



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

ÀCIDS GRASSOS POLIINSATURATS I HIDROXILATS EN LA FISIOPATOLOGIA, DIAGNÒSTIC I TRACTAMENT DE LA MALALTIA D'ALZHEIMER

Martina Fiol Martí

Grau de Biologia

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2019-20

ÀCIDS GRASSOS POLIINSATURATS I HIDROXILATS EN LA FISIOPATOLOGIA, DIAGNÒSTIC I TRACTAMENT DE LA MALALTIA D'ALZHEIMER

Martina Fiol Martí

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2019-20

Paraules clau del treball:

Alzheimer, PUFA, DHA, NPD1, biomarcador, teràpia

Manuel Torres Canalejo

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Si	No	Si	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ÍNDEX

Introducció	3
1.1. La malaltia d'Alzheimer	3
1.2. Hipòtesis de la cascada amiloide	3
1.3. Prevenció i teràpies farmacològiques actuals	5
1.4. Àcids grassos poliinsaturats	6
Àcids grassos poliinsaturats i Alzheimer	7
2.1. Nivells de PUFAs alterats en l'AD	7
2.2. Paper neuroprotector dels PUFAs ω -3 al cervell humà	8
2.3. Relació entre PUFAs i dieta en l'AD	11
Lípids com a possibles biomarcadors en la malaltia d'Alzheimer	13
3.1. Alteracions lipídiques relacionades amb la fisiopatologia d'AD	13
3.2. PUFAs com a biomarcadors en l'AD	15
3.3. Transportadors de PUFAs com a possibles biomarcadors	17
Noves teràpies farmacològiques i PUFAs en la terapia de la malaltia d'Alzheimer	18
4.1. Noves aproximacions: " <i>Disease Modifying Drugs</i> "	18
4.2. Teràpies basades en PUFAs	20
Conclusions	25
Criteris de revisió	25
Referències bibliogràfiques	25

Resum

La malaltia d'Alzheimer (AD) és una malaltia neurodegenerativa que implica un deteriorament cognitiu sever i progressiu. El descobriment de mutacions específiques relacionades amb l'AD recolza la hipòtesi de la cascada amiloide, que postula que l'acumulació del pèptid amiloide- β ($A\beta$) desencadena mort neuronal i demència. Tot i això, la majoria dels fàrmacs que pretenen evitar l'acumulació d' $A\beta$ i/o la fosforilació de tau han fracassat de manera constant en assajos clínics. Aquest fet suggereix que la patologia amiloide es troba supeditada per un(s) altre(s) esdeveniment(s) cel·lular(s) responsable(s) de la patogènesi de l'AD. En aquest context, s'han descrit diverses alteracions lipídiques al cervell i en els líquids perifèrics de pacients amb AD, i es creu que la normalització dels nivells lipídics de les membranes cerebrals revertiria els efectes patògens relacionats amb l'AD. En aquest sentit, nous derivats hidroxilats de l'àcid docosahexaenoic (DHA) com ara resolvines naturals o sintètics poden modular la composició de lípids de membrana i mostrar efectes beneficiosos sobre els distintius de l'AD. Per tant, la normalització de l'entorn lipídic neuronal pot constituir una teràpia prometedora per al tractament o la prevenció d'AD.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder that causes severe and progressive cognitive impairment. The discovery of specific mutations related to AD supported the amyloid cascade hypothesis, which postulates that the accumulation of the amyloid- β ($A\beta$) peptide triggers neuronal death and dementia. However, most drugs focused on preventing $A\beta$ accumulation and/or tau phosphorylation have consistently failed in clinical trials. This would suggest that the amyloid pathology lies downstream of (an)other cellular event(s) that is/are responsible for AD pathogenesis. In this context, several lipid alterations have been described in the brain and in peripheral fluids of patients with AD and it is thought that normalization of brain membrane lipid levels would revert AD-related pathogenic events. In this sense, novel hydroxylated derivatives of docosahexaenoic acid (DHA) such as natural resolvins or synthetic hydroxy-DHA can modulate membrane lipid composition and show beneficial effects on AD hallmarks. Therefore, normalization of the neuronal lipid environment may constitute a promising therapy for AD treatment or prevention.

1. Introducció

1.1. La malaltia d'Alzheimer

La malaltia d'Alzheimer (AD per les seves sigles en anglés, *Alzheimer's disease*) és la principal causa neurològica de demència i afecta a uns 50 milions de persones arreu del món. La incidència de l'AD augmenta exponencialment cada 5 anys a partir dels 65 anys d'edat, i es calcula que la prevalença d'aquesta malaltia podria assolir els 152 milions de persones el 2050 (World Alzheimer Report, 2019). Els pacients amb AD pateixen una pèrdua progressiva de memòria, una reducció de les capacitats cognitives i, eventualment, demència. Els efectes debilitants de la malaltia, especialment en les etapes avançades, suposen una càrrega econòmica a les famílies dels pacients amb Alzheimer, principalment a causa del cost associat a l'atenció mèdica (World Alzheimer Report, 2018).

L'AD es pot classificar en dues categories: l'AD familiar (FAD, també coneguda com AD d'aparició precoç) i l'AD esporàdica (SAD, també coneguda com AD d'aparició tardana). El FAD generalment representa <1% del total de casos d'AD i corresponen a una variant de la malaltia que es manifesta abans dels 65 anys d'edat [1]. Aquesta forma familiar d'AD s'hereta per un patró autosòmic dominant, i és causada per mutacions en tres gens implicats en la generació del pèptid amiloide- β ($A\beta$): la proteïna precursora amiloide (APP), la presenilina 1 (PS1) i la presenilina 2 (PS2) [2]. A diferència del FAD, no s'ha trobat cap mutació genètica responsable en l'aparició i la patogènesi del SAD. En els casos d'aparició tardana, els principals factors de risc són l'envelliment i presentar l'al·lel ϵ 4 de l'apolipoproteïna E (APOE) [3].

1.2. Hipòtesis de la cascada amiloide

A dia d'avui, la hipòtesis de la cascada amiloide es la més acceptada per explicar l'etologia de l'AD. Existeixen altres hipòtesis no tan acceptades actualment, com la colinèrgica, però realment les causes subjacents a aquesta malaltia són en definitiva desconegudes. La identificació de mutacions cícniques en APP i presenilines en associació amb el FAD ha contribuït a la comprensió de la patogènesi de l'AD.

L'APP és una proteïna transmembrana que es veu sotmesa a una escissió enzimàtica primària per una α - o β -secretasa en el seu domini extracel·lular, així com una escissió secundària per una γ -secretasa dins de la regió transmembrana. Les metal·loproteases ADAM10 i/o ADAM17 semblen ser responsables d'aquesta activitat α -secretasa i l'aspartil proteasa BACE-1 de l'activitat β -secretasa, mentre que la γ -secretasa és un complex proteolític d'aspartil que conté quatre subunitats: PS1 o 2, nicastrina, APH1 i PEN-2 [4]. La escissió d'APP es pot produir per acció de β i γ -secretases a través de la ruta coneguda com la via amiloidogènica de l'APP. Primer, la ruptura d'APP per la β -secretasa produeix APP- β soluble (sAPP β) i un fragment C-terminal transmembrana conegut com β -CTF o C99. Aquest últim es sotmet a un clivatge per la γ -secretasa per generar el domini intracel·lular APP (AICD) i el pèptid amiloide- β ($A\beta$). Alternativament, l'APP es pot escindir per α - i γ -secretases en una ruta coneguda com la via no amiloidogènica de l'APP, on la α -secretasa talla l'APP just a la meitat de la seqüència $A\beta$ per generar APP α soluble (sAPP α)

i un fragment C-terminal transmembrana conegut com a α -CTF o C83. Aquest últim pateix una divisió més a través de la γ -secretasa per produir AICD i p3 (veure Figura 1) [5,6,7,8].

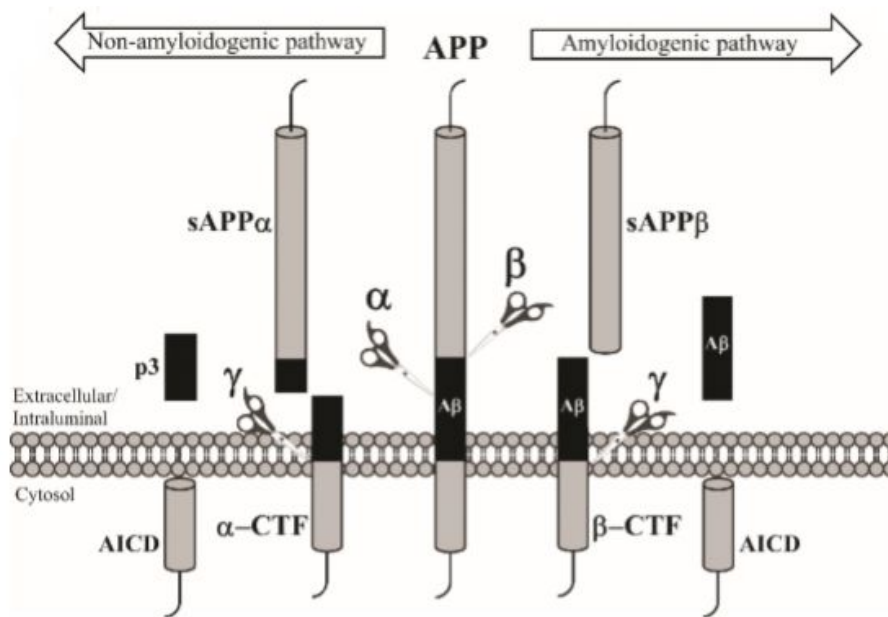


Figura 1. Processament d'APP per les secretases. En la via no amiloidegènica, l'APP pateix un primer clivatge per la α -secretasa, alliberant sAPP α . El posterior processament del fragment C-terminal associat a membrana C83 (α -CTF) per la γ -secretasa condueix a l'alliberament del fragment p3 i el domini intracel·lular d'APP (AICD). Contràriament, la via amiloidegènica s'inicia quan l'APP és clivada per la β -secretasa, alliberant-se sAPP β . El posterior processament del fragment C-terminal associat a membrana C99 (β -CTF) per la γ -secretasa condueix a l'alliberament del pèptid A β i el domini intracel·lular d'APP(AICD) [9].

En aquest context, es sap que les mutacions de FAD indueixen alteracions en el processament d'APP i augmenten la proporció d'A β 42/40. Atès que les mutacions tant en l'APP com en les presenilines són els principals causants de l'etiologia del FAD, es va suposar que el metabolisme alterat de l'APP es la causa principal que desencadena l'AD, provocant la formulació de la hipòtesi de la cascada amiloide fa més de 20 anys. Finalment, cal destacar que l'APP i les secretases són proteïnes associades a la membrana influïdes per la composició i l'estructura dels lípids de la membrana cel·lular, que al seu torn modulen el metabolisme de l'APP [10].

La hipòtesi de la cascada amiloide en la patogènesi de l'AD té com a element bàsic la formació primerenca de fragments tòxics d'A β procedents de la proteïna APP [11,12]. L'alliberament de fragments tòxics d'A β condueix a la formació d'agregats dimèrics i oligomèrics solubles, que són altament tòxics per a les neurones i inhibeixen directament la funció sinàptica [13]. A mesura que es genera més A β i es va agregant, es formen complexos macromoleculars insolubles que es dipositen en el medi extracel·lular del parènquima cerebral per formar plaques amiloides, un distintiu patològic de l'AD. La combinació dels efectes tòxics tant d'oligòmers solubles com de dipòsits de plaques insolubles d'A β condueix a una disrupció neuronal més avançada i a la mort neuronal, que al seu torn és responsable del descens cognitiu associat a la malaltia [14].

Mentre que les plaques amiloides es componen principalment de fragments de 42 aminoàcids, els fragments de 40 aminoàcids sembla que s'acumulen en petites arterioles i capil·lars al cervell, provocant angiopatia amiloide cerebral, augment del risc d'hemorràgia cerebral i deteriorament de l'intercanvi de nutrients, efectes que tenen un paper potencial en la reducció del transport d'àcids grassos essencials a través de la barrera hematoencefàlica. Actualment, aquest paper és especulatiu i es requereixen de més estudis per esclarir aquesta relació [15].

Els trets característics neuropatològics de l'AD inclouen, a part de la formació de plaques amiloides extracel·lulars a causa de l'agregació d'A β (normalment associada a la inflamació local i a la distrofia de neurites), la formació de cabdells neurofibril·lars intracel·lulars de proteïna tau hiperfosforilada, així com una pèrdua de connexions sinàptiques i degeneració neuronal [16]. Cada event patològic de l'AD va precedir d'un event anterior del qual n'és conseqüència, d'aquí el nom de "cascada", que acaba finalment en demència.

1.3. Prevenció i teràpies farmacològiques actuals

Els principals factors de risc de la demència són l'edat i la genètica. Tot i això, altres factors de risc també poden influir. Per exemple, atès que el cervell es nodreix d'una rica xarxa de vasos sanguinis, les alteracions cardiovasculars es consideren un factor de risc per a desenvolupar trastorns neurològics. De fet, un sistema cardiovascular saludable està sovint lligat a la protecció cerebral [17]. En aquest contexte, es recomana controlar els nivells de colesterol en sang, la pressió arterial i el pes corporal per mantenir una bona salut cerebral. Les dietes altes en greixos saturats i els estils de vida sedentaris estan esdevenint una gran preocupació pel que fa a la seva contribució a l'alta incidència de la demència a la societat occidental, mentre que l'exercici físic regular i les dietes saludables són bons hàbits per disminuir el risc de demència [18].

Actualment, només hi ha dos tipus de fàrmacs disponibles (aprovats) pel tractament de la malaltia d'Alzheimer: els inhibidors de l'acetilcolinesterasa (sovint anomenats "inhibidors de la colinesterasa") i els antagonistes del receptor NMDA.

Els inhibidors de la colinesterasa (donepezil, rivastigmina, galantamina, etc) inactiven de manera reversible les colinesterases, inhibint així la hidròlisi d'acetilcolina. Aquesta inhibició dóna lloc a un augment de les concentracions d'acetilcolina a les sinapsis colinèrgiques. Com que l'AD comporta una pèrdua substancial de neurones colinèrgiques en el neocòrtex i l'hipocamp, aquests tractaments estan enfocats a estabilitzar els nivells d'acetilcolina, alleugerint així els símptomes, en particular la deterioració de la memòria [19].

La memantina és l'antagonista del receptor NMDA més usat, que al unir-se al receptor inhibeix l'aflluència d'ions Ca²⁺ del medi extracel·lular, evitant així la mort neuronal per excitotoxicitat [20].

Tot i això, tant els inhibidors de la colinesterasa com els antagonistes de la NMDA generalment es consideren tractaments pal·liatius amb una efectivitat clínica mínima. Per tant, només un petit percentatge de pacients amb malaltia d'Alzheimer responen a aquests tractaments, i els que responen, normalment experimenten un curt període d'estabilització cognitiva després del qual pateixen de nou la caiguda cognitiva associada a la degeneració neuronal [21,22]. La limitada eficàcia

juntament amb els possibles efectes secundaris adversos d'aquests fàrmacs posa de manifest la necessitat clínica no satisfeta del tractament de la AD.

1.4. Àcids grassos poliinsaturats

Els àcids grassos poliinsaturats, freqüentment denominats pel seu acrònim en anglès PUFAs (*Poly-Unsaturated Fatty Acids*), són aquells àcids grassos que contenen més d'un doble enllaç en la seva estructura carbonada. El carboni més pròxim al grup carboxil s'anomena carboni α , el següent és el carboni β , i així successivament fins al carboni final, que s'anomena carboni ω . D'aquesta manera, els àcids grassos ω -3 són els que presenten el primer doble enllaç entre el tercer i el quart carboni a partir del carboni final. Les propietats fisiològiques dels PUFAs depenen en gran mesura de la posició que ocupa el primer doble enllaç a l'esquelet carbonat.

Els àcids grassos essencials linoleic (LA, 18:2 ω -6) i α -linoleic (ALA, 18:3 ω -3) han de ser incorporats a través de la dieta. Tot i que serveixen de punt de partida per a la síntesis de PUFAs més llargs i insaturats com l'àcid araquidònic (AA, 20:4 ω -6), l'àcid eicosapentaenoic (EPA, 20:5 ω -3) i l'àcid docosahexaenoic (DHA, 22:6 ω -3), aquesta conversió és molt poc eficient en humans, i normalment aquests PUFAs de cadena llarga també són incorporats majoritàriament amb la dieta, sobretot a partir de la ingesta de peix [23].

Els PUFAs són abundants a les membranes cel·lulars i s'incorporen principalment als fosfolípids de membrana. Després del teixit adipós, el cervell és l'òrgan amb un major contingut lipídic del cos humà. A més, la composició lipídica cerebral és molt particular, especialment enriquida en DHA [16]. Degut a l'alta concentració lipídica del cervell, és probable que alteracions en els nivells de DHA i altres PUFAs guardin relació amb molts de trastorns neurològics com l'AD.

En pacients afectats per AD, els canvis en el metabolisme lipídic són heterogenis: es limiten sols a les zones cerebrals afectades per la malaltia, que són principalment el còrtex i l'hipocamp, mentre que altres zones no afectades no presenten canvis [24]. En el còrtex prefrontal es produeix una disminució general d'àcids grassos de cadena llarga i el corresponent augment dels àcids grassos de cadena curta, fet que és compatible amb els nivells més baixos de PE que contenen DHA. Per contra, el còrtex entorrinal, que actua com a interfície principal entre l'hipocamp i el neocòrtex, presenta concentracions més elevades de PE i fosfatidilcolina (PC). Les diferències entre aquestes dues regions poden reflectir diferents etapes de la fisiopatologia de la malaltia, ja que es sap que l'escorça entorrinal es veu afectada abans i de forma més severa que les àrees neocorticals [25]. El còrtex prefrontal és la regió que presenta unes alteracions lipídiques més severes, amb una disminució de PE, lisofosfatidilcolina (LPC) i sulfatides, juntament amb nivells elevats de ceramides (Cer) i diacilglicerol (DAG). En el còrtex entorrinal els augments significatius només són evidents en àcid lisobifosfatídic (LBPA), SM i èsters de colesterol (ChoE).

2. Àcids grassos poliinsaturats i Alzheimer

2.1. Nivells de PUFAs alterats en l'AD

En pacients amb AD, s'observa una disminució dels nivells de DHA. A l'hipocamp, una de les principals regions afectades per la malaltia, la disminució dels nivells de DHA s'associa a nivells reduïts de fosfatidiletanolamina (PE) o plasmalogens de PE [26], donant suport a una relació entre nivells més baixos de DHA i la disminució cognitiva que comporta l'AD. A més, hi ha proves experimentals significatives en models animals que la deficiència o l'enriquiment de DHA a l'hipocamp s'associa amb reducció o augment de les capacitats de memòria i d'aprenentatge, respectivament [27]. Tant el cervell de pacients amb AD com de ratolins transgènics amb deteriorament cognitiu han demostrat presentar reduccions en els nivells de DHA i dels seus derivats [28]. Tot i això, existeix una sèrie de discrepàncies relacionades amb aquesta disminució del DHA cerebral perquè no tots els estudis relacionats demostren que el nivell de DHA cerebral disminueix amb la malaltia, de manera que aquest és un tema actual de discussió [29].

Els *lipids rafts* són dominis de membrana íntimament lligats amb la senyalització cel·lular. Es caracteritzen per alts continguts d'esfingolípid, colesterol i àcids grassos saturats [30]. S'ha observat que els nivells de DHA en els *lipids rafts* del còrtex cerebral de persones amb AD són menors que en persones de la mateixa edat que no presenten la malaltia [31]. El DHA té major tendència a acumular-se en *lipids rafts* que l'EPA. Llavors, tenint en compte que els nivells cerebrals de DHA són molt superiors als de EPA, el DHA té un potencial molt més gran per afectar la senyalització cel·lular modificant la composició d'aquests *lipids rafts* [32].

Degut a que les propietats biofísiques i estructurals del DHA i la PE en les membranes són oposades a les del colesterol i esfingomielina (SM), les anormalitats en la composició dels *lipids rafts* podrien alterar la viscositat, rigidesa i gruixa de la membrana de les neurones que alhora podrien alterar l'activitat de les secretases i augmentar la producció d'A β [33]. En conseqüència, la disminució dels nivells de PUFAs en els *lipids rafts* estaria relacionada amb un augment de colesterol i SM, promovent així efectes perjudicials per a les neurones, com la hiperfosforilació de tau i la via amiloidogènica d'APP, que tot plegat condueix a la degeneració neuronal.

Per altra banda, els nivells de DHA al cervell són aproximadament el doble dels nivells d'AA [34]. Recentment, diversos estudis s'han centrat en el paper del ratio DHA:AA cerebral en l'AD més que en els nivells absoluts de DHA. En un estudi amb ratolins, es va observar una disminució del ratio DHA:AA amb l'edat, i aquesta disminució va ser més acusada en animals portadors de l'al·lel APOE4, principal factor genètic de risc de la malaltia [35]. Però la disminució d'aquest ratio DHA:AA no té perquè ser necessàriament resultat d'una disminució del DHA. Per exemple, Chouinard-Watkins *et al.* van reportar nivells d'AA més elevats a l'hipocamp de ratolins APOE4:E4, sense canvis en els nivells de DHA. Igualment, les dietes occidentals, enriquides amb PUFAs ω -6, també influeixen en aquest ratio. Per tant, es necessiten de més estudis per esbrinar si les discrepàncies existents entorn la baixada de DHA amb la malaltia són degudes a efectes dietètics puntuals derivats de l'administració de PUFAs ω -6.

2.2. Paper neuroprotector dels PUFAs ω -3 al cervell humà

El desequilibri de PUFAs en termes generals, i els nivells alterats de DHA en particular, podrien ser un dels primers events que precedeixen a l'aparició de l'AD i, en conseqüència, poden representar una diana terapèutica adequada (veure apartat 4.2. de Teràpies basades en PUFAs).

A nivell cerebral, els PUFAs ω -3 més importants són el DHA i l'EPA, que contribueixen a mantenir la funcionalitat estructural de les membranes cel·lulars i la correcta funció del sistema nerviós [36]. Quantitativament, el DHA és el PUFA ω -3 més abundant del SNC, i els seus nivells cerebrals són generalment 250-300 vegades superiors als de l'EPA [32]. Hi ha diferències regionals: l'hipocamp i la còrtex prefrontal contenen el contingut més alt de DHA, mentre que l'hipotàlem el més baix [37]. Curiosament, tant l'hipocamp com el còrtex prefrontal són regions que es veuen severament afectades per l'AD [24]. Encara no està clar com els PUFAs ω -3 exerceixen les seves funcions cel·lulars i, per tant, quines cascades de senyalització es veuen afectades al cervell per la seva deficiència.

El fet de que el DHA sigui l'àcid gras majoritari en el cervell guarda relació amb el seu paper fisiològic a nivell central. A nivell cel·lular, l'exposició a PUFAs ω -3 millora la plasticitat sinàptica i augmenta la neurogènesi de l'hipocamp. Amb l'envelliment, el principal factor de risc per patir l'AD, el cervell es torna més propens a patir alteracions inflamatòries i/o oxidatives. Aquest fet es relaciona amb una disminució en la capacitat d'aprenentatge i de memòria, que es manifesta en dèficits en la potenciació a llarg termini (LTP). La LTP és una propietat electrofisiològica de certs circuits neuronals que s'utilitza com a model per a la investigació de les vies subjacents a la plasticitat neuronal, l'aprenentatge i la memòria. Estudis amb rates han demostrat que una dieta rica en EPA i DHA presenta efectes beneficiosos envers el procés de degeneració de la LTP, probablement alterant els nivells de citocines [32].

En diversos estudis realitzats amb models animals amb deteriorament cognitiu s'ha observat una disminució de la neurogènesi. La neurogènesi és el procés pel qual es generen noves neurones a partir de cèl·lules progenitores i s'ha demostrat que es produeix en dues àrees del cervell adult: la zona subventricular dels ventricles laterals i la capa subgranular del gir dentat de l'hipocamp. L'envelliment és el major regulador negatiu de la neurogènesi, i hi ha una forta correlació entre el declivi de la memòria relacionada amb l'edat i la disminució de la neurogènesi [32]. La potenciació d'aquesta neurogènesi ha estat recentment considerada com una diana terapèutica que podria reduir o retardar els símptomes de l'AD, i els PUFAs ω -3 han demostrat ser capaços de modular la generació de noves neurones a nivell de l'hipocamp [38].

L'administració de DHA *in vitro* ha demostrat promoure la diferenciació de cèl·lules mare neurals a neurones. Tot i això, les comparacions dels efectes pro-neurogènics dels diferents PUFAs just han començat a ser explorats recentment. L'administració de DHA i d'EPA han demostrat millorar la diferenciació de cèl·lules mare neurals en una mesura similar. No obstant, tenen efectes divergents sobre factors de transcripció implicats en la regulació del cicle cel·lular. L'EPA augmenta de manera significativa els nivells de Hes1, mentre que el DHA els disminueix. Hes1 és un factor de transcripció de tipus repressor, que inhibeix la diferenciació neuronal i potencia la proliferació de cèl·lules mare neurals [39]. També l'EPA, però no el DHA, augmenta significativament Hes6, que actua en un bucle de retroalimentació positiva amb Hes1 per promoure la diferenciació neuronal. Aquestes dades

suggereixen que el DHA juga un paper més determinant en la diferenciació neuronal més que en la proliferació. Treballs previs també suggereixen efectes divergents de l'EPA i el DHA sobre la neurogènesis. En un altre estudi, l'administració de baixes concentracions d'EPA va augmentar significativament la proliferació, mentre que amb DHA va disminuir, resultat coherent amb el seu paper més relevant en la diferenciació que en la proliferació [40]. Pot ser que els efectes de EPA i DHA en la regulació de les cèl·lules mare neurals es basin en un bon equilibri entre els seus efectes sobre factors de transcripció [32].

D'altra banda, pel que respecta a efectes neuroprotectors, els dèficits de PUFAs estan relacionats amb una potenciació de la via amiloidogènica de l'APP i una major susceptibilitat de les cèl·lules a la neurotoxicitat derivada de l'acumulació del pèptid $A\beta$, particularment perquè la deficiència en PUFAs ω -3 rebaixa la senyalització neuroprotectora. Per tant, un dèficit d'àcids grassos ω -3 afavoreix la degeneració neuronal i el deteriorament cognitiu associat a la malaltia [41].

Una gran quantitat de dades recollides d'assaigs *in vitro*, sistemes de cultiu cel·lular i models animals transgènics AD recolzen una associació directa entre els PUFAs ω -3, especialment el DHA, i el processament amiloide al cervell [42,43,44,45]. Els PUFAs ω -3 com a components integrals de la membrana poden actuar per alterar el processament amiloidogènic de diverses maneres, i possiblement interrelacionades, incloent: a) facilitant la interacció de la α -secretasa amb APP per produir fragments no tòxics i evitar la formació d' $A\beta$; b) blindar la seqüència de reconeixement essencial i el lloc de clivatge intramembrana de la γ -secretasa; c) actuant com a sumider local per als radicals lliures que redueixin l'augment enzimàtic de l'activitat de la γ -secretasa; d) inhibint directament la fibril·lació i la formació d'espècies oligomèriques tòxiques d' $A\beta$ (veure Figura 2) [46,47].

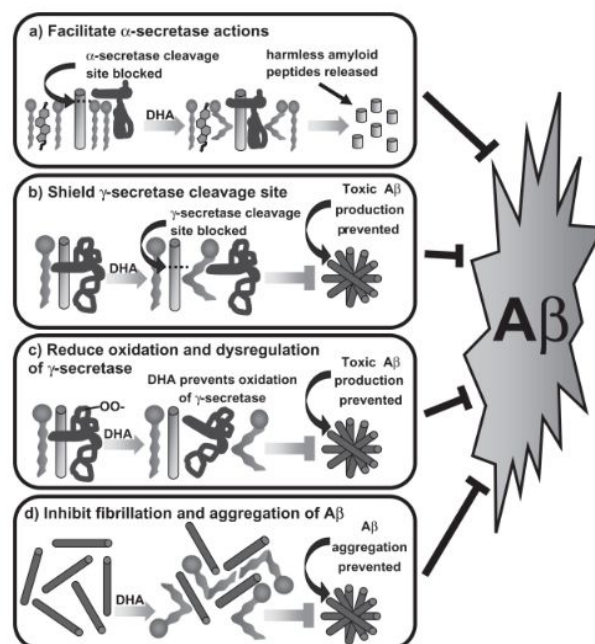


Figura 2. Mecanismes d'acció proposats per al DHA en relació al processament amiloide [14].

A més, els PUFAs ω -3 tenen efectes antioxidants, antiinflamatoris i anti-apoptòtics, afavorint així la supervivència neuronal durant l'envelliment normal i en l'AD. Tant el DHA com l'EPA han demostrat contrarrestar la producció de eicosanoids proinflamatoris derivats de PUFAs ω -6 al cervell en pacients amb Alzheimer (prostaglandines, tromboxans, leucotriens,..). El paper neuroprotector és degut a que competeixen amb l'AA per ser incorporats als fosfolípids de membrana, exercint d'aquesta manera accions antiinflamatòries [48]. Tant el DHA com l'AA estan involucrats en moltes cascades de senyalització, tots dos actuant com a precursors de docosanoides i eicosanoides que duen a terme diferents rols en la cèl·lula [49,50]. No obstant això, no només els nivells individuals d'aquests dos PUFAs en les membranes cel·lulars juguen un paper important, sinó també la relació existent entre ambdós. A major quantitat de PUFAs ω -3, menor quantitat de PUFAs ω -6, i, conseqüentment, es genera menor quantitat d'eicosanoids proinflamatoris.

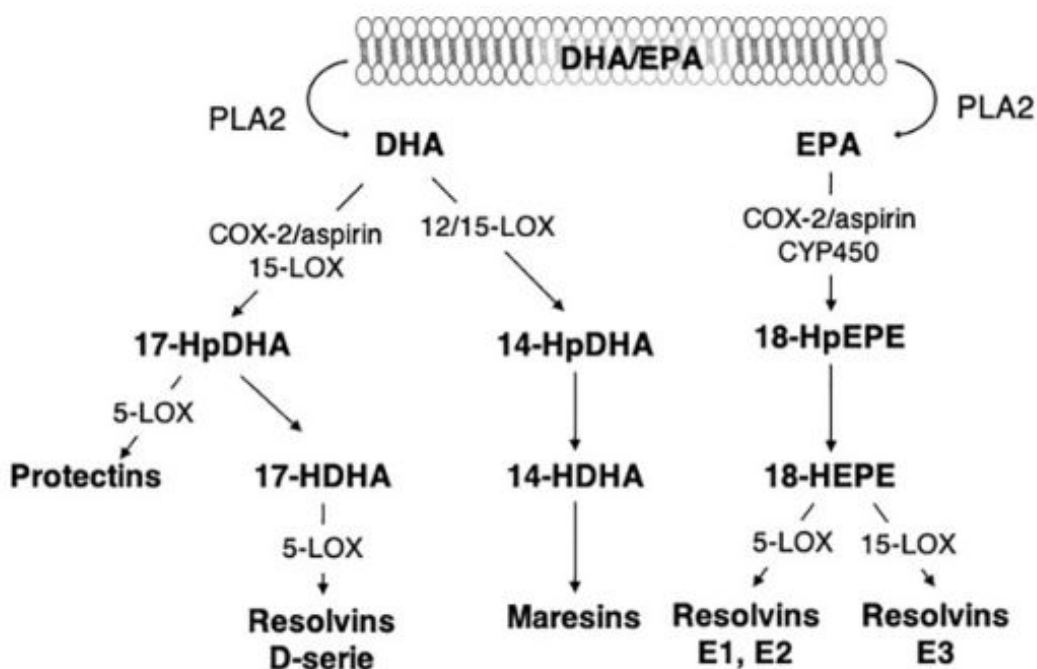


Figura 3. Via principal de síntesis de derivats lipídics de PUFAs ω -3. La fosfolipasa A2 (PLA2) actua alliberant el DHA i l'EPA de la membrana cel·lular que són posteriorment hidroxilats per acció dels enzims ciclooxigenasa-2 (COX-2) acetilada (per acció de l'àcid acetilsalicílic) i lipoxigenasa-15 (15-LOX), obtenent els derivats hidroxilats dels PUFAs ω -3. Adaptat de [37].

El DHA i l'EPA poden ser alliberats dels fosfolípids de la membrana cel·lular per acció de la fosfolipasa A2 (PLA2) i convertir-se en àcids grassos hidroxilats: les resolvines i les protectines. Aquesta conversió pot ser duta a terme per diferents enzims, com la lipoxigenasa-15 (LOX-15) o la ciclooxigenasa-2 (COX-2) acetilada [23]. Mitjançant la hidroxilació dels àcids grassos aconseguim potenciar la seva activitat metabòlica [38]. De fet, proves actuals suggereixen que l'activitat antiinflamatòria i els efectes neuroprotectors que exerceixen aquests derivats hidroxilats sobre els teixits són gairebé 1000 vegades superiors que els de l'EPA i DHA [51].

Els compostos derivats del DHA es classifiquen com a resolvines de la sèrie D i els derivats de l'EPA, com a resolvines de la sèrie E. Tot i que les resolvines normalment són compostos trihidroxilats, el DHA també pot ser convertit en compostos dihidroxilats anomenats protectines (veure Figura 4). La presència en sang d'aquests compostos hidroxilats està directament relacionada amb la ingesta de PUFAs ω -3 en models animals [52]. Es pensa que aquests derivats PUFA exerceixen la seva funció biològica mitjançant mecanismes que van més enllà de la simple regulació de la composició i estructura de la membrana lipídica. De fet, alguns poden unir-se a diferents receptors d'àcids grassos, com receptors acoblats a proteïnes G i receptors activats per proliferació de peroxisomes (PPARs), regulant així processos com la diferenciació cel·lular i l'expressió gènica [9].

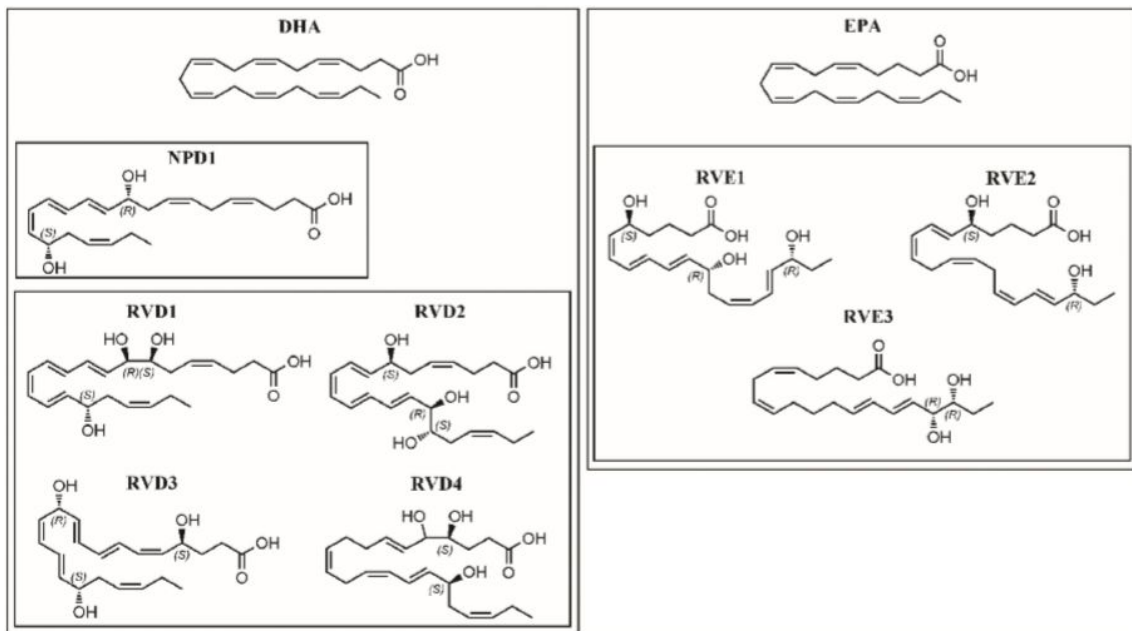


Figura 4. Estructura química dels principals compostos hidroxilats derivats de DHA i EPA. DHA: àcid docosahexaenoic, EPA: àcid eicosapentaenoic, NPD1: neuroprotectina D1, RVD1-RVD4: resolvines 1-4 de la sèrie D, RVE1-RVE3: resolvines 1-3 de la sèrie E [9].

La neuroprotectina D1 (NPD1) és el compost hidroxilat derivat del DHA més estudiat en teràpia d'AD per la seves propietats antiinflamatòries, antiapoptòtiques i antiamiloidogèniques. Destacar que els nivells de NPD1 es veuen reduïts dràsticament amb l'AD, potser com a resultat de l'excés d'estrès oxidatiu, i per tant l'efecte neuroprotector de la NPD1 es perd en gran part [53]. En cultius de cèl·lules neuronals humanes que sobreexpressen la proteïna precursora β -amiloide (β APP), NPD1 ha demostrat inactivar la β -secretasa alhora que activa la α -secretasa, desplaçant així el processament de β APP de la via tòxica amiloidogènica a la via no amiloidogènica [54]. D'aquesta manera, és probable que els efectes neuroprotectors del DHA al cervell estiguin mediat per NPD1 i/o altres derivats bioactius hidroxilats derivats del DHA [55].

2.3. Relació entre PUFAs i dieta en l'AD

Una dieta caracteritzada per altes quantitats d'aliments rics en PUFAs ω -3 (sobretot peix) i baixes quantitats d'aliments pobres en PUFAs ω -3 està fortament associada amb un menor risc de patir AD

[56]. Numerosos estudis epidemiològics suggereixen un efecte protector dels PUFAs ω -3 contra l'Alzheimer, de manera que el paper de la nutrició en la prevenció de la malaltia desperta una esperança creixent, sobretot en referència a la ingesta dietètica de PUFAs ω -3 [57].

Amb una ingesta semanal de 100 g de peix, el risc de patir l'AD disminueix un 11%. L'efecte neuroprotector de la ingesta de peix s'atribueix majoritàriament al seu gran contingut en PUFAs ω -3, en particular de DHA [58]. Tot i això, el seu paper neuroprotector també podria derivar d'altres possibilitats. Per començar, el peix és una font d'altres nutrients, com vitamines i aminoàcids essencials, que podrien també contribuir a la millora de la funció cognitiva [59]. A més, una major ingesta de peix podria anar associada amb una menor ingesta d'altres tipus de greixos menys saludables, com els greixos saturats. Tenint en compte que una ingesta elevada de greixos saturats incrementa el risc de patir demència, el paper protector de la ingesta de peix podria també ser degut d'una menor ingesta d'altres greixos [57]. No obstant, estudis *in vivo* i *in vitro* amb PUFAs ω -3 en general, i amb DHA en particular (veure apartat 2.2 més adalt), han demostrat àmpliament la relació existent entre aquests àcids grassos i l'AD.

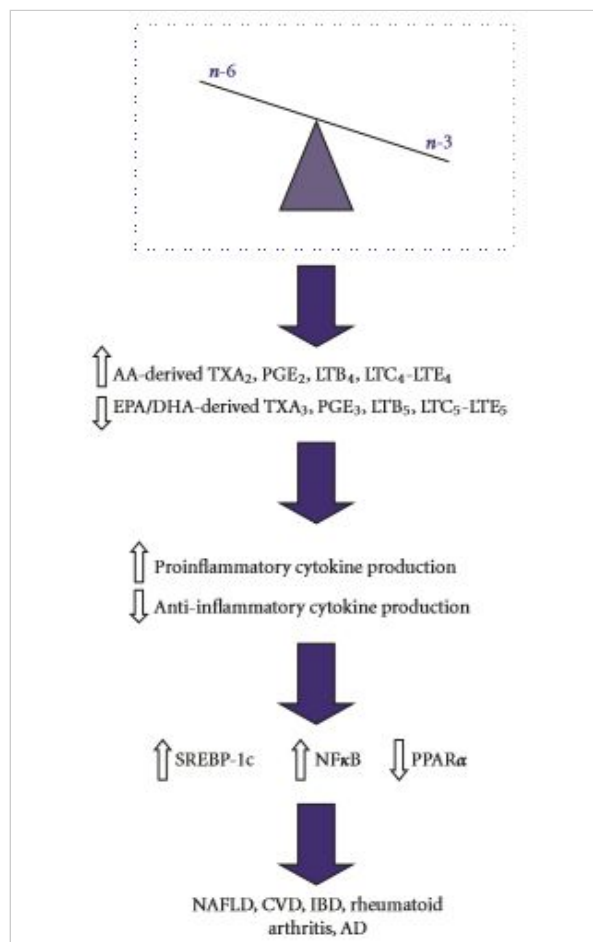


Figura 5. Efectes derivats de la ingesta desequilibrada d'àcids grassos ω -6/ ω -3. Una major ingesta d'àcids grassos ω -6 provoca una major producció de derivats d'AA, de caràcter proinflamatori, alhora que disminueix la producció de derivats de DHA i EPA, que presenten acció antiinflamatòria [62].

Degut a que els PUFAs són un component important de les membranes cel·lulars i regulen processos de senyalització cel·lular i d'expressió gènica [60], l'equilibri entre la ingesta de greixos ω -6 i ω -3 té un fort impacte en la salut cerebral. La ingesta total de greixos, així com la proporció ω -6/ ω -3 en les dietes occidentals ha augmentat significativament des de la Revolució Industrial, fet que les converteix en dietes deficitàries en PUFAs ω -3 [61].

Un major consum de PUFAs ω -6 comporta un augment dels nivells d'AA i dels seus derivats. Una major concentració d'AA als fosfolípids de la membrana cel·lular implica una major producció d'eicosanoids derivats d'AA per part dels enzims COX-2 i LOX. És a dir, augmenta la producció de derivats proinflamatoris. En paral·lel, es produeix una reducció en la síntesi de citocines antiinflamatòries derivades d'EPA i DHA. El resultat és una exacerbació de la inflamació, que tot plegat agreuja els efectes fisiopatològics de l'AD [62]. De fet, s'ha demostrat en models animals que la conversió endògena de greixos ω -6 a greixos ω -3 millora els efectes neuropatològics de la malaltia, posant de manifest la importància de restringir la ingesta de PUFAs ω -6 [30]. Per tant, una dieta caracteritzada per nivells baixos de PUFAs ω -6 i nivells alts de PUFAs ω -3 o una proporció ω -6/ ω -3 més equilibrada podria ser una diana terapèutica en la prevenció de l'AD a través de l'alimentació [62].

Tot i l'efecte protector dels PUFAs ω -3 envers l'incidència de l'AD, alguns estudis epidemiològics han demostrat que la ingesta dietètica de PUFAs ω -3 no associada a l'ingesta de peix (ingesta de DHA i EPA purificats de l'oli de peix) no disminueix el risc de patir demència o Alzheimer d'una forma significativa [57]. Aquest fet sens dubte atorga una especial importància als derivats bioactius dels PUFAs ω -3 com a mediadors d'aquests. En aquest sentit, l'efecte neuroprotector de la ingesta de peix també es pot atribuir a derivats PUFA presents en peixos, com ara formes hidroxilades de PUFAs o formes PUFA fàcilment transformables en derivats bioactius similars a NPD1 [63]. Recentment, el consum d'oli de peix, que es troba molt enriquit en DHA, ha estat relacionat amb l'augment dels nivells de derivats del DHA i de NPD1 al cervell de ratolí, sense modificar els nivells de DHA lliures (no esterificats) [64]. Per tant, la ingesta d'oli de peix promou nivells elevats de NPD1 sense afectar els nivells basals de DHA lliure al cervell. Aquestes dades suggereixen que els derivats bioactius hidroxilats PUFA ω -3 poden tenir un paper central en la prevenció i el tractament de l'AD.

3. Lípids com a possibles biomarcadors en la malaltia d'Alzheimer

3.1. Alteracions lipídiques relacionades amb la fisiopatologia d'AD

Les tècniques de laboratori actuals, com la cromatografia líquida d'alta pressió i la cromatografia de gasos combinades amb l'espectrometria de masses, permeten estudiar la gran majoria de lípids en cèl·lules i teixits animals [65]. I també en plasma per als biomarcadors perifèrics, que són els preferits en l'estudi de l'AD.

La manifestació clínica de l'AD va precedida d'una llarga fase asimptomàtica de deteriorament cognitiu lleu (MCI per les sigles en anglès, *mild cognitive impairment*), durant la qual ja es produeixen lesions neuropatològiques, inclosa la mort neuronal. Aquest fet fa que el diagnòstic clínic de la malaltia no sigui fiable, sobretot durant les primeres etapes. Per aquesta raó, hi ha una gran urgència en aconseguir biomarcadors perifèrics que permetin diagnosticar de forma fidedigna la malaltia, permetent així un tractament precoç i una millora de l'eficàcia terapèutica. La majoria dels estudis relacionats es basen en analitzar l'A β 42, la proteïna tau fosforilada i la tau total en el líquid cefalorraquídic (LCR). Tot i que aquests biomarcadors són útils per confirmar el diagnòstic clínic, no tenen un valor predictiu en pacients preclínic [66]. Així, tenint en compte les alteracions lipídiques cerebrals en l'AD, l'anàlisi lipídica en fluids biològics pot resultar ser una manera fiable de identificar biomarcadors no invasius per al diagnòstic precoç de la malaltia [67].

Moltes alteracions lipídiques reportades en el LCR no es correlacionen necessàriament amb els canvis a nivell del SNC [68]. Per exemple, en pacients amb la malaltia, els nivells de colesterol i ChoE disminueixen en el LCR, tot i que augmenten a nivell del cervell [69]. No obstant això, sis espècies de ChoE de cadena llarga presents al plasma (Cho E 32:0, 34:0, 34:6, 32:4, 33:6 i 40:4) s'han proposat com a potencials biomarcadors per al diagnòstic precoç de la malaltia, ja que s'acumulen més en els pacients sans que en els que presenten MCI, de la mateixa manera que s'acumulen més en els pacients MCI que en els pacients AD [70].

També s'han proposat els nivells de PC total i espècies específiques de PC com a biomarcadors fiables. Es produeix una disminució dels nivells de PC en el LCR de pacients amb AD, acompanyada d'una reducció de lisofosfatidilcolina (LPC) i un augment relatiu dels productes hidrolítics de PC, com la glicerofosfolcolina i la fosfocolina, fet que suggereix que la hidròlisi de la PC es veu potenciada amb la malaltia [71]. En particular, els nivells plasmàtics d'un conjunt de 10 metabòlits de la PC disminueixen en pacients aparentment sans que, d'entrada no presentaven deteriorament cognitiu, però que durant els cinc anys posteriors foren diagnosticats amb la malaltia. Les espècies identificades foren: diacil PC 36: 6, 38: 0, 38: 6, 40: 1, 40: 2, 40: 6, acil-alquil PC 40:6 i LPC 18:2, així com dues acilcarnitines (ACs) [72]. La disminució d'aquestes espècies és resultat de la baixada de PC total a nivell del cervell. És més, la baixada d'aquests 10 metabòlits és un indicador de la fenoc conversió de pacient sa a pacient amb la malaltia (asimptomàtic o simptomàtic) en un termini de 2-3 anys amb una precisió del 90% [73].

D'altra banda, existeixen també altres espècies lipídiques que s'han suggerit com a biomarcadors. Altres canvis lipídics que podrien ser útils en el diagnòstic precoç de la malaltia seria una disminució de esfingomiel·lina (SM), sobretot de les espècies que contenen cadenes llargues [69,74]. En paral·lel, es produeix un augment dels nivells de ceramides (Cer) al plasma, ja que la SM pot ser metabolitzada a Cer per mitjà de missatgers que regulen processos com la diferenciació cel·lular, la proliferació i l'apoptosi. Aquest increment en la concentració de Cer és particularment evident en etapes moderades a severes de la malaltia. És més, els nivells de Cer estan correlacionats amb la deteriorament de la memòria, donant suport al paper de les Cer com a possibles biomarcadors en l'AD [74,75].

En conclusió, molts dels estudis clínics involucrats en la recerca de biomarcadors encara són de naturalesa transversal de manera que no revelen biomarcadors per provar la progressió de la

malaltia. Tot i la gran quantitat d'informació que hi ha sobre el tema, és necessari realitzar més estudis longitudinals amb diversos anys de seguiment per tal d'identificar biomarcadors fiables per al diagnòstic precoç de l'AD.

3.2. PUFAs com a biomarcadors en l'AD

Molts són els estudis que es centren en l'estudi del DHA i altres PUFAs ω -3 a nivell perifèric com a potencials biomarcadors de l'AD. La quantitat de PUFAs ω -3 circulant de forma perifèrica es correlaciona amb les concentracions a nivell de teixit cerebral, ja que el cervell abasteix les seves necessitats nutricionals a partir d'aquesta circulació perifèrica [76]. Per tant, la composició d'àcids grassos esterificats en plasma és un biomarcador ben establert de l'estat lipídic *in vivo* i un biomarcador de la ingesta dietètica de greixos.

Es van analitzar els nivells plasmàtics esterificats de DHA i EPA d'un grup de pacients que presentaven diferents graus de la malaltia i es compararen amb els nivells plasmàtics de pacients sense deteriorament cognitiu. Sense tenir en compte el grau de demència i l'edat dels participants amb deteriorament cognitiu, els nivells de DHA i EPA esterificats en plasma foren estadísticament significatius menors que els nivells dels pacients control (veure Taula 1). Particularment, sense tenir en compte l'edat dels participants de l'estudi, els nivells plasmàtics de DHA dels pacients amb la malaltia eren menys de la meitat que els dels pacients control. A més, es va descobrir una disminució progressiva dels nivells de DHA plasmàtics a mesura que augmentava la severitat de la demència. Aquests resultats posen de manifest el potencial paper dels nivells plasmàtics de DHA com a biomarcador fiable de l'avanç de l'AD [77].

	n	Age		EPA (20:5n-3)		DHA (22:6n-3)	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Control subjects	45			1.58	0.62	1.15	0.88
Clinical dementia rating:‡							
Mild	53			0.80***	0.71	0.58***	0.47
Moderate	64			1.05***	0.95	0.51***	0.34
Moderate or severe	41			1.09	0.98	0.49***	0.35
Clinical diagnosis of Alzheimer's disease:§							
Probable	108			0.98***	0.87	0.56***	0.41
Possible	16			0.95***	0.87	0.54***	0.36
Mixed	13			1.49	1.16	0.67***	0.66
Vascular	11			0.62*	0.44	0.49***	0.47
Age quartile of probable Alzheimer's disease patients:							
1	27	68	6	1.19	1.07	0.52	0.32
2	27	74	1	0.89	0.67	0.67	0.46
3	27	78	1	0.89	0.72	0.49	0.31
4	27	84	3	0.97	0.98	0.55	0.50

Taula 1. Nivells plasmàtics d'EPA i DHA (g/100g àcids grassos totals) en pacients amb AD classificats segons el grau de demència, diagnòstic clínic i edat [77].

En un altre estudi, a part de centrar-se en els nivells de DHA i EPA plasmàtics, també es basaren en els nivells d'AA com a possibles biomarcadors de l'AD. En comparació als pacients amb deteriorament cognitiu lleu, els nivells plasmàtics de DHA i EPA dels pacients que presentaven deteriorament cognitiu greu van ser menors, amb una disminució estadísticament significativa. Els resultats d'aquest estudi també recolzen el potencial paper de les concentracions plasmàtiques de PUFAs ω -3, especialment de DHA i EPA, com a biomarcadors de l'estat cognitiu. A més a més, també es detectaren nivells disminuïts d'AA i DHA als eritròcits (RBC) dels pacients amb deteriorament cognitiu en comparació als pacients control. Aquestes concentracions reduïdes de RBC AA+DHA es van associar amb un declivi cognitiu accelerat i es podrien proposar com a biomarcadors per a la predicció del declivi de les capacitats cognitives amb l'avanç de l'AD [78].

La importància dels PUFAs com a biomarcadors en la patologia d'Alzheimer s'exemplifica també de forma clara en els canvis observats a nivell de LCR en pacients MCI i en pacients AD.

Per exemple, es va observar que els nivells de dos àcids grassos saturats (SAFA) eren significativament més alts en la fracció de nanopartícules derivades del cervell (NP) dels pacients MCI en comparació amb els subjectes control. També es van detectar nivells augmentats de dos àcids grassos monoinsaturats (MUFA) en la fracció NP dels pacients que presentaven la malaltia en comparació amb els subjectes control (veure Taula 2).

CSF fraction	MCI<CH	MCI>CH	AD<CH	AD>CH	AD<MCI	AD>MCI
NP		C15:0		C15:1		C19:1
		C17:0		C19:1		C22:4n-6
		C16:1		C20:2n-6		
				C20:3n-3		
				C22:4n-6		
				C22:5n-3		
SF	α -C18:3n-3		C22:6n-3			
Free fatty acids	C17:0	C20:2n-6	C10:0	C18:0	C11:0	C16:0
	C18:0		C15:0		C16:1	C18:0
			C22:6n-3		C22:6n-3	

Taula 2. Àcids grassos que varien significativament entre els diferents grups de diagnòstic a nivell de LCR. CH: pacients control, MCI: deteriorament cognitiu lleu, AD: malaltia d'Alzheimer [79].

Aquests resultats suggereixen que la fase de MCI i l'Alzheimer precoç s'associen amb un major alliberament i major descomposició de la membrana lipídica en forma de nanopartícules al LCR, en comparació amb pacients que no presenten deteriorament cognitiu. Algunes d'aquestes nanopartícules que s'originen a partir de la degeneració de membranes neuronals podrien ser útils com a biomarcadors per distingir pacients amb MCI de pacients sans (C15:0, C17:0) i pacients amb AD de pacients sans (C15:1, C19:1) [79].

Els nivells més baixos de DHA (22:6n-3) en la fracció de líquid sobrenedant (SF), de la mateixa manera que els nivells més elevats de SAFAs o MUFAs en la fracció NP, detectats en pacients AD en comparació amb els pacients control, podrien ser usats com a potencials biomarcadors en la malaltia. La disminució dels nivells de DHA en el LCR i l'acumulació d'àcids grassos en la fracció NP en pacients AD com a conseqüència de les alteracions en la membrana cel·lular té una gran importància, ja que potencia el processament amiloidogènic d'APP, augmentant la neurotoxicitat derivada [80,81].

Diversos derivats lipídics són importants en la fisiopatologia de malalties cerebrals. Una interessant àrea de recerca és l'estudi dels derivats lipídics oxidats com a biomarcadors de processos bioquímics al SNC. En condicions d'estrès oxidatiu, els PUFAs s'oxiden per espècies reactives de l'oxigen (ROS) i/o per enzims per formar molècules senyalitzadores bioactives anomenades isoprostanes. Es sap que els nivells de diverses espècies oxidades derivades de PUFAs augmenten en el cervell de pacients AD [82].

Per exemple, es va descobrir un augment significatiu d'aquests productes oxidats derivats de lípids a l'orina de pacients amb AD i pacients probables de patir la malaltia en comparació amb individus sense cap malaltia neurològica diagnosticada (veure Figura 6). Malauradament, no es sap si aquests productes excretats provenen del cervell o si per altra banda representen un augment de l'estrès oxidatiu a nivell sistèmic, per la qual cosa es necessiten de més assaigs per determinar el seu paper potencial com a biomarcadors en l'AD [83].

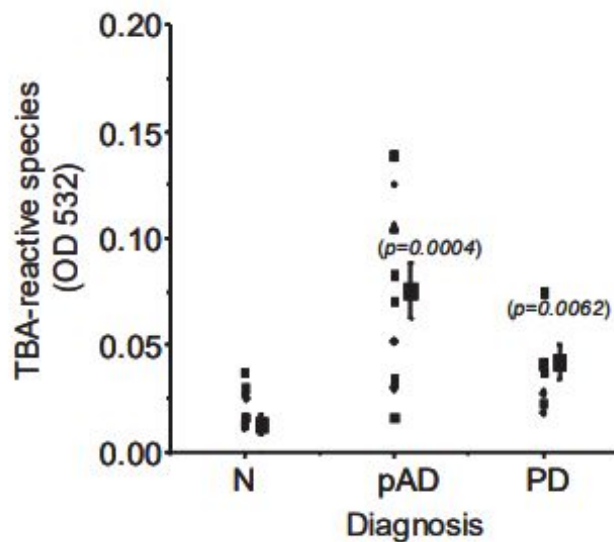


Figura 6. Productes oxidats derivats de lípids (isoprostanes) a l'orina en pacients control (N), pacients probables de patir Alzheimer (pAD) i pacients amb Alzheimer diagnosticat (PD). Reacció amb àcid tiobarbitúric (TBA) i lectura òptica a 532 nm. S'indiquen els p-valors de pAD-N i PD-N [83].

3.3. Transportadors de PUFAs com a possibles biomarcadors

Una forma indirecta d'enfocar el paper dels PUFAs com a biomarcadors en l'AD podria ser a través de l'estudi de proteïnes implicades en el metabolisme lipídic. Per exemple, la proteïna transmembrana MFSD2a actua en la barrera hematoencefàlica captant DHA i altres àcids grassos de cadena llarga

[84]. Degut a la seva importància en el SNC i en la fisiologia de la barrera hematoencefàlica, la proteïna MFSD2a resulta interessant en el estudi de malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer. Fins fa poc, es desconeixia si aquesta proteïna es veia alterada d'alguna manera en el trastorn o si el seu nivell en sang podria ser un indicador potencial de la malaltia.

Recentment, es va descobrir una disminució estadísticament significativa entre els nivells de la proteïna MFSD2a en sang entre els pacients control i els pacients GDS-6 (amb deteriorament cognitiu greu). Els nivells de MFSD2a en pacients GDS-4 (amb deteriorament cognitiu mitjà) foren també menors que en pacients control, fet que suggereix una caiguda en els nivells sanguinis de MFSD2a en funció de l'estat cognitiu del pacient (veure Figura 7).

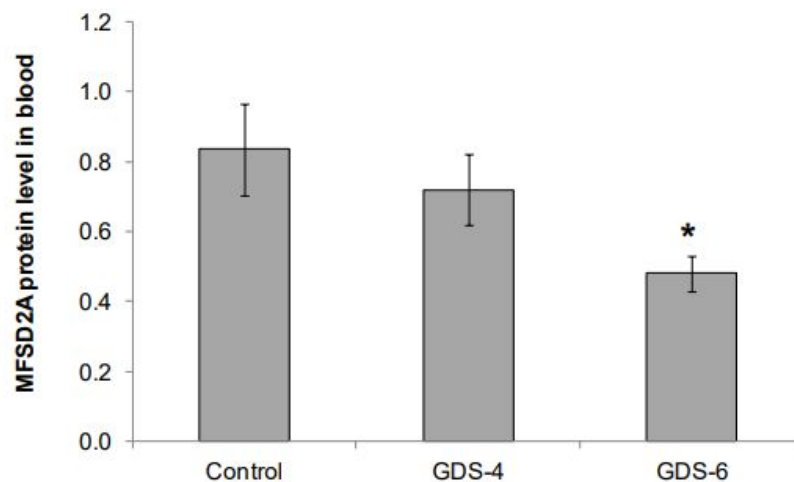


Figura 7. Nivell relatiu de proteïna MFSD2a en sang en pacients control, pacients GDS4 (amb deteriorament cognitiu mitjà) i pacients GDS6 (amb deteriorament cognitiu greu) [85].

Per tant, en aquest recent estudi es va demostrar per primer cop que l'expressió de la proteïna MFSD2a en sang és menor en pacients amb AD que en pacients sans. Tot i això, aquesta reducció dels nivells en sang no va acompanyada per la corresponent disminució al cervell, fet que fa pensar que els mecanismes que regulen els nivells de la proteïna MFSD2a al cervell són diferents. Com a conclusió, degut a que la quantitat de MFSD2a que s'expressa en sang disminueix simultàniament amb l'avanç de la malaltia, la proteïna MFSD2a podria ser un biomarcador útil de la progressió de la patologia [85].

4. Noves teràpies farmacològiques i PUFAs en la terapia de la malaltia d'Alzheimer

4.1. Noves aproximacions: "Disease Modifying Drugs"

El desenvolupament de fàrmacs modificadors de malalties (DMDs per les seves sigles en anglès, *disease modifying drugs*) capaços de prevenir la degeneració neuronal i contrarestar la progressió de l'AD és un dels reptes més urgents de la farmacologia actual. A causa de que els efectes patològics de

la malaltia s'inicien anys abans del seu diagnòstic clínic, l'etapa òptima per iniciar una teràpia amb DMDs seria durant l'etapa preclínica. De fet, el desenvolupament de DMDs requerirà la incorporació simultània de biomarcadors fiables per identificar les primer etapes de la malaltia (veure apartat 3. Lípids com a possibles biomarcadors en l'AD). La hipòtesi de la cascada amiloide ha estat la base en l'estudi de la fisiopatologia de l'AD durant les dues últimes dècades. Per tant, la majoria dels assajos clínics han intentat prevenir l'acumulació del pèptid $A\beta$, així com reduir la fosforilació de la proteïna tau [86,87].

Atès que l'activitat de la β -secretasa es veu potenciada amb la malaltia, la inhibició del gen BACE-1 podria ser un enfocament terapèutic potencial per combatre l'AD. Tant la supressió genètica de BACE-1 com l'administració d'inhibidors de BACE-1 han demostrat disminuir la producció d' $A\beta$ cerebral en models animals. Curiosament, encara que BACE-1 tingui altres substrats, la seva inhibició no pareix presentar efectes secundaris en ratolins [88,89]. A més, l'administració de la majoria d'aquests inhibidors en humans també han demostrat reduir els nivells d' $A\beta$ i sAPP β , mentre que APP α augmenta a nivell de LCR. Molts d'aquests inhibidors del BACE-1 encara es troben en la fase 1 dels assaigs clínics. Alguns d'ells actualment estan en fase 2/3, tot i que encara no hi ha dades d'eficàcia clínica disponibles.

Les mutacions en PS1 indueixen una pèrdua de la funció de la γ -secretasa, enzim que participa en la generació d' $A\beta$. Aquestes mutacions afecten l'activitat de l'enzim, augmentant la proporció d' $A\beta$ 42/40 [90]. Per tant, la inhibició o modulació de la γ -secretasa també s'ha estudiat com un enfocament terapèutic plausible contra l'AD, tot i que efectes no específics dificulten el desenvolupament d'inhibidors de la γ -secretasa (GSI) com a DMDs, ja que la γ -secretasa també escindeix altres proteïnes transmembrana que són importants en la supervivència cel·lular com Notch. Semagacestat va ser el primer GSI a sotmetre's a assaigs clínics, i va reduir les concentracions d' $A\beta$ al SNC del ratolí i al plasma humà [91,92]. Tot i això, alteracions hematològiques i un augment del risc de patir càncer de pell han estat relacionades amb aquest tipus de DMDs. A més, molts dels GSIs desenvolupats no alenteixen la disminució cognitiva dels pacients amb Alzheimer, ja siga per baixa potència o per baixa capacitat de penetració cerebral [86,93].

Es creu que l'agregació de monòmers $A\beta$ formant oligòmers de major pes molecular és un esdeveniment neurotòxic clau de la patologia amiloide que condueix a la neurodegeneració [94]. Per aquest motiu, algunes DMDs també es centren en aquesta conversió per combatre l'Alzheimer. El tramiprosat i el scyllo-inositol són dos compostos que impedeixen la transició dels monòmers a oligòmers, afavorint així la depuració d' $A\beta$ del cervell mitjançant enzims específics [95]. Aquests dos fàrmacs han estat involucrats en assaigs clínics de fase 2 i ambdós han reduït els nivells d' $A\beta$ 42 en el LCR de pacients tractats. En la fase 3, no van aconseguir induir millora clínica.

Segons la hipòtesi de la cascada amiloide, l'acumulació d' $A\beta$ precedeix i condueix l'hiperfosforilació de tau mitjançant l'activació de diferents quinases, inclosa la quinasa dependent de ciclina 5 (CDK5) i el glicogen sintasa quinasa 3 β (GSK3 β) [96,97]. En aquest contexte, s'han desenvolupat DMDs per inhibir la fosforilació de tau. GSK3 β és el principal enzim involucrat en la hiperfosforilació de tau, i el liti i el valproat són dos medicaments que inhibeixen GSK3 β en models animals [98]. El liti té un paper neuroprotector en models animals d'AD, no només mitjançant la inhibició de GSK-3 β , sinó també mitjançant la remodelació de les plaques $A\beta$, provocant una disminució del nombre d'axons

distròfics, una degeneració neuronal reduïda i una millora de puntuacions cognitives en ratolins [99,100]. Actualment, es troba en fase 4 per descobrir si presenta efectes secundaris adversos.

Drug	Mechanism of action	Result of study	Observations
Semagacestat	gamma-secretase inhibitor	discontinued in fase 3	lack of clinical improvement increased risk of skin cancer and infections
Tamprirosate	AB aggregation inhibitor	discontinued in fase 3	lack of clinical improvement
Scyllo-inositol	AB aggregation inhibitor	discontinued in fase 2	lack of clinical improvement
Valproate	Tau phosphorylation inhibitor	discontinued in fase 3	lack of clinical improvement brain volume loss
Lithium	Tau phosphorylation inhibitor	ongoing in fase 4	discrepant results reported apparently effective in early AD (amnesic MCI) but not in mild-to-moderate AD

Taula 3. Taula resum de les DMD esmentades.

Els esmentats enfocaments terapèutics resumeixen els intents de desenvolupar DMDs basades en la hipòtesi de la cascada amiloide, principalment centrant-se en la proteïna $A\beta$ i la tau hiperfosforilada. Amb diversos fàrmacs anti-amiloides que han fracassat en assajos clínics, moltes veus crítiques de la comunitat científica han posat en dubte la validesa de la hipòtesi amiloide per explicar la fisiopatologia de la malaltia d'Alzheimer i com a base sobre la qual desenvolupar teràpies efectives. Tot i això, encara no és possible ignorar la hipòtesi amiloide en el disseny de nous compostos farmacològicament actius, a causa de la manca de biomarcadors fiables per detectar eficàcia terapèutica en etapes primerenques de la malaltia, i perquè molts dels compostos en assaigs clínics provoquen efectes secundaris que han obligat a suspendre els assajos abans que se'n pogués avaluar l'eficàcia [101,102].

4.2. Teràpies basades en PUFAs

Malgrats els esforços per trobar un tractament eficaç contra l'Alzheimer, encara no hi ha teràpies efectives disponibles. Tenint en compte la limitada eficàcia de les teràpies actuals (inhibidors de l'acetilcolinesterasa, antagonistes del receptor NMDA) i els fracassos recurrents en el desenvolupament de nous fàrmacs (com les DMDs), les teràpies basades en PUFAs podrien ser una estratègia prometedora de cara al futur.

Nivells plasmàtics disminuïts de DHA es relacionen amb el declivi cognitiu associat a l'envelliment, i l'administració de DHA ha provat millorar la memòria i aquest declivi cognitiu en estudis clínics en humans [72]. Són varis els estudis en els que s'han obtingut resultats esperançadors pel que fa a l'ús terapèutic de PUFAs ω -3 en l'AD. Un estudi que es basava en l'administració d'oli de peix com a font de DHA i EPA va demostrar millorar la cognició d'un petit subgrup de pacients que patien un grau molt moderat de la malaltia, sense efectes beneficiosos clars en la majoria dels pacients [103]. En un altre estudi pilot, es va evidenciar una recuperació significativa de la capacitat cognitiva quan es tractaven pacients amb Alzhiemer de to lleu a moderat amb oli de peix [104]. No obstant això, en la majoria d'estudis clínics, l'administració de DHA/EPA a pacients amb AD no ha demostrat millorar significativament la cognició [105].

En conjunt, aquests estudis indiquen que la suplementació de DHA pot representar un enfocament terapèutic plausible per al tractament de la disminució cognitiva associada amb l'edat, tot i que no està clar quins PUFAs ω -3 es podrien utilitzar per tractar l'Alzheimer. És probable que les diferències en la font dels PUFAs ω -3, juntament amb els ratios variables de DHA:EPA, expliquin la variació en els resultats observats quan es tracten pacients AD amb PUFAs ω -3. A més, la presència de mercuri en alguns suplementos d'oli de peix pot provocar problemes neurològics que poden contrarestar els efectes beneficiosos del DHA i compostos relacionats. En aquest context, els PUFAs ω -3 també exerceixen la seva funció fisiològica mitjançant la producció de derivats bioactius hidroxilats, com NPD1. De fet, s'ha demostrat que els nivells cerebrals de NPD1 es redueixen dràsticament en pacients amb AD, de manera més pronunciada que el DHA [53].

Aquests resultats suggereixen que els nivells baixos de DHA amb la malaltia anirien acompanyats d'una deterioració de la conversió d'aquest PUFA en NPD1 i altres derivats hidroxilats. De fet, nivells reduïts de l'enzim 15-LOX han estat detectats al cervell de pacients amb Alzheimer, demostrant així que la generació de segons missatgers lipídics derivats de DHA es veu alterada amb la malaltia [53]. Si suposem que la conversió de DHA en derivats hidroxilats és necessària per mediar l'activitat fisiològica relacionada amb el DHA, aquestes modificacions de 15-LOX podrien explicar, almenys parcialment, per què l'administració de DHA no millora la cognició en pacients amb la malaltia. Cal destacar que es va observar alguna millora cognitiva només quan es va utilitzar l'oli de peix com a font de PUFAs ω -3, cosa que suggereix que aquests olis podrien contenir altres PUFAs que imparteixen neuroprotecció independentment de DHA i EPA [63]. Aquesta hipòtesi es recolza en la correlació inversa existent entre la incidència d'Alzheimer i la ingesta d'oli de peix, però no amb la suplementació de molècules pures de DHA:EPA i l'AD [57].

Els PUFAs ω -3 modifiquen la fluïdesa de la membrana cel·lular, fet que afecta a la localització i funció de proteïnes senyalitzadores. A nivell de cervell, aquest paper podria ser atribuït al DHA, tenint en compte que és el PUFA ω -3 cerebral més abundant. Tot i que aquesta hipòtesi encara s'ha de provar, els efectes sobre els microdominis lipídics cerebrals poden ser un altre mecanisme potencial [42]. Curiosament, la resposta de shock tèrmic (HSP) depèn de la composició de la membrana plasmàtica, de manera que un augment en la fluïdesa de la membrana augmenta l'expressió de proteïnes de shock tèrmic [106]. En aquest context, aquestes proteïnes (particularment Hsp70, Hsp60 i Hsp27) estan involucrades en el mecanisme d'acció del liti en la compactació de les plaques $A\beta$, disminuint la densitat de neurites distròfiques i prevenint la degeneració neuronal en el model de ratolí transgènic 5xFAD [99]. Per tant, derivats lipídics que

milloren la fluïdesa de les membranes, també poden reduir els efectes patològics a nivell de les neurites i prevenir la pèrdua neuronal de l'Alzheimer mitjançant un mecanisme que implica l'expressió de Hsp.

En aquest context, un derivat hidroxilat de DHA (àcid 2-hidroxi-docosahexaenoic, HDHA) s'ha proposat com un enfocament terapèutic prometedori per tractar l'Alzheimer. Aquest compost ha estat creat selectivament per a teràpia i es troba en fases preclíniques de desenvolupament. L'administració de HDHA modifica la composició lipídica cerebral, augmentant les espècies de PE que porten PUFAs de cadena llarga, espècies que es veuen reduïdes significativament en pacients amb Alzheimer (veure apartat 2.1. Nivells de PUFAs alterats en l'AD). Aquests canvis lipídics van acompanyats d'una reducció de l'acumulació del pèptid $A\beta$ i de la hiperfosforilació de tau, i la millora de les capacitats cognitives en el model de ratolí transgènic 5xFAD [38, 107] (veure Figura 8).

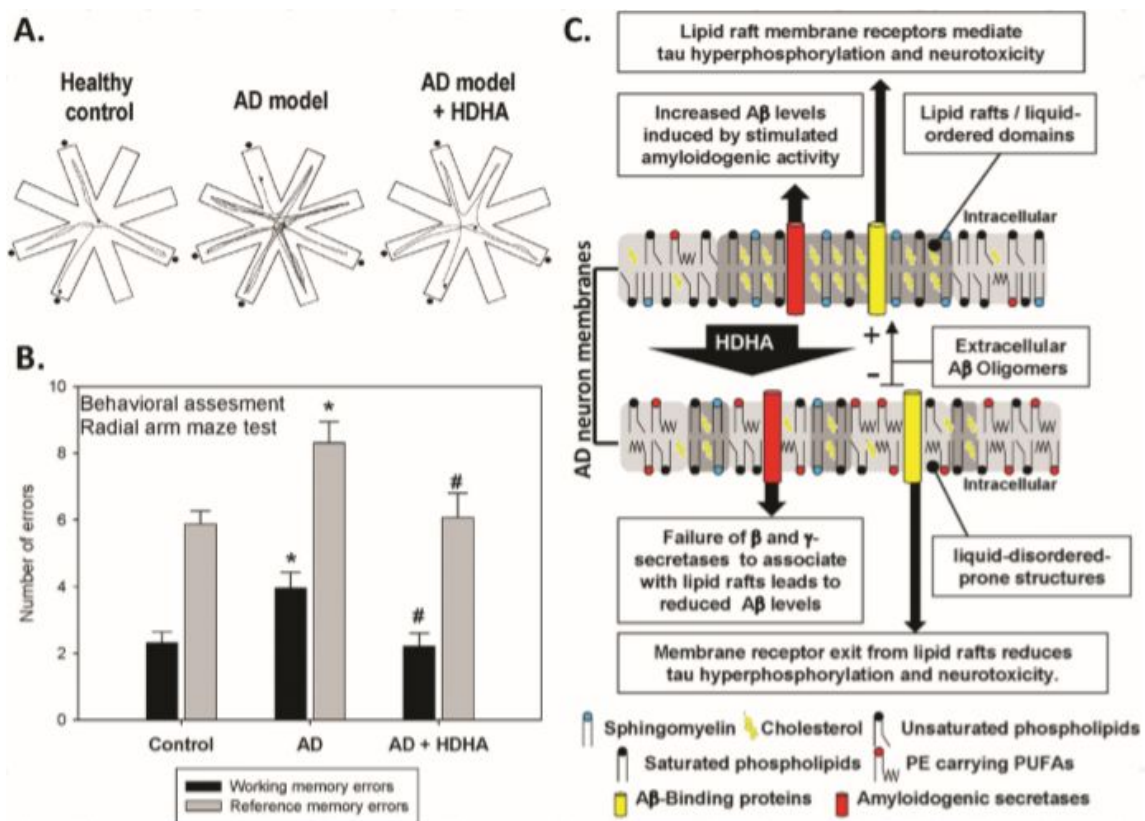


Figura 8. Ús de HDHA en ratolins AD i el mecanisme d'acció molecular proposat. (A) Esquemes representatius de ratolins control i de ratolins AD (ratolins 5xFAD) que van rebre HDHA o no en la prova de Radial Arm Maze (RAM). Un punt negre al final d'un braç representa on els ratolins troben un *pellet* d'aliment. (B) L'anàlisi quantitativa del rendiment de la prova s'aborda quantificant els errors de memòria de treball (reentrada d'un braç ja visitat) i de referència (entrada a un braç sense *pellet*). Ambdós paràmetres van augmentar significativament en els ratolins AD, mentre que el tractament amb HDHA va prevenir aquest deteriorament del comportament fins que les puntuacions cognitives es van revertir gairebé totalment a les dels controls. Les barres representen la mitjana \pm SEM. ANOVA unidireccional seguida de la prova post hoc de Bonferroni: * $p < 0.05$, diferència respecte a controls saludables; #: $p < 0.05$, diferència respecte al grup AD no tractats. (C) Mecanisme d'acció postulat per al HDHA. El HDHA enriqueix les membranes del cervell amb espècies de PE que porten DHA i altres PUFAs. Adaptat de [38, 107].

La reducció del processament amiloidogènic també resulta una estratègia desitjable en el tractament de l'AD, i a més derivats de DHA, el derivat hidroxilat sintètic HDHA, així com la molècula hidroxilada d'origen natural NPD1, han demostrat presentar efectes antiamiloidogènics. Tot i que els mecanismes involucrats de l'efecte del HDHA en la ruta amiloide encara no han estat descrits, estudis previs estableixen una retroalimentació positiva entre NPD1 i sAPP α , on sAPP α promou la biosíntesis de NPD1 a partir de DHA, i al seu torn, NPD1 potencia la secreció d'APP α [53]. Entre els efectes beneficiosos d'APP α es troben la millora de l'aprenentatge, de la memòria i propietats neuroprotectores [108]. A més, NPD1 disminueix els nivells de BACE1 (β -secretasa) i activa ADAM10 (α -secretasa). Per tant, NPD1 sembla actuar favorablement en aquests dos esdeveniments que competeixen en el processament d' β APP, reprimint la via amiloidogènica de l'APP alhora que potencia la via no amiloidogènica.

NPD1 també ha demostrat ser un activador de PPAR γ , per unió directa o mitjançant altres mecanismes. L'activació del receptor PPAR γ condueix a accions antiinflamatòries, antiamiloidogèniques i antiapoptòtiques [109,110]. L'activitat de PPAR γ provoca reduccions en els nivells de A β , sAPP β i CTF β , així com també en els nivells de BACE1. Així, l'efecte antiamiloidogènic de NPD1 s'associa amb l'activació de PPAR γ i la posterior regulació de BACE1 (veure Figura 9) [55]. Aquest mecanisme d'acció podria ser raonablement atribuïble també a HDHA.

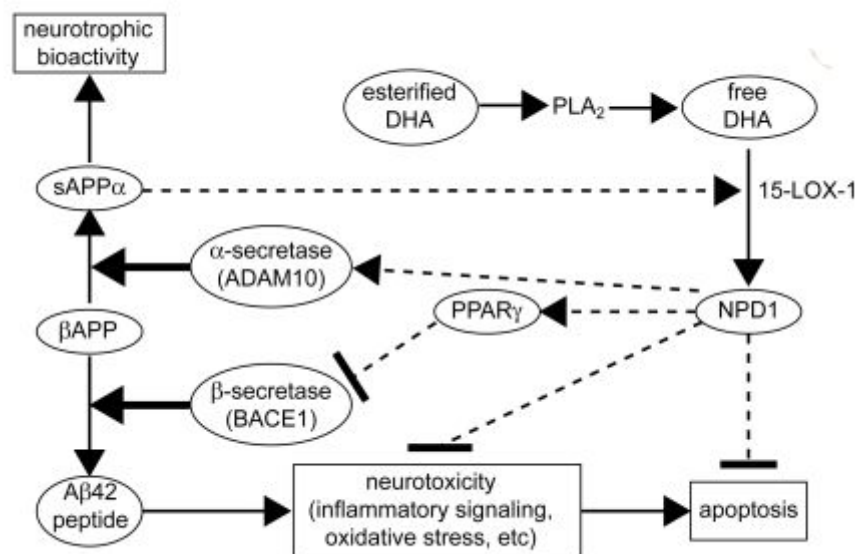


Figura 9. NPD1 promou bioactivitat no amiloidogènica a través de mecanismes pleiotròfics. El DHA esterificat s'allibera de la membrana per acció de la fosfolipasa A2 (PLA2) per produir DHA lliure, a partir del qual es genera NPD1 per acció de la lipooxigenasa 15 (15-LOX). Els efectes neuroprotectors de NPD1 estan mediat, en part, mitjançant: la inhibició de l'apoptosi, el bloqueig de la senyalització inflammatòria, l'augment de la supervivència cel·lular i canviant el processament d' β APP de la via tòxica amiloidogènica a la via no amiloidogènica. L'activitat de BACE1 es suprimeix i s'estimula l'activitat α -secretasa (ADAM10), regulant així l'alliberament de pèptid A β . El producte resultant del clivatge d'ADAM10, sAPP α , indueix encara més la conversió de DHA lliure a NPD1, constituint així un bucle de retroalimentació positiu i neurotròfic [55].

Independentment de la producció d'A β i de la patologia neurítica, la inflamació també és un element clau en l'AD. S'han detectat nivells elevats al cervell de pacients amb Alzheimer dels enzims PLA2 depenent de calci (cPLA2) i COX-2, implicats en la generació de eicosanoids proinflamatoris derivats d'AA [111,112]. El DHA i la NPD1 han demostrat disminuir els nivells d'expressió gènica de COX-2 [113]. Recentment, s'ha demostrat que la privació dietètica de PUFAs ω -3 en rates durant 15 setmanes augmenta l'expressió d'enzims associats a la via inflamatòria com ara cPLA2 i COX-2 [114]. Així, els efectes beneficiosos dels PUFAs ω -3 en la patologia d'Alzheimer estan relacionats en part amb l'efecte antiinflamatori que exerceixen alterant cPLA2 i COX-2 [94].

En aquest sentit, un altre derivat sintètic hidroxilat d'AA, el 2-HARA (àcid 2hidroxi-araquidònic,) és un inhibidor de COX-1 i COX-2 [115]. L'efecte inhibidor sobre COX-1 s'ha relacionat amb l'activació alternativa de microglia, així com la producció reduïda d'A β i de tau hiperfosforilada en un model transgènic d'AD [116]. Així, el 2-HARA pot ser un enfocament terapèutic prometedor per mitigar el component inflamatori de la malaltia. Com altres resolvines, NPD1 també exerceix propietats antiinflamatòries. De fet, l'administració de NPD1 disminueix l'expressió de l'enzim proinflamatori COX-2, i mitjançant la regulació de l'expressió de proteïnes anti-apoptòtiques de la família Bcl-2, es prevé l'apoptosi en cultius de cèl·lules [117].

Un altre enfocament que podria resultar efectiu en el tractament de la malaltia podria ser potenciar la neurogènesis. Tot i que l'administració d'EPA i DHA mostren efectes reguladors sobre les cèl·lules mare neuronals, actualment no està clar si es tracta d'efectes directes d'EPA i DHA o dels seus metabòlits. Per exemple, s'ha demostrat que els derivats hidroxilats de DHA, NPD1 i HDHA, promouen la diferenciació neuronal de cèl·lules mare embrionàries [118] alhora que exerceixen un paper neuroprotector sobre les neurones ja existents [38]. El HDHA ha demostrat millorar la supervivència *in vitro* de neurones exposades a oligòmers d'A β i a la neurotoxicitat mediada per NMDA, i promoure la proliferació *in vivo* de cèl·lules neuronals a l'hipocamp de ratolins 5xFAD [38, 107]. Aquests fets suggereixen que el HDHA indueix neurogènesis tant *in vivo* com *in vitro*, que en part pot explicar la seva eficàcia contra la neurodegeneració i pèrdua de memòria.

L'addició de NPD1 ha demostrat augmentar la velocitat de diferenciació de cèl·lules mare embrionàries a neurones. Per tant, NPD1 també presenta efectes reguladors sobre la neurogènesis, accelerant la diferenciació neuronal [119].

En conclusió, es necessiten de més estudis dels efectes de NPD1 estimulants sobre ADAM10 juntament amb la supressió de la secreció d'A β 42 mediada per BACE1, ja que la modulació d'aquestes dues vies associades a l'activitat secretasa poden proporcionar enfocaments combinatoris eficaços en la teràpia de l'AD.

5. Conclusions

En aquest treball, ha quedat reflectida la íntima relació existent entre els PUFAs i els seus derivats i la malaltia d'Alzheimer. Després del teixit adipós, el cervell humà és l'òrgan amb major contingut lipídic del cos. Hi ha proves convincentes que l'homeòstasi lipídica es veu alterada amb la malaltia. Per tant, la composició i l'estructura lipídica de les membranes cerebrals tenen un paper crític en la fisiopatologia de l'Alzheimer. En aquest context, el potencial paper dels PUFAs com a biomarcadors per detectar la patologia en les etapes primerenques, així com els possibles efectes terapèutics directes d'aquests àcids grassos i derivats, poden resultar de gran utilitat en el control i teràpia de la malaltia d'Alzheimer, tenint en compte la limitada eficàcia de les teràpies actuals.

6. Criteris de revisió

Per a la realització d'aquest treball, s'han fet servir les plataformes digitals PubMed (NCBI, National Library of Medicine, USA) i WOS (Web Of Science) per a la recerca d'articles, tant originals com revisions bibliogràfiques, seleccionant aquells la temàtica dels quals s'adequa al tema principal de la present revisió. S'han fet servir les paraules clau: "Alzheimer", "PUFA", "DHA", "NPD1", "biomarker", "therapy", per si soles o en combinacions múltiples. Només s'han seleccionat articles d'interès de llengua anglesa i que hagin estat publicats en revistes d'alt impacte. S'ha donat prioritat a les publicacions posteriors a l'any 2000.

7. Referències bibliogràfiques

- [1] Annaert W, Cupers P, Saftig P, De Strooper B. Presenilin function in APP processing. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;920:158–64.
- [2] Price DL, Sisodia SS. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. *Annu Rev Neurosci.* 1998;21:479–505.
- [3] Harman D. Alzheimer's disease pathogenesis: role of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1067:454–60.
- [4] De Strooper B. Proteases and proteolysis in Alzheimer disease: a multifactorial view on the disease process. *Physiol Rev.* 2010;90(2):465–94.
- [5] Cole SL, Vassar R. BACE1 structure and function in health and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2008;5(2):100–120.
- [6] Stockley JH, O'Neill C. The proteins BACE1 and BACE2 and beta-secretase activity in normal and Alzheimer's disease brain. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(Pt 3):574–576.
- [7] Stockley JH, Ravid R, O'Neill C. Altered beta-secretase enzyme kinetics and levels of both BACE1 and BACE2 in the Alzheimer's disease brain. *FEBS Lett.* 2006;580(28–29):6550–6560.
- [8] Willem M, Lammich S, Haass C. Function, regulation and therapeutic properties of beta-secretase (BACE1). *Semin Cell Dev Biol.* 2009;20(2):175–182.
- [9] De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza OV. Alzheimer's disease. *Subcell Biochem.* 2012;65:329–352.
- [10] Xiang Y, Lam SM, Shui G. What can lipidomics tell us about the pathogenesis of Alzheimer disease? *Biol Chem.* 2015;396(12):1281–91.

- [11] Hardy J. Has the amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease been proved? *Curr Alzheimer Res.* 2006;3(1):71–73.
- [12] Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 1992;256(5054):184–185.
- [13] Selkoe DJ. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behav Brain Res.* 2008;192(1):106–113.
- [14] Jicha GA, Markesbery WR. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging.* 2010;5:45–61.
- [15] Stockley JH, O'Neill C. Understanding BACE1: essential protease for amyloid-beta production in Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(20):3265–3289.
- [16] Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease. *Dis Mon.* 2010;56(9):484–546.
- [17] Zambón D, Quintana M, Mata P, Alonso R, Benavent J, Cruz-Sánchez F, et al. Higher incidence of mild cognitive impairment in familial hypercholesterolemia. *Am J Med.* 2010;123(3):267–74.
- [18] Martins LJ, Hone E, Foster JK, Sünram-Lea SI, Gnjec A, Fuller SJ, et al. Apolipoprotein E, cholesterol metabolism, diabetes, and the convergence of risk factors for Alzheimer's disease and cardiovascular disease. *Mol Psychiatry.* 2006;11(8):721–36.
- [19] Kása P, Rakonczay Z, Gulya K. The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 1997;52(6):511–35.
- [20] Texidó L, Martín-Satué M, Alberdi E, Solsona C, Matute C. Amyloid β peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium.* 2011;49(3):184–90.
- [21] Raina P, Santaguida P, Ismaila A, Patterson C, Cowan D, Levine M, et al. Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: evidence review for a clinical practice guideline. *Ann Intern Med.* 2008;148(5):379–97.
- [22] Kaduszkiewicz H, Zimmermann T, Beck-Bornholdt H-P, van den Bussche H. Cholinesterase inhibitors for patients with Alzheimer's disease: systematic review of randomised clinical trials. *BMJ.* 2005;331(7512):321–7.
- [23] Ibarguren M, López DJ, Escribá PV. The effect of natural and synthetic fatty acids on membrane structure, microdomain organization, cellular functions and human health. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1838(6):1518–28.
- [24] Boland B, Kumar A, Lee S, Platt FM, Wegiel J, Yu WH, et al. Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2008;28(27):6926–37.
- [25] Gómez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 1996;16(14):4491–500.
- [26] Astarita G, Jung KM, Berchtold NC, et al. Deficient liver biosynthesis of docosahexaenoic acid correlates with cognitive impairment in Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2010;5(9):e12538.
- [27] Belkouch M, Hachem M, Elgot A, et al. The pleiotropic effects of omega-3 docosahexaenoic acid on the hallmarks of Alzheimer's disease. *J Nutr Biochem.* 2016;38:1–11.
- [28] 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.
- [29] Plourde M, Fortier M, Vandal M, et al. Unresolved issues in the link between docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2007;77(5–6):301–308.
- [30] Lebbadi M, Julien C, Phivilay A, et al. Endogenous conversion of omega-6 into omega-3 fatty acids improves neuropathology in an animal model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2011;27(4):853–869.
- [31] Martín V, Fabelo N, Santpere G, et al. Lipid alterations in lipid rafts from Alzheimer's disease human brain cortex. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(2):489–502.
- [32] Dyall SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci.* 2015;7:52.
- [33] Shaikh SR. Biophysical and biochemical mechanisms by which dietary N-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil disrupt membrane lipid rafts. *J Nutr Biochem.* 2012;23(2):101–105.
- [34] Sastry PS. Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res.* 1985;24(2):69–176.
- [35] Martinsen A, Tejera N, Vauzour D, et al. Altered SPMs and age-associated decrease in brain DHA in APOE4 female mice. *FASEB J.* 2019;33(9):10315–10326.
- [36] Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Adv Nutr.* 2012;3(1):1–7. doi:10.3945/an.111.000893
- [37] Joffre C, Rey C, Layé S. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Resolution of Neuroinflammation. *Front Pharmacol.* 2019;10:1022.

- [38] Fiol-deRoque MA, Gutierrez-Lanza R, Terés S, et al. Cognitive recovery and restoration of cell proliferation in the dentate gyrus in the 5XFAD transgenic mice model of Alzheimer's disease following 2-hydroxy-DHA treatment. *Biogerontology*. 2013;14(6):763-775. doi:10.1007/s10522-013-9461-4
- [39] Katakura M, Hashimoto M, Okui T, Shahdat HM, Matsuzaki K, Shido O. Omega-3 polyunsaturated Fatty acids enhance neuronal differentiation in cultured rat neural stem cells. *Stem Cells Int*. 2013;2013:490476.
- [40] H. K., Fincham, R. E. A., Opacka-Juffry, J., Dyllal, S. C., and Molina-Holgado, F. (2013). "Cannabinoid signalling and IL-1 β are critical mediators regulating omega-3 PUFAs neural stem cell fate decisions," in 6th European Workshop on Cannabinoid Research. Proceedings of the British Pharmacological Society (Dublin, Ireland).
- [41] Su HM. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. *J Nutr Biochem*. 2010;21(5):364-373. doi:10.1016/j.jnutbio.2009.11.003
- [42] Boudrault C, Bazinet RP, Ma DW. Experimental models and mechanisms underlying the protective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in Alzheimer's disease. *J Nutr Biochem*. 2009;20(1):1-10.
- [43] Hooijmans CR, Kiliaan AJ. Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *Eur J Pharmacol*. 2008;585(1):176-196.
- [44] Hashimoto M, Shahdat HM, Yamashita S, et al. Docosahexaenoic acid disrupts in vitro amyloid beta(1-40) fibrillation and concomitantly inhibits amyloid levels in cerebral cortex of Alzheimer's disease model rats. *J Neurochem*. 2008;107(6):1634-1646.
- [45] Hossain S, Hashimoto M, Katakura M, Miwa K, Shimada T, Shido O. Mechanism of docosahexaenoic acid-induced inhibition of in vitro Abeta1-42 fibrillation and Abeta1-42-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *J Neurochem*. 2009;111(2):568-579.
- [46] Cole GM, Ma QL, Frautschy SA. Omega-3 fatty acids and dementia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2009;81(2-3):213-221.
- [47] Cunnane SC, Plourde M, Pifferi F, Begin M, Feart C, Barberger-Gateau P. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. *Prog Lipid Res*. 2009;48(5):239-256.
- [48] Freemantle E, Vandal M, Tremblay-Mercier J, et al. Omega-3 fatty acids, energy substrates, and brain function during aging. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2006;75(3):213-220.
- [49] Dennis E.A., Norris P.C. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol*. 2015;15:511-523.
- [50] Dyllal S.C. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: A review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front. Aging Neurosci*. 2015;7:52.
- [51] Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(5):349-361.
- [52] Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014;510(7503):92-101.
- [53] Lukiw WJ, Cui JG, Marcheselli VL, et al. A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest*. 2005;115(10):2774-2783.
- [54] Stark DT, Bazan NG. Neuroprotectin D1 induces neuronal survival and downregulation of amyloidogenic processing in Alzheimer's disease cellular models. *Mol Neurobiol*. 2011;43(2):131-138.
- [55] Zhao Y, Calon F, Julien C, et al. Docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 induces neuronal survival via secretase- and PPAR γ -mediated mechanisms in Alzheimer's disease models. *PLoS One*. 2011;6(1):e15816.
- [56] Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Arch Neurol*. 2010;67(6):699-706.
- [57] Wu S, Ding Y, Wu F, Li R, Hou J, Mao P. Omega-3 fatty acids intake and risks of dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;48:1-9.
- [58] Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, et al. Dietary patterns and risk of dementia: the Three-City cohort study. *Neurology*. 2007;69(20):1921-1930.
- [59] Chandra RK. Effect of vitamin and trace-element supplementation on cognitive function in elderly subjects [retracted in: Meguid MM. *Nutrition*. 2005 Feb;21(2):286]. *Nutrition*. 2001;17(9):709-712.
- [60] Das UN. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnol J*. 2006;1(4):420-439.
- [61] Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother*. 2006;60(9):502-507.
- [62] Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. *J Nutr Metab*. 2012;2012:539426.

- [63] Hong S, Tjonahen E, Morgan EL, Lu Y, Serhan CN, Rowley AF. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brain cells biosynthesize novel docosahexaenoic acid-derived resolvins and protectins-Mediator lipidomic analysis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2005;78(1-4):107-116.
- [64] Afshordel S, Hagl S, Werner D, 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.* 2015;92:23-31.
- [65] Vetrivel KS, Thinakaran G. Membrane rafts in Alzheimer's disease beta-amyloid production. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(8):860-7.
- [66] Ritter A, Cummings J. Fluid biomarkers in clinical trials of Alzheimer's disease therapeutics. *Front Neurol.* 2015;6:186.
- [67] Khan TK, Alkon DL. Peripheral biomarkers of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015;44(3):729-44.
- [68] Xiang Y, Lam SM, Shui G. What can lipidomics tell us about the pathogenesis of Alzheimer disease? *Biol Chem.* 2015;396(12):1281-91.
- [69] Orešič M, Hyötyläinen T, Herukka S-K, Sysi-Aho M, Mattila I, Seppänen-Laakso T, et al. Metabolome in progression to Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry.* 2011;1:e57.
- [70] Proitsi P, Kim M, Whitley L, Pritchard M, Leung R, Soininen H, et al. Plasma lipidomics analysis finds long chain cholesteryl esters to be associated with Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry.* 2015;5:e494.
- [71] Walter A, Korth U, Hilgert M, Hartmann J, Weichel O, Hilgert M, et al. Glycerophosphocholine is elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients. *Neurobiol Aging.* 2004;25(10):1299-303.
- [72] Yurko-Mauro K, McCarthy D, Rom D, Nelson EB, Ryan AS, Blackwell A, et al. Beneficial effects of docosahexaenoic acid on cognition in age-related cognitive decline. *Alzheimers Dement.* 2010;6(6):456-64.
- [73] 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(4):415-8.
- [74] Han X, Rozen S, Boyle SH, Hellegers C, Cheng H, Burke JR, et al. Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma sphingolipidome using shotgun lipidomics. *PLoS One.* 2011;6(7):e21643.
- [75] Mielke MM, Bandaru VVR, Haughey NJ, Rabins PV, Lyketsos CG, Carlson MC. Serum sphingomyelins and ceramides are early predictors of memory impairment. *Neurobiol Aging.* 2010;31(1):17-24.
- [76] Tanprasertsuk J, Mohn ES, Matthan NR, et al. Serum Carotenoids, Tocopherols, Total n-3 Polyunsaturated Fatty Acids, and n-6/n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Ratio Reflect Brain Concentrations in a Cohort of Centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2019;74(3):306-314.
- [77] Tully AM, Roche HM, Doyle R, et al. Low serum cholesteryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease: a case-control study. *Br J Nutr.* 2003;89(4):483-489.
- [78] Haution-Bitker M, Gilbert T, Vignoles A, et al. Associations between Plasmatic Polyunsaturated Fatty Acids Concentrations and Cognitive Status and Decline in Neurocognitive Disorders. *J Nutr Health Aging.* 2018;22(6):718-725.
- [79] Fonteh AN, Cipolla M, Chiang J, Arakaki X, Harrington MG. Human cerebrospinal fluid fatty acid levels differ between supernatant fluid and brain-derived nanoparticle fractions, and are altered in Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2014;9(6):e100519.
- [80] Pottala JV, Yaffe K, Robinson JG, Espeland MA, Wallace R, Harris WS. Higher RBC EPA + DHA corresponds with larger total brain and hippocampal volumes: WHIMS-MRI study. *Neurology.* 2014;82(5):435-442.
- [81] Bowman GL, Dodge HH, Mattek N, et al. Plasma omega-3 PUFA and white matter mediated executive decline in older adults. *Front Aging Neurosci.* 2013;5:92.
- [82] Praticò D. The neurobiology of isoprostanes and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(8):930-933.
- [83] Fonteh AN, Harrington RJ, Huhmer AF, Biringer RG, Riggins JN, Harrington MG. Identification of disease markers in human cerebrospinal fluid using lipidomic and proteomic methods. *Dis Markers.* 2006;22(1-2):39-64.
- [84] Nguyen LN, Ma D, Shui G, et al. Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature.* 2014;509(7501):503-506.
- [85] Sánchez-Campillo M, Ruiz-Pastor MJ, Gázquez A, et al. Decreased Blood Level of MFS2a as a Potential Biomarker of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2019;21(1):70.
- [86] Salomone S, Caraci F, Leggio GM, Fedotova J, Drago F. New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: focus on disease modifying drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;73(4):504-17.
- [87] Caraci F, Bosco P, Leggio GM, Malaguarnera M, Drago F, Bucolo C, et al. Clinical pharmacology of novel anti-Alzheimer disease modifying medications. *Curr Top Med Chem.* 2013;13(15):1853-63.

- [88] Chang W-P, Huang X, Downs D, Cirrito JR, Koelsch G, Holtzman DM, et al. Betasecretase inhibitor GRL-8234 rescues age-related cognitive decline in APP transgenic mice. *FASEB J*. 2011;25(2):775–84.
- [89] Ohno M, Sametsky EA, Younkin LH, Oakley H, Younkin SG, Citron M, et al. BACE1 deficiency rescues memory deficits and cholinergic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron*. 2004;41(1):27–33.
- [90] Chávez-Gutiérrez L, Bammens L, Benilova I, Vandersteen A, Benurwar M, Borgers M, et al. The mechanism of γ -Secretase dysfunction in familial Alzheimer disease. *EMBO J*. 2012;31(10):2261–74.
- [91] Henley DB, May PC, Dean RA, Siemers ER. Development of semagacestat (LY450139), a functional gamma-secretase inhibitor, for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2009;10(10):1657–64.
- [92] Bateman RJ, Siemers ER, Mawuenyega KG, Wen G, Browning KR, Sigurdson WC, et al. A gamma-secretase inhibitor decreases amyloid-beta production in the central nervous system. *Ann Neurol*. 2009;66(1):48–54.
- [93] De Strooper B, Vassar R, Golde T. The secretases: enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2010;6(2):99–107.
- [94] Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(2):101–12.
- [95] Numata K, Kaplan DL. Mechanisms of enzymatic degradation of amyloid Beta microfibrils generating nanofilaments and nanospheres related to cytotoxicity. *Biochemistry*. 2010;49(15):3254–60.
- [96] Spires-Jones TL, Stoothoff WH, de Calignon A, Jones PB, Hyman BT. Tau pathophysiology in neurodegeneration: a tangled issue. *Trends Neurosci*. 2009;32(3):150–9.
- [97] Hanger DP, Anderton BH, Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends Mol Med*. 2009;15(3):112–9.
- [98] Tariot PN, Aisen PS. Can lithium or valproate untie tangles in Alzheimer's disease? *J Clin Psychiatry*. 2009;70(6):919–21.
- [99] Trujillo-Estrada L, Jimenez S, De Castro V, Torres M, Baglietto-Vargas D, MorenoGonzalez I, et al. In vivo modification of Abeta plaque toxicity as a novel neuroprotective lithium-mediated therapy for Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol Commun*. 2013;1(1):73.
- [100] Mudher A, Shepherd D, Newman TA, Mildren P, Jukes JP, Squire A, et al. GSK-3beta inhibition reverses axonal transport defects and behavioural phenotypes in Drosophila. *Mol Psychiatry*. 2004;9(5):522–30.
- [101] Mullane K, Williams M. Alzheimer's therapeutics: continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond? *Biochem Pharmacol*. 2013;85(3):289–305
- [102] De Strooper B, Chávez Gutiérrez L. Learning by failing: ideas and concepts to tackle γ -secretases in Alzheimer's disease and beyond. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2015;55:419–37.
- [103] Freund-Levi Y, Eriksdotter-Jönhagen M, Cederholm T, Basun H, Faxén-Irving G, Garlind A, et al. Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegAD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol*. 2006;63(10):1402–8.
- [104] Shinto L, Quinn J, Montine T, Dodge HH, Woodward W, Baldauf-Wagner S, et al. A randomized placebo-controlled pilot trial of omega-3 fatty acids and alpha lipoic acid in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;38(1):111–20.
- [105] Quinn JF, Raman R, Thomas RG, Yurko-Mauro K, Nelson EB, Van Dyck C, et al. Docosahexaenoic acid supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA*. 2010;304(17):1903–11.
- [106] Török Z, Crul T, Maresca B, Schütz GJ, Viana F, Dindia L, et al. Plasma membranes as heat stress sensors: from lipid-controlled molecular switches to therapeutic applications. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1838(6):1594–618.
- [107] Torres M, Price SL, Fiol-Deroque MA, Marcilla-Etxenike A, Ahyayauch H, BarcelóCoblign G, et al. Membrane lipid modifications and therapeutic effects mediated by hydroxydocosahexaenoic acid on Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1838(6):1680–92.
- [108] Haass C, Mandelkow E. Fyn-tau-amyloid: a toxic triad. *Cell*. 2010;142(3):356–358.
- [109] González-Pérez A, Planagumà A, Gronert K, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *FASEB J*. 2006;20(14):2537–2539.
- [110] Avramovich Y, Amit T, Youdim MB. Non-steroidal anti-inflammatory drugs stimulate secretion of non-amyloidogenic precursor protein. *J Biol Chem*. 2002;277(35):31466–31473.
- [111] Stephenson DT, Lemere CA, Selkoe DJ, Clemens JA. Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) immunoreactivity is elevated in Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Dis*. 1996;3(1):51–63.

- [112] Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Distribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNAs and proteins in human brain and peripheral organs. *Brain Res.* 1999;830(2):226-236.
- [113] Bazan NG. The onset of brain injury and neurodegeneration triggers the synthesis of docosanoid neuroprotective signaling. *Cell Mol Neurobiol.* 2006;26(4-6):901-913.
- [114] Rao JS, Ertley RN, DeMar JC Jr, Rapoport SI, Bazinet RP, Lee HJ. Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol Psychiatry.* 2007;12(2):151-157.
- [115] Lopez DH, Fiol-Deroque MA, Noguera-Salvà MA, Terés S, Campana F, Piotto S, et al. 2-hydroxy arachidonic Acid: a new non-steroidal anti-inflammatory drug. *PLoS One.* 2013;8(8):e72052.
- [116] Choi S-H, Aid S, Caracciolo L, Minami SS, Niikura T, Matsuoka Y, et al. Cyclooxygenase-1 inhibition reduces amyloid pathology and improves memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2013;124(1):59-68.
- [117] Lorente-Cebrián S, Costa AGV, Navas-Carretero S, Zabala M, Laiglesia LM, Martínez JA, et al. An update on the role of omega-3 fatty acids on inflammatory and degenerative diseases. *J Physiol Biochem.* 2015;71(2):341-349.
- [118] Yanes O, Clark J, Wong DM, et al. Metabolic oxidation regulates embryonic stem cell differentiation. *Nat Chem Biol.* 2010;6(6):411-417.
- [119] Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.* 2007;21(2):325-332.