

ARTÍCULOS DE ACTUALIZACIÓN

ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA): UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL PARA LA PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA): A NUTRITIONAL VIEW FOR THE PREVENTION OF ALZHEIMER'S DISEASE

Rodrigo Valenzuela B. (1), Karla Bascañan G. (1), Alfonso Valenzuela B. (2)

(1) Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

(2) Centro de Lípidos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a major public health problem in many countries of the world; however the specific cause of this disease is still unknown. Currently, a bulk of evidence supports the hypothesis that β -amyloid peptide could be the cause of synaptic injuries and neuronal death observed at the initial stages of the disease. Patients with AD show lower levels of docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6; omega-3) in plasma and brain tissue, as compared with age-matched controls. In addition, epidemiological studies indicate that a high intake of DHA may have protective properties against neurodegenerative diseases. These observations are supported by in vivo studies showing that diets rich in DHA reduce synaptic injuries and cognitive defects induced by the β -amyloid peptide. Although the molecular basis of these neuroprotective effects are still unknown, a number of mechanisms have been proposed to explain this protection, such as: regulation in the expression of potentially protective genes, activation of anti-inflammatory pathways, and modulation of the functional properties of neuronal membranes along with changes in their structural characteristics and physical-chemical properties. The present work reviews and discusses the molecular basis of the hypothesis on the protective role of DHA in the prevention of AD.

Key words: Neurodegenerative diseases, Alzheimer disease, β -amiloid peptide, docosahexaenoic acid, neuroprotectin D1.

Este trabajo fue recibido el 1 de Julio de 2008 y aceptado para ser publicado el 5 de Septiembre de 2008.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una demencia progresiva que se manifiesta tempranamente con la pérdida de funciones sinápticas y de la capacidad de memorización del individuo. El número de pacientes a los cuales se les diagnostica este desorden neuropatológico ha aumentado considerablemente en todos aquellos países donde se ha producido un aumento de la expectativa de vida. Se ha estimado que un 5% de la población que bordea los 65 años es afectada por la EA. La prevalencia de esta enfermedad aumenta al doble cada 5 años sobre los 65 años (1), y muchos estudios sugieren

que casi la mitad de la población de 85 años presenta síntomas relacionados con la enfermedad (2, 3). Muchas preguntas acerca de la patogénesis de esta devastadora enfermedad siguen sin respuesta y los resultados de las opciones terapéuticas son escasos. Actualmente, sólo dos tipos de medicamentos disponibles en el mercado han obtenido la aprobación de la FDA (Food and Drug Administration) de EEUU para el tratamiento de la EA. Estos medicamentos son los inhibidores de la acetilcolinesterasa, donepezil, rivastigmina y galantamina, utilizados en casos leves y moderados de la enfermedad, y la memantina, que actúa como antagonista de

receptores de n-metil-d-aspartato (NMDA), utilizada para el tratamiento de demencias moderadas o severas (4). Todos estos medicamentos parecen producir mejoras sintomáticas modestas, pero ninguno es capaz de curar la demencia y/o detener su progresión. Dado los enormes costos sociales y económicos de esta enfermedad, es actualmente fundamental aclarar mejor los mecanismos moleculares que conducen a la demencia en la EA para intentar desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

Numerosos estudios sugieren que la EA comienza con un daño sutil en la actividad sináptica del hipocampo y con un aumento de la apoptosis neuronal (5). Las bases moleculares específicas que describen este mecanismo aún son desconocidas, sin embargo recientes reportes establecen un importante rol del péptido β -amiloide en el desarrollo de la EA. (7-10). El péptido β -amiloide corresponde a un grupo de péptidos que presentan entre 39 a 42 aminoácidos, y dentro de este grupo existen dos importantes tipos, el β -amiloide 1-40 y β -amiloide 1-42, cuyo nombre está determinado según el número de residuos de aminoácidos que presenta cada uno de ellos (6, 7, 8). El péptido β -amiloide se produce durante una proteólisis específica que ocurre después de la síntesis y procesamiento de la proteína precursora del amiloide (PPA). La degradación proteolítica parcial de la PPA produce la acumulación de este péptido, originando la agregación de las placas seniles, una de las características neuropatológicas de la EA. (6, 7). La hipótesis que asocia una cascada de modificaciones de las estructuras amiloideas y la posterior muerte neuronal, lesiones histopatológicas, y el proceso clínico patológico característico de la EA (6, 8, 9), se sustenta en evidencias clínicas y en un fuerte apoyo experimental. Sin embargo, aún no es posible establecer un valor predictivo consistente para esta hipótesis con observaciones clínicas claves, aunque existe una correlación entre la demencia y la carga de placas seniles (10-12). De hecho, estudios de diversos grupos de investigadores han demostrado que la exposición de células al péptido β -amiloide podría conducir a la apoptosis neuronal, la que es causada principalmente por estrés oxidativo, señales pro-inflamatorias, y por perturbaciones en el citoesqueleto (13, 14). Esta neurotoxicidad sugiere que oligómeros del péptido β -amiloide podrían participar en las etapas primarias del proceso que conduce a la degeneración y muerte neuronal, y que ocurre en las primeras etapas de la EA (14).

Debido a sus propiedades fusogénicas y anfipáticas el péptido β -amiloide se intercala en la membrana plasmática neuronal, alterando las funciones de esta y las cascadas intracelulares de señalizaciones, lo cual podría conducir al proceso de neurodegeneración (13).

Por lo tanto, es esencial identificar los factores biológicos (exógenos y endógenos) que podrían modular el origen de las interacciones de péptido β -amiloide con la membrana celular y sus consecuencias nocivas. En este contexto, una mejor comprensión de la etiología de la EA se ha convertido en un desafío crucial para los grupos de investigación. En la actualidad se sabe que un polimorfismo de la apolipoproteína E (ApoE) es el factor de riesgo genético más importante para el desarrollo de la EA esporádica (15, 16). La edad, el género, nivel de educación, las actividades sociales, y la nutrición, constituyen los principales factores de riesgo epigenético para la EA (17). Pruebas consistentes de importantes estudios epidemiológicos han establecido que varios parámetros nutricionales representan factores de riesgo en común con las enfermedades cardiovasculares y el deterioro cognitivo en las enfermedades neurodegenerativas, como ocurre en la EA (18). El polimorfismo de la ApoE, así como la elevada ingesta de colesterol y el bajo consumo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) son factores determinantes tanto en los trastornos cardiovasculares como en las enfermedades neurodegenerativas (18). En cerebro de ratones se ha demostrado que una ingesta deficiente de AGPICL conduce a la pérdida de memoria, dificultades de aprendizaje, alteraciones cognitivas y de la agudeza visual (19). Sin embargo, todos estos problemas pueden revertirse al complementar la dieta con aceite de pescado, especialmente rico en ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6 Δ 4, 7, 10, 13, 16, 19; omega-3) (19). En pacientes con EA frecuentemente se pueden observar menores niveles de ácidos grasos omega-3, tanto en plasma como en cerebro (20); mientras que, individuos que presentan un importante consumo de pescados grasos y/o de suplementos nutricionales con ácidos grasos omega-3, presentan un menor riesgo de presentar la enfermedad (21, 22). En este artículo se expone una visión general sobre los beneficios del DHA en el tejido cerebral, y en el contexto particular de la EA. Junto con ello, se intenta fomentar que el consumo de alimentos y/o suplementos nutricionales ricos en DHA, podría ser una eficaz estrategia para retrasar, o prevenir, las enfermedades neurodegenerativas y la EA en particular.

EL DHA COMO UN ÁCIDO GRASO ESENCIAL PARA EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Importancia del DHA para un normal funcionamiento cerebral

El DHA es un AGPICL altamente insaturado (posee 6 dobles enlaces) y que pertenece a la serie o familia de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, (figura 1).

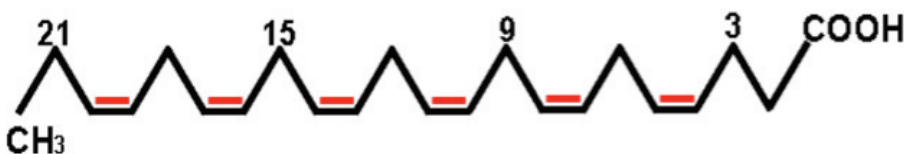
Este ácido graso comúnmente se encuentra en tejidos y células de animales superiores (especialmente en el tejido cerebral, retina y espermatozoides). El DHA aportado por la dieta proviene mayoritariamente de alimentos de origen marino (peces grasos o azules, y algas) (23). El primer reporte sobre una deficiencia de ácidos grasos omega-3 fue documentado en el año 1982 y descrito en una niña de seis años, la cual recibió nutrición parenteral sin adición de ácidos grasos omega-3, durante cinco meses, con posterioridad a una cirugía intestinal (24). Esta niña presentó bajos niveles plasmáticos de DHA, dermatitis asociada con síntomas neurológicos incluyendo neuropatía, visión borrosa y perturbaciones psicológicas, lo cual sugería un importante rol de los AGPICL omega-3, especialmente el DHA, en las funciones del sistema nervioso. De hecho, el DHA es el AGPICL omega-3 más importante en la constitución de las membranas plasmáticas neuronales y en los sinaptosomas neuronales (vesículas sinápticas), especialmente a nivel cerebral. El DHA está presente en aproximadamente un 30–40% de los fosfolípidos de la materia gris de la corteza cerebral y de los fotorreceptores de la retina (25). En el tercer trimestre del desarrollo fetal y en los primeros dos años de vida del ser humano, el cerebro presenta un rápido crecimiento y es en ese momento cuando los requerimientos de AGPICL se elevan considerablemente, especialmente los requerimientos de DHA y de ácido araquidónico (AA, C20:4 Δ 5, 8, 11, 14; omega-6). Estudios en animales han demostrado que la reducción perinatal de DHA está asociada a un déficit en la arborización neuronal, a múltiples índices de patologías sinápticas, incluido déficit en la neurotransmisión de serotonina y alteraciones en la vía dopamina mesocorticolímbica, déficit neurocognitivo, además de un mayor comportamiento ansioso, agresividad, depresión y disminución de la agudeza visual (26). En primates y

humanos de pretérmino se han demostrado problemas similares, que son revertidos con la suplementación de AGPICL omega-3. Tras el período de desarrollo cerebral, la ingesta de DHA sigue siendo esencial para mantener las funciones cerebrales en condiciones normales, incluyendo la plasticidad sináptica, la neurotransmisión y el funcionamiento visual (27).

El DHA en el metabolismo cerebral

Debido a la falta de enzimas neuronales necesarias para síntesis de novo de DHA y AA, estos ácidos grasos deben obtenerse directamente preformados de la dieta, o ser sintetizados a partir de sus respectivos precursores, el ácido α -linolénico (ALN, C18: 3 Δ 9, 12, 15; omega-3) en el caso del DHA, y el ácido linoleico (AL, C18: 2 Δ 9, 12; omega-6) en el caso del AA (26). Esta síntesis se lleva a cabo principalmente en el hígado y en menor medida en el endotelio cerebral o en los astrocitos, desde donde se exportan a las neuronas (26–28). En la figura 2 se presenta un esquema de las posibles vías de ingreso del DHA a las neuronas. A pesar que sigue en discusión el cómo los ácidos grasos pueden atravesar la barrera hemato-encefálica, algunas investigaciones demuestran que probablemente difunden a través de los fosfolípidos de las membranas neuronales. Otras evidencias indican que en la membrana existirían proteínas que facilitarían el transporte de DHA, específicamente proteínas transportadoras del tipo caveolina o el CD36 (29). Sin embargo, los niveles plasmáticos de AGPICL están poco correlacionados con la ingesta alimentaria de los precursores (30). De hecho, en individuos sanos la Δ 5- y Δ 6-desaturasas, enzimas claves del proceso de conversión de AL en AA y de ALN en DHA, sólo se inducen en ausencia de los precursores y son reprimidas cuando la ingesta de estos precursores es suficiente (30). En contraste, la actividad Δ 6-desaturasa

FIGURA 1



Estructura molecular del DHA
(22:6, omega-3)

parece disminuir con la edad, como se ha demostrado en modelos de roedores (31). Esta reducción podría ser importante, teniendo en cuenta que las personas de edad avanzada muestran bajos niveles tisulares de DHA, especialmente cuando la ingesta de ALN es crónicamente baja (30, 37). Esta situación podría dar lugar a profundas alteraciones en el metabolismo del sistema nervioso, sobre todo en la densidad de los sinaptosomas y en la liberación de neurotransmisores, como se sugiere en estudios realizados en nematodos *Caenorhabditis elegans* deficientes en $\Delta 6$ -desaturasa (32). El DHA se encuentra presente en los fosfolípidos de las membranas neuronales, predominantemente en posición sn-2, por lo tanto la incorporación del DHA a los fosfolípidos de membrana depende del ciclo de acilación – re- acilación que ocurre en la posición sn-2. En cerebros de roedores, este ciclo presenta una importante actividad (33) y depende directamente de la actividad específica de las enzimas acil-CoA sintetasa (ACS) y Fosfolipasa A2 (FLA2). La ACS realiza la activación del proceso al unir el ácido graso al Co-A, para lo cual se requiere ATP.

Una vez activados los ácidos grasos, estos se pueden incorporar a los fosfolípidos. Las isoenzimas ACS 3, 4 y 6 son específicas para AGPCL, y en el cerebro, la ACS 6 es más eficiente para la acilación específica del DHA (34). Sobre el tipo de fosfolipasas que participarían en la liberación del DHA desde los fosfolípidos aún no existen suficientes antecedentes. Sin embargo, se ha establecido que en astrocitos la liberación DHA implicaría un mecanismo dependiente de Ca^{+2} pero independiente de FLA2 (35). El papel de la FLA2 en las neuronas no se ha demostrado claramente, pero un estudio reciente, realizado en el hipocampo de ratas, indica que la enzima puede tener una importancia fundamental en la liberación de DHA en el tejido neuronal (36).

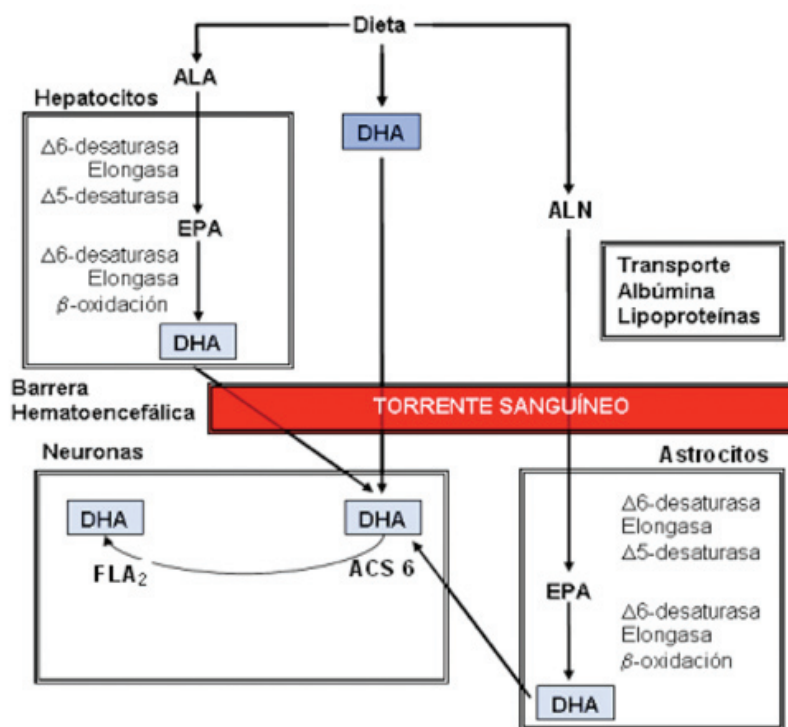
DHA Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Evidencias epidemiológicas

Recientes evidencias epidemiológicas sugieren una posible relación entre la dieta y la edad, con el deterioro cognitivo y alteraciones funcionales a nivel

FIGURA 2

Posibles vías de ingreso del DHA a las neuronas



cerebral que caracterizan a la EA (20, 21). Entre los factores nutricionales que influyen en la incidencia de EA destacan un bajo consumo de pescado, especialmente aquellos ricos en AGPICL omega-3 (37). Además, ha sido posible establecer que un bajo consumo de pescado está asociado con un mayor riesgo de desarrollar algún grado de déficit cognitivo (22). De la misma manera, los resultados de un estudio poblacional reciente en mujeres de edad mediana sugieren que el colesterol dietario, y en menor medida la ingesta de ácidos grasos saturados, están asociados con un mayor riesgo de presentar la EA, mientras que el consumo de AGPICL, tales como el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20: 5 Δ 5, 8, 11, 14, 17 omega-3) y el DHA, se asoció con una disminución en el riesgo de presentar un deterioro cognitivo, independientemente de las diferencias en edad, género, nivel educacional, hábito de fumar, ingesta total de energía y factores de riesgo cardiovasculares (22). En el año 1929 se postulaba el potencial efecto beneficioso de los AGPI, aún no identificados en aquella época (38). Actualmente, numerosos estudios epidemiológicos han respaldado estos efectos, sobre todo en diversos trastornos neurológicos tales como la esquizofrenia (39), depresión (40), migraña (41), en enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoídea (42), asma (43), y esclerosis múltiple (44), así como en algunos tipos de cáncer y en las enfermedades cardiovasculares (45).

Déficit de DHA y enfermedad de Alzheimer

Diversos estudios han establecido que el riesgo de presentar la EA se correlaciona con un déficit a nivel cerebral de DHA (20, 21). De hecho, el DHA en las neuronas cerebrales disminuye con la edad, pudiendo resultar en una pérdida de diversas funciones cerebrales (47). Recientes estudios in vivo, que utilizaron el modelo de ratón con EA Tg2576 (ratón transgénico que sobre-expresa una forma mutante de la PPA) (48), han demostrado que la reducción del DHA en la dieta originaría una disminución de la actividad post-sináptica y alteraciones en el comportamiento, mientras que una dieta enriquecida con DHA podría prevenir estos efectos. En el tejido cerebral de estos ratones, el DHA presentaría una actividad protectora contra el péptido β-amiloide, especialmente en la producción, acumulación y toxicidad asociada a esta macromolécula (48). Además, el DHA disminuiría el deterioro en las capacidades cognitivas asociadas a la exposición al péptido β-amiloide (49). Estos antecedentes proporcionan un vínculo entre el DHA y la homeostasis neuronal, la patogénesis de la EA y los efectos neurotóxicos del péptido β-amiloide. Por otra parte, varios estudios establecen que la administración de suplementos nutricionales que contienen

DHA, puede afectar positivamente tanto el crecimiento como la arborización neuronal, lo cual indicaría que los AGPICL omega-3 pueden tener un rol decisivo en la correcta diferenciación neuronal (50).

EFFECTOS NEUROPROTECTORES DEL DHA

DHA y expresión génica

Actualmente está suficientemente documentado que los AGPICL omega-3 tienen un importante rol en el control de la expresión génica en varios tejidos, tales como el hepático (51, 52) y el adiposo (53). Sin embargo, los efectos directos de estos ácidos grasos dietarios, sus mecanismos de acción, y su relación con la expresión génica a nivel neuronal han sido poco estudiados. El primer estudio con un enfoque nutricional relacionado con el proceso de mielinización, utilizó un microarreglo de alta densidad, el cual permitió revelar los cambios en la expresión de genes cerebrales en respuestas a diferentes dietas enriquecidas con AGPICL omega-3 (54). Los resultados obtenidos en este estudio, incluyeron cambios significativos en la expresión de muchos genes, entre los cuales destacó la sobre expresión del gen para la enzima Raf-1 (enzima que participa en la transcripción de señales a nivel intracelular) en células Neuro2A del neuroblastoma de ratones tratados con DHA, lo cual indicaría una mayor actividad metabólica intracelular y una mayor actividad anti-apoptótica asociada al tratamiento con DHA (55, 56). El número de genes que modificarían su expresión y el impacto de esas modificaciones dependen directamente del tiempo y las concentraciones de AGPICL omega-3 de la suplementación. Esto sugiere que la suplementación de AGPICL omega-3 debería ser de larga duración y en cantidades relativamente altas para así poder lograr efectos significativos en la salud humana. La regulación sobre la expresión génica por los AGPICL podría producirse a través de las interacciones con ligandos específicos o no específicos, tales como los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPARs), o el receptor X de retinoides (RXR), los que modulan directamente la expresión de genes blanco (57). Los efectos directos de los AGPICL sobre la regulación de la expresión genética podrían ser una de las acciones que permitirían explicar los efectos beneficiosos de los AGPICL omega-3 en el sistema nervioso.

El DHA y el proceso anti - inflamatorio

En la EA, los depósitos del péptido β-amiloide se asocia con una respuesta inflamatoria local que tiene como resultado la activación de microglías y el reclutamiento de astrocitos (58). Este proceso inflamatorio puede comenzar en las primeras etapas de la enferme-

dad, asociado principalmente a la sobreproducción de las proteínas reguladoras del ciclo celular y a factores relacionados con la inflamación, lo que sugiere que la actividad neuroinflamatoria es crucial en la patogénesis de la EA (59). Recientemente se ha demostrado que la exposición de las neuronas corticales a oligómeros del péptido β -amiloide in vitro provocó una rápida y transitoria acumulación/activación de la enzima FLA2 en la región perinuclear, correlacionado también con un aumento en la liberación de AA (14). Este ácido graso puede ser transformado en potentes mediadores bioactivos, tales como, prostaglandinas, tromboxanos, leukotrienos, y lipoxinas (60) o puede activar vías apoptóticas como la vía de la esfingomielinasa, dando como resultado la producción de ceramidas citotóxicas y apoptóticas (61). Por lo tanto, resulta interesante estudiar si una sobrecarga de DHA, quien compite por las mismas vías metabólicas con al AA, podría modular esta vía, protegiendo así a las neuronas de los efectos del péptido β -amiloide y de la posterior muerte celular. Sin embargo, en un estudio in vitro realizado en neuronas que fueron expuestas a una sobrecarga DHA no se evidenció cambios en los niveles basales de AA ni se observó una variación significativa en el contenido de péptido β -amiloide, lo cual permitiría postular que el tratamiento previo con DHA no inhibe ni retrasa la activación de la FLA2 y los eventos posteriores a su activación. (62), aunque esta observación requiere de mayor evidencia experimental. No obstante, los efectos beneficiosos de la ingesta de EPA y DHA sobre algunas enfermedades inflamatorias como el asma o la aterosclerosis, sugieren un importante rol para estos AGPICL omega-3 en la regulación de los procesos inflamatorios.

Actualmente, una serie de evidencias demuestran que tanto el EPA como el DHA, a través de vías independientes, son convertidos en potentes bioactivadores de acción local (62-65). En el caso del DHA se obtienen estructuras triénicas conjugadas como las resolvinas, los docosatrienos y las neuroprotectinas (63, 64). El principal miembro de la familia de estos potentes bioactivadores es el 10,17 S-docosatrieno, también llamado neuroprotectina D1 (NPD1) (63). Su nombre se debe a sus propiedades neuroprotectoras e inmunoreguladoras (63). El uso de NPD1 en cultivos celulares humanos (neuronas y células gliales) ha demostrado que utilizando concentraciones nanomolares de DHA, se disminuye en un 20 – 25% la producción del péptido β -amiloide, efecto que va acompañado de un aumento en la biosíntesis de NPD1 y una disminución en un 50% de la apoptosis celular causada por el péptido β -amiloide (64). Este efecto del NPD1 parece ser causado, al menos en parte, por una mayor expresión de

genes con actividad anti-inflamatoria y anti-apoptótica, ya que la expresión de determinadas moléculas antiapoptóticas (tales como Bcl-2 y Bcl-xL) fue inducida en células epiteliales humanas (ARPE-19) del pigmento retiniano tratadas con NPD1, mientras que se redujo la expresión de moléculas proapoptóticas (tales como Bax y Bad) (65). Curiosamente, la producción de NPD1 puede ser inducida en una forma dosis-dependiente de α PPA (64), un producto neurotrófico de la división no amiloidogénica de la PPA. Esto podría vincular la disminución de la producción de NPD1 con la reducción en la generación de α PPA observada en el cerebro de personas que presentan la EA.

DHA y estrés oxidativo

El papel crítico del estrés oxidativo inducido por especies reactivas del oxígeno ha sido ampliamente estudiado en la patogénesis de la EA y en la neurotoxicidad asociada al péptido β -amiloide (66). Análisis post-mortem de cerebros en individuos que presentaban EA, mostraron elevados niveles en los marcadores de estrés oxidativo, incluyendo: (i) oxidación de proteínas, niveles significativamente elevados de oxidación de los grupos carbonilos y nitración de residuos de tirosina; (ii) peroxidación lipídica, un índice muy elevado de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, con formación de malondialdehído, 4 - hidroxil-trans-2-nonenal (HNE), isoprostanos y alteración en la composición de fosfolípidos, (iii) oxidación del ADN y el ARN, niveles elevados de guanosina hidroxilada; y (iv) modificación de hidratos de carbono, niveles elevados en los marcadores de glicación y glicooxidación. (67). El inicio del estrés oxidativo es considerado como uno de los primeros eventos en el daño neuronal, lo que sugiere que este podría originarse a raíz de la exposición al péptido β -amiloide. Estudios anteriores demostraron que oligómeros del péptido β -amiloide inducen estrés oxidativo y este a su vez depende del grado de desorganización de la red de microtúbulos en la neurona (68). Otros estudios han llegado a la conclusión que el aceite de pescado, o el DHA aportado directamente como suplemento, presentaría propiedades antioxidantes en el cuerpo estriado (69), hipocampo y corteza cerebral de roedores con EA (49), así como en cultivos celulares de hipocampo de ratas expuestas a la excitotoxicidad producida por el glutamato (70).

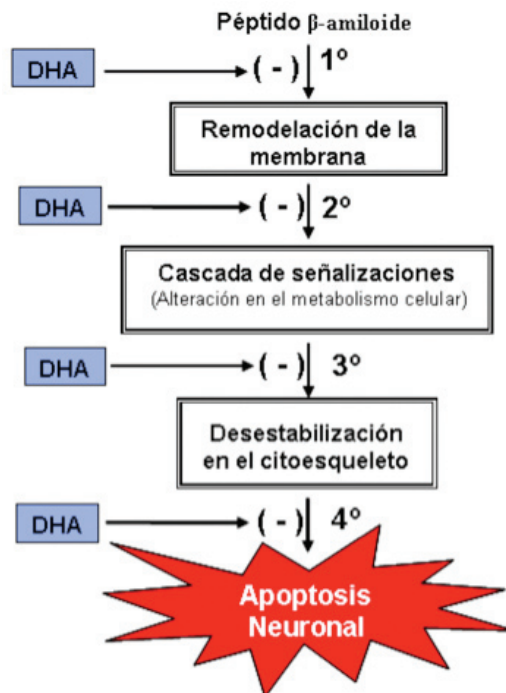
Es posible, entonces, que el efecto neuroprotector del DHA, descrito en estudios epidemiológicos, esté asociado a las posibles propiedades antioxidantes del DHA. Sin embargo, en algunos estudios in vitro que utilizan como modelo neuronas expuestas a péptido β -amiloide y tratadas con DHA, este no actuó previniendo el estrés

oxidativo, lo cual plantea la necesidad de realizar más estudios para aclarar el rol del DHA como un posible antioxidante en la prevención del estrés oxidativo causado por el péptido β -amiloide (71). Los AGPICL, incluidos el EPA y DHA, son altamente vulnerables a la oxidación, es decir, susceptibles a la peroxidación lipídica, debido al alto grado de insaturaciones que presentan (71). Esta es una característica de estos ácidos grasos que favorece la acción de los radicales libres, y el posterior daño celular (72). Así, el DHA presente en las membranas celulares parece ser más susceptible a la amenaza de oxidación, en particular en aquellas neuronas que son expuestas al péptido β -amiloide, y sería esta situación la que estaría mayormente asociada a los efectos neuroprotectores del DHA, planteándose la hipótesis que el DHA se comportaría como un antioxidante frente al péptido β -amiloide u otros compuestos neurotóxicos actuando como un atrapador de especies reactivas del oxígeno (62, 50, 73). En cultivos celulares expuestos a bajas concentraciones de DHA y péptido β -amiloide, se observó una reducción en el contenido de glutatión, un tripéptido con actividad

antioxidante, y un aumento en el contenido de aductos, lo cual reflejaría el desarrollo de un proceso oxidativo (62). Así, la suplementación con DHA, es una delicada tarea que requiere precisión y optimización de las dosis utilizadas para lograr los beneficios esperados. Sin embargo, aunque el DHA no presenta una actividad antioxidante propiamente tal, experimentalmente se ha observado que el aporte de DHA protege significativamente a las neuronas del estrés oxidativo, especialmente en la conservación de la organización de los microtúbulos del citoesqueleto (62). Interesantemente, en varios estudios se demostró que una sobre carga de DHA favoreció la maduración y desarrollo neuronal, especialmente en células del hipocampo, y cuando las células fueron expuestas al péptido β -amiloide (50), se evidenció una mayor incorporación de DHA a los fosfolípidos de membrana, lo cual estaría relacionado con las propiedades neurotróficas asociadas al ácido graso. Estos resultados se contraponen con aquellos que asociarían la susceptibilidad del DHA a la oxidación y al desarrollo de un estrés oxidativo neuronal.

FIGURA 3

Posibles lugares donde el DHA podría prevenir la apoptosis neuronal inducida por el péptido β -amiloide.



DHA y membranas neuronales

Los efectos neuroprotectores del DHA en las membranas plasmáticas neuronales podrían sustentarse en como la arquitectura flexible de este ácido graso otorga una mayor fluidez a la membrana plasmática, permitiendo que esta se adapte de mejor forma a los cambios en el medio que la rodea (74). El DHA, además de aportar una mayor fluidez, disminuye el espesor de las membranas, lo cual modula diversas funciones como la actividad de las proteínas asociadas a membrana, así como de la formación y fusión de vesículas (75). Las propiedades estructurales únicas del DHA podrían permitir que este modifique la arquitectura y propiedades físico químicas de la membrana, en especial la distribución y la abundancia de microdominios de membrana, los que contienen altas concentraciones de colesterol y de esfingolípidos, constituyendo regiones con una alta ordenación (76). Estos cambios generados por el DHA en la membrana se consideran fundamentales en la actividad regulatoria que presenta este ácido graso, destacando entre otros la modificación en el contenido, acumulación y desplazamiento de proteínas, tal y como ocurre con las proteínas de la familia de las quinasas y todas las vías metabólicas reguladas por estas proteínas (77). Según algunos autores, la actividad neuroprotectora del DHA a bajas concentraciones, frente al péptido β -amiloide, se debería al enriquecimiento de los fosfolípidos con DHA, y como este modifica los microdominios y la actividad de las proteínas presentes en la membrana plasmática (78, 79). En un modelo experimental donde se estudiaron mediante inmunocitoquímica gangliósidos M1 presentes en membranas neuronales, específicamente de la corteza, se demostró que al exponer la membrana plasmática neuronal al péptido β -amiloide se producía una desestabilización de ella, pero al repetir el procedimiento en células previamente tratadas con DHA no se producía la desestabilización de la membrana (79). Por lo tanto, frente a esta situación surge la hipótesis que cambios sutiles en el contenido de DHA en la membrana plasmática, al producir una remodelación en su arquitectura y en las proteínas que la constituyen, ejercerían una importante actividad neuroprotectora. En la figura 3 se presenta un esquema de las distintas etapas en las que el DHA ejercería un efecto neuroprotector.

El DHA y la cascada intracelular de señales

El DHA tiene la capacidad de modificar las características estructurales y físico-químicas de las membranas plasmáticas neuronales, pero además genera una importante cascada de señalizaciones al interior de las neuronas. El DHA podría modificar directamente muchas vías de señalización iniciadas en la membrana

plasmática neuronal (80). De hecho, hay un gran número de estudios que atribuyen al DHA una regulación en la actividad de la proteína quinasa C (81), algunos canales iónicos (82), o los sistemas de transducción de señales acoplados a proteína G en los segmentos exteriores de la retina (55, 83). En las membranas plasmáticas neuronales enriquecidas con DHA también se ha demostrado que se promueve la acumulación de fosfatidilserina (en células Neuro2A no diferenciadas), aumentando también la presencia de la enzima Raf-1, y la translocación y activación de la quinasa Akt (62). Estos efectos en las cascadas de señalizaciones confirman un efecto antiapoptótico del DHA mediante la modulación de diversas vías metabólicas involucradas en la citoprotección neuronal (83, 84). Por lo tanto, el enriquecimiento de las membranas plasmáticas neuronales con DHA ha demostrado ser fundamental en la mantención eficiente de la relación de la forma fosforilada/no fosforilada de muchas proteínas, cuyas vías de acción están asociadas a la actividad y conservación de las neuronas (84). Sin embargo, aún se requieren más estudios para determinar los efectos del DHA en otras proteínas y dominios de la membrana plasmática neuronal, efectos que podrían también ser capaces de inducir mecanismos antiapoptóticos en las neuronas.

CONCLUSIONES

Hoy en día, existe un gran cúmulo de evidencia que permite afirmar que la dieta influye de manera decisiva en la incidencia y evolución de las principales patologías relacionadas con la edad, incluyendo las enfermedades cardiovasculares (hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipidemias, entre otras) y las enfermedades neurodegenerativas como la EA. Varios estudios epidemiológicos y experimentales sugieren que la ingesta de DHA y su posterior localización en las membranas neuronales podrían proporcionar un efecto protector frente a la EA. Esto representa, sin duda, uno de los más prometedores enfoques preventivos para desarrollar estrategias que tengan como objetivo prevenir o retrasar la aparición y posterior evolución de la EA. Diferentes vías de acción podrían contribuir a la actividad neuroprotectora del DHA (anti-inflamatoria y anti-oxidante) así como las propiedades neurotróficas de este ácido graso. Sin embargo, aún son necesarios otros estudios para identificar el o los mecanismos más importantes en la actividad neuroprotectora del DHA, con el fin de optimizar el enfoque nutricional, para dar paso al tratamiento nutricional de la EA, el cual aún se sustenta en consideraciones empíricas o sospechas clínicas. Asimismo, probablemente puedan existir una mayor variedad de efectos neuroprotectores del DHA. Al respecto, se realizan estudios asociados

a compuestos con actividad anti-inflamatoria y/o anti-oxidante, como es el caso de los flavonoides, dado que muchos estudios han asociado el consumo de frutas y verduras con un menor riesgo de desarrollar enfermedades neurodegenerativas y en especial la EA (85-88). A nivel nacional, y considerando el bajo consumo de alimentos ricos en DHA o su precursor directo el ALN, es fundamental desarrollar estrategias que fomenten el consumo de estos alimentos, como es el caso de los pescados grasos (jurel, salmón, atún, entre otras). Es paradójico que Chile destaque en el ámbito internacional como el mayor exportador mundial del salmón cultivado, cuando el consumo interno no supera los 6 Kg/año. El gran desafío será el conseguir que nuestra población aumente el consumo de pescado y productos del mar. Los beneficios de este consumo están comprobados en muchas patologías. Probablemente, en el futuro, también lo será la EA si se demuestra el rol protector del DHA en esta invalidante y trágica patología.

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) constituye un importante problema de salud pública en muchos países del mundo, sin embargo la causa específica de esta enfermedad todavía es desconocida. Actualmente, numerosas evidencias apoyan la hipótesis que modificaciones del péptido β -amiloide podrían ser la causa más próxima de las lesiones sinápticas y muerte neuronal que ocurren en las etapas iniciales de la enfermedad. Los pacientes con EA muestran niveles más bajos de ácido docosahexaenoico (DHA, C22: 6; omega-3) en plasma y tejido cerebral, en comparación con controles pareados por edad. Además, los estudios epidemiológicos indican que una alta ingesta de DHA podría tener propiedades protectoras contra las enfermedades neurodegenerativas. Estas observaciones se sustentan por estudios *in vivo* que demuestran que las dietas ricas en DHA, limitan las lesiones sinápticas y disminuyen los defectos cognitivos inducidos por el péptido β -amiloide. Aunque las bases moleculares de estos efectos neuroprotectores aún siguen siendo desconocidas, se han propuesto varios mecanismos, tales como: la regulación de la expresión de genes potencialmente protectores, la activación de vías anti-inflamatorias, la modulación de las propiedades funcionales de las membranas neuronales, junto con cambios en las características estructurales y físico-químicas de las mismas. Este trabajo revisa y discute el fundamento molecular de estas hipótesis sobre el rol del DHA en la protección de la EA.

Palabras claves: Enfermedades neurodegenerativas, enfermedad de Alzheimer, péptido β -amiloide, ácido docosahexaenoico, neuroprotectina D1,

Dirigir la correspondencia a:

Profesor
Alfonso Valenzuela B.
Centro de Lípidos
Instituto de Nutrición y Tecnología
de los Alimentos, INTA
Universidad de Chile
Casilla 138-11, Santiago, Chile.
E-mail: avalenzu@inta.cl
Teléfono: 56-2-9781449

BIBLIOGRAFÍA

1. Cummings JL. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 56-67.
2. Nussbaum RL and Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003; 348:1356-64
3. Forsyth E, Ritzline PD. An overview of the etiology, diagnosis, and treatment of Alzheimer disease. *Phys Ther* 1998; 78: 1325-31.
4. Klafki HW, Staufenbiel M, Kornhuber J, Wiltfang J. Therapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Brain* 2006; 129: 2840-55.
5. Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 2002; 298: 789-91.
6. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: a central role for amyloid. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994;53:438-47.
7. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992;256: 184-5.
8. J. Kang, H.-G. Lemaire, A. Unterbeck, J.M. Salbaum, C.L. Masters, K.H. Grzeschik, G. Multhaup, K. Beyreuther and B. Muller-Hill, The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Natur* 1987; **325**: 733-736.
9. Yankner BA. Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron* 1996; 16: 921-32.
10. Estus S, Tucker HM, van Rooyen C, Wright S, Brigham EF, Wogulis M, et al. Aggregated amyloid- β protein induces cortical neuronal apoptosis and concomitant "apoptotic" pattern of gene induction. *J Neurosci* 1997; 17: 7736-45.
11. Katzman R, Terry R, DeTeresa R, Brown T, Davies P, Fuld P, et al. Clinical, pathological and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 1988; 23: 138-44.
12. Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, et al. Soluble amyloid β peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1999; 155: 853-62.
13. Pillot T, Drouet B, Queille S, Labeur C, Vandekerckhove J, Rosseneu M, et al. The nonfibrillar amyloid

- β -peptide induces apoptotic neuronal cell death: involvement of its C-terminal fusogenic domain. *J Neurochem* 1999; 73: 1626-1634.
14. Fife A, Sponne I, Koziel V, Kriem B, Yen-Potin FT, Bihain BE, et al. Microtubule-associated protein MAP1A, MAP1B, and MAP2 proteolysis during soluble amyloid β -peptide-induced neuronal apoptosis. Synergistic involvement of calpain and caspase-3. *J Biol Chem* 2006; 281: 229-240.
 15. Judes Poirier. Apolipoprotein E and cholesterol metabolism in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine* 2003; 9: 94-101
 16. Judes Poirier. Apolipoprotein E, cholesterol transport and synthesis in sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology* 2005; 26: 355-361
 17. Stampfer MJ. Cardiovascular disease and Alzheimer's disease: common links. *J Intern Med* 2006; 260: 211-23.
 18. Martins IJ, Hone E, Foster JK, Sunram-Lea SI, Gn-jecA, 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: 721-36.
 19. Ikemoto A, Ohishi M, Sato Y, Hata N, Misawa Y, Fujii Y, et al. Reversibility of n-3 fatty acid deficiency-induced alterations of learning behavior in the rat: level of n-6 fatty acids as another critical factor. *J Lipid Res* 2001; 42: 1655-63.
 20. Tully AM, Roche HM, Doyle R, Fallon C, Bruce I, Lawlor B, et al. Low serum cholesteryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease: a case-control study. *Br J Nutr* 2003; 89: 483-9.
 21. Soderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids* 1991; 26: 421-5.
 22. Kalmijn S, van Boxtel MPJ, Ocke M, Verschuren WMM, Kromhout D, Launer LJ. Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology* 2004;62:275-80.
 23. Horrocks LA, Farooqui AA. Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70: 361-72.
 24. Holman RT, Johnson SB, Hatch TF. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 617-23.
 25. Carlson SE. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant development. *Seminars Neonatol.* 2002; 6: 437-449.
 26. McNamara RK, Carlson SE. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75: 329-349.
 27. McCann JC, Ames BN. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 281-295.
 28. Williard DE, Harmon SD, Preuss MA, Kaduce TL, Moore SA, Spector AA. Production and release of docosahexaenoic acid by differentiated rat brain astrocytes. *World Rev Nutr Diet* 2001; 88: 168-172.
 29. Kalant D, Cianflone K. Regulation of fatty acid transport. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 309-314.
 30. Cho HP, Nakamura MT, Clarke SD. Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian $\Delta 6$ -desaturase. *J Biol Chem* 1999; 274: 471-477.
 31. Hrelia S, Celadon M, Rossi CA, Biagi PL, Bordoni A. $\Delta 6$ -Desaturation of linoleic and α -linolenic acids in aged rats: a kinetic analysis. *Biochem Int* 1990; 22: 659-667.
 32. Lesa GM, Palfreyman M, Hall DH, Rudolph C, Jorgensen EM, Schiavo G. Long chain polyunsaturated fatty acids are required for efficient neurotransmission in *C. elegans*. *J Cell Sci* 2003; 116: 4965-4975.
 33. Rapoport SI, Chang MC, Spector AA. Delivery and turnover of plasma-derived essential PUFAs in mammalian brain. *J Lipid Res* 2001; 42: 678-685.
 34. Marszalek JR, Kitidis C, Dirusso CC, Lodish HF. Long-chain acyl-CoA synthetase 6 preferentially promotes DHA metabolism. *J Biol Chem* 2005; 280: 10817-10826.
 35. Strokin M, Sergeeva M, Reiser G. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid release in rat brain astrocytes is mediated by two separate isoforms of phospholipase A2 and is differently regulated by cyclic AMP and Ca²⁺. *Br J Pharmacol* 2003; 139: 1014-1022.
 36. Strokin M, Chechneva O, Reymann KG, Reiser G. Neuroprotection of rat hippocampal slices exposed to oxygen-glucose deprivation by enrichment with docosahexaenoic acid and by inhibition of hydrolysis of docosahexaenoic acid-containing phospholipids by calcium independent phospholipase A2. *Neuroscience* 2006; 140: 547-553.
 37. Kalmijn S, Launer LJ, Ott A, Witteman JC, Hofman A, Breteler MM. Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 1997; 42: 776-782.

38. Burr GO, Burr MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *Nutr Class J Biol Chem* 1929; 82: 345-367.
39. Laugharne JD, Mellor JE, Peet M. Fatty acids and schizophrenia. *Lipids* 1996; S1: 163-165.
40. Hibbeln JR, Salem Jr N. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. *AmJ Clin Nutr* 1995; 62: 1-9.
41. Wagner W, Nootbaar-Wagner U. Prophylactic treatment of migraine with gamma-linolenic and alpha-linolenic acids. *Cephalalgia* 1997; 17: 127-130.
42. Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W, DiGiacomo R, Rynes R, Bartholomew LE, et al. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 810-820.
43. Yokoyama A, Hamazaki T, Ohshita A, Kohno N, Sakai K, Zhao GD, et al. Effect of aerosolized docosahexaenoic acid in a mouse model of atopic asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:327-332.
44. S. Johnson. The possible role of gradual accumulation of copper, cadmium, lead and iron and gradual depletion of zinc, magnesium, selenium, vitamins B2, B6, D, and E and essential fatty acids in multiple sclerosis. *Medical Hypotheses*, 2000; 55: 239-241
45. Jude S, Roger S, Martel E, Besson P, Richard S, Bougnoux P, et al. Dietary long-chain ω -3 fatty acids of marine origin: a comparison of their protective effects on coronary heart disease and breast cancers. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 90: 299-325.
46. Salem Jr N, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 2001;36: 945-959.
47. Calon F, Lim GP, Yang F, Morihara T, Teter B, Ubeda O, et al. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron* 2004; 43: 633-645.
48. Lim GP, Calon F, Morihara T, Yang F, Teter B, Ubeda O, et al. A diet enriched with the ω -3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci* 2005; 25: 3032-3040.
49. Hashimoto M, Tanabe Y, Fujii Y, Kikuta T, Shibata H, Shido O. Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates the impairment of spatial cognition ability in amyloid β -infused rats. *J Nutr* 2005; 135: 549-555.
50. Calderon F, Kim HY. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J Neurochem* 2004; 90: 979-988.
51. JumpDB, Botolin D, Wang Y, Xu J, Christian B, Demeure O. Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *J Nutr* 2005; 135: 2503-2506.
52. Eric Duplus and Claude Forest. Is there a single mechanism for fatty acid regulation of gene transcription?. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 893-901.
53. Al Hasani H, Joost HG. Nutrition-/diet-induced changes in gene expression in white adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19: 589-603.
54. DeWille JW, Farmer SJ. Postnatal dietary fat influences mRNAs involved in myelination. *Dev Neurosci* 1992; 14: 61-68.
55. Puskas LG, Kitajka K, Nyakas C, Barcelo-Coblijn G, Farkas T. Short-term administration of ω 3 fatty acids from fish oil results in increased transthyretin transcription in old rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 1580-1585.
56. Kim HY, Akbar M, Lau A, Edsall L. Inhibition of neuronal apoptosis by docosahexaenoic acid (22:6 n-3). Role of phosphatidylserine in antiapoptotic effect. *J Biol Chem* 2000; 275: 35215-35223.
57. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu Rev Nutr* 2005; 25: 317-340.
58. Sastre M, Klockgether T, Heneka MT. Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *Int J Dev Neurosci* 2006; 24: 167-176.
59. Hoozemans JJM, Veerhuis R, Rozemuller JM, Eikelenboom P. Neuroinflammation and regeneration in the early stages of Alzheimer's disease pathology. *Int J Dev Neurosci* 2006; 24: 157-165.
60. Samuelsson B. An elucidation of the arachidonic acid cascade. Discovery of prostaglandins, thromboxane and leukotrienes. *Drugs* 1987; 33: 2-9.
61. Malaplate-Armand C, Florent-Bechard S, Youssef I, Koziel V, Sponne I, Kriem B, et al. Soluble oligomers of amyloid- β peptide induce neuronal apoptosis by activating a cPLA2-dependent sphingomyelinase-ceramide pathway. *Neurobiol Dis* 2006; 23: 178-189.
62. Florent S, Malaplate-Armand C, Youssef I, Kriem B, Koziel V, Escanye MC, et al. Docosahexaenoic acid prevents neuronal apoptosis induced by soluble amyloid- β oligomers. *J Neurochem* 2006; 96: 385-395.
63. Hong S, Gronert K, Devchand PR, Moussignac RL, Serhan CN. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 14677-14687.
64. Lukiw WJ, Cui JG, Marcheselli VL, Bodker M, Botkjaer A, Gotlinger K, et al. A role for docosa-

- hexanoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest* 2005; 115: 2774-2783.
65. Chu Chen and Nicolas G. Bazan. Lipid signaling: Sleep, synaptic plasticity, and neuroprotection. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 2005; 77: 65-76.
 66. Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2001; 302: 141-145.
 67. Butterfield DA, Lauderback CM. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 1050-1060.
 68. Sponne I, Fifre A, Drouet B, Klein C, Koziel V, Pincon-Raymond M, et al. Apoptotic Neuronal Cell Death Induced by the Non-fibrillar Amyloid- β peptide proceeds through an early reactive oxygen species-dependent cytoskeleton perturbation. *J Biol Chem* 2003; 278: 3437-3445.
 69. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H, Kus I, Ozen OA, Ozyurt B, et al. Potential role of dietary ω -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 69: 253-259.
 70. Wang X, Zhao X, Mao Z, Wang XM, Liu ZL. Neuroprotective effect of docosahexaenoic acid on glutamate-induced cytotoxicity in rat hippocampal cultures. *Neuroreport* 2003; 14: 2457-2461.
 71. Montine TJ, Morrow JD. Fatty acid oxidation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2005; 166: 1283-1289.
 72. Wagner BA, Buettner GR, Burns CP. Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. *Biochemistry* 1994; 33: 4449-4453.
 73. Alexander-North LS, North JA, Kiminyo KP, Buettner GR, Spector AA. Polyunsaturated fatty acids increase lipid radical formation induced by oxidant stress in endothelial cells. *J Lipid Res* 1994; 35: 1773-1785.
 74. Saiz L, Klein ML. Structural properties of a highly polyunsaturated lipid bilayer from molecular dynamics simulations. *Biophys J* 2001; 81: 204-216.
 75. Stillwell W, Shaikh SR, Zerouga M, Siddiqui R, Wassall SR. Docosahexaenoic acid affects cell signalling by altering lipid rafts. *Reprod Nutr Dev* 2005; 45: 559-579.
 76. Brown DA, London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *J Biol Chem* 2000; 275: 17221-17224.
 77. Wassall SR, Brzustowicz MR, Shaikh SR, Cherezov V, Caffrey M, Stillwell W. Order from disorder, corraling cholesterol with chaotic lipids. The role of polyunsaturated lipids in membrane raft formation. *Chem Phys Lipids* 2004; 132: 79-88.
 78. Li Q, Wang M, Tan L, Wang C, Ma J, Li N, et al. Docosahexaenoic acid changes lipid composition and IL-2 receptor signaling in membrane rafts. *J Lipid Res* 2005; 46: 1904-13.
 79. Fan YY, Ly LH, Barhoumi R, McMurray DN, Chapkin RS. Dietary docosahexaenoic acid suppresses T cell protein kinase C θ lipid raft recruitment and IL-2 production. *J Immunol* 2004; 173: 6151-6160.
 80. Giorgione J, Epand RM, Buda C, Farkas T. Role of phospholipids containing docosahexaenoyl chains in modulating the activity of protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 9767-9770.
 81. Poling JS, Vicini S, Rogawski A, Salem Jr N. Docosahexaenoic acid block of neuronal voltage-gated K⁺ channels: subunit selective antagonism by zinc. *Neuropharmacology* 1996; 35: 969-982.
 82. Niu SL, Mitchell DC, Lim SY, Wen ZM, Kim HY, Salem Jr N, et al. Reduced G protein-coupled signaling efficiency in retinal rod outer segments in response to n-3 fatty acid deficiency. *J Biol Chem* 2004; 279: 31098-31104.
 83. Akbar M, Calderon F, Wen Z, Kim HY. Docosahexaenoic acid: a positive modulator of Akt signaling in neuronal survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10858-10863.
 84. Ramassamy C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *Eur J Pharmacol* 2006; 545: 51-64.
 85. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Casadesus G. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (1 Suppl):313S-316S.
 86. Galli RL, Shukitt-Hale B, Youdim KA, Joseph JA. Fruit polyphenolics and brain aging: nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioral deficits. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 128-132.
 87. Shukitt-Hale B, Lau FC, Joseph JA. Berry fruit supplementation and the aging brain. *J Agric Food Chem* 2008; 13; 56 (3):636-641.
 88. Lau FC, Shukitt-Hale B, Joseph JA. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. *Neurobiol Aging*. 2005; 26(Suppl 1):128-132.