

# OMEGA 3 POLINEZASIĆENE MASNE KISELINE I INFLAMATORNI PROCESI

---

Čačić, Leon

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:854532>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDIDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Leon Čačić**

**Omega-3 polinezasićene masne kiseline i inflamatorni procesi**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2018.**

Mentor rada : Prof.dr.sc. Dinko Vitezić, dr. med.

Diplomski rad ocijenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na Medicinskom fakultetu

Sveučilišta u Rijeci pred povjerenstvom u sastavu :

1. Prof. dr. sc. Jasenka Mršić-Pelčić, dr. med.
2. Prof. dr. sc. Ines Mrakovčić Šutić, dr. med.
3. Izv. prof. dr. sc. Kristina Pilipović, dr. med.

Rad sadrži 37 stranica, 2 slike i 30 literaturnih navoda.

## Skraćenice i akronimi

5-HT- serotonin

AA - Arahidonska kiselina

NF-KB – nuklearni faktor kappa B

AB- amiloid beta

AD- Alzheimerova bolest

ALA- alfa-linolenska kiselina

ATL- aspirin trigerirani lipoksini

BDNF- moždani neurotrofni faktor rasta

CAD- koronarna arterijska bolest

COX- ciklooksigenaza

Rv – Rezolvin

DHA- dokozaheksanoična kiselina

EPA- eikozapentanoična kiselina

HHO- hipotalamus hipofiza os

IL- interleukin

ROS- reaktivni kisikovi radikali

KYN –kinurenin put

KYNA- kinureninska kiselina

SMK- slobodne masne kiseline

SPM- specijalizirani prorezolucijski medijatori

TG- trigliceridi

LA- linolna kiselina

LOX- lipooksigenaza

NPD1- Neuroprotektin D1

LPS- lipopolisaharid

LT- leukotriene

LX- lipoksin

NGF- živčani faktor rasta

PG- prostaglandin

MaR- Marezin

PMNL – polimorfonuklearni leukocit

PUFA – polinezasićene masne kiseline

QUIN- kinolinska kiselina

RCT- randomizirana kontrolirana studija

RA- reumatoidni artritis

PCB- poliklorirani bifenil

## Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1 Uloga masnih kiselina i njihovih derivata u organizmu.....	1
1.2 Eikozanoidi .....	2
1.3 Omega-6 i omega-3 masne kiseline .....	3
1.4 PUFA i mozak.....	4
1.5 Upalni proces .....	5
1.6 Ishod upale.....	6
1.7 Rezolucija upale .....	6
2. SVRHA RADA .....	9
3. Pregled literature .....	9
3.1 Izvor i unos omega-3 masnih kiselina .....	9
3.2 Metabolizam polinezasićenih masnih kiselina.....	10
3.3 Upala i bolesti.....	12
3.4 EPA I DHA direktni efekti u organizmu.....	14
3.5 Specijalizirani prorezolucijski medijatori derivirani iz EPA, DHA .....	16
3.6 Rezolvini .....	17
3.7 Protektini.....	18
3.8 Marezini .....	19
3.9 STUDIJE S OMEGA-3 I MOZAK.....	20
3.9.1 Omega-3 i inducirana upala mozga.....	20
3.9.2 Omega-3 i depresija .....	23
4. RASPRAVA .....	25
4.1 Unos i interakcije.....	25
4.2 Studije .....	26
5. Zaključak.....	28
6. Sažetak .....	29
8. Literatura.....	32
9. Životopis.....	37

# 1. Uvod

## 1.1 Uloga masnih kiselina i njihovih derivata u organizmu

Masne kiseline imaju ulogu u energijskom i strukturnom metabolizmu u tijelu. Svojim fizičkim smještajem u membranama, u sklopu fosfolipida i triglicerida, masne kiseline utječu na fluidnost membrane i stvaranje posebnih membranskih lakuna, te posredno na receptorski prijenos signala, propusnost za kalcij, te modifikaciju enzimskih i kanalnih sustava na membrani. Osim tih temeljnih funkcija također imaju važnu regulacijsku ulogu, osobito preko svojih eikozanoidnih i dokozaoidnih derivata (1). Eikozanoidi predstavljaju obitelj enzimatski stvorenih proizvoda iz polinezasićenih masnih kiselina (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA). Proupalni eikozanoidni produkti imaju ulogu u bolestima gotovo svih organskih sustava. U stanicama sisavaca biosinteza eikozanoida je inače aktivirana s fosfolipazom A2 i oslobađanjem arahidonske kiseline (engl. *arachidonic acid*, AA) iz membranskih fosfolipida. AA je dalje transformirana ciklooksigenazom (COX) i lipoksigenazom (LOX) u prostaglandine, tromboksane i leukotriene, kolektivno nazvane eikozanoidima.

Postoje tri enzimska puta za sintezu eikozanoida od kojih svaki ima svoju obitelj enzima. Fiziološki najbitniji su COX koji iniciraju stvaranje prostaglandina (PG), prostaciklina i tromboksana (TX). U sisavaca COX-1 izoforma enzima je konstitutivna, dok upalni stimulus i faktori rasta induciraju COX-2 izoformu. U LOX putu, 5-LOX je glavni enzim za stvaranje leukotriena i drugih 5-oksigeniranih eikozanoida. Uz navedene, mogu se javiti neenzimatski radikal-inducirani proizvodi peroksidacije AA nazvani izoprostani, te tvore zasebnu klasu lipidnih medijatora (2).

## 1. 2 Eikozanoidi

Eikozanoidi spadaju u skupinu oksilipina. Oksilipini su obitelj spojeva koji nastaju iz masnih kiselina s najmanje jednim korakom oksigenacije. Biosinteza oksilipina je inicirana s dioksidogenazom ili monooksigenazom, također i neenzimatskim autooksidativnim procesom. Oksilipini u životinja, nazvani eikozanoidi su potkategorija oksilipina i najčešće djeluju na autokrini i parakrini način. (3) Uključeni su u spektar fizioloških funkcija poput aktivacije i agregacije trombocita, upalnih procesa, regulacije aritmija, vazoreaktivnosti i upali, rezultirajući pojačanim ili oštećenim imunitetom.

AA je prekursor serije-2 PG i TX, te serije-4 leukotriena. Eikozanoidi derivirani iz AA imaju značajnu ulogu u upalnom odgovoru s većinski proupalnom aktivnošću (4). Prostaglandin E2 (PGE2) je uključen u klasične znakove upale, te ima proupalni i protupalni učinak.

Tromboksan A2 (TXA2) (prekursor TXB2) kojeg sintetiziraju trombociti, makrofazi i polimorfonuklearni leukociti (PMNL), može inducirati vazokonstrikciju, te promovira agregaciju trombocita i adhezivnost PMNL. Leukotrien B4 (LTB4) povećava vaskularnu permeabilnost i lokalni protok krvi tako da stimulira neutrofilnu sekreciju i također stimulira ostale upalne medijatore (5). Uz eikozanoide s proupalnom aktivnošću, postoje metaboliti derivirani iz AA u lipoksin (LX) obitelji, endogeni lipidni medijatori koji aktivno promoviraju rezoluciju upale. 15-LOX je središnji enzim sposoban za biosintezu LX i konverziju LTA4 u LX. Na mjestu ozljede ili upale, LX su generirani iz upalnih stanica koje imaju ekspresiju 5-LOX enzima. Endogeni mehanizmi uključeni u rezoluciju upale su slabo objašnjeni. Ovaj proces se očito razlikuje od inhibicije upale farmakološkim tvarima, LX time predstavljaju potencijalni model dizajna protuupalnih lijekova, ili bolje rečeno prorezolucijskih lijekova (2). Sažeto,

PUFA moduliraju upalni proces otpuštanjem proupalnih produkata: (PG) , leukotriena (LT) i (TX), a također i protuupalnih LX, rezolvina, protektina i marezina.

### 1.3 Omega-6 i omega-3 masne kiseline

PUFA su lipidi derivirani iz prehrane i važni su za održavanje ljudskog zdravlja. Klasificirane su po broju ugljikovih atoma između prve dvostruke veze i terminalnog metilnog (omega) kraja tako da mogu biti razvrstane u omega-3, omega-6 i omega -9. Samo omega-3 i omega-6 sadrže relevantne biološke funkcije. Pri standardnoj prehrani u industrijaliziranim zemljama, većina PUFA u ljudskom tijelu su omega-6, a svega oko 3 % su omega-3 PUFA. Omega-6 se mogu naći u biljnim uljima i sjemenkama, kao u margarinu i mnogim vrstama prerađene hrane. Visoki unos omega-6 PUFA je asociran s upalnim bolestima, kardiovaskularnim bolestima, pretilošću, reumatoidnim artritisom i Alzheimerovom bolešću. Omega-3 je prisutna u orasima, chia sjemenkama, lanenom ulju, masnoj ribi i drugim izvorima (4). Povećanjem unosa omega-3 masnih kiselina hranom, sadržaj u membranama im se može povećati do 8 puta (1). Linolna kiselina (engl. *linoleic acid*, LA) (omega 6 –  $\omega_6$  – C18:2, C18H32O2) prekursor je AA, također omega-6 kiseline. Alfa linolenska kiselina (engl. *alpha linolenic acid*, ALA) (omega 3 –  $\omega_3$  – C18:3, C18H30O2) prekursor je eikozapentanoične (EPA) i dokozaheksanoične kiseline (DHA) koji su dio omega-3 grupe. Ljudskom tijelu manjka set enzima za sintezu PUFA, LA i ALA. LA i ALA su stoga esencijalne PUFA, koje se, dakle, moraju u tijelo unijeti hranom (6).



## 1. 4 PUFA i mozak

PUFA lipidne molekule prepoznate su kao važne u normalnom razvoju mozga i njegovom funkcioniranju. Na nivou mozga iz omega-3 obitelji, od sveukupne PUFA, oko 40% PUFA je reprezentirano kao dokozaheksanoična (DHA, 22:6n-3), dok AA (AA, 20:4n-6) iz omega-6 obitelji predstavlja 50 % centralne PUFA. Još jedan važan lipid iz omega-3 obitelji je EPA čiji je moždani sadržaj značajno niži. Nakon što su otpuštene iz membrana, PUFA mogu sudjelovati u prijenosu signala, direktno ili preko enzimatske konverzije u bioaktivne derivate, poput pro-rezolvina (omega-3) ili prostaglandina i endokanabinoida (omega -6). PUFA i njeni medijatori reguliraju cerebralne procese poput neurotransmisije, preživljavanja neurona i uključeni su u procese neuroupale. PUFA i signalni putevi na koje utječu su promijenjeni u nekoliko neuroloških poremećaja poput Alzheimerove bolesti (AD) i velikog depresivnog poremećaja (7).

AA derivati primarno imaju proupalnu aktivnost s iznimkama, a DHA derivati izražavaju protuupalnu i pro-rezolucijsku ulogu. Mikroglia su imunološki aktivne stanice mozga koje se smatraju protektivnima ako su pravilno aktivirane. Intrinzični i ekstrinzični faktori utječu na sadržaj PUFA u mozgu te također treba naglasiti da postoji i regionalna raspodjela PUFA u mozgu. Moždana PUFA ovisi o sadržaju masnih kiselina u našoj prehrani, sukladno tome će se prezentirati i modifikacije u mozgu, ponajviše u prefrontalnom korteksu i hipokampusu, koji imaju najveći sadržaj DHA pa su najosjetljiviji. Hipotalamus sadrži najmanju količinu DHA i osjetljivost. Također nekoliko studija ukazuje da je razina PUFA različita s obzirom na spol. DHA je viši u trombocita žena, a u ženki štakora jetra i moždani korteks imaju više DHA u odnosu na muške (6).

## 1.5 Upalni proces

Upala je zajednički tkivni odgovor na upalni podražaj koji se temelji na predodređenim obrascima ponašanja tkiva i organizma. Ti su obrasci tkivnog ponašanja filogenetski očuvani budući da predstavljaju egzistencijalno važan homeostatički mehanizam organizma u reagiranju na vrlo različite etiološke čimbenike. Upala je potrebna da ljudski organizam sačuva i vrati homeostazu u organizmu nakon oštećenja. Kliničko očitovanje upalne reakcije određeno je odnosom dvaju velikih skupina suprotstavljenih mehanizama: upalotvornih odnosno upalostatičkih procesa. Čovjekov organizam se za života susreće s raznim upalnim podražajima i na njih pokreće stereotipizirane upalne mehanizme kojim se ograniči ili ukloni štetni podražaj i nastala tkivna oštećenja. Obrambena upalna reakcija uključuje proizvodnju kisikovih radikala, fagocitne mehanizme, lučenje protumikrobnih tvari, lučenje protuendotoksinskih molekula, fibroziranje i neovaskularizaciju, te promjene tkivne arhitekture zahvaćenog organa ili tjelesnog prostora. U svim procesima cijeljenja tkivnih ozljeda upalni procesi sudjeluju kao ključna sastavnica izlječenja. Upala se u kliničkom smislu može očitovati akutnim, subakutnim, te kroničnim tijekom (1).

Akutna upala uključuje specifične stanične događaje koji uključuju povećanu permeabilnost endotela i epitela, ekstravazaciju leukocita, aktivaciju makrofaga i limfocita na mjesto infekcije ili ozljede, te posljedični edem tkiva. U regulaciji i prometu molekula upale sudjeluju stanice sa kemokinima, citokinima i lipidnim medijatorima (8).

Pri tome se razvija sinergizam upalne i imunosne reakcije preko zajedničkih citokina te efektornih mehanizama. Sinergizam je posebno izražen u prvotnim susretima s upalnim podražajem. Za vrijeme velikih upalnih događaja postoji ravnoteža u organizmu. Javlja se koegzistencija sistemnog upalnog odgovora i kompenzatornog antiinflamatornog odgovora

koji sprečava prejako oštećenje upalom i ne interferira s uklanjanjem patogena. Kad je antiinflamatorni odgovor prisutan u pogrešnom vremenskom okviru, on uzrokuje leukopeniju, sklonost infekciji i nemogućnost uklanjanja patogena (9).

#### 1.6 Ishod upale

Upala najčešće završava uklanjanjem štetnih tvari i oštećenog tkiva te povratkom funkcije i strukture, *restitutio ad integrum*. Upala može postati kronična gdje dominira fibrozacija, razaranje parenhima i remodeliranje tkivne arhitekture. Kronična upala može biti kontinuirani proces s konstantnom progresijom disfunkcije. Može doći i do sekundarnih patofizioloških procesa koji čine daljnju štetu. Kao što vidimo upala može biti zaštitni i potencijalno samorazarajući oblik tjelesnog reagiranja (1).

#### 1.7 Rezolucija upale

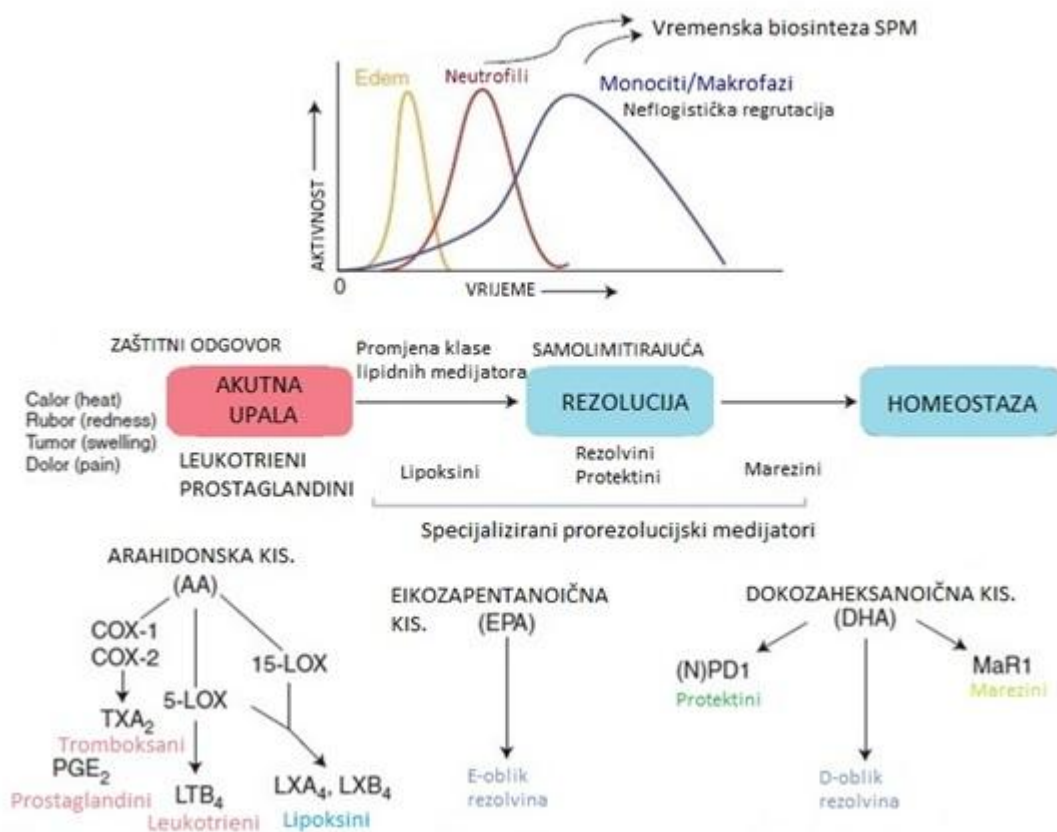
Stara mehanicistička vizija rezolucije upale je viđena kao pasivni proces karakteriziran smanjenjem razina citokina, prostaglandina, reaktivnih kisikovih radikala. U zadnjih nekoliko godina rezolucija upale je postala bolje definirana kao aktivni proces gdje pojedini lipidni medijatori sudjeluju u rezolucijskom procesu mijenjajući svoj fenotip. (9) C.N. Serhan u svom radu spominje prof. Rod Flowera iz William Harvey Istraživačkog Instituta, Sveučilište u Londonu koji citira rimskog pjesnika Juvenala : "*Quis custodiet ipsos custodias ?* ", No tko će čuvati čuvare ? da bi upotrijebio novi kontekst u istraživanju kemijskih medijatora rezolucije upale. Fagociti urođenog imunog sustava zahtijevaju usmjerenje, u obliku kemoatraktanata i kemijskih signala za kontrolu njihove funkcije i pravovremeno čišćenje mikroba i staničnih ostataka bez ozljede tkiva, glavnih obilježja rezolucije (10).

Rezolucija je sada razmatrana kao zasebni proces od protuupalnog. Osim smanjivanja infiltracije i upale, imamo aktivno pro-resorptivno stanje, stimulaciju antimikrobne aktivnosti i čišćenje mikroba (11).

Glavne točke u rezoluciji upale su prekid infiltracije PMNL na mjesto upale, vremenski određena apoptoza PMNL, aktivno čišćenje apoptotičnih tjelešaca, mikroba i drugog mrtvog tkiva od strane makrofaga i utok fagocita na mjesto oštećenja. Ovi događaji moraju biti precizno kontrolirani, inače može nastupiti ireverzibilno oštećenje tkiva i izostanak događaja poput cijeljenja tkiva, angiogeneze, i reepitelizacije. Ovi stanični događaji i upute su dirigirani u aktivnoj rezoluciji upale specifičnim medijatorima koji se nazivaju specijaliziranim prorezolucijskim lipidnim medijatorima (SPM), a koji uključuju rezolvine, protektine i marezine. Lipidni medijatori su generirani enzimatski primarno u leukocitima iako drugi stanični tipovi poput endotela i epitela mogu biti uključeni u biosintezu SPM. SPM biosinteza je vremenski reguliran događaj ovisno o podvrsti leukocita i operativnom enzimskom putu tog vremenski specifičnog događaja. Trenutno saznanje prespajanja proupalnih lipidnih medijatora prema SPM su nejasne, znamo da su LOX i COX grupa enzima podložni dinamičnoj transkripcijskoj regulaciji u tom procesu. Unos apoptotičnih tjelešaca u makrofage je podražaj za stvaranje SPM. Poznato je da vrsta primarnog podražaja utječe na daljnju signalizaciju upalnim tvarima, dakle različiti tipovi upale uzrokuju različite uzorke SPM (npr. bakterijska infekcija pogoduju produkciji RvD5 ,dok virusna regulira sintezu PD1) (12).

Acetilacija COX-2 aspirinom modificira enzim da se ponaša kao LOX pa uzrokuje sintezu prekursora LOX, 15-HETE iz AA. Nadalje preko leukocitnog 15-LOX, 15-HETE prelazi u takozvane aspirinom trigerirane LX (ATLs), 15-epi-lipoksin A4 ili 15-epi lipoksin B4. LX i ATL vrše rezoluciju upale selektivno suprimirajući ulaz novih PMNL na mjesto upale, inhibirajući

njihovu kemotaksiju, adheziju i transmigraciju kroz endotel i redukciju vaskularne permeabilnosti. Dodatno LX i ATL stimuliraju dolazak monocita stimulirajući njihovu kemotaksiju i adheziju ali bez otpuštanja reaktivnih kisikovih radikala (engl. reactive oxygen species, ROS) te promovirajući neflogističku fagocitozu apoptotičnih neutrofila od strane makrofaga (13) (Slika 1.).



**Slika 1. Biosinteza lipidnih medijatora u eksudatu staničnog prometa tijekom rezolucije akutne upale** (prilagođeno iz N. Serhan i sur., 2015)

Specijalizirani prorezolucijski medijatori su generirani tijekom rezolucije upale i kontroliraju rane događaje akutne upale poput stvaranja edema, prometa leukocita i drugih funkcija.

## 2. SVRHA RADA

Svrha ovog rada bilo je prikazati metabolizam polinezasićenih omega-3 masnih kiselina u ljudskom tijelu i posebnu ulogu dati njihovim metabolitima, pokazati učinke omega-3 PUFA te njihovih lipidnih medijatora u eksperimentalnim modelima, prikazati poveznicu između upale i omega-3 PUFA na temelju in vitro studija, animalnih studija i pregledati istraživanja na temu terapijske intervencije s omega-3 masnim kiselinama u bolestima koje su etiopatogenetski povezane s upalnom reakcijom u mozgu.

## 3. Pregled literature

### 3.1 Izvor i unos omega-3 masnih kiselina

Glavni dijetalni izvor ALA i LA su orašasti plodovi, razne sjemenke i ulja, a masna riba su glavni izvor EPA i DHA. PUFA, apsorbirane kroz crijeva u krv, spremna su za pohranu, konverziju u dugolančane PUFA u jetri ili produkciju energije kroz beta oksidaciju (6). Pretvorba esencijalnih masnih kiselina u njihove produkte, ponajviše EPA i DHA, je ograničena, stoga mnogi preporučaju nadomjestak prehranom kroz konzumaciju ribe. EPA i DHA možemo naći u masnoj ribi, ulju krila, fitoplanktonima i algama. Valja uzeti u obzir ribe poput sardine, haringe i skuše koja nije predatorna i ne hrani se na dnu jer u ovih riba nalazimo povećanu razinu toksina. Najčešća kontaminacija je sa metil- živom, polikloriranim bifenilima (PCB), dioksinom i organoklorinim spojevima. Dakle, sigurnija je konzumacija površinske ribe poput sardina, haringe i skuše. Možemo uzimati i suplemente ribljeg ulja, te bi mogli pogledati koje izvore hrane koriste. Kemijska forma suplementa utječe na apsorpciju. Postoje forme triglicerida, etil estera, i reesterificiranih triglicerida. Ako bi standardizirali trigliceridnu apsorpciju kao 100 %, etil ester forma bi dosegla 73 %, a

reesterificirani trigliceridi 124 %. Postoji i 4 tip, fosfolipidna forma, ali ne iz ribe nego ulja račića krila. Ima najmanju prisutnost toksina i kontaminacije, te apsorpciju sličnu reesterificiranim trigliceridima, naravno navedeno je ulje puno skuplje nego riblje ulje. Veganski izvor EPA i DHA je ograničen na fitoplanktone (14). Često na deklaraciji piše vrsta pripreme suplementa i vrsta prerade kojom su uklonili kontaminirajuće tvari. Također postoje i nezavisni laboratoriji među kojima možemo pogledati suplemente i istražiti ispitanu valjanost i točnost deklaracije (15).

Analizirajući pet tvorničkih vrsta suplemenata ribljeg ulja, istraživači iz Brigham and Women's Hospital i Harvard Medical School iz Bostona su pronašli da se nivo PCB i organoklornih pesticida nalazi ispod detektabilne granice. Autori zaključuju da, ako osoba jede preporučenu dozu ribe od 400 g tjedno iz Velikih Jezera na granici SAD i Kanade, unijeti će unijeti 70 puta više PCB-a i 120 puta više organoklornih pesticida nego da koristi suplementaciju ribljeg ulja u dnevnoj dozi od 1,5 grama kroz 7 dana (ukupna tjedna doza 10,5 g ribljeg ulja). Nažalost, u Baltičkom i našem Jadranskom moru također su pronađene visoke razine spomenutih toksina. S obzirom na sve češća i teža zagađenje okoliša, možemo očekivati samo veće razine toksina u budućnosti (16).

### 3.2 Metabolizam polinezasićenih masnih kiselina

Trigliceridi (TG) se pomoću žučnog i pankreatičnog sekreta emulgiraju i onda hidroliziraju sa pankreatičnom lipazom u slobodne masne kiseline (SMK) i monoacilglicerole.

Apsorpcija SMK se smanjuje proporcionalno s duljinom ugljikova lanca SMK i s hidrofobnošću, a povećava se s većom desaturacijom. Mali dio kratkolančanih SMK difundira kroz intestinalnu mukozu pomoću flip flop mehanizma. Vežu se za lipidna proteinska

uleknuća smještena na staničnoj membrani. Masne kiseline apsorbirane u enterocite se vežu za kaveolin-1 i akumuliraju u citoplazmatskim kapljicama. Dalje putuju u portalnoj cirkulaciji kao hilomikroni koji se sastoje od TG s kolesterolom, od fosfolipida i apolipoproteina. Smanjena apsorpcija PUFA se dešava zbog ozlijeđene sluznice crijeva ili redukcije pankreatične lipaze i sekrecije žuči, npr. u pankreatitisu, upalnoj bolesti crijeva, bolesti jetre, intestinalnim fistulama i kod proširene resekcije crijeva. PUFA apsorpciju nije moguće izmjeriti u navedenim stanjima (17).

Ljudi, kao i svi sisavci, sposobni su sintetizirati zasićene i mononezasićene masne kiseline, ali nisu sposobni sintetizirati omega-3 ALA i omega-6 LA zbog manjka enzima desaturaze, sukladno tome LA i ALA su esencijalne masne kiseline (4). Druge se PUFA mogu s pomoću produživanja (enzimi elongaze) i desaturacije (pretvorbom zasićenih u nezasićene veze s pomoću enzima desaturaze) sintetizirati iz LA i ALA (1). Ljudski organizam sposoban je pretvoriti EPA u DHA, i ARA u sve-cis-7,10,13,16,19-dokozapentaenoinsku kiselinu (intermedijarni produkt između EPA i DHA), ali konverzija s delta-5 i delta-6 desaturazom je vrlo spora (4).

Samo 0,2 do 2% dijetalne ALA se konvertira u EPA i DHA, ostatak ide u beta oksidaciju (17). Drugdje se smatra da je konverzija ALA u EPA i DHA veća od gore navedene i da iznosi oko 8% ALA u EPA i 1% u DHA (6) ili 5% ALA u EPA te samo 0,5% u DHA (13).

FADS 1 i FADS 2 geni su odgovorni za ekspresiju enzima konverzije delta -5 i -6 desaturaza te su limitirajući faktor konverzije. LA i ALA zahtijevaju isti enzim konverzije što znači da postoji kompetitivna inhibicija između ova dva supstrata, također delta-6 desaturaza preferira konverziju omega-3 PUFA prije omega-6 PUFA. Bez obzira na ovaj afinitet enzima visoki unos LA može dovesti do promjene ravnoteže u konverziji prema omega-6 PUFA i interferirati s



desaturacijom i elongacijom ALA. Posljedično može doći do inhibicije konverzije ALA u DHA, tako da usporuje konverziju ALA u EPA i EPA u DHA pomoću delta-6 desaturaze. LA i ALA se slabo akumuliraju u tkivu komparativno sa AA i DHA, što je u koraku s njihovom ulogom kao prekursorima dugolančanih PUFA (4).

### 3.3 Upala i bolesti

Čimbenici koji reguliraju ključne metaboličke i imunološke procese u viših organizama su se razvili iz istih evolucijskih struktura i oni su evolucijski očuvani uzduž različitih vrsta organizama. Posljedično tome, imuni odgovor je visoko integriran s metaboličkom regulacijom i funkcija svakoga je usko povezana i međusobno zavisna. Iz tog razloga su metabolički poremećaji ključno povezani s upalnim događajima. Disfunkcija ovog centralnog homeostatskog okruženja dovodi do spektra kroničnih metaboličkih bolesti: pretilosti, dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti. Ove bolesti trenutno diljem svijeta uzrokuju najveću prijetnju ljudskom zdravlju i sustavu zdravstvene zaštite (18).

Upalni biomarkeri u ljudi imaju snažni prediktivni rizik za mnoge poligenetske i multifaktorijalne kardiovaskularne bolesti i probleme javnozdravstvenog sustava, uključujući ishemičnu bolest srca, perifernu arterijsku bolest i aterosklerozu. Proupalno stanje je povezano i s drugim bolestima (reumatoidni artritis, Crohnova bolest), a mnoge od njih postaju značajne s dobi. Smatra se da prekomjerna proizvodnja eikozanoida doprinosi sustavnoj upali koja vlada u podlozi ovih i drugih bolesti (2). Ateroskleroza je patofiziološki proces koji uključuje oštećenje vaskularnog endotela praćeno upalom, aktivacijom endotela, oksidativnim stresom i akumulacijom lipida u stijenci arterije rezultirajući aterosklerotskim plakom i postepenom okluzijom krvne žile. Aterogeneza započinje već u adolescenciji (19).

Koronarna arterijska bolest (CAD) je jedan od vodećih uzroka smrti u svijetu, a podaci iz literature ukazuju na povezanost upale i CAD. Trenutni dokazi govore da upalne stanice, proteini, te upalni odgovor stanica krvnih žila igraju vrlo bitnu ulogu u nastajanju i propagaciji CAD (18). Upala i reducirana neurogeneza su asocirani s patofiziologijom velikog depresivnog poremećaja. Definicija neuroupale je iznimno kompleksna i uključuje nekoliko kategorija markera: citokine, kemokine, reaktivne kisikove ili dušikove proizvode, proupalne medijatore, aktivirane astrocite i mikrogliju te infiltraciju upalnih stanica s periferije (20). Upala te imuna disfunkcija uključena je u etiologiju Alzheimerove bolesti (AD). Amiloid beta je glavna komponenta amiloidnog plaka, jednog od glavnih znakova AD patologije. Amiloid beta značajno povećava nivo interleukina, pogodujući proupalnom stanju. Postaje sve više jasno da on uz neurotoksičnu aktivnost možda drži i fiziološku ulogu. Povećane razine amiloida beta, iako normalno udružene s AD su nađene i u depresivnih pacijenata (21).

Čimbenik na koji možemo utjecati je sadržaj omega-3 i omega-6 PUFA u prehrani. Tipična američka ili zapadno europska dijeta vodi do potrošnje čak 12 do 20 puta više omega-6 nego omega-3. U mnogim biljnim uljima LA je vrlo obilna (suncokretovo ulje, 60-65 % LA), sadržaj AA u mesu iznosi 5-10%, jajima 15%, također u američkoj prehrani prisutan je nizak unos ALA iz zelenog povrća, orašastih plodova te EPA i DHA iz masne ribe. Ovaj disbalans prehrane dovodi do akumulacije omega-6 PUFA uključujući i AA. U slučaju velikog manjka omega-3 PUFA jetra će povećati ekspresiju desaturaza i elongaza s ciljem kompenziranog stvaranja ostalih omega-3 PUFA. Zbog ograničene konverzije ALA u EPA i DHA te zbog generalne prevage omega-6 u prehrani neke smjernice prehrane preporučuju omjer unosa omega-6/omega-3 bliži 4-5 ili čak i manje za zaštitu od kardiovaskularnog rizika i općeg zdravlja (6).

### 3.4 EPA I DHA direktni efekti u organizmu

Poznato je oko 70 biološki aktivnih metabolita DHA, a oni iskazuju pleotropne efekte djelujući istodobno na više mjesta povećavajući potrošnju energije, stimulirajući lipidni katabolizam, modulirajući upalni odgovor, promovirajući rezoluciju upale i cijeljenje oštećenog tkiva. DHA metaboliti aktiviraju različite vrste staničnih receptora (GPR32, GPR110, N formil peptid receptor 2, kanabinoidni receptor 1/2 i ligand za nuklearni receptor PPAR alfa/gama).

Povoljno djelovanja DHA iskazano je kao neuroprotekcija, antihipertenzivni, antinocicepsijski i antiaritmijski učinak. Zabilježeni su i negativni učinci na rak prostate i prevenciju kardiovaskularnih bolesti, ali navedeni su učinci kasnije revidirani (22).

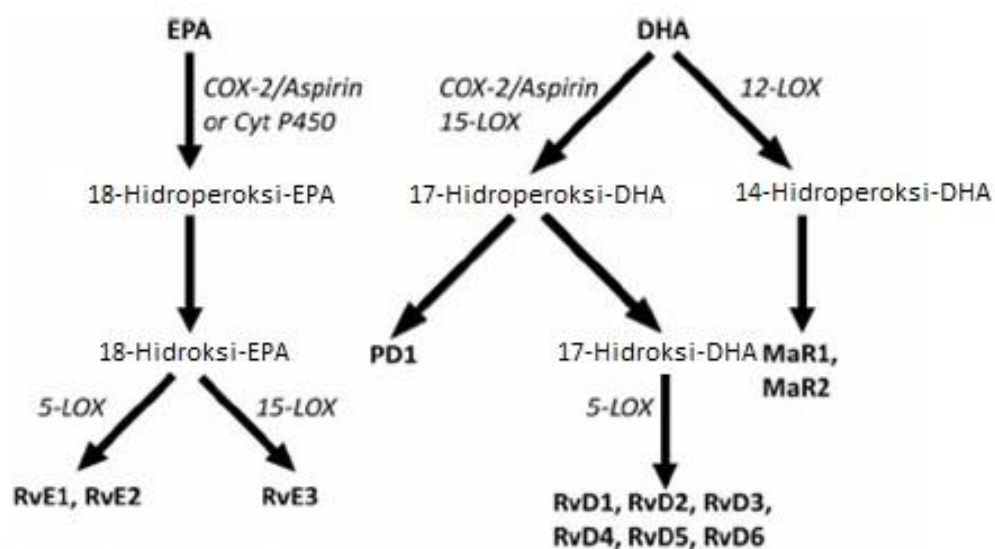
Sustavni pregled i meta-analiza 18 randomiziranih kontroliranih studija (engl. *randomized controlled trial*, RCT) pokazuje da omega-3 PUFA (EPA+ DHA ) vrše supresiju TXB2 u pacijenata s visokim kardiovaskularnim rizikom i LTB4 u neutrofilima bolesnih pacijenata. TXB2 može inducirati vazokonstrikciju i poticati agregaciju trombocita i adhezivnost PMNL, a LTB4 modulira intenzitet i trajanje upalnog odgovora. EPA + DHA direktno inhibira AA metabolizam i produkciju eikozanoida deriviranih iz AA i indirektno utječe na ekspresiju upalnih gena mijenjajući ekspresiju gena transkripcijskih faktora. Eikozanoidi derivirani iz EPA (LTB5 ,LTC5,LTD5 i LTE5 derivirani iz LTA5) imaju neznatno drukčiju strukturu i manje potentnu proupalnu aktivnost usporedivši ih s LT deriviranim iz AA (5).

Nekoliko animalnih studija pokazuje da je produkcija eikozanoida deriviranih iz AA poput PGE2 smanjena s EPA i DHA u prehrani. Konzistentno s ovim, humane studije sa kroničnim upalnim bolestima (RA, upalna bolest crijeva) pokazale su smanjenu produkciju serije-2 PG i

serije-4 LT iz upalnih stanica nakon visokih doza EPA i DHA kroz period od par tjedana do mjeseci. Rees i ostali (2006) identificiraju da EPA unos od 1,35 g /dan kroz 3 mjeseca nije dovoljno da se utječe na ex vivo produkciju PGE2 s lipopolisaharid (LPS) stimuliranim monocitima, dok EPA unos od 2,7 g /dan značajno smanjuje PGE2 produkciju. Sugerira se granica između 1,35-2,7 g EPA/dan za utjecaj na PGE2. Također, EPA je supstrat za COX, LOX i citokrom P450 enzime te producira eikozanoide drukčije strukture i biološke potentnosti nego oni derivirani iz AA. LTB5 iz EPA je 10 do 100 puta manje potentan kemoatraktant nego LTB4 iz AA. Jedan od razloga manje potentnosti je manji afinitet receptora za EPA derivirani medijator. Sukladno tome, EPA uzrokuje redukciju proizvodnje potentnih AA eikozanoida, i povećanu produkciju manje potentnih medijatora. Omega-3 PUFA, posebice DHA, smanjuje ekspresiju adhezijskih molekula: vaskularne adhezijske i intercelularne adhezijske molekule na endotelnim stanicama i monocitima u kulturi. Omega-3, dakle mogu sniziti ekspresiju staničnih adhezijskih molekula i produkciju upalnih citokina i COX-2 metabolita. Zajednički mehanizam ovih učinaka možemo objasniti preko NF-kB puta. EPA ili riblje ulje snizilo je LPS induciranu aktivaciju NF-kB u ljudskim monocitima. DHA je snizila NF-kB aktivaciju u dendritičnim stanicama i makrofazima nakon administracije LPS. Moguće je da EPA i DHA utječu na NF-kB preko peroksisom proliferacijski aktiviranog receptora (PPAR)-gama. Ovaj transkripcijski faktor djeluje protuupalno, jer fizički interferira sa translokacijom NF-kB u jezgru. PPAR-gama može biti aktiviran s omega-3 te DHA inducira PPAR-gama u dendritičnim stanicama (23). Isto tako EPA i DHA generiraju specijalizirane prorezolucijske medijatore.

### 3.5 Specijalizirani prorezolucijski medijatori derivirani iz EPA, DHA

Rezolucija upale je aktivan i zaštitni odgovor reguliran s autakoidima poznatijim kao specijalizirani prorezolucijski medijatori (SPM). Ove enzimatski producirane molekule imaju potentan receptor posredovan efekt, imunorezolucijsku aktivnost na kroničnu upalu ograničenjem neutrofilne infiltracije, suprotan efekt od proupalnih medijatora, reduciraju bol, aktiviraju G-protein spregnuti receptor na neutrofilima i makrofazima i pojačavaju čišćenje staničnih ostataka koje je potrebno za tkivnu homeostazu. SPM su lokalno producirani od PMN leukocita tijekom rezolucije upale uključujući lipoksine derivirane iz AA, rezolvine, protektine i marezine derivirane iz EPA i DHA (Slika 2.). SPM derivirani iz EPA preko intermedijarnog 18-HEPE su poznati kao E oblik rezolvina, dok su oni producirani iz DHA preko 17HDHDA poznati kao D oblik rezolvina. Protektini i marezini su derivirani iz DHA preko 17-HpDHA i 14-HpDHA (24).



**Slika 2. Pregled putova sinteze specijaliziranih prorezolucijskih medijatora iz EPA i DHA**

Skraćenice : COX,ciklooksigenaza; Cyt p450,citokrom p450; LOX, lipooksigenaza; MaR,marezin; PD,protektin D; Rv,rezolvin (Prilagođeno iz C. Calder, 2017.)

### 3.6 Rezolvini

Prvi rezolvin sintetiziran je iz eksudata miša i sukladno svojoj ulozi nazvan rezolvin E1.

Acetilacija COX-2 aspirinom omogućuje stvaranje 18-hidroksieikozapentanoične kiseline (18-HEPE). 18-HEPE može biti stvoren pomoću citokrom P450 enzima u jetri. 18-HEPE djelovanjem enzima 5-LOX stvara RvE1. 18-HEPE metabolit 5,6 epoksid stvara RvE1 uz djelovanje enzima leukotriene A4 hidrolaze. 18-HEPE djelovanjem 5-LOX stvara produkt koji redukcijom postaje RvE2. Postoji i RvE3 stvoren iz EPA preko 12/15 LOX puta, za razliku od RvE1 i RvE2 koji su stvoreni preko 5-LOX puta. 12/15 LOX put aktivan u eozinofilima stvara 17R, 18S-diHEPE i 17R, 18R-diHEPE, oba bioaktivna u mišjem modelu akutne upale. DHA stvara D oblik rezolvina. Intermedijar u biosintezi D oblika rezolvina je 17-hidroksiperoksi DHA ( 17S-HpDHA), koji može biti generiran preko 15-LOX ili acetiliranog COX-2. 15-LOX dominantno stvara 17S-HpDHA, a acetilirani COX-2 generira 17R-HpDHA i stvara tzv. "aspirin potaknute" rezolvine. Iz tih međuprodukta, djelovanjem 5-LOX enzima stvara se niz spojeva RvD1-RvD. Oni svi imaju različitu stereokemijsku strukturu i geometriju dvostruke veze što utječe na njihovu biološku funkciju (12). Rezolvini se sukladno ovome klasificiraju u E i D oblik rezolvina. Rezolvin E1 u nanomolarnoj koncentraciji skraćuje upalu, peritonitis, migraciju dendritičnih stanica i smanjuje produkciju IL-12 u animalnim studijama. Studije uporabom radioliganda pokazuju vezanje RvE1 s velikom specifičnošću na Chem 23 receptor, a preko tog receptora blokira TNF-alfa induciranu aktivaciju NF-kB. RvE1 inhibira LTB4 kao parcijalni antagonist LTB4 receptora. RvE1 i RvD1 su visoko aktivni u usporedbi s njihovim prekursorima EPA i DHA. U eksperimentalnom modelu kolitisa zeca RvE1 ima protektivni učinak. RvE1 i RvD1 blokira transkripciju IL-1B i prevenira infiltraciju PMNL u mozak, kožu i peritoneum (10). DHA ima 7 članova rezolvina, RvD1- RvD6 i 17S-HDHA, a oni

stimuliraju fagocitozu makrofaga ili inhibiraju produkciju proupalnih citokina. Oblik D rezolvina ima identificirana 2 G-protein spregnuta receptora u ljudi. RvD1 veže GPR32 (bivši receptor siročić ) i LXA4 receptor nazvan FPR2 (drugo ime ALX ). RvD1 veže ljudske leukocite s visokim afinitetom. Konjugati rezolvina stvoreni aspirin-acetiliranim COX enzimom (AT-rezolvini ) imaju anti-hiperalgezijski efekt u štakora. U makrofaga, stimulacija fagocitoze s RvD1 je blokirana s knock-down FPR2 i GPR32, a što potvrđuje važnost tih receptora (22).

### 3.7 Protektini

Protektini ili neuroprotektini su generirani u živčanom tkivu i tako nazvani jer je otkriveno da imaju zaštitnu ulogu u sklopu neuralne ozljede te ishemičnog moždanog udara. Glavni član ove obitelji je neuroprotektin D1 (PD ili NPD1 ) stvoren iz DHA. Stvaranje NPD1 se događa pomoću 15-LOX enzima iz 17-HpDHA. Izomer NPD1 može biti stvoren iz 17-HpDHA pomoću dvostruke dioksidacije. Manje potentan od NPD1 , svejedno reducira PMNL infiltraciju u mišjem modelu akutne sterilne upale i također regulira aktivaciju trombocita (11).

Protektin konjugati imaju efekt zaštite domaćina i tkivno-regenerativne sposobnosti.

Aspirin-derivirani PD1, i PD1 metabolit 22-OH-PD1 izražavaju potentne prorezolucijske mehanizme inhibirajući PMNL kemotaksiju. PDX inhibira agregaciju ljudskih trombocita, ROS produkciju i COX aktivnost u ljudskim neutrofilima te replikaciju influenza virusa (22). NPD je koristan u sprečavanju oštećenja retine, mozga, jetre, bubrega i može spriječiti fibrozu u miša (13).

### 3.8 Marezini

Marezini su najnovija obitelj prorezolucijskih lipidnih medijatora stvorenih iz DHA, oni su 12-LOX derivati producirani iz makrofaga. Marezin 1 (Mar 1) ima potentni protuupalni, prorezolucijski i analgetski učinak. 13,14 eMaR inhibira LTB<sub>4</sub> formaciju i promovira konverziju fenotipa makrofaga od M1 na M2. Marezin 2 (Mar 2) reducira neutrofilnu infiltraciju i pojačava eferocitozu u humanih makrofaga (25). 7S,14S- diHDHA reducira PMNL infiltraciju u zimosan induciranom peritonitisu. Konjugati marezina iz marezinske obitelji uključeni su u regulaciju odgovora domaćina na čišćenje infekcije i promociju regeneracije. Mar-1 i Mar-2 producirani iz leukocita i trombocita su uključeni u cijeljenju rana. Omega-1 oksidacija 14-HDHA s P450 producira metabolite koji promoviraju cijeljenje i imaju protuupalni učinak (22). Mar-1 ima potentnu aktivnost i pri nanogramski koncentracijama. In vitro studije s humanim staničnim linijama pokazuju smanjenje produkcije IL-6, IL-8 te kemokina CXCL-1 (13).

Možemo reći za sve specijalizirane prorezolucijske medijatore da je samo grupa bioaktivnih metabolita pronađena u ljudi, u tkivu ili izoliranim stanicama i tekućini stoga njihova kompletna uloga tek treba biti otkrivena. Biološka potentnost ovih molekula kreće se od pikomolarnih koncentracija za precizno regulirane SPM do mikromolarnih koncentracije za druge DHA derivirane metabolite. U istraživanju ovih tvari treba naglasiti da su biološke funkcije možda povezane sa samo specifičnim tkivom ili staničnim tipom (npr. Marezini u makrofaga ). Tvari sintetizirane lokalno, enzimatski u malim koncentracijama djeluju lokalno,



a metaboliti stvoreni neenzimatski mogu biti povezani s funkcijom bilo gdje u organizmu (22).

## 3.9 STUDIJE S OMEGA-3 I MOZAK

### 3.9.1 Omega-3 i inducirana upala mozga

Studije u ljudi naglasile su da je omega-3 PUFA u prehrani inverzno korelirano s depresivnim simptomima, što je potvrđeno u animalnim studijama. DHA je pozitivno korelirana s moždanim neurotrofičnim (BDNF) i živčanim faktorom rasta (NGF), molekule uključene u etiopatogenezu depresije i Alzheimerove bolesti (AD). Deficijencija omega-3 PUFA u perinatalnom periodu je povezana sa sniženom razinom (BDNF) u animalnom modelu. Deficijencija omega-3 u perinatalnom periodu povećava produkciju proupalnih citokina u štakora, periferni IL-6 i tumor nekroza faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ). Doživotna deficijencija omega-3 PUFA se asocira s depresivnim fenotipom, reduciranim serotoninom (5-HT) i povišenim sustavnim amiloid beta (AB) koncentracijama. Eksperimentalna studija u štakora pokazuje da se ubrizgavanjem AB u ventrikul mozga uspješno provocira depresivni fenotip zajedno sa smanjenjem kortikalnog (5-HT) i NGF. Više razine AB pogoduju proupalnom stanju povišujući razinu interleukina. U istoj studiji s administracijom AB nađena je poremećena hipotalamus-hipofiza os ( HHO ) asocirana s povećanim kortikalnim razinama noradrenalina. Omega-3 PUFA deficijencija može predisponirati ili alterirati emocionalni profil, zbog povećane AB razine i poremećene HHO osi. Kada su štakori imali doživotnu prehranu obogaćenu s omega-3 PUFA (od začeca do eksperimenta), imali su zaštitu od induciranja depresivnog profila ponašanja uzrokovano AB administracijom. Inducirana neuroupala negativno djeluje na centralni serotoninergički sustav, dok administracija omega-3 PUFA facilitira 5-HT funkciju.

Ubrzan metabolički obrtaj 5-HT pozitivno je koreliran s proupalnim stanjem, posebice IL-6. U eksperimentalnim uvjetima, 5-HT metabolički obrtaj ubrzan je nakon davanja AB u mozak, ako su štakori na prehrani s omega-6 ili u kontrolnim skupinama, dok su oni hranjeni s omega-3 zaštićeni. Omega-3 PUFA obogaćena prehrana prevenira promjenu ponašanja i neurobiološke posljedice inducirane s AB. Detaljnije, prevenira inducirani depresivni profil od strane AB u forsiranom testu plivanja i redukciju kortikalnog 5-HT i razinu NGF.

Također, u ovim eksperimentalnim uvjetima, utvrđena je povišena razina kinurenin puta (KYN). Proupalni citokini poput IL-1B, IL-6 i TNF-alfa mogu inducirati indolamin dioksigenazu (IDO), enzim koji pretvara triptofan (TRP) (prekursor 5-HT) u KYN tj. u kinureninsku kiselinu (KYNA). Predloženo je da deplecija 5-HT u depresiji vodi do prijelaza metabolizma TRP na KYN put, čiji metaboliti imaju reaktivni oksidativni te toksični potencijal. AB povisuje IDO mRNA te produkciju neurotoksične kinolinske kiseline (QUIN) u humanoj mikrogliji.

Metabolit KYN puta, QUIN reagira s N-metil D- aspartat (NMDA) receptorima i vodi do ekscitotoksičnih i neurotoksičnih procesa (7). Disregulacija KYN puta i povećana IDO mRNA ekspresija je smanjena s omega-3 prehranom.

Disregulacija KYN puta je opisana u depresiji, pacijenata s hepatitisom C i u hipokampusu pacijenata s AD. Važnost KYN puta i neurotoksične QUIN pokazana je u mišjem eksperimentalnom modelu akutne upale. Administriran je LPS u miša intracerebralno ili periferno. LPS-om potaknuti IL-1B je povisio ekspresiju neurotoksično-povezanih enzima KYN puta. Ovi efekti su reverzibilni kada je blokiran IDO, prvi enzim puta do QUIN. Smanjeno je depresivno ponašanje u ovoj induciranoj upali. Ovo doista govori u prilog važnosti ovog puta u redukciji neurogeneze. Upala može aktivirati HHO, te kronični stres i kortizol također smanjuju neurogenezu. Viši nivo IL-1B utječe na sinaptičku transmisiju, uz oštećenje učenja i

memorije. Eksperiment sprječavanja ovog utjecaja IL-1B napravljen je in vitro s multipotentnom humanom hipokampalnom progenitornom staničnom linijom. IL-1B reducira razinu DCX- pozitivnih neuroblasta i MAP2-pozitivnih neurona. (markeri diferencijacije i maturacije neurona). EPA, DHA sertralin i venlafaksin su pojedinačno koinkubirani s IL-1B i DCX- pozitivnim neuroblastima i MAP2-pozitivnim neuronima. EPA, DHA sertralin i venlafaksin su spriječili redukciju DCX pozitivnih neuroblasta i MAP2 pozitivnih neurona uzrokovano s IL-1B. Važan je dokaz da monoaminergički antidepresivi i omega-3 masne kiseline mogu reverzibilno djelovati na anti-neurogeni efekti proupalnog citokina s obzirom na imunu disfunkciju u patogenezi depresije. EPA i DHA pokazale su zaštitni efekt protiv lošeg utjecaja IL-1B na hipokampalnu neurogenezu i također smanjile razinu neurotoksične QUIN. Također pokazuje se bolji efekt EPA nego DHA, sugerirajući na njezin veći antiinflamatorni obrazac u mozgu (20).

Pretili-1 miševi su transgenične životinje koje mogu pretvoriti omega-6 u omega-3 PUFA. Usporedno su hranili transgenični i divlji tip s prehranom bogatom omega-3 ili uljem šafranke (beznačajan udio omega-3). Dane su im infuzije amiloid beta 1-40 ili kontrolnog peptida, te *microarray* analizom utvrđene ekspresije upalno asociranih genskih ontoloških kategorija i ekspresija gena uključena u sintezu lipidnih medijatora. Pretili-1 i divlji tip hranjen s ribljim uljem imali su veći totalni hipokampalni DHA nego divlji tip hranjen s uljem šafranke. Miš hranjen uljem šafranke je imao značajno povišenu ekspresiju u genskoj ontološkoj kategoriji asociranoj s upalom u odgovoru na AB infuziju, ali ne i transgenični te divlji tip hranjen ribljim uljem. Ovi efekti su neovisni od promjena u ekspresiji gena asociranih sa sintezom eikozanoidnih derivata u bilo kojoj kategoriji i od promjena hipokampalnih koncentracija poznatih lipidnih medijatora. Time možemo zaključiti da riblje ulje smanjuje ekspresiju neuroinflamatornih gena u odgovoru na AB. Neobično, *microarray*

validacijske studije, snažnijih dokaza zbog većeg uzorka, u zasebnoj kohorti miševa imala je atenuiranu neuroupalnu gensku ekspresiju samo u miševa hranjenih s ribljim uljem. Osim što se implicira na direktni utjecaj na ekspresiju gena, moguće je da su efekti posredovani s EPA ili DHA direktno, umjesto s produkcijom bioaktivnih lipidnih medijatora. Također razlika u validacijskoj studiji između transgeničnih i miševa hranjenih ribljim uljem može se objasniti zbog razlike u primjeni omega-3. Efekt su možda posredovale slobodna EPA i DHA, a transgenični miš je možda imao EPA+ DHA "zarobljene" u membranama (21). Veći hipokampalni omega-6/omega-3 omjer je asociran s LPS induciranim promjenama prostorne memorije u miševa koji su omega-3 deficijentni. Sugerira se da omega-3 deficijentna prehrana predisponira i senzibilizira mozak na štetne imunološke podražaje. Također, govori o mogućoj prevenciji gubitka prostorne memorije povezane s upalom s omega-3 prehranom. Studija sa štakorima pokazala je da DHA suplementirani štakori imaju parcijalno atenuirano dobno-vezano smanjenje u adultnoj neurogenezi u usporedbi s kontrolom (26). Yurko-Mauro i ostali (2015) napravili su sustavnu meta-analizu koristeći kliničke pokuse i opservacijske studije s ciljem utvrđivanja odnosa DHA unosa i kognitivnih ishoda. Zapazili su poboljšanje u specifičnim domenama memorije (epizodične, radne, semantičke), povezujući moguću ulogu odrasle neurogeneze i poboljšanja kognitivnih funkcija (27).

### 3.9.2 Omega-3 i depresija

Schefft, C. i ostali (2017.) napravili su sustavni pregled i meta-analizu dokaza u pregledu nutritivne terapije u dodatku antidepresivnim lijekovima kao ubrzanje ili pojačanje efekta

djelovanja antidepresiva. Za omega-3 PUFA pregledano je 10 RCT između 2002. i 2016. godine, te su nađeni dokazi razine Ib [dokazi od najmanje 1 randomizirane kontrolirane studije ( RCT ) ili meta-analiza od najmanje 3 RCT] koji potvrđuju učinkovitost u pacijenata bez pridruženih bolesti.

U uzastopnim studijama pokazano je da generalno postoji korist davanja omega-3 PUFA kao suplementa u liječenju klinički dijagnosticirane depresije, ali ne i supkliničkog depresivnog raspoloženja. Dokazano je u svim studijama da je veća doza EPA asocirana sa većim antidepresivnom efektom. Ključna je apsolutna doza EPA koja se daje, a ne omjer EPA:DHA. Sve meta-analize pokazuju heterogene rezultate kroz studije. Antidepresivi i veća totalna doza EPA su oboje asocirani s boljim ishodom. Prilagodba podgrupa zbog heterogenosti rezultata pokazuje da su omega-3 PUFA efikasne u pacijenata bez pridruženih bolesti osim dijagnoze velikog depresivnog poremećaja. Pokazano je da pacijenti koji pate od nekih drugih medicinskih stanja i neuroloških komorbiditeta čini se nemaju korist suplementa omega-3 PUFA, što možemo pripisati utjecaju tih bolesti i brojnim nepoznatim faktorima. Pozitivna korelacija doza efekt je pokazana ranije u drugim meta-analizama. Ograničenost ovih studija je premalen broj pacijenata da se naprave brojne meta-regresije i analize podgrupa (28).

Zanimljiva je studija koja je uključivala pacijente sa samostalnim depresivnim ili anksioznim, depresivnim i anksioznim, remitirajućim depresivnim i anksioznim poremećajem i zdravom kontrolom. Mjerali su apsolutne i relativne (totalne masne kiseline:omega-3 ili omega-6) vrijednosti omega-3 i omega-6 PUFA u plazmi. Mjerenja su napravljena pomoću nuklearne magnetne rezonance (NMR) metabolomičke platforme. Pokazano je da su cirkulirajuće razine omega-3 PUFA prisutne u aktualnom depresivnom poremećaju, posebice u težoj

grupi s pridruženim anksioznim poremećajem. Također, što je veća težina depresivnih simptoma ujedno je i sve niža omega-3 razina. Ovi nalazi pokazuju da su cirkulirajuće razine omega-3 ovisne o trenutnom stanju, dakle aktualnoj epizodi depresije, a ne o pozadinskom nalazu ili biološkom ožiljku prošlih epizoda. Omega-3 PUFA nalaz može biti reverzibilan nakon remisije. Niže razine se nalaze i u korisnika antidepresiva. Ovi nalazi upućuju da težina depresije može pomoći da utvrdimo podskupinu pacijenata u visokom riziku za nisku razinu omega-3. Između apsolutnih razina omega-6 PUFA i ovih poremećaja nije nađena korelacija (29).

## 4. RASPRAVA

### 4.1 Unos i interakcije

Biodostupnost lijeka područje je gdje se na omega-3 masne kiseline treba posvetiti posebna pozornost, s obzirom na vrstu primjene, kontekst zdravlja i bolesti u kojemu se pacijent nalazi, također, vrstu farmakološke terapije koju pacijent uzima. Pacijenti su vrlo često premedicirani sa slobodno dostupnim (engl. Over the counter, OTC) protuupalnim nesteroidnim lijekovima, lijekovima za bol i statinima koji imaju interakciju s metabolizmom lipida i eikozanoidnom produkcijom te mogu neutralizirati potencijalni efekt omega-3 (17),(22). Alkohol i inhibitori protonske pumpe utječu na serumsku koncentraciju omega-3 (30). Različita kemijska struktura suplementa ribljeg ulja značajno utječe na apsorpciju, a tome nije dana pozornost u većini studija. To su vrlo važne činjenice u pripremi studija i kriterijima isključivanja pacijenata iz studije. Također jedan veliki propust u studijama s ribljim uljem na koji ukazuju Wenwen Liu, Xiaochuan Xie i ostali (2018.) je nepostojanje serumskih koncentracija omega-3 prije i nakon studije (30). Mjerenja se rade metodama tekućinska kromatografija-masena spektrometrija( LC/MS) ili plinska kromatografija i

financijski troškovi na velikom uzorku ispitanika bili bi izrazito veliki. Usprkos tome, nema smisla raditi studije ako se iz njih neće moći ekstrapolirati validne i potrebne informacije za daljnje razumijevanje i probitak utjecaja EPA i DHA na ljudski organizam. Akumulacija toksičnih spojeva u organizmu i zagađenje prirodnih izvora EPA i DHA ukazuje nam da riblje ulje kao suplement promovira sve pozitivne efekte omega-3 uz minimizaciju toksičnih spojeva. Ovo je bitno naglasiti jer se velike doze ribljeg ulja uzimaju za aditivno liječenje depresije i hipertrigliceridemije.

#### 4.2 Studije

Uz dobro poznatu nuspojavu mogućeg krvarenje, poznat je pozitivni efekt aspirina u liječenju infarkta miokarda i prevenciju kardiovaskularnih incidenata. Aspirinom acetilirani COX-2 koji sintetizira ATL i time promovira protuupalnu i prorezolucijsku aktivnost možda je razlog zašto je aspirin tako koristan u sprječavanju kardiovaskularnih incidenata, uz njegovu antiagregacijsku aktivnost. Zanimljivo je opažanje da kortikosteroidi blokadom fosfolipaze A2 blokiraju oslobađanje EPA i DHA iz membranskog " bazena" lipida i time potencijalno smanjuju stvaranje lipoksina, rezolovina i protektina koji mogu utjecati na rezolucijski proces i time smanjiti cijeljenje tkiva. Možda zato u kroničnim stanjima kontinuirana upotreba kortikosteroida ima manju korist na rezoluciju upale (13). Biosintetska mreža i prijeko potrebna regulacija u prostoru i vremenu predstavlja glavnu razliku između metabolita koji predstavljaju SPM autakoide i lipidne medijatore te druge bioaktivne metabolite uključene u generalni prijenos signala.

Pozitivni efekti omega-3 PUFA u liječenju depresije mogu biti posredovani protuupalnim mehanizmima. DHA i EPA produciraju SPM, također, kortikalni nivo DHA pozitivno je koreliran sa sadržajem BDNF. Promijenjena razina BDNF povezana je s povećanom razinom

stresnih hormona, modulacija stresnog odgovora smanjenjem neuroupalnih molekula pomoću omega-3 PUFA predstavlja moguć mehanizam djelovanja. Pozitivni efekt omega-3 PUFA možda je posredovan preko veće koncentracije NGF. Također, animalni modeli su često imali doživotno povišeni sadržaj omega-3 u hrani, a studije na ljudima pretežito kratkotrajne intervencije u trajanju nekoliko mjeseci. Animalne i *in vitro* studije su ograničene zbog izolacije promatrane štetne tvari, a to ne odgovara *in vivo* modelu s raznom mrežom upalnih tvari i podražaja te međusobnih interakcija tokom života. Bez obzira, predstavljaju važan korak u identifikaciji molekularnih mehanizama i efekta ovih lipidnih molekula i buduću spoznaju detaljnih molekularnih interakcija u rezoluciji upale.

Rezultati studija s omega-3 suplementima u mentalnim poremećajima su temeljeni na studijama malog uzorka i neregistriranim studijama. Velika klinička studija je potrebna da se omega-3 PUFA može preporučati u kliničkoj praksi (29).



## 5. Zaključak

Omega-3 PUFA su nužne za funkciju fluidnosti membrane te kao posrednici u regulaciji upalnog procesa. Na početku života organizma su značajne za razvoj živčanog tkiva i sprečavanje neurorazvojnih poremećaja te ostaju važne tijekom života za prevenciju upalnih stanja i kardiovaskularno zdravlje (4). Visoki omega-3 unos mijenja relativni omjer supstrata za COX enzim dovodeći do stvaranja EPA-deriviranih TXA3 i PGI3, a uz to smanjenu produkciju AA-deriviranih TXA2 i PGI2. TXA3 ima manji proagregacijski učinak u odnosu na TXA2, a PGI3 slično vazodilatatorno i antiagregacijsko djelovanje kao PGI2, a što rezultira povoljnijim eikozanoidnim profilom. Stvaranje leukotriena preko 5-LOX također je promijenjeno uz prisustvo EPA i AA, a EPA-derivirani LTB5 manje je biološki aktivan od LT deriviranog iz AA.

Ključni učinak na opći proupalni eikozanoidni tonus ima omjer omega-3 i omega-6 u prehrani. One se esterificiraju u membranske fosfolipide i sukladno tome postaju dostupne za sintezu eikozanoida pod učinkom fosfolipaze A2 (2). Kontrola jačine PMN infiltracije i stimulacija njihovog čišćenja uz makrofage karakteristična je za dvojni učinak SPM. Uz eliminiranje apoptotičnih tjelešaca, SPM uzrokuju fagocitozu bakterija i uklanjanje fagocita s mjesta upale.

Zbog značaja SPM kao jedne od komponenti učinka omega-3 PUFA započete su i kliničke studije te je u tome uporabljen prvi omega-3 deriviran RvE1 sintetički analog (RX-10045) te se nalazi u fazi II. u liječenju suhog oka (12).

Studije s uporabom ovih tvari kao suplementima u depresiji i AD pokazuju da su rezultati bolji ako se krene ranije u životu uspoređujući s onima koji su krenuli u starosti ili

uznapređivaloj fazi AD. Dostignuti optimalni omega-3 status u ranim fazama života potrebno je održavati i nadalje.

## 6. Sažetak

EPA i DHA su glavne omega-3 PUFA prisutne u masnoj ribi i ribljim suplementima te ostalim morskim izvorima. Omega-3 PUFA mogu biti enzimatski pretvorene u različite bioaktivne autakoide koji imaju potentan modulirajući efekt na upalu, posebno rezolucijsku fazu upale. Njihova je uloga opisana u glodavaca i ljudi, a sastav masnih kiselina u membrani mijenja njezinu fluidnost, signalizaciju te uzrokuje genske ekspresije drugačijeg uzorka lipidnih medijatorskih molekula i oblik lipidnih membranskih udubljenja. Stanice uključene u upalni odgovor su uobičajeno bogate s omega-6 AA, ali se taj sastav može promijeniti. Eikozanoidi stvoreni iz AA poput PGE2 i 4-serije LT imaju značajnu ulogu u upalnom procesu, a njihovi slični analozi od EPA su manje potentni. Također EPA i DHA stvaraju rezolvine, protektine, marezine s protuupalnom i proresorptivnom sposobnošću što je važno za sprečavanje mnogih bolesti u ljudi koje su posljedica upalnog procesa. Pretpostavlja se da u fiziološkim uvjetima postoji ravnoteža između pro i protuupalnih molekula, a kada je ravnoteža poremećena imati ćemo supresiju ili egacerbaciju upale. Sukladno navedenom, treba održati ravnotežu ovih bioaktivnih lipida iz raznih izvora PUFA u korist održanja boljeg zdravstvenog stanja. Isto tako potvrđeno je da navedene masne kiseline mogu međudjelovati i djelomično inhibirati mnoge procese upale poput kemotaksije leukocita, iskazivanja adhezijskih molekula, interakciju leukocita i endotela, produkciju eikozanoida poput PG i LT iz omega-6 AA te produkciju citokina poput TNF-L i IL-1B. Daljnje razumijevanje putova omega-3 PUFA u zdravlju i bolesti bi moglo dovesti do razvoja učinkovitih načina koji mogu pomoći u liječenju niza kroničnih upalnih bolesti.

## 7. SUMMARY

EPA and DHA are the main omega-3 PUFAs present in oily fish and fish supplements, and also other marine sources. Omega-3 PUFAs can be enzymatically transformed into various bioactive autacoids that have a potent modulating effect on inflammation, especially resolution phase of inflammation. Their role is described in rodents and humans. The fatty acid composition in the membrane changes membrane fluidity, signaling through the membrane, leading to a change in gene expression, also influencing composition of lipid mediator molecules, and modulated lipid raft formation. The cells involved in the inflammatory response are typically rich in omega-6 AA, but that composition may change. Eicosanoids produced with AA such as PGE2 and 4-series LT have proinflammatory properties, their similar EPA analogs being less potent. Also, EPA and DHA create resolvins protectins, maresins with anti-inflammatory and proresorptive capability. Improper and uncontrolled inflammation leads to a spectrum of human illnesses. In physiological conditions it is believed that there will be a balance between the pro and anti-inflammatory molecules. When the balance is disturbed we will have suppression or exacerbation of inflammation. Thus, it is necessary to maintain the balance of these bioactive lipids from various sources of PUFA for our health.

There is significant evidence that these fatty acids can interfere and partially inhibit many inflammatory processes such as leukocyte chemotaxis, expression of adhesion molecules, leukocyte and endothelial interaction, production of eicosanoids such as PG and LT from omega-6 AA, and production of cytokines such as TNF-L and IL-1B. EPA and DHA operate across multiple mechanisms of action. Further understanding of the pathways of omega-3

PUFA in health and disease may lead to the development of effective therapeutic strategies for the treatment of chronic inflammatory diseases.

## 8. Literatura

1. Stjepan Gamulin, Matko Marušić ZK i suradnici. PATOFIZIOLOGIJA. sedmo, obn. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
2. Khanapure SP, Garvey DS, Janero DR, Letts LG. Eicosanoids in Inflammation : Biosynthesis , Pharmacology , and Thera- peutic Frontiers. *Curr Top Med Chem.* 2007;7:311–40.
3. Gabbs M, Leng S, Devassy JG, Monirujjaman M, Aukema HM. Advances in Our Understanding of Oxylipins Derived from Dietary PUFAs. *Adv Nutr An Int Rev J* [Internet]. 2015;6(5):513–40. Available from: <http://advances.nutrition.org/cgi/doi/10.3945/an.114.007732>
4. Janssen CIF, 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* [Internet]. 2014;53(1):1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2013.10.002>
5. Jiang J, Li K, Wang F, Yang B, Fu Y, Zheng J, et al. Effect of Marine-Derived n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Major Eicosanoids: A Systematic Review and Meta-Analysis from 18 Randomized Controlled Trials. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147351.
6. Layé S, Nadjar A, Joffre C, Bazinet RP. Anti-Inflammatory Effects of Omega-3 Fatty Acids in the Brain: Physiological Mechanisms and Relevance to Pharmacology. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2018;70(1):12–38. Available from: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.117.014092>

7. Morgese MG, Schiavone S, Mhillaj E, Bove M, Tucci P, Trabace L. N-3 PUFA diet enrichment prevents amyloid beta-induced depressive-like phenotype. *Pharmacol Res* [Internet]. 2018;129:526–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.034>
8. Manuscript A. *Airway Inflammation*. 2010;20(1):62–71.
9. Molfino A, Amabile MI, Monti M, Muscaritoli M. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Critical Illness: Anti-Inflammatory, Proresolving, or Both? *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1–6.
10. Serhan CN, Chiang N, Dalli J, Levy BD. Lipid Mediators in the Resolution of Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2014;1–21. Available from: <http://cshperspectives.cshlp.org/content/early/2014/10/30/cshperspect.a016311.short>
11. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolution Lipid Mediators. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(5):349–61.
12. Mason A. *NIH Public Access*. 2009;19(4):389–99.
13. Poorani R, Bhatt AN, Dwarakanath BS, Das UN. COX-2, aspirin and metabolism of arachidonic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their physiological and clinical significance. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2016;785:116–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.08.049>
14. Examine [Internet]. Available from: <https://examine.com/supplements/fish-oil/>
15. Labdoor [Internet]. Available from: <https://labdoor.com/rankings/fish-oil>

16. Melanson SF, Lewandrowski EL, Flood JG, Lewandrowski KB. Measurement of organochlorines in commercial over-the-counter fish oil preparations: Implications for dietary and therapeutic recommendations for omega-3 fatty acids and a review of the literature. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(1):74–7.
17. Szeffel J, Kruszewski WJ, Sobczak E. Factors influencing the eicosanoids synthesis in vivo. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
18. Capó X, Martorell M, Busquets-Cortés C, Tejada S, Tur JA, Pons A, et al. Resolvins as proresolving inflammatory mediators in cardiovascular disease. *Eur J Med Chem*. 2018;153:123–30.
19. Steffen BT, Guan W, Stein JH, Tattersall MC, Kaufman JD, Sandfort V, et al. Plasma n-3 and n-6 Fatty Acids Are Differentially Related to Carotid Plaque and Its Progression Highlights. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2018;38(3):653–9. Available from: <http://atvb.ahajournals.org/lookup/doi/10.1161/ATVBAHA.117.310366>
20. Borsini A, Alboni S, Horowitz MA, Tojo LM, Cannazza G, Su KP, et al. Rescue of IL-1 $\beta$ -induced reduction of human neurogenesis by omega-3 fatty acids and antidepressants. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2017;65:230–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2017.05.006>
21. Hopperton KE, Trépanier MO, James NCE, Chouinard-Watkins R, Bazinet RP. Fish oil feeding attenuates neuroinflammatory gene expression without concomitant changes in brain eicosanoids and docosanoids in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2018;69:74–90. Available from:

<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.11.002>

22. Kuda O. Bioactive metabolites of docosahexaenoic acid. *Biochimie* [Internet]. 2017;136:12–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2017.01.002>
23. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans* [Internet]. 2017;(August):BST20160474. Available from: <http://biochemsoctrans.org/lookup/doi/10.1042/BST20160474>
24. See VHL, Mas E, Prescott SL, Beilin LJ, Burrows S, Barden AE, et al. Effects of postnatal omega-3 fatty acid supplementation on offspring pro-resolving mediators of inflammation at 6 months and 5 years of age: A double blind, randomized controlled clinical trial. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* [Internet]. 2017;126:126–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plefa.2017.08.008>
25. Serhan CN, Chiang N, Dalli J. The resolution code of acute inflammation: Novel pro-resolving lipid mediators in resolution. *Semin Immunol*. 2015;27(3):200–15.
26. Delpech JC, Thomazeau A, Madore C, Bosch-Bouju C, Larrieu T, Lacabanne C, et al. Dietary n-3 PUFAs deficiency increases vulnerability to inflammation-induced spatial memory impairment. *Neuropsychopharmacology*. 2015;40(12):2774–87.
27. Poulouse SM, Miller MG, Scott T, Shukitt-Hale B. Nutritional Factors Affecting Adult Neurogenesis and Cognitive Function. *Adv Nutr An Int Rev J* [Internet]. 2017;8(6):804–11. Available from: <http://advances.nutrition.org/lookup/doi/10.3945/an.117.016261>
28. Schefft C, Kilarski LL, Bschor T, Köhler S. Efficacy of adding nutritional supplements in unipolar depression: A systematic review and meta-analysis. *Eur*



- Neuropsychopharmacol. 2017;27(11):1090–109.
29. Thesing CS, Bot M, Milaneschi Y, Giltay EJ, Penninx BWJH. Omega-3 and omega-6 fatty acid levels in depressive and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2018;87(September 2017):53–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.10.005>
  30. Liu W, Xie X, Liu M, Zhang J, Liang W, Chen X. Serum  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids and Potential Influence Factors in Elderly Patients with Multiple Cardiovascular Risk Factors. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19193-5>

## 9. Životopis

Leon Čačić rođen je 27.02.1991. godine u Zagrebu. Pohađa Osnovnu školu dr. Ante Starčevića, XV. gimnaziju, matematičko - informatički smjer. Upisuje Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 2010., a 2011. se prebacuje na Medicinski fakultet u Rijeci gdje upisuje Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij Medicine koji završava ove godine. Tijekom studija bio je demonstrator na Zavodu za Anatomiju (akademske godine 2013./14.) i na Zavodu za opću patologiju i patološku anatomiju (2015./16.).