób zapisu nazwy kwasu tłuszczowego, który podaje liczbę węgli w łańcuchu, liczbę podwójnych wiązań oraz położenie tylko ostatniego podwójnego wiązania od końca z grupą metylową łańcucha wodorowęglowego, który oznaczany jest symbolem *n* lub  $\omega$ . W tym sposobie zapisu DHA to C22: 6 n-3 (lub  $\omega$ -3), bo podwójne wiązanie znajduje się przy trzecim węglu od końca, a AA to C20: 4 n-6 (lub  $\omega$ -6), jako że ostatnie podwójne znajduje się przy węglu szóstym od końca łańcucha z grupą metylową (ryc. 1). Na potrzeby pracy wybraliśmy drugi sposób zapisu kwasów tłuszczowych, dla uproszczenia schematu biosyntezy LCPUFA i łatwiejszego śledzenia kolejnych etapów ich powstawania.

Począwszy od organizmów jednokomórkowych do wielu tkanek u człowieka, kwasy tłuszczowe nasycone i nienasycone są syntetyzowane w cytosolu komórek, zawsze po wcześniejszej ich aktywacji w mitochondriach do acylo-CoA z udziałem syntetazy acylo-CoA. Natomiast lipogeneza kwasów tłuszczowych powyżej 18 węgli w łańcuchu odbywa się w siateczce śródplazmatycznej (ER) komórek. U zwierząt i ludzi w wątrobie oraz innych tkankach powszechnie występuje  $\Delta$ 9-desaturaza [153], która wprowadza podwójne wiązanie między 9 a 10 węglem od końca łańcucha z grupą karboksylową. Natomiast u kręgowców nie występuje  $\Delta$ 12-desaturaza, która przekształca jednonienasycony kwas oleinowy w dienowy kwas linolowy (C18: 2n-6), ani  $\Delta$ 15-desaturaza (n-3 desaturaza), która wprowadza

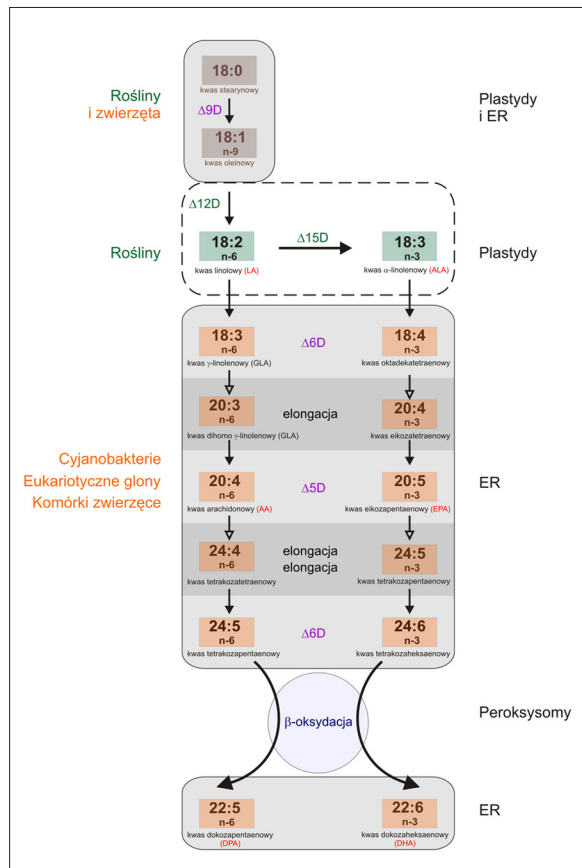


Ryc. 1. Schemat budowy przykładowych kwasów tłuszczowych z numeracją węgli i położeniem podwójnych wiązań w łańcuchu: nasycony kwas stearynowy (C18:0); jednonienasycony kwas oleinowy (C18: 1n-9); kwas linolowy (LA; C18: 2n-6); kwas  $\alpha$ -linolenowy (ALA; C18: 3n-3); kwas arachidonowy (AA; C20: 4n-6); kwas dokozaheksaenowy (DHA; C22: 6n-3). Wprowadzanie podwójnego wiązania przy C9, C12, C15 katalizują odpowiednio  $\Delta$ 9-,  $\Delta$ 12- i  $\Delta$ 15-desaturazy. Lokalizacja podwójnych wiązań w kwasach AA i DHA wynika z kilku procesów: wydłużania 18-węglowych łańcuchów, wprowadzania podwójnego wiązania przez  $\Delta$ 5- i  $\Delta$ 6-desaturazy, a następnie skrócenia 24-węglowych łańcuchów o dwa węgle

podwójne wiązanie przy trzecim węglu od końca z grupą metylową tworząc trienowy kwas  $\alpha$ -linolenowy (C18: 3n-3), ryc. 2. Dlatego kwasy linolowy (LA) i  $\alpha$ -linolenowy (ALA) są dla ssaków niezbędnymi kwasami tłuszczowymi i muszą być dostarczane w diecie. Miejsca podwójnych wiązań w łańcuchu tych kwasów przedstawia ryc. 1. Synteza 20- i 22-węglowych PUFA z 18-węglowych niezbędnych kwasów tłuszczowych polega na wydłużaniu aktywowanych łańcuchów C18: 2-CoA i C18: 3-CoA o dwuwęglowe jednostki przez mikrosomalny układ elongacyjny z udziałem malonylo-CoA i NADPH oraz na wprowadzaniu kolejnych podwójnych wiązań w łańcuchu węglowodorowym katalizowanych przez mikrosomalne  $\Delta$ 6- i  $\Delta$ 5-desaturazy [39,145]. W ten sposób z ALA powstaje kwas *cis*- $\Delta$ 6,9,12,15,18,21-tetrakozaheksaenowy (C24: 6n-3), a z LA – kwas *cis*- $\Delta$ 6,9,12,15,18-tetrakozapentaenowy (C24: 5n-6). Ostatnim etapem w szlaku biosyntezy LCPUFA jest zmodyfikowana  $\beta$ -oksydacja 24-węglowych PUFA w peroksysomach, dzięki czemu powstaje DHAN-3 oraz kwas *cis*- $\Delta$ 4,7,10,13,16-dokozaheksaenowy (DPA; C22: 5n-6) [36]. Komórki ssaków pozbawione są również  $\Delta$ 4-desaturazy, która u pierwotniaków i alg morskich katalizuje wprowadzanie podwójnego wiązania przy C4 [164]. Przez to nie istnieje alternatywna wymiana pośrednich produktów szlaku biosyntezy LCPUFA szeregu n-6 i LCPUFA szeregu n-3, mimo że uczestniczą w nich te same układy enzymatyczne. Schematyczny przebieg syntezy DHA z trienowego kwasu  $\alpha$ -linolenowego oraz AA i DPA z dienowego kwasu linolowego z uwzględnieniem zwyczajowych nazw kwasów tłuszczowych przedstawia ryc. 2.

Niezbędne kwasy linolowy i  $\alpha$ -linolenowy są syntetyzowane przez *Cyjanobacterae*, niektóre bezkręgowce np. wolno żyjące nicienie *Caenorhabditis elegans* [113], ale przede wszystkim w chloroplastach i innych plastydach roślin wyższych [69,96,154]. Sinice i rośliny będąc pokarmem ryb i zwierząt lądowych dostarczają substratów do syntezy LCPUFA, które są następnie kumulowane w tkankach i dostarczane w diecie do organizmu człowieka. Wzajemne proporcje kwasów tłuszczowych nasyconych do PUFA oraz ilość poszczególnych LCPUFA syntetyzowanych w roślinach są przede wszystkim cechą gatunkową, ale zależą także od warunków glebowych i klimatycznych, w jakich te rośliny rosną. Kwas linolowy stanowi 55–75% wszystkich kwasów tłuszczowych w nasionach słonecznika, soi, kukurydzy, wiesiołka dwuletniego i krokosza barwierskiego. Kwas  $\alpha$ -linolenowy w ilości powyżej 50% występuje w nasionach lnu i pachnotki (rodzina *Perilla*). Dużą zawartością LCPUFAn-3 charakteryzują się jedynie ryby zimnych mórz, m.in. łosoś, tuńczyk, śledź i makrela oraz niektóre skorupiaki morskie. Natomiast kwas arachidonowy jest znacznie bardziej dostępny w żywności spożywanej przez człowieka. Poza olejami roślinnymi, orzechami i rybami, jego źródłem w diecie są mięso, słonina i żółtka jaj [97].

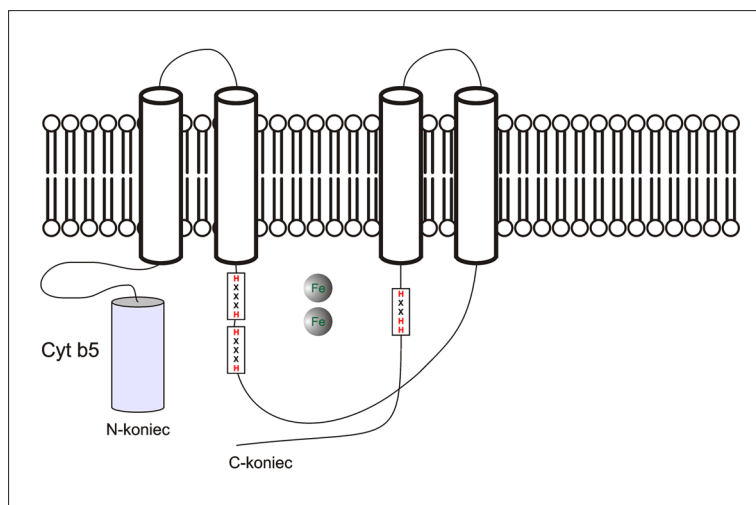
W biosyntezie LCPUFA istotną rolę odgrywają desaturazy. Katalizują one wprowadzanie podwójnego wiązania w konfiguracji *cis* między atomami węgla aktywnych kwasów tłuszczowych. Reakcja ta wymaga obecności tlenu jako donora elektronu i polega na przeniesieniu elektronu przez reduktazę NADH na cytochrom b5, którego centrum aktywne zawiera dwa atomy niehemowego żelaza [52,140]. Desaturazy to nadrodzina enzymów o wysoce konserwatywnej budowie występująca począwszy od mikroorganizmów po człowieka.



Ryc. 2. Szlak biosyntezy długocząściowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LCPUFA) począwszy od 18-węglowego nasyconego kwasu stearynowego. W komórkach roślin i zwierząt zachodzi powszechnie synteza nasyconych kwasów tłuszczowych do 24-węgla w łańcuchu i jednonienasyconych kwasów z udziałem  $\Delta$ 9-desaturazy. Kwasy linolowy (LA) i  $\alpha$ -linolenowy (ALA) są syntetyzowane tylko w plastydach roślin wyższych i samodzielnym w cyjanobakteriach dzięki obecności  $\Delta$ 12-desaturazy ( $\Delta$ 12D) i  $\Delta$ 15-desaturazy ( $\Delta$ 15D). Po dostarczeniu tych kwasów z pożywieniem, stanowią one substraty do syntezy LCPUFA w wątrobie i innych tkankach zwierząt i ludzi. W siateczce śródplazmatycznej (ER) 18-węglowe LA i ALA są wydłużane o dwuwęglowe jednostki z udziałem układu elongacyjnego kwasów tłuszczowych, a  $\Delta$ 5-desaturaza ( $\Delta$ 5D) i  $\Delta$ 6-desaturaza ( $\Delta$ 6D) wprowadzają kolejne podwójne wiązania. W cyklu takich reakcji powstaje kwas tetrakozaheksaenowy (C24: 6n-3) oraz kwas tetrakozapentaenowy (C24: 5n-6), które następnie w peroksysomach ulegają zmodyfikowanej  $\beta$ -oksydacji i powstają ostateczne produkty: kwas dokozaheksaenowy (DHA; C22: 6n-3) i kwas dokozaheksaenowy (DPA; C22: 5n-6).

Desaturazy zawierają zawsze 3 sekwencje aminokwasów bogatych w histydynę: jeden motyw (box) **HXXXHH** oraz dwa – **HXXXXH**. Histydyny stałych fragmentów łańcucha polipeptydowego stabilizują dwa jony żelaza w centrum aktywnym enzymu. Często też histydyna w jednym ze stałych motywów jest zastąpiona przez glutaminę [154,164]. Desaturazy  $\Delta$ 5 i  $\Delta$ 6 biorące udział w syntezie LCPUFA u zwierząt, to integralne białka błon mikrosomalnych mające własną domenę o aktywności cytochromu b5 (ryc. 3). Enzymem limitującym powstawanie DHA jest  $\Delta$ 6-desaturaza [110]. Aktywność  $\Delta$ 6-desaturazy w mózgu i wątrobie zmniejsza się gwałtownie w pierwszych tygodniach postnatalnego





Ryc. 3. Schemat budowy zintegrowanych z błonami siateczki śródplazmatycznej desaturaz. Desaturazy potrzebne do syntezy długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LCPUFA) zbudowane są z czterech podjednostek transbłonowych i domeny o budowie analogicznej do cytochromu b5 (Cyt b5) na N-koncu polipeptydu. Pierwszorzędowa struktura tych enzymów, począwszy od roślin do ludzi, ma trzy konserwatywne sekwencje aminokwasów bogatych w histydynę. Są to dwie sekwencje **HXXHH** oraz jedna sekwencja **HXXHH**, które stabilizują dwa atomy żelaza w centrum aktywnym enzymu. Na podstawie [154,164] zmodyfikowano

życia u myszy [18]. U dorosłych zwierząt największą aktywność tego enzymu stwierdzono w wątrobie i w mózgu [153]. Cho i wsp. [32] badając ekspresję mRNA desaturaz u ludzi najwięcej mRNA  $\Delta 5$ -desaturazy stwierdzili w wątrobie, mniejszą w sercu, mózgu i płucach. Natomiast mRNA  $\Delta 6$ -desaturazy znaleziono wielokrotnie więcej w mózgu, niż w innych organach, choć te badania zostały przeprowadzone na myszach [33]. Ekspresja mRNA  $\Delta 5$  i  $\Delta 6$  desaturaz oraz ich aktywność jest regulowana przez wiele czynników, m.in. insulinę [111], hormon wzrostu [130] czy proliferatory peroksysomów [89]. Intensywność syntezy DHA zależy w znacznym stopniu od ilości dostarczanych w diecie niezbędnych kwasów LA i ALA [31,76,127], od ilości w niej nasyconych kwasów tłuszczowych [165] oraz obecności wielu bioaktywnych związków chemicznych, np. lignanów [142] czy kurkumy [88], które modyfikują wchłanianie lipidów, a także od aktywności enzymów lipogennych. Długotrwałe działanie etanolu znacznie hamuje aktywność  $\Delta 5$ - i  $\Delta 6$ -desaturazy [112].

### ŹRÓDŁA DHA DLA NEURONÓW

Kwas dokozaheksaenowy jest transportowany w krwi przez albuminy w postaci wolnej i zestryfikowanej w lizofosfatydylocholinie lub jest wbudowywany do triglicerydów [16]. Aby dotrzeć do komórek nerwowych DHA musi pokonać barierę krew–mózg [28, 127]. Choć intensywne badania kilku ostatnich dekad znacznie poszerzyły wiedzę o obrocie DHA, to nadal trwają ustalenia:

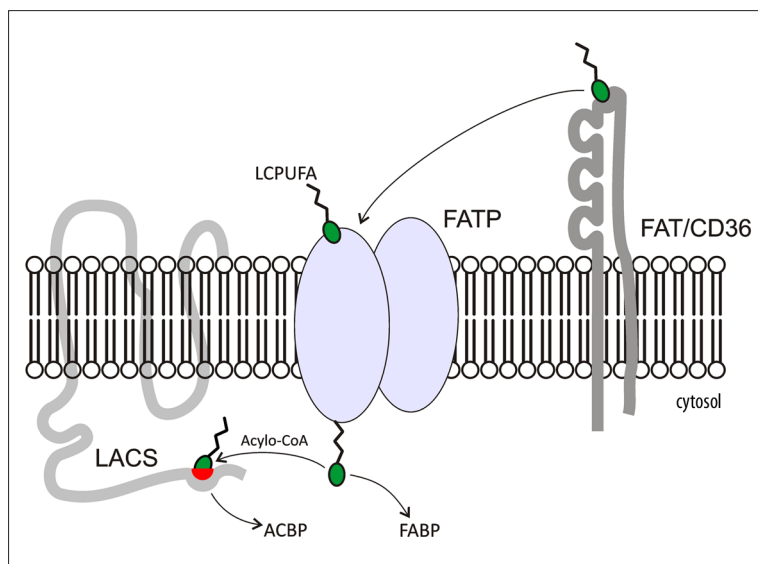
- która frakcja wolnych czy zestryfikowanych kwasów tłuszczowych w osoczu jest głównym źródłem DHA dla mózgu,
- jakie są mechanizmy i właściwości transportu różnych PUFA przez barierę krew–mózg,
- jaki jest udział DHA syntetyzowanego w wątrobie z ALA, a jaki DHA dostarczanego w diecie w zapewnieniu odpowiedniej ilości tego kwasu komórkom ośrodkowego układu nerwowego oraz
- jaki jest udział lokalnej syntezy DHA w mózgu w całkowitej puli tego kwasu w fosfolipidach błon neuronalnych?

Uzyskanie odpowiedzi na te pytania jest szczególnie ważne w kontekście szerokiego stosowania nutraceutyków zawierających LCPUFA-3 i wyników korzystnego ich wpływu

w niektórych chorobach neurodegeneracyjnych [19,26], zaburzeniach psychicznych [53,147], podczas odbudowy układu nerwowego po jego uszkodzeniu oraz w celu zachowania zdolności poznawczych w procesie starzenia [105,168].

Naukowcy z Narodowego Instytutu Zdrowia USA pod kierunkiem S. J. Rapoporty stosując metodę dożylną infuzji znakowanych PUFA związanych z albuminą u czuwających szczurów, zmierzili ilość kwasów tłuszczowych w postaci zestryfikowanej i niezestryfikowanej w osoczu, a następnie obliczyli ich inkorporację do fosfolipidów w mózgu według własnego modelu matematycznego. Z ich danych eksperymentalno-matematycznych wynika, że w fosfolipidach mózgu przynajmniej 2–8% zestryfikowanego DHA oraz 3–5% zestryfikowanego AA jest wymieniane na niezestryfikowane kwasy tłuszczowe pochodzące z osocza [127]. Wyznaczone tempo inkorporacji niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych do fosfolipidów w mózgu szczura w różnych modelach doświadczalnych wykazało preferencyjną estryfikację kwasów DHA i AA na poziomie 6–7 pmol/g mózgu/s, niewiele mniejszą kwasu palmitynowego (C16: 0) i LA, natomiast znacznie wolniejszą około 1,5 pmol/g mózgu/s kwasów erukowego (C22: 1n-9) i ALA [28]. Przy takim tempie wymiany około połowa AA i DHA w fosfolipidach mózgu szczura może zostać wymieniona w ciągu 1–2 tygodni. Za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej zmierzono także wymianę LCPUFA w mózgu ludzkim i okazało się, że wymiana AA jest bardziej intensywna niż DHA. Dobową inkorporację znakowanego  $^{14}\text{C}$ -kwasu arachidonowego z krwi do mózgu oszacowano na 17,8 mg, a znakowanego DHA na 4,6 mg [129, 167]. Na niezestryfikowane kwasy tłuszczowe w osoczu jako źródło LCPUFA dla mózgu wskazują także badania myszy z genetycznym brakiem receptora LDL. Nie stwierdzono u tych zwierząt różnic w ilości zestryfikowanych PUFA w poszczególnych frakcjach fosfolipidów w mózgu [29].

Nie jest rozstrzygnięta do końca kwestia, czy niezestryfikowane PUFA przechodzą z osocza przez barierę krew–mózg na zasadzie prostej dyfuzji, czy z udziałem białek nośnikowych. Unikalny skład fosfolipidów w mózgu i uprzywilejowane wbudowywanie DHA i AA [28] wskazują raczej na ich selektywny transport przez barierę krew–mózg, chociaż nie znaleziono do tej pory wyspecjalizowanych białek do transportu LCPUFA z krwi do mózgu [45]. Używając



Ryc. 4. Model transportu długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LCPUFA) do komórek przez białka błonowe transportujące kwasy tłuszczowe (FATP) i translokazę FAT/CD36 homologiczną z ludzką cząsteczką różnicującą CD36. LCPUFA są bezpośrednio wiązane i transportowane do wnętrza komórek przez białka FATP o aktywności syntetazy acylo-CoA. Alternatywnie LCPUFA mogą być najpierw wiązane przez translokazę kwasów tłuszczowych FAT/CD36, która wychwytuje i ułatwia dostarczanie LCPUFA do FATP. W cytoplazmie LCPUFA są wiązane i przenoszone do struktur wewnątrzkomórkowych przez białka wiążące kwasy tłuszczowe (FABP) lub przez białko wiążące acylo-CoA (ACBP) po uprzedniej ich aktywacji przez białko błonowe o aktywności syntetazy acylo-CoA (LACS). Na podstawie [146] zmodyfikowano

modelu perfuzji mózgu myszy *in situ* wyznakowanymi kwasami tłuszczowymi wykazano, że DHA oraz kwas eikozapentaenowy (EPA; C22: 5n-3) przechodzą przez barierę krew-mózg bardzo szybko. Tempo przechodzenia tych kwasów nie zmniejszyło się nawet przy bardzo dużych jego stężeniach w osoczu, natomiast znacząco obniżyło się przy dużym stężeniu albuminy w osoczu. Udział śródbłonna naczyniowego w wychwycie DHA określono na mniej niż 10% [119]. Wyniki te mogą wskazywać bardziej na mechanizm dyfuzji DHA przez barierę krew-mózg, niż na jego selektywny transport przez białka nośnikowe.

Kontrowersyjne pozostaje zagadnienie, czy przy wystarczającej ilości ALA w diecie, DHA syntetyzowany w wątrobie w pełni pokrywa zapotrzebowanie mózgu na ten kwas. Z doświadczeń na zwierzętach wynika, że tak. Kiedy szczury po zakończeniu karmienia ich przez matkę utrzymywano na diecie pozbawionej DHA i ALA stwierdzono, że przy deficycie obu kwasów ilość DHA w mózgu szczurów była 2,5 razy mniejsza w porównaniu ze zwierzętami, które otrzymywały prawidłową dietę. Kiedy w diecie dostarczano odpowiednią ilość ALA, ale bez DHA, to synteza i wydzielanie DHA z wątroby do krwi wzrosło u tych zwierząt prawie 10-krotnie, a ilość DHA w mózgu była tylko o 5% mniejsza. Zwiększyła się również transkrypcja mRNA desaturaz i ich aktywność w wątrobie, a nie stwierdzono takiego wpływu na desaturazy w mózgu [75,128]. Wyniki te wskazują, że przy prawidłowej czynności enzymów syntetyzujących LCPUFA w wątrobie i prawidłowej ilości ALA w diecie, u gryzoni synteza wątrobowa zapewnia wystarczającą ilość DHA na potrzeby mózgu. Jednak w oparciu o badanie przekształcania znakowanego ALA do DHA u ludzi oraz tempa  $\beta$ -oksydacji wynika, że wątrobowa synteza DHA nie wystarcza do utrzymania prawidłowej ilości DHA w mózgu dorosłego człowieka [22,74]. Oczywiście wykryte różnice metabolizmu DHA mogą wynikać z różnic gatunkowych tempa syntezy i transportu DHA, a także z różnic proporcji oraz ilości LCPUFA w diecie.

Biosynteza DHA odbywa się także w mózgu [53]. Śródbłonek naczyń włosowatych w mózgu ma zdolność do elongacji i desaturacji w 18-węglowych kwasach

tłuszczowych, jednak nie ma możliwości wprowadzania ostatniego podwójnego wiązania do 24-węglowych PUFA [109]. Spośród komórek znajdujących się w mózgu tylko astrocyty mają zdolność do syntezy i uwalniania DHA do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [55,94,108,107]. Tempo syntezy DHA w astrocytach jest odwrotnie proporcjonalne do ilości DHA dostępnego dla tych komórek [167].

Mechanizm wychwytu DHA przez neurony z płynu tkankowego w mózgu nie jest do końca wyjaśniony. Używając do doświadczeń modelu błon plazmatycznych wykazano szybką bierną dyfuzję wolnych PUFA typu flip-flop [86]. Proponowany jest też udział białek transportujących długołańcuchowe PUFA przez błony plazmatyczne takie, jakie zidentyfikowano w komórkach mięśni, serca, wątroby, jelita, a nawet płuc [2,146]. Są to białka transportujące kwasy tłuszczowe (fatty acid transport protein – FATP 1-6) o m.c. 63-70 kDa mające aktywność syntetazy acylo-CoA, których geny są dobrze scharakteryzowane [60,64,71]. Dwa z tych białek FATP-1 i FATP-4 występują w mózgu [51]. W transporcie kwasów tłuszczowych przez błony biologiczne uczestniczy także translokaza kwasów tłuszczowych homologiczna z ludzkim CD36 (fatty acids translocase – FAT/CD36) o m.c. 88 kDa [1] oraz białko wiążące kwasy tłuszczowe zasocjowane z błoną plazmatyczną – FABPpm (plasma membrane-associated fatty acid binding protein) o m.c. 43 kDa [67,82,151]. Molekularny mechanizm ułatwiający przechodzenie kwasów tłuszczowych przez błony plazmatyczne z udziałem białek nośnikowych jest nadal dyskutowany [14, 63,66,147]. W miocytach utrzymywane jest małe stężenie wolnych kwasów tłuszczowych w celu zachowania dokomórkowego gradientu ich stężenia. Gradient ten zapewnia szybkie wiązanie wolnych kwasów tłuszczowych znajdujących się w cytoplazmie przez białka wiążące kwasy tłuszczowe (FABP) lub łączenie ich z koenzymem A katalizowane przez białko błonowe o aktywności syntetazy acylo-CoA (long chain fatty acyl-Co synthetase – LACS). Powstały kompleks acylo-CoA jest wiązany w cytoplazmie przez białko wiążące acylo-CoA (acyl-CoA binding protein – ACBP). Być może podobny mechanizm istnieje w neuronach, aby zachować gradient stężenia DHA i ułatwić jego dokomórkową dyfuzję (ryc. 4).

## DHA W NEUROPLASTYCZNOŚCI

Największy przyrost DHA w mózgu obserwuje się w okresie jego rozwoju w życiu płodowym i trwa u ludzi prawie do 2 roku życia [103]. Podczas ciąży DHA niezbędny dla płodu do syntezy fosfolipidów przechodzi z krwi matki przez łożysko do krążenia płodowego, po porodzie jest dostarczany niemowlętom z mlekiem matki [79,80]. Głównym procesem podczas rozwoju mózgu jest utworzenie odpowiedniej liczby połączeń międzyneuronalnych dzięki zwiększeniu długości i liczby rozgałęzień wypustek neuronów [54]. Błony neuronów mogą rozbudowywać się dzięki fuzji prekursorowych pęcherzyków plazmatycznych z błoną cytoplazmatyczną, w której uczestniczą białka SNARE (receptory SNAP; soluble N-ethylmaleimide sensitive-factor attachment protein receptor). Są to małe białka, o różnej wielkości i strukturze, w większości zakotwiczone domeną transmembranową, które mają wspólną sekwencję 60–70 aminokwasów w domenie cytosolowej (SNF motif). Motyw ten wrażliwy na N-etylomaleimid pozwala na tworzenie odwracalnych kompleksów *trans*-SNARE w postaci czterech helis białkowych utworzonych z trzech białek: synaptobrewiny (*v*-SNARE) zakotwiczonej w błonie pęcherzyka, znanej także jako VAMP (vesicle-associated membrane protein) oraz białek znajdujących się w docelowej błonie plazmatycznej (*t*-SNARE), transbłonowej syntaksyny i peryferyjnego białka SNAP (synaptosome-associate protein) [15]. Proces rozbudowy błony komórkowej wymaga najpierw utworzenia stabilnego kompleksu *trans*-SNARE, który zapewnia ściśle przyleganie pęcherzyka do błony plazmatycznej, a następnie w wyniku zmiany konformacji tego kompleksu w *cis*-SNARE, następuje fuzja pęcherzyka z błoną docelową [15,43]. Z poznanych dotąd syntaksyn uważa się, że syntaksyna 3 bierze udział we wzroście wypustek neuronalnych [9,133].

Znaleziono wiele białek cytoplazmatycznych, które wiążą się z białkami SNARE i w ten sposób blokują lub modyfikują powstawanie kompleksu *trans*-SNARE, który „dokuje” pęcherzyk do błony docelowej. Jedno z takich białek błon synaptycznych Sec1, oznaczane też Munc18, tworzy kompleks z syntaksyną 1 i uniemożliwia tworzenie kompleksu *trans*-SNARE [166]. Ostatnie badania wskazują, że kwasy tłuszczowe występujące w największej ilości w mózgu, czyli AA i DHA, zmieniają konformację kompleksu Munc18/syntaksyna/SNAP-25 ułatwiając tworzenie się *trans*-SNARE [34]. Ponadto wykazano, że tylko AA i DHA mają zdolność zwiększania wzrostu wypustek i kolców dendrytycznych komórek chromochłonnych guza nadnerczy P12, dzięki aktywacji syntaksyny 3 [37]. Również neurony hipokampa hodowane w obecności DHA mają dłuższe i bardziej rozgałęzione wypustki, a DPAn-6 zastępujący DHA w trakcie jego niedoboru, takich właściwości nie wykazuje [25]. Rola DHA w rozwoju neuronalnym potwierdzają badania kliniczne [81]. Czy ułatwianie tworzenia się kompleksu białek SNARE przez DHA zestryfikowany w fosfolipidach błonowych jest jedynym mechanizmem udziału DHA we wzroście i tworzeniu nowych połączeń neuronalnych jest przedmiotem intensywnych badań.

Wyniki badań ostatniej dekady udowodniły, że neuroplastyczność niezbędna do zachowania prawidłowej czynności mózgu w każdym wieku, zależy nie tylko od obecności hormonów, troficznego działania astrocytów i stymulacji

czynnościowej neuroprzekazników. Zależy także od zachowania prawidłowej ilości DHA w fosfolipidach błon cytoplazmatycznych, który uczestniczy w rozrastaniu wypustek neuronalnych i tworzeniu kolców dendrytycznych. Dlatego szczególnie ważne dla prawidłowego rozwoju mózgu jest dostarczanie odpowiedniej ilości PUFAn-3 kobietom w ciąży i podczas laktacji, aby zapewnić właściwą podaż DHA rozwijającemu się układowi nerwowemu dziecka. Rekomendacje w zakresie wzbogacania DHA diety kobiet w ciąży i w okresie karmienia piersią wydał w 2010 r. Zespół Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego [12].

## DHA W FOSFOLIPIDACH BŁONOWYCH

Wśród glicerolofosfolipidów błon plazmatycznych ilościowo przeważa fosfatydylocholina (PC), w której glicerol w pozycji sn-1 zawiera najczęściej acyl kwasu nasyconego, a w pozycji sn-2 acyl kwasu oleinowego lub linolowego. Fosfatydylocholina razem ze sfingomieliną i glikozofosfolipidami, znajdują się głównie w zewnętrznej warstwie błon lipidowych. Fosfatydyloetanolamina (PE) i fosfatydyloseryna (PS) stanowią dużo mniejszy procent wszystkich glicerolofosfolipidów błonowych, ale razem z fosfatydyloinozytolem (PI) oraz kwasem fosfatydowym przeważają w wewnętrznej warstwie lipidowej błon komórkowych [10]. Fosfolipidy oprócz asymetrycznego występowania w błonach plazmatycznych, charakteryzują się różnym składem acyli kwasów tłuszczowych w cząsteczce. Najwięcej DHA znajduje się w PE oraz PS, w małych ilościach w PC oraz PI. Badania na zwierzętach z zastosowaniem różnej ilości i proporcji kwasów tłuszczowych w diecie wykazały, że istnieją tkankowe różnice estryfikacji DHA w glicerolofosfolipidach. W fosfolipidach serca i mózgu szczurów karmionych dietą zawierającą PUFAn-3, najwięcej zestryfikowanego DHA zawierała w obu narządach PE. Drugim, co do zawartości DHA fosfolipidem w sercu była fosfatydylocholina, a w mózgu fosfatydyloseryna [149].

W komórkach zwierzęcych PS nie jest syntetyzowana *de novo*, ale powstaje w reakcji zasadowej wymiany aminokwasu w już istniejących aminofosfolipidach. Cholina w PC jest wymieniana na serynę przez syntazę PS-1, a etanolamina w PE na serynę przez syntazę PS-2 [160]. Reakcja zasadowej wymiany aminokwasów w fosfolipidach nie jest zależna od ATP, ale zależy od Ca<sup>2+</sup> i odbywa się w mikrosomach oraz w błonach ER połączonych z zewnętrznymi błonami mitochondriów (MAM) [158]. W mózgu reakcja zasadowej wymiany seryny w fosfolipidach odbywa się najintensywniej w mikrosomach, synaptosomach i błonach plazmatycznych ciał komórek nerwowych, z mniejszą intensywnością w komórkach glejowych [61,72]. Fosfatydyloseryna po przeniesieniu do mitochondriów jest metabolizowana do PE przez dekarboksylazę PS i stanowi główne źródło PE w komórkach ssaków [141,161]. Doświadczalnie stwierdzono, że zarówno mikrosomalna syntaza PS, jak i mitochondrialna dekarboksylaza PS największą aktywność wykazują w stosunku do fosfolipidów zestryfikowanych DHA [90]. Gdy PC i PE zamiast DHA zawierały acyl DPAn-6, ich konwersja do PS była mniej efektywna i zawartość PS w błonach mniejsza [93].

Biosynteza i degradacja fosfolipidów w komórkach ssaków jest ściśle regulowana aktywnością enzymów, ale w tkance



nerwowej ilość PS jest dodatkowo limitowana dostępnością DHA [4]. W mikrosomach mózgu drugiego pokolenia szczurów wyhodowanych na diecie bez PUFAn-3, ilość DHA znacznie się zmniejszyła, a DHA w fosfatydyloserynie został zastąpiony przez DPAn-6. Mimo że całkowita ilość fosfolipidów zestryfikowanych LCPUFA nie zmieniła się, to wybiórczo zmniejszyła się ilość PS w mózgu zwierząt karmionych dietą pozbawioną PUFAn-3, w porównaniu do karmionych dietą prawidłową [56]. Zależność ilości PS od dostępności DHA potwierdzono także *in vitro* w komórkach gliomy i Neuro 2A [4,56]. Nie stwierdzono akumulacji PS w innych rodzajach komórek, takich jak CHO-K1, NIH-3T3, HEK-293 po wzbogaceniu pożywki hodowlanej w DHA lub DPA [62]. Również manipulacje genetyczne nie modyfikują zawartości PS w neuronach zależnej od dostępności DHA. Wyciszenie genów *pss-1* lub *pss-2*, kodujących odpowiednio enzymy syntazę PS1 oraz syntazę PS2, znacząco zmniejszyło konwersję PC→PS oraz PE→PS, ale nie obniżyło istotnie zawartości PS w mózgu [5]. Te badania wskazują, że modulowanie puli PS w błonach neuronalnych zgodnie z dostępnością DHA może być unikatowym mechanizmem w tkance nerwowej. Innym czynnikiem, oprócz deficytu PUFAn-3, który zmniejsza ilość PS w tkance nerwowej jest długi okres ekspozycji na etanol [3,68]. W tym przypadku zmniejszenie ilości DHA, które pociąga za sobą obniżenie zawartości PS w mózgu, może być wynikiem nie tylko braku preferowanego substratu do syntezy PS, ale również osłabieniem aktywności enzymów potrzebnych do konwersji fosfolipidów w komórkach.

#### FOSFATYDYLOSERYNA I DHA W PRZEŻYwalności NEURONÓW

Przy prawidłowej diecie, fosfatydyloseryna stanowi tylko do 10% całkowitej ilości fosfolipidów w komórkach ssaków [149,159]. Największą zawartością PS w mózgu znaleziono w korze mózgu, hipokampie i opuszcze węchowej [65,91,123]. Ujemnie naładowane cząsteczki PS znajdujące się głównie w wewnętrznej warstwie fosfolipidów błonowych, zmieniają aktywność związanych z błonami białek enzymatycznych, które uruchamiają wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacji. Jednym z tych białek jest serynowo-treoninowa kinaza Akt/PKB w szlaku kinaz zależnych od fosfatydyloinozytoli, która pośredniczy w przekazywaniu do jądra sygnałów czynników wzrostu [42] oraz hamuje proces apoptozy, m.in. uniemożliwiając działanie proapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 [38] i kaspazy 9 [27]. Fosfatydyloseryna zwiększa zasięg interakcji błony z kinazą Akt, a translokacja/aktywacja Akt może mieć decydujące znaczenie dla przeżycia komórek w warunkach niedoboru czynników troficznych, kiedy zmniejsza się generowanie trifosfoinozytoli (IP3). W takich warunkach śmierć komórki może zostać zatrzymana dzięki odpowiedniej zawartości PS w błonach komórkowych. Akbar i wsp. [4] udowodnili w warunkach *in vitro* i *in vivo*, że zahamowanie apoptozy dzięki zwiększeniu ilości DHA w neuronach zależy od akumulacji PS w błonach i od aktywności antyapoptotycznego szlaku kinaz PI3K/Akt. Zastąpienie w błonach neuronalnych DHA przez DPAn-6 było mniej skuteczne w akumulacji PS i translokacji Akt, a także w utrzymaniu przy życiu neuronów w sytuacji niedoboru czynników wzrostu. Dlatego redukcja PS w błonach neuronalnych np. po długiej ekspozycji na etanol promuje apoptozę [3]. W doświadczeniach z użyciem neuronalnych komórek prekursorowych,

Kawakita i wsp. [87] wykazali także przyspieszenie różnicowania komórek progenitorowych w neurony w obecności DHA oraz zwiększenie przeżywalności neuronów zakrzętu zębatego hipokampa dorosłych szczurów, kiedy otrzymywały w diecie DHA.

Większa przeżywalność neuronów dzięki akumulacji PS w wewnętrznej warstwie błony fosfolipidowej może być także skutkiem aktywacji kinazy Raf-1, która bierze udział w transdukcji sygnałów wielu czynników wzrostu [7]. Białko Raf-1 będące częścią szlaku aktywacji kinaz aktywowanych mitogenem (Raf-1/MEK) promuje różnicowanie się komórek i wykazuje działanie antyapoptotyczne [30,162]. Dzięki obecności w cząsteczce Raf-1 regionów wiążących kwaśne fosfolipidy, kinaza ta może też być aktywowana przez PS [78]. Rzeczywiście potwierdzono zmniejszenie aktywności kaspazy 3 oraz zahamowanie apoptozy w komórkach Neuro 2A na skutek zwiększenia ilości PS i związania się Raf-1 z błoną komórkową [92]. Proponowane są co najmniej dwa sposoby działania Raf-1 w tym mechanizmie. Pierwszy za pośrednictwem kinazy MEK z rodziny kinaz aktywowanych mitogenem (MAPK), zaangażowanych w przekazywanie sygnałów różnicowania i proliferacji komórek [41]. Drugi poprzez inaktywację proapoptotycznej kinazy Ask-1 (apoptosis signal-regulating kinase-1) aktywowanej przez czynniki stresowe [30].

Fosfatydyloseryna może wpływać na żywotność komórek nerwowych również dzięki jej zdolności do aktywacji wielofunkcyjnej kinazy białek C (PKC). Oprócz diacyloglicerolu (DAG) i niezestryfikowanych LCPUFA, stwierdzono aktywację zależnej od jonów wapnia izoformy  $\alpha$  PKC oraz niezależnych od wapnia izoform PKC  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$  i  $\xi$  przez fosfatydyloserynę [117]. Długotrwała stymulacja PKC prowadzi do fosforylacji białek w szlaku kinaz z rodziny MAPK oraz czynników transkrypcyjnych z rodziny NF- $\kappa$ B [8, 58]. Kim i wsp. [95] wykazali, że DHA w stężeniu od 10  $\mu$ mol/L hamuje czynność domeny katalitycznej PKC i sugerują, że może to być mechanizm korzystnego wpływu działania PUFAn-3 na stabilizację nastroju w chorobie afektywnej dwubiegunowej. Hamujące działanie DHA na aktywację NF- $\kappa$ B za pośrednictwem PKC $\epsilon$  i oksydazy NADPH udowodnili także Massaro i wsp. [104], choć te badania zostały przeprowadzone w komórkach ludzkiego śródbłonna. Inna grupa badaczy opublikowała wyniki dwukrotnego zwiększenia aktywności kinazy DAG w mózgu szczura pod wpływem DHA [157], którego skutkiem może być m.in. aktywacja fosfolipazy C [84,124]. Jednak wielojednostkowa budowa PKC, możliwość aktywowania podjednostek przez różnorodne czynniki oraz jej występowanie w różnych kompartmentach wewnątrzkomórkowych powoduje, że skutki aktywacji PKC mogą uruchamiać wiele szlaków sygnalizacyjnych i przynosić zróżnicowane sygnały ważne dla przeżycia komórek nerwowych.

Doświadczenia z użyciem genetycznie zmodyfikowanych komórek potwierdziły korzystne działanie zwiększenia ilości LCPUFAn-3 na przeżywalność neuronów. Wprowadzenie do neuronów korowych genu  $\Delta$ 4-desaturazy, która pozwala na konwersję PUFAn-6 w PUFAn-3, zwiększyło zawartość PUFAn-3 i obniżyło 4-krotnie stosunek PUFAn-6/PUFAn-3 w błonach komórkowych. Taka zmiana profilu lipidowego w błonach spowodowała większą przeżywalność neuronów po usunięciu z pożywki czynników



wzrostu i zmniejszyła syntezę prozapalnej i proapoptycznej prostaglandyny  $E_2$  [57].

### NEUROPROTEKCJA DHA I JEGO METABOLITÓW

Wpływ DHA przez utrzymywanie dużego stężenia PS nie jest jedynym mechanizmem, który wpływa na czynność neuronów. Fosfolipazy A (PLA) obecne w komórkach katalizują hydrolizę wiązań estrowych i uwalniają z fosfolipidów kwasy tłuszczowe do cytosolu [50]. Hydrolizę DHA w pozycji sn-2 katalizują niezależna od wapnia iPLA<sub>2</sub> o silnym powinowactwie do plazmalogenu, który aż do 70% może być zestryfikowany DHA [49] oraz zależna od Ca<sup>2+</sup> wydzielnicza sPLA<sub>2</sub> [126]. W cytosolu DHA jest wiązany z białkami i w większości jest transportowany do siateczki śródplazmatycznej, gdzie zostaje ponownie wbudowywany do fosfolipidów. Może też zostać utleniony w procesie  $\beta$ -oksydacji w macierzy mitochondrialnej czy w peroksy-somach [28]. Istnieje jeszcze inna ścieżka metaboliczna DHA polegająca na przekształceniu DHA z udziałem lipooksygenazy (LOX) w rezolwiny serii D (RvD), dokoza-trieny, znane jako protektyny D (PD) i marezy (7S,14S-(OH)2-pochodne DHA), a z udziałem acylowanego przez aspirynę epimeru COX-2 (AT-COX-2) w 17R-rezolwiny serii D (17R-AT-RvD 1-4) i 17R-AT-protektyny D (17R-AT-PD) [136]. Ekspresję mRNA izoformy 12-LOX potwierdzono w komórkach glejowych [13], a jej aktywność wykryto w warunkach fizjologicznych w wielu strukturach mózgu [116]. Jednak ilość produktów oksygenacji LCPUFA wielokrotnie wzrasta w trakcie uszkodzenia mózgu na skutek udaru niedokrwiennego, urazu czy infekcji [102]. Zwiększa się wtedy aktywność PLA<sub>2</sub>, z fosfolipidów błonowych uwalniane jest więcej DHA i AA, a uaktywniony mikroglej wzmacnia syntezę neurotoksyn (FasL, TNF $\alpha$ ) i prozapalnych cytokin (IL-1, IL-6, INF- $\gamma$ , chemokiny) [77]. Wzrasta przepuszczalność ścian naczyń krwionośnych, fagocyty z krwi napływają do uszkodzonego obszaru mózgu pod wpływem czynników chemotaktycznych [137] i uaktywnione enzymy COX-2 i LOX masowo wytwarzają prozapalne eikozanoidy, które rozwijają ostrą fazę zapalenia. Jak we wszystkich kaskadowych procesach ratunkowych w organizmie, tak i w kaskadzie syntezy czynników prozapalnych powstają równoległe związki prowadzące do wygaszenia (rezolucji) tego procesu. Izomery LOX i/lub epimer AT-COX-2 katalizują powstawanie wygaszających zapalenie metabolitów LCPUFA: z kwasu arachidonowego – lipoksyn, a z DHA – rezolwin D 1-4, protektyn D i marezyn [138]. Te oksygenazowe pochodne LCPUFA aktywnie uczestniczą w zahamowaniu infiltracji neutrofilów, usunięciu ich z tkanki nerwowej, wchłonięciu nacieku zapalnego i powrotu homeostazy tkankowej [137]. Szczególną uwagę zwraca się na neuroprotektynę D1 (NPD1). Wykazano zwiększenie syntezy NPD1 podczas reperfuzji mózgu po eksperymentalnym niedokrwieniu, hamowanie przez NPD1 migracji leukocytów do uszkodzonego miejsca, hamowanie NF- $\kappa$ B indukowanego interleukiną 1 $\beta$  oraz zmniejszenie ekspresji mRNA COX-2 [102]. Dlatego przypisuje się jej ważną rolę w hamowaniu procesu zapalnego i wewnątrzneuralnych szlaków sygnalizacji uruchamianych pod wpływem czynników prozapalnych, które mogą trwale uszkadzać neurony lub prowadzić do ich śmierci. Inna grupa badaczy pod kierunkiem N. G. Bazana wykazała neuroprotektynę działanie NPD1 na poziomie zmian ekspresji wielu genów. Stwierdzili oni hamowanie aktywności genów kodujących

mediatory prozapalne, a zwiększenie ekspresji genów białek antyapoptycznych z rodziny Bcl-2 po aktywacji komórek neurotoksycznym amyloidem  $\beta$ -42 [101]. Stąd coraz częściej formułowany jest pogląd, że korzystne działanie suplementacji diety DHA u osób cierpiących na zaburzenia afektywne, depresję, otępienie związane z wiekiem czy patologicznym tworzeniem złożeń  $\beta$ -amyloidu w chorobie Alzheimera [99,100] jest związane właśnie z powstawaniem oksygenazowych pochodnych DHA, które niwelują szkodliwe skutki działania stresu oksydacyjnego lub wzrostu liczby prozapalnych cytokin i eikozanoidów [11].

Udział DHA w redukowaniu stanu zapalnego w mózgu nie ogranicza się tylko do powstawania jego oksygenazowych produktów, ale również do bezpośredniego hamowania aktywności COX. Corey i wsp. [35] wykazali, że DHA jest silnym inhibitorem kompetencyjnym na szlaku przekształcania arachidonianów do prostaglandyn, choć nie hamuje biosyntezy leukotrienów. Zmniejszenie syntezy PGE2 zaobserwowano również w przypadku stosowania diety wzbogaconej w DHA [125], a później udowodniono hamowanie ekspresji COX-1 przez DHA w astrocytach [152]. Rolę DHA w ograniczaniu procesu zapalnego potwierdzają badania na zwierzętach transgenicznych, którym wprowadzono gen *fat-1* kodujący  $\Delta$ 4-desaturazę. Dzięki znacznemu przesunięciu proporcji DHA do AA w fosfolipidach kory mózgu na korzyść DHA, istotnie zmniejszyła się ilość indukowanej COX-2 w korze mózgu [17].

### DHA A WŁAŚCIWOŚCI BŁON PLAZMATYCZNYCH

Rygorystycznie przestrzegany profil kwasów tłuszczowych w fosfolipidach błon komórek nerwowych podczas deficytu LCPUFA nasuwa przypuszczenie, że właśnie taki ich skład zapewnia właściwości fizyko-chemiczne błon odpowiednio dla działania białek błonowych, zatem jest niezbędny do prawidłowej czynności neuronów. Rzeczywiście w latach 90 ub.w. wykazano udział DHA w modulowaniu napięciowalności kanałów potasowych [121], sodowych i wapniowych [163], transmisji synaptycznej i modyfikowaniu długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w neuronach hipokampa [83], a także udział w glutaminergicznej transmisji w neuronach piramidowych kory mózgu [115]. Badania właściwości fizycznych błon zbudowanych z różnych fosfolipidów za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz zmodyfikowanego NMR o pomiar magnetycznego kąta spinu jądrowego (magic angle spinning), wykazały swoisty kształt fosfolipidów z acylem DHA, który umożliwia ich wyjątkową giętkość, aż do wygięcia końca metyloвого w kierunku powierzchni błony. Dzięki temu błony o dużej zawartości DHA charakteryzuje większy przekrój poprzeczny i mniejsza grubość [47,149]. W zależności od rodzaju użytych znaczników fluorescencyjnych oraz materiału biologicznego, pomiary stopnia molekularnej organizacji błon mających DHA, tzw. płynności błon, przynoszą rozbieżne wyniki. W erytrocytach zwierząt karmionych dużą zawartością oleju rybiego [85], w fibroblastach, leukocytach i komórkach nowotworowych hodowanych *in vitro* w środowisku wzbogaconym w DHA stwierdzono zwiększoną płynność błon plazmatycznych [23,24,144]. Inne pomiary płynności błon erytrocytów, płytek krwi i komórek retinoblastomy zmian płynności błon nie wykazały [59,122]. Autorzy badań za to zgodnie wskazują na zwiększenie mobilności fosfolipidów

blonowych zestyfikowanych DHA [114,155]. W pracach przeglądowych Stillwell i wsp. [149,150] przedstawiając szczegółowo wyniki badań fizycznych właściwości błon wyrażają pogląd, że zmiany fizyczne błon biologicznych o dużej zawartości przestrzennych i mobilnych acyli DHA są na tyle subtelne, że trudno mierzalne za pomocą zewnętrznych wskaźników fluorescencyjnych. Do tego trzeba uwzględnić wysoką dynamikę obrotu fosfolipidów w błonach komórkowych, którą zapewnia aktywność wielu enzymów odpowiedzialnych za syntezę fosfolipidów *de novo*, ich resyntezę przez reakcylationę i katabolizm. Skład kwasów tłuszczowych w fosfolipidach jest także zależny od ilości białek transportujących kwasy tłuszczowe w komórkach [6,131].

Biorąc pod uwagę przestrzenną strukturę DHA jest bardzo prawdopodobne, że błony o dużej zawartości acyli DHA są mniej upakowane, niż te zawierające fosfolipidy z acylami kwasów nasyconych lub jednonienasyconych. To może pociągać za sobą wiele zmian właściwości błon. Badania eksperymentalne oraz symulacja dynamiki molekularnej wykazały, że dwuwarstwa lipidowa zbudowana z 1-stearilo-2-dokozaheksaenilo-glicerolofosfocholina jest bardziej przepuszczalna dla wody [135], dla jonów sodu [70] oraz dla małych niepolarnych cząsteczek, takich jak glukoza czy glicerol [148]. Większa zawartość w błonach DHA zwiększa również fużę pęcherzyków synaptycznych z błonami i ich egzocytozę [48,106]. Ostatnie badania wskazują, że zestyfikowany DHA modyfikuje organizację tratw lipidowych w błonach plazmatycznych. Tratwy lipidowe to mikrodomeny odporne na niejonowe detergeny typu Triton X-100, różniące się budową od pozostałej części błony. Charakteryzuje je duża zawartość glikosfingolipidów, sfingomielin i cholesterolu, obecność określonych białek integralnych, białka na kotwicy glikozylofosfatydyloinozitolowej w zewnętrznej warstwie lipidowej oraz kinazy z rodziny Src i białka Ras zasocjowane z wewnętrzną warstwą błony komórkowej [143]. Przypuszcza się, że te mikrodomeny błonowe biorą udział w „segregacji” sygnałów pomiędzy komórkami i mogą stanowić fizyczną i/lub czynnościową platformę transdukcji sygnałów [120,143]. Badania biofizycznych właściwości modeli liposomów zbudowanych z fosfolipidów zawierających acyle DHA wykazały przestrzenne niedopasowanie cząsteczek DHA i cholesterolu, co teoretycznie powinno wykluczać współwystępowanie DHA w fosfolipidach w obrębie bogato cholesterolowych tratw. Jednak badania mikroskopowe z użyciem znaczników fluorescencyjnych w komórkach EL4 inkubowanych z różnymi PUFAn-3 wykazały, że w błonach komórek hodowanych z DHA, zawartość DHA w fosfolipidach zwiększyła się o 30% zarówno w obszarze tratw jak i poza nimi, a także zwiększył się rozmiar i umiejscowienie tratw lipidowych w błonach [139]. Znaczenie zmian organizacji błony z fosfolipidami zestyfikowanymi DHA oraz szczegółowa rola mikrodomen sfingolipidowo-cholesterolowych dla czynności neuronów pozostaje na razie w sferze spekulacji. Jedną z hipotez mówi, że dzięki nieprzystawianiu do siebie cząsteczek DHA i cholesterolu, ich 'awersja' może umożliwiać rozdzielanie obszarów o dużej i małej zawartości cholesterolu, co pozwala na ograniczenie obszaru tratw lipidowych. Ponadto może ułatwiać przechodzenie cholesterolu do zewnętrznej warstwy

blonowych lipidów w mechanizmie typu flip-flop, gdyż w wewnętrznej warstwie fosfolipidów jest zestyfikowane najwięcej DHA [44]. Są też doniesienia o negatywnej roli tratw lipidowych w agregacji  $\beta$ -amyloidu, przyczyny neurodegeneracji w chorobie Alzheimera [46].

## PODSUMOWANIE

Fosfolipidy błon synaptosomów i pęcherzyków synaptycznych istoty szarej mózgu zawierają do 40% DHA [73]. W trakcie niedoborów DHA jego ilość w mózgu jest wyraźnie chroniona [40] i wydaje się, że komórki nerwowe mają unikalny mechanizm zabezpieczający ich przeżycie przez utrzymanie w błonach komórkowych dużego stężenia fosfatydyloseryny zawierającej DHA. W rezultacie wykazują większą niż inne komórki przeżywalność i oporność na apoptozę w sytuacji pojawienia się czynników szkodliwych. Jest duże prawdopodobieństwo, że nieracjonalne odżywianie i/lub zmniejszanie się z wiekiem zawartości DHA w mózgu są przyczyną skrócenia czasu przeżycia neuronów, gdyż DHA bierze udział w hamowaniu wewnątrzkomórkowych sygnałów śmierci i aktywności enzymów odpowiedzialnych za syntezę mediatorów prozapalnych. Ponadto powstające w oksydacyjnym metabolizmie pochodne DHA działają neuroprotekcynie i chronią neuroony przed uszkodzeniem na skutek procesu zapalnego lub stresu oksydacyjnego.

Duża zawartość DHA w błonach komórek nerwowych jest niezbędna w tworzeniu odpowiedniej liczby połączeń synaptycznych i zachowaniu plastyczności neuronalnej w ciągu całego życia. Z kolei kwas arachidonowy w błonach służy jako prekursor do syntezy ważnych przekazników międzykomórkowych i wewnątrzneuronalnych szlaków sygnalizacyjnych. Jednak podczas zwiększenia aktywności cyklooksygenaz i lipooksygenaz kwas arachidonowy jest źródłem wielu mediatorów zapalenia. W sytuacji zaburzenia proporcji DHA do kwasu arachidonowego w błonach komórkowych na rzecz kwasu arachidonowego, przeważa tworzenie neurotoksycznych i prozapalnych metabolitów, co może prowadzić do zmian czynnościowych i neurodegeneracyjnych.

Wyniki przedstawionych badań wskazują, że duża zawartość DHA w fosfolipidach błonowych wpływa na czynność, przeżywalność i plastyczność neuronów, a jego niedobór lub upośledzony metabolizm jest na pewno jednym z czynników sprawczych obniżenia zdolności poznawczych, powstawania chorób psychicznych lub neurodegeneracyjnych. Wpływ DHA na czynność mózgu jest wieloczynnikowy, wymaga dalszych badań i doskonalonych technik pomiarowych, żeby poznać fizyczne właściwości błon neuronalnych z udziałem DHA oraz biochemiczne konsekwencje zmian w przekazywaniu sygnałów między komórkami tkanki nerwowej i transdukcji tych sygnałów w komórkach spowodowane niedoborem DHA w fosfolipidach błonowych.

## PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Panu Lesławowi Miśkiewiczowi za wykonanie rysunków.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Abumrad N.A., El-Maghrabi M.R., Amri E.Z., Lopez E., Grimaldi P.A.: Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long chain-fatty acids that is induced during pre-adipocyte differentiation. Homology with human CD36. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 17665–17668
- [2] Abumrad N., Harmon C., Ibrahim A.: Membrane transport of long-chain fatty acids: evidence for a facilitated process. *J. Lipid Res.*, 1998; 39: 2309–2318
- [3] Akbar M., Baick J., Calderon F., Wen Z., Kim H.Y.: Ethanol promotes neuronal apoptosis by inhibiting phosphatidylserine accumulation. *J. Neurosci. Res.*, 2006; 83: 432–440
- [4] Akbar M., Calderon F., Wen Z., Kim H.Y.: Docosahexaenoic acid: a positive modulator of Akt signaling in neuron survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 10858–10863
- [5] Ariketh D., Nelson R., Vance J.E.: Defining the importance of phosphatidylserine synthase-1 (PSS1): unexpected viability of PSS1-deficient mice. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 12888–12897
- [6] Armstrong V.T., Brzustowicz M.R., Wassall S.R., Jenki L.J., Stillwell W.: Rapid flip-flop in polyunsaturated (docosahexaenoate) phospholipid membranes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003; 414: 74–82
- [7] Avruch J., Zhang X., Kyriakis J.M.: Raf meets Ras: completing the framework of a signal transduction pathway. *Trends Biochem. Sci.*, 1994; 19: 279–283
- [8] Aziz M.H., Hafeez B.B., Sand J.M., Pierce D.B., Aziz S.W., Dreeschmidt N.E., Verma A.K.: Protein kinase C $\epsilon$  mediates Stat3Ser727 phosphorylation, Stat3-regulated gene expression, and cell invasion in various human cancer cell lines through integration with MAPK cascade (RAF-1, MEK1/2, and ERK1/2). *Oncogene*, 2010; 29: 3100–3109
- [9] Bajohrs M., Darios F., Peak-Chew S.Y., Davletov B.: Promiscuous interaction of SNAP-25 with all plasma membrane syntaxins in a neuroendocrine cell. *Biochem. J.*, 2005; 392: 283–289
- [10] Balasubramanian K., Schroit A.J.: Aminophospholipid asymmetry: a matter of life and death. *Annu. Rev. Physiol.*, 2003; 65: 701–734
- [11] Bazan N.G.: Neuroprotectin D1-mediated anti-inflammatory and survival signaling in stroke, retinal degenerations, and Alzheimer's disease. *J. Lipid Res.*, 2009; 50(Suppl): S400–S405
- [12] Bednarek W., Karowicz-Bilińska A., Kotarski J., Nowak-Markwitz E., Poręba R., Spaczyński M.: Rekomendacje Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w zakresie stosowania kwasów omega-3 w położnictwie. *Ginekol. Pol.*, 2010; 81: 467–469
- [13] Bendani M.K., Palluy O., Cook-Moreau J., Beneytout J.L., Rigaud M., Vallat J.M.: Localization of 12-lipoxygenase mRNA in cultured oligodendrocytes and astrocytes by *in situ* reverse transcriptase and polymerase chain reaction. *Neurosci. Lett.*, 1995; 189: 159–162
- [14] Bonen A., Luiken J.J., Glatz J.F.: Regulation of fatty acid transport and membrane transports in health and disease. *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 239: 181–192
- [15] Bonifacino J.S., Glick B.S.: The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell*, 2004; 116: 153–166
- [16] Bosaard N., Croset M., Normand S., Pousin J., Lecerf J., Laville M., Tayot J.L., Lagarde M.: Human plasma albumin transports [<sup>13</sup>C]docosahexaenoic acid in two lipid forms to blood cells. *J. Lipid Res.*, 1997; 38: 1571–1582
- [17] Boudraut C., Bazinet R.P., Kang J.X., Ma D.W.: Cyclooxygenase-2 and n-6 PUFA are lower and DHA is higher in the cortex of fat-1 mice. *Neurochem. Int.*, 2010; 56: 585–589
- [18] Bourre J.M., Piciotti M., Dumont O.: Delta 6-desaturase in brain and liver during development and aging. *Lipids*, 1990; 25: 354–356
- [19] Bousquet M., Saint-Pierre M., Julien C., Salem J., Cicchetti F., Calon F.: Beneficial effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on toxin-induced neuronal degeneration in an animal model of Parkinson's disease. *FASEB J.*, 2008; 22: 1213–1225
- [20] Breckenridge W.C., Gombos G., Morgan I.G.: The lipid composition of adult rat brain synaptosomal membranes. *Biochem. Biophys. Acta*, 1972; 266: 695–707
- [21] Breckenridge W.C., Morgan I.G., Zanetta J.P., Vincendon G.: Adult rat brain synaptic vesicles II. *Biochim. Biophys. Acta*, 1973; 211: 681–668
- [22] Brenna J.T.: Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2002; 5: 127–132
- [23] Brown E.R., Subbaiah P.V.: Differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on human skin fibroblasts. *Lipids*, 1994; 29: 825–829
- [24] Calder P.C., Yaqoob P., Harvey D.J., Watts A., Newsholme E.A.: Incorporation of fatty acids by concanavalin A-stimulated lymphocytes and the effect on fatty acid composition and membrane fluidity. *Biochem. J.*, 1994; 300: 509–518
- [25] Calderon F., Kim H.Y.: Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J. Neurochem.*, 2004; 90: 979–988
- [26] Calon F., Cole G.: Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: evidence from animal studies. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2007; 77: 287–293
- [27] Cardone M.H., Roy N., Stennicke H.R., Salvesen G.S., Franke T.F., Stanbridge E., Frisch S., Reed J.C.: Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*, 1998; 282: 1318–1321
- [28] Chen C.T., Green J.T., Orr S.K., Bazinet R.P.: Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2008; 79: 85–91
- [29] Chen C.T., Ma D.W., Kim J.H., Mount H.T., Bazinet R.P.: The low density lipoprotein receptor is not necessary for maintaining brain polyunsaturated fatty acid concentrations. *J. Lipid Res.*, 2008; 49: 147–152
- [30] Chen J., Fujii K., Zhang L., Roberts T., Fu H.: Raf-1 promotes cell survival by antagonizing apoptosis signal-regulating kinase 1 through a MEK-ERK independent mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 7783–7788
- [31] Cheon S.H., Huh M.H., Lee Y.B., Park J.S., Sohn H.S., Chung W.C.: Effect of dietary linoleate/alpha-linolenic balance on the brain lipid composition, reproductive outcome and behavior of rats during their prenatal and postnatal development. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2000; 64: 2290–2297
- [32] Cho H.P., Nakamura M., Clarke D.: Cloning, expression and fatty acid regulation of the human  $\Delta$ 5-desaturase. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 37335–37339
- [33] Cho H.P., Nakamura M.T., Clarke D.: Cloning, expression and nutritional regulation of mammalian  $\Delta$ 6-desaturase. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 471–477
- [34] Connel E., Darios F., Broersen K., Gatsby N., Peak-Chew S.Y., Rickman C., Davletov B.: Mechanism of arachidonic acid action on syntaxin-18. *EMBO Reports*, 2007; 8: 414–419
- [35] Corey E.J., Shih C., Cashman J.R.: Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983; 80: 3581–3584
- [36] D'Andrea S., Guillou H., Jan S., Catheline D., Thibault J.N., Bouriel M., Rioux V., Legrand P.: The same rat  $\Delta$ 6-desaturase not only acts on 18- but also on 24-carbon fatty acids in very-long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Biochem. J.*, 2002; 364: 49–55
- [37] Darios F., Davletov B.: Omega-3 and omega-6 fatty acids stimulate cell membrane expansion by acting on syntaxin 3. *Nature*, 2006; 440: 813–817
- [38] Datta S.R., Dudek H., Tao X., Masters S., Fu H., Gotoh Y., Greenberg M.E.: Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell*, 1997; 91: 231–241
- [39] de Antueno R.J., Knickle L.C., Smith H., Elliot M.L., Allen S.J., Nwaka S., Winther M.D.: Activity of human  $\Delta$ 5 and  $\Delta$ 6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *FEBS Lett.*, 2001; 509: 77–80
- [40] DeMar J.C. Jr., Ma K., Bell J.M., Rapoport S.I.: Half-lives of docosahexaenoic acid in rat brain phospholipids are prolonged by 15 weeks of nutritional deprivation of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Neurochem.*, 2004; 91: 1125–1137
- [41] Dhillon A.S., Meikle S., Yazici Z., Eulitz M., Kolch W.: Regulation of Raf-1 activation and signaling by dephosphorylation. *EMBO J.*, 2002; 21: 64–71
- [42] Dudek H., Datta S.R., Franke T., Birnbaum M.J., Yao R., Cooper G.M., Segal R.A., Kaplan D., Greenberg M.E.: Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. *Science*, 1997; 275: 661–665
- [43] Duman J.G., Forte J.G.: What is the role of SNARE proteins in membrane fusion. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2003; 285: C237–C249
- [44] Dusserre E., Pulcini T., Bourdillon M.C., Ciavatti M., Berthezene F.: Omega-3 fatty acids in smooth muscle cell phospholipids increase membrane cholesterol efflux. *Lipids*, 1995; 30: 35–41



- [45] Edmond J.: Essential polyunsaturated fatty acids and the barrier to the brain. *J. Mol. Neuroscience*, 2001; 16: 181–193
- [46] Ehehalt R., Keller P., Haass C., Thiele C., Simons K.: Amyloidogenic processing of the Alzheimer  $\beta$ -amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J. Cell Biol.*, 2003; 160: 113–123
- [47] Eldho N.V., Feller S.E., Tristram-Nagle S., Polozov I.V., Gawrisch K.: Polyunsaturated docosahexaenoic vs. docosapentaenoic acid – differences in lipid matrix properties from the loss of one double bond. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003; 125: 6409–6421
- [48] Ellens H., Siegel D.P., Alford D., Yeagle P.L., Boni L., Lis L.J., Quinn P.J., Bentz J.: Membrane fusion and inverted phase. *Biochemistry*, 1989; 28: 3692–3703
- [49] Farooqui A.A., Horrocks L.A.: Plasmalogens, phospholipase A<sub>2</sub> and docosahexaenoic acid turnover in brain tissue. *J. Mol. Neurosci.*, 2001; 16: 263–272
- [50] Farooqui A.A., Yang H.C., Rosenberger T.A., Horrocks L.A.: Phospholipase A<sub>2</sub> and its role in brain tissue. *J. Neurochem.*, 1997; 69: 889–901
- [51] Fitscher B.A., Riedel H.D., Young K.C., Stremmel W.: Tissue distribution and cDNA cloning of a human fatty acid transport protein (hsFATP4). *Biochim. Biophys. Acta*, 1998; 1443: 381–385
- [52] Fox B.G., Lyle K.S., Rogge C.E.: Reactions of the diiron enzyme stearyl-acyl carrier protein desaturase. *Acc. Chem. Res.*, 2004; 37: 421–429
- [53] Freeman M.P., Hibbeln J.R., Wisner K.L., Davis J.M., Mischoulon D., Peet M., Keck P.E., Marangell L.B., Richardson A.J., Lake J., Stoll A.L.: Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J. Clin. Psychiatry*, 2006; 67: 1954–1967
- [54] Futterman A.H., Banker G.A.: The economics of neurite outgrowth: the addition of new membrane to growing axons. *Trends Neurosci.*, 1996; 19: 144–149
- [55] Garcia M., Kim H.Y.: Mobilization of arachidonate and docosahexaenoate by stimulation of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor in rat C6 glioma cells. *Brain Res.*, 1997; 768: 43–48
- [56] Garcia M.C., Ward G., Ma Y.C., Salem N. Jr., Kim H.Y.: Effect of docosahexaenoic acid on the synthesis of phosphatidylserine in rat brain in microsomes and C6 glioma cells. *J. Neurochem.*, 1998; 70: 24–30
- [57] Ge Y., Wang X., Chen Z., Landman N., Lo E.H., Kang J.X.: Gene transfer of the *Caenorhabditis elegans* n-3 fatty acid desaturase inhibits neuronal apoptosis. *J. Neurochem.*, 2002; 82: 1360–1366
- [58] Ghosh S., Karin M.: Missing pieces in the NF- $\kappa$ B puzzle. *Cell*, 2002; 109: 81–96
- [59] Gibney M.J., Bolton-Smith C.: The effect of a dietary supplement of n-3 polyunsaturated fat on platelet lipid composition, platelet function and platelet plasma membrane fluidity in healthy volunteers. *Br. J. Nutr.*, 1988; 60: 5–12
- [60] Gimeno R.E., Ortegon A.M., Patel S., Punreddy S., Ge P., Sun Y., Lodish H.F., Stahl A.: Characterization of a heart-specific fatty acid transport protein. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 16039–16044
- [61] Goracci G., Blomstrand C., Arienti G., Hamberger A., Porcellati G.: Base-exchange enzymic system for the synthesis of phospholipids in neuronal and glial cells and their subfractions: a possible marker for neuronal membranes. *J. Neurochem.*, 1973; 20: 167–1180
- [62] Guo M., Stockert L., Akbar M., Kim H.Y.: Neuronal specific increase of phosphatidylserine by docosahexaenoic acid. *J. Mol. Neurosci.*, 2007; 33: 67–73
- [63] Hajri T., Abumrad N.A.: Fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology. *Annu. Rev. Nutr.*, 2002; 22: 383–415
- [64] Hall A.M., Wiczor B.M., Herrmann T., Stremmel W., Bernlohr D.A.: Enzymatic properties of purified murine fatty acid transport protein 4 and analysis of acyl CoA synthetase activities in tissues from FATP4 null mice. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 11948–11954
- [65] Hamilton L., Greiner R., Salem N. Jr., Kim H.Y.: n-3 fatty acid deficiency decreases phosphatidylserine accumulation selectively in neuronal tissues. *Lipids*, 2000; 35: 863–869
- [66] Hamilton J., Kamp F.: How are fatty acids transported in membranes? Is it proteins or by free diffusion through the lipids? *Diabetes*, 1999; 48: 2255–2269
- [67] Harasim E., Kalinowska A., Stepek T., Chabowski A.: Udział białek transportujących (FAT/CD36, FABPm, FATP) w metabolizmie lipidów w mięśniach szkieletowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 433–441
- [68] Harris R.A., Baxter D.M., Mitchell M.A., Hitzemann R.J.: Physical properties and lipid composition of brain membranes from ethanol tolerant-dependent mice. *Mol. Pharmacol.*, 1984; 25: 401–409
- [69] Harwood J.L., Guschina I.A.: The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie*, 2009; 91: 679–684
- [70] Hendriks T., Klompmakers A.A., Daemen F.J., Bonting S.L.: Biochemical aspects of the visual process. XXXII. Movement of sodium ions through bilayers composed of retinal and rod outer segment lipids. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976; 433: 271–281
- [71] Hirsch D., Stahl A., Lodish H.F.: A family of fatty acid transporters conserved from mycobacterium to man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 8625–8629
- [72] Hoolbrok P.G., Wurtman R.J.: Presence of base-exchange activity in rat brain nerve endings: dependence on soluble substrate concentrations and effect of cations. *J. Neurochem.* 1988; 50: 156–162
- [73] Horrocks L.A., Farooqui A.A.: Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2004; 70: 361–372
- [74] Hussein N., Ah-Sing E., Wilkinson P., Leach C., Griffin B.A., Milward D.J.: Long-chain conversion of [<sup>13</sup>C]linoleic acid and  $\alpha$ -linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. *J. Lipid Res.*, 2005; 46: 269–280
- [75] Igarashi M., DeMar Jr. J.C., Ma K., Chang L., Bell J.M., Rapoport S.I.: Docosahexaenoic acid synthesis from  $\alpha$ -linolenic acid by rat brain is unaffected by dietary n-3 PUFA deprivation. *J. Lipid Res.*, 2007; 48: 1150–1158
- [76] Igarashi M., Gao F., Kim H.W., Ma K., Bell J.M., Rapoport S.I.: Dietary n-6 PUFA deprivation for 15 weeks reduces arachidonic acid concentrations while increasing n-3 PUFA concentrations in organs of post-weaning male rats. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1791: 132–139
- [77] Imamura K., Hishikawa N., Ono K., Suzuki H., Sawada M., Nagatsu T., Yoshida M., Hashizume Y.: Cytokine production of activated microglia and decrease in neurotrophic factors of neurons in the hippocampus of Lewy body disease brains. *Acta Neuropathol.*, 2005; 109: 141–150
- [78] Improtta-Brears T., Ghosh S., Bell R.M.: Mutational analysis of Raf-1 cysteine rich domain. Requirement for a cluster of basic aminoacids for interaction with phosphatidylserine. *Mol. Cell. Biochem.*, 1999; 198: 171–178
- [79] Innis S.M.: Essential fatty acid transfer and fetal development. *Placenta*, 2005; 26: S70–S75
- [80] Innis S.M.: Polyunsaturated fatty acids in human milk: an essential role in infant development. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2004; 554: 27–43
- [81] Innis S.M., Friesen R.W.: Essential n-3 fatty acids among pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008; 87: 548–557
- [82] Isola L.M., Zhou S.L., Kiang C.L., Stump D.D., Bradbury M.W., Berk P.D.: 3T3 fibroblasts transfected with a cDNA for mitochondrial aspartate aminotransferase express plasma membrane fatty acid binding protein and saturable fatty acid uptake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 9866–9870
- [83] Itokazu N., Ikegaya Y., Nishikawa M., Matsuki N.: Bidirectional actions of docosahexaenoic acid on hippocampal neurotransmissions *in vivo*. *Brain Res.*, 2000; 862: 211–216
- [84] Jackowski S., Rock C.O.: Stimulation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phospholipase C activity by phosphatidic acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989; 268: 516–524
- [85] Kamada T., Yamashita T., Baba Y., Kai M., Setoyama S., Chuman Y., Otsuji S.: Dietary sardine oil increases erythrocyte membrane fluidity in diabetic patients. *Diabetes*, 1986; 35: 604–611
- [86] Kamp F., Hamilton J.A.: How fatty acids of different chain length enter and leave cells by free diffusion. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2006; 75: 149–159
- [87] Kawakita E., Hashimoto M., Shido O.: Docosahexaenoic acid promotes neurogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Neuroscience*, 2006; 139: 991–997
- [88] Kawashima H., Akimoto K., Jareonkitmongkol S., Shirasaka N., Shimizu S.: Inhibition of rat liver microsomal desaturases by curcumin and related compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1996; 60: 108–110
- [89] Kawashima K., Musoh H., Kozuka H.: Peroxisome proliferators enhance linoleic acid metabolism in rat liver: increased biosynthesis of  $\omega$ 6 polyunsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 9170–9175
- [90] Kevala J.H., Kim H.Y.: Determination of substrate preference in phosphatidylserine decarboxylation by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Biochem.*, 2001; 292: 130–138



- [91] Kim H.Y., Akbar M., Lau A.: Effects of docosapentaenoic acid on neuronal apoptosis. *Lipids*, 2003; 38: 453–457
- [92] Kim H.Y., Akbar M., Lau A., Edsall L.: Inhibition of neuronal apoptosis by docosahexaenoic acid (22:6n-3). *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 35215–35223
- [93] Kim H.Y., Bigelow J., Kevala J.H.: Substrate preference in phosphatidylserine biosynthesis for docosahexaenoic acid containing species. *Biochemistry*, 2004; 43: 1030–1036
- [94] Kim H.Y., Edsall L., Garcia M., Zhang H.: The release of polyunsaturated fatty acids and their lipoxygenation in the brain. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1999; 447: 75–85
- [95] Kim H.F., Weeber E.J., Sweatt J.D., Stoll A.L., Marangell L.B.: Inhibitory effects of omega-3 fatty acids on protein kinase C activity *in vitro*. *Mol. Psychiatry*, 2001; 6: 246–248
- [96] Kumari P., Kumar M., Gupta V., Reddy C.R., Jha B.: Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chemistry*, 2010; 120: 749–757
- [97] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygodza B., Iwanow K.: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. Inst. Żywności i Żywnienia, Warszawa 1998
- [98] Lauritzen L., Hansen H.S., Jorgensen M.H., Michaelsen K.F. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog. Lipid Res.*, 2001; 40: 1–94
- [99] Lin P.Y., Su K.P.: A meta-analytic review of double-blind, placebo-controlled trials of antidepressant efficacy of omega-3 fatty acids. *J. Clin. Psychiatry*, 2007; 68: 1056–1061
- [100] Lukiw W.J., Bazan N.G.: Survival signalling in Alzheimer's disease. *Biochem. Soc. Trans.*, 2006; 34: 1277–1282
- [101] Lukiw W.J., Cui J.G., Marcheselli V.L., Bodker M., Botkjaer A., Gotlinger K., Serhan C.N., Bazan N.G.: A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 2774–2783
- [102] Marcheselli V.L., Hong S., Lukiw W.J., Tian X.H., Gronert K., Musto A., Hardy M., Gimenez J.M., Chiang N., Serhan C.N., Bazan N.G.: Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 43807–43817
- [103] Martinez M.: Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J. Pediatr.*, 1992; 120: 129–138
- [104] Massaro M., Habib A., Lubrano L., Del Turco S., Lazzarini G., Bourcier T., Weksler B.B., De Caterina R.: The omega-3 fatty acid docosahexaenoate attenuates endothelial cyclooxygenase-2 induction through both NAD(P)H oxidase and PKCε inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 15184–15189
- [105] Mattson M.P., Chan S.I., Duan W.: Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. *Physiol. Rev.*, 2002; 82: 637–672
- [106] Meers P., Hong K., Papahadjopoulos D.: Free fatty acid enhancement of cation-induced fusion of liposomes: synergism with synexin and other promoters of vesicle aggregation. *Biochemistry*, 1988; 27: 6784–6794
- [107] Moore S.A.: Polyunsaturated fatty acid synthesis and release by brain-derived cells *in vitro*. *J. Mol. Neurosci.*, 2001; 16: 195–200
- [108] Moore S.A., Yoder E., Murphy S., Dutton G., Spector A.: Astrocytes not neurons, produce docosahexaenoic acid (22:6n-3) and arachidonic acid (20:4n-6). *J. Neurochem.*, 1991; 56: 518–524
- [109] Moore S.A., Yoder E., Spector A.A.: Role of the blood-brain barrier in the formation of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids from essential fatty acid precursors. *J. Neurochem.*, 1990; 55: 391–402
- [110] Nakamura M.T., Nara T.Y.: Essential fatty acid synthesis and its regulation in mammals. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2003; 68: 145–150
- [111] Nakamura M.T., Phinney S.D., Tang A.B., Oberbauer A.M., Germna J.B., Murray J.D.: Increased hepatic delta 6-desaturase activity with growth hormone expression in the MG101 transgenic mouse. *Lipids*, 1996; 31: 139–143
- [112] Nakamura M.T., Tang A.B., Villanueva J., Halsted C., Phinney S.: Selective reduction of Δ6 and Δ5 desaturase activities but not Δ9 desaturase in micropigs chronically fed ethanol. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 450–454
- [113] Napier J.A., Michaelson L.V.: Genomic and functional characterization of polyunsaturated fatty acid biosynthesis in *Caenorhabditis elegans*. *Lipids*, 2001; 36: 761–766
- [114] Niebylski C.D., Salem N. Jr.: A calorimetric investigation of a series of mixed-chain polyunsaturated phosphatidylcholines: effects of sn-2 chain length and degree of unsaturation. *Biophys. J.*, 1994; 67: 2387–2393
- [115] Nishikawa M., Kimura S., Akaike N.: Facilitatory effect of docosahexaenoic acid on N-methyl-D-aspartate responses in pyramidal neurons of rat cerebral cortex. *J. Physiol.*, 1994; 475: 83–93
- [116] Nishiyama, M., Okamoto H., Watanabe T., Hori T., Hada T., Ueda N., Yamamoto S., Tsukamoto H., Watanabe K., Kirino T.: Localization of arachidonate 12-lipoxygenase in canine brain tissues. *J. Neurochem.*, 1992; 58: 1395–1400
- [117] Nishizuka Y.: Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *FASEB J.*, 1995; 9: 484–494
- [118] O'Brien J.S., Sampson E.L.: Fatty acid and aldehyde composition of the major brain lipids in normal human brain. *J. Lipid Res.*, 1965; 4: 545–551
- [119] Ouellet M., Emond V., Chen C.T., Julien C., Bourasset F., Oddo S., LaFerla F., Bazinet R.P., Calon F.: Diffusion of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids through the blood-brain barrier: an *in situ* cerebral perfusion study. *Neurochem. Int.*, 2009; 55: 476–482
- [120] Pike L.J.: Rafts defined: a report on the keystone symposium on lipid rafts and cell function. *J. Lipid Res.*, 2006; 47: 1597–1598
- [121] Poling J.S., Vicini S., Rogawski M.A., Salem N. Jr.: Docosahexaenoic acid block of neuronal voltage-gated K<sup>+</sup> channels: subunit selective antagonism by zinc. *Neuropharmacology*, 1996; 35: 969–982
- [122] Popp-Snijders C., Schouten J.A., Van Blitterswijk W.J., Van Der Veen E.A.: Changes in membrane lipid composition of human erythrocytes after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Biochim. Biophys. Acta*, 1986; 854: 31–37
- [123] Prasad M.R., Lovell M.A., Yatin M., Dhillon H., Markesbery W.R.: Regional membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease. *Neurochem. Res.*, 1998; 23: 81–88
- [124] Qian Z., Drewes L.R.: Cross-talk between receptor-regulated phospholipase D and phospholipase C in brain. *FASEB J.*, 1991; 5: 315–319
- [125] Raederstorff D., Moser U.: Influence of an increased intake of linoleic acid on the incorporation of dietary (n-3) fatty acids in phospholipids and on prostanoid synthesis in rat tissues. *Biochim. Biophys. Acta*, 1992; 1165: 194–200
- [126] Ramadan E., Rosa A.O., Chang L., Chen M., Rapoport S.I., Basselin M.: Extracellular-derived calcium does not initiate *in vivo* neurotransmission involving docosahexaenoic acid. *J. Lipid Res.*, 2010; 51: 2334–2340
- [127] Rapoport S.I., Chang M.C., Spector A.: Delivery and turnover of plasma-derived essential PUFAs in mammalian brain. *J. Lipid Res.*, 2001; 42: 678–685
- [128] Rapoport S.I., Igarashi M.: Can the rat liver maintain normal brain DHA metabolism in the absence of dietary DHA? *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2009; 81: 119–123
- [129] Rapoport S.I., Rao J.S., Igarashi M.: Brain metabolism of nutritionally essential polyunsaturated fatty acids depends on both the diet and the liver. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2007; 77: 251–261
- [130] Rimoldi O.J., Finarelli G.S., Brenner R.R.: Effects of diabetes and insulin on hepatic delta 6-desaturase gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 283: 323–326
- [131] Sadurska B., Szumiło M.: Fosfolipazy A w komórkach ssaków – budowa, właściwości, rola fizjologiczna i patologiczna. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 116–123
- [132] Salem N. Jr., Litman B., Kim H.Y., Gawrisch K.: Mechanism of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids*, 2001; 36: 945–959
- [133] Schiavo G., Shone C.C., Bennett M.K., Scheller R.H., Montecucco C.: Botulinum neurotoxin type C cleaves a single Lys-Ala bond within the carboxyl-terminal region of syntaxins. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 10566–10570
- [134] Scott B.L., Bazan N.G.: Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 2903–2907
- [135] Seiz L., Klein M.L.: Structural properties of a highly polyunsaturated lipid bilayer from molecular dynamics simulations. *Biophys. J.*, 2001; 81: 204–216
- [136] Serhan C.N., Arita M., Hong S., Gotlinger K.: Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. *Lipids*, 2004; 39: 1125–1132

- [137] Serhan C.N., Brain S.D., Buckley C.D., Gilroy D.W., Haslett C., O'Neill L.A., Perretti M., Rossi A.G., Wallace J.L.: Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.*, 2007; 21: 325–332
- [138] Serhan C.N., Yang R., Martinod K., Kasuga K., Pillai P.S., Porter T.F., Oh S.F., Spite M.: Maresins: novel macrophage mediators with potent anti-inflammatory and proresolving actions. *J. Exp. Med.*, 2009; 206: 15–23
- [139] Shaikh S.R., Rockett B.D., Salameh M., Carraway K.: Docosahexaenoic acid modifies the clustering and size of lipid rafts and the lateral organization and surface expression of MHC class I of EL4 cells. *J. Nutr.*, 2009; 139: 1632–1639
- [140] Shanklin J., Guy J.E., Mishra G., Lindqvist Y.: Desaturases: emerging models for understanding functional diversification of diiron-containing enzymes. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 18559–18563
- [141] Shiao Y.J., Lupo G., Vance J.E.: Evidence that phosphatidylserine is imported into mitochondria via a mitochondria-associated membrane and that the majority of mitochondrial phosphatidylethanolamine is derived from decarboxylation of phosphatidylserine. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 11190–11198
- [142] Shimizu S., Akimoto K., Shinmen Y., Kawashima H., Sugano M., Yamada H.: Sesamin is a potent and specific inhibitor of  $\Delta 5$  desaturase in polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Lipids*, 1991; 26: 512–516
- [143] Simons K., Ikonen E.: Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 1997; 387: 569–572
- [144] Sobajima T., Tamiya-Koizumi K., Ishihara H., Kojima K.: Effects of fatty acid modification of ascites tumor cells on pulmonary metastasis in rat. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1986; 77: 657–663
- [145] Sprecher H.: Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1486: 219–231
- [146] Stahl A.: A current review of fatty acid transport proteins. *Eur. J. Physiol.*, 2004; 447: 722–727
- [147] Stahl L.A., Begg D.P., Weisinger R.S., Sinclair A.J.: The role of omega-3 fatty acids in mood disorders. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2008; 9: 57–64
- [148] Stillwell W., Ehringer W.D., Jenki L.J.: Docosahexaenoic acid increases permeability of lipid vesicles and tumor cells. *Lipids*, 1993; 28: 103–108
- [149] Stillwell W., Shaikh S.R., Zerouga M., Siddiqui R., Wassall S.R.: Docosahexaenoic acid affects cell signalling by altering lipid rafts. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2005; 45: 559–579
- [150] Stillwell W., Wassall S.R.: Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem. Phys. Lipids*, 2003; 126: 1–27
- [151] Stremmel W., Strohmeyer G., Berk P.D.: Hepatocellular uptake of oleate is energy dependent, sodium linked, and inhibited by an antibody to a hepatocyte plasma membrane fatty acid binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 3584–3588
- [152] Strokina M., Sergeeva M., Reiser G.: Prostaglandin synthesis in rat brain astrocytes is under the control of the n-3 docosahexaenoic acid, released by group VIB calcium-independent phospholipase A2. *J. Neurochem.*, 2007; 102: 1771–1782
- [153] Su H.M., Brenna J.T.: Simultaneous measurement of desaturase activities using stable isotope tracers or a non tracer method. *Anal. Biochem.*, 1998; 261: 43–50
- [154] Tocher D.R., Leaver M.J., Hodgson P.A.: Recent advances in the biochemistry and molecular biology of fatty acyl desaturases. *Prog. Lipid Res.*, 1998; 37: 73–117
- [155] Treen M., Uauy R.D., Jameson D.M., Thomas V.L., Hoffman D.R.: Effect of docosahexaenoic acid on membrane fluidity and function in intact cultured Y-79 retinoblastoma cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992; 294: 564–570
- [156] Umhau J.C., Zhou W., Carson R.E., Rapoport S.I., Polozova A., Demar J., Hussein N., Bhattacharjee A.K., Ma K., Esposito G., Majchrzak S., Herscovitch P., Eckelman W.C., Kurdziel K.A., Salem N. Jr.: Imaging incorporation of circulating docosahexaenoic acid into the human brain using positron emission tomography. *J. Lipid Res.*, 2009; 50: 1259–1268
- [157] Vaidyanathan V.V., Rao K.V., Sastry P.S.: Regulation of diacylglycerol kinase in rat brain membranes by docosahexaenoic acid. *Neurosci. Lett.*, 1994; 179: 171–174
- [158] Vance J.E.: Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 7248–7256
- [159] Vance J.E.: Phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids. *J. Lipid Res.*, 2008; 49: 1377–1387
- [160] Vance J.E., Vance D.E.: Phospholipid biosynthesis in mammalian cells. *Biochem. Cell Biol.*, 2004; 82: 113–128
- [161] Voelker D.R.: Phosphatidylserine functions as the major precursor of phosphatidylethanolamine in cultured BHK-21 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984; 8: 2669–2673
- [162] von Gise A., Lorenz P., Wellbrock C., Hemmings B., Berberich-Siebel F., Rapp U.R., Troppmair J.: Apoptosis suppression by Raf-1 and MEK1 requires MEK- and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent signals. *Mol. Cell. Biol.*, 2001; 21: 2324–2336
- [163] Vreugdenhil M., Bruehl C., Voskuyl R.A., Kang J.X., Leaf A., Wadman, W.J.: Polyunsaturated fatty acids modulate sodium and calcium currents in CA1 neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 12559–12563
- [164] Wallis J.G., Watts J.L., Browse J.: Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *Trends Biochem. Sci.*, 2002; 27: 467–473
- [165] Warensjö E., Risérus U., Gustafsson I.B., Mohsen R., Cederholm T., Vessby B.: Effects of saturated and unsaturated fatty acids on estimated desaturase activities during a controlled dietary intervention. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2008; 18: 683–690
- [166] Weir M.L., Klip A., Trimble W.S.: Identification of a human homologue of the vesicle-associated membrane protein (VAMP)-associated protein of 33 kDa (VAP-33): a broadly expressed protein that binds to VAMP. *Biochem J.*, 1998; 333: 247–251
- [167] Willard D.E., Harmon S.D., Kaduce T.L., Preuss M., Moore S.A., Robbins M.E., Spector A.A.: Docosahexaenoic acid synthesis from n-3 polyunsaturated fatty acids in differentiated rat brain astrocytes. *J. Lipid Res.*, 2001; 42: 1368–1376
- [168] Yehuda S., Rabinovitz S., Carasso R.L., Mostofsky D.I.: The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol. Aging*, 2002; 23: 843–853

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.