

Acide docosahexaénoïque et maladie d'Alzheimer : des raisons d'espérer ?

Sabrina FLORENT-BECHARD
Ihsen YOUSSEF
Catherine MALAPLATE-ARMAND
Violette KOZIEL
Brigitte LEININGER-MULLER
Badreddine KRIEM
Jean-Luc OLIVIER
Thierry OSTER
Thierry PILLOT

Jeune Équipe Lipidomix,
JE 2482, Laboratoire de Médecine et
Thérapeutique Moléculaire,
INPL, Nancy-Université,
15 rue du Bois de la Champelle,
54505 Vandœuvre-lès-Nancy, France
<jl.olivier@chu-nancy.fr>

La maladie d'Alzheimer (MA) constitue un problème majeur de santé publique dans les pays occidentaux qui connaissent un allongement important de la durée de vie. L'Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé (OPEPS) estime qu'en 2004, la maladie touchait 6,1 à 8,9 % des sujets âgés de plus de 65 ans, soit près de 860 000 patients [1]. Les projections de l'INSEE prévoient que la proportion de personnes âgées de 65 ans et plus dans la population française passera de 16,5 % en 2004 à 21 % en 2020 et à 28 % en 2040. Dans ces conditions, la prévalence actuelle de la MA, déjà élevée, ne peut qu'augmenter puisque l'âge est le principal facteur de risque de cette maladie. Selon le scénario de fécondité et avec une prévalence constante (mais que la recherche devrait faire chuter...), le taux de malades triplerait pratiquement pour atteindre 36,3 % en 2040. Selon une estimation américaine, le recul d'une année de l'âge d'apparition de la MA permettrait de réduire la prévalence de 7,3 % en 10 ans et de 8,9 % en 50 ans... Au vu de ces chiffres, il apparaît donc urgent de renforcer la recherche sur les mécanismes moléculaires impliqués dans l'apparition progressive de l'atteinte démentielle et ainsi de pouvoir proposer et valider de nouvelles stratégies thérapeutiques et préventives.

Dans cette revue, nous ferons le point sur les connaissances physiopathologiques sur la MA, avant de détailler l'importance prometteuse du DHA dans la prévention de cette maladie. Nous

Abstract: Alzheimer's disease is a major public health concern in all developed countries. Although the precise cause of Alzheimer's disease is still unknown, soluble oligomers of the neurotoxic hydrophobic amyloid- β ($A\beta$) peptide are known to play a critical role. Aging is associated with a loss of docosahexaenoic acid (DHA) in brain tissues in which it is the main polyunsaturated fatty acid. Epidemiological studies on human populations suggested that diets enriched in ω 3 fatty acids are associated with reduced risk of Alzheimer's disease. Furthermore, patients affected by Alzheimer's disease display lower levels of DHA in plasma and brain tissues as compared to control subjects of same age. Studies on animals showed that diets enriched with DHA limit the synaptic loss and cognitive defects induced by the $A\beta$ peptide. Several mechanisms have been proposed for this protective effects. DHA can induce the expression of potentially protective genes. Conversion of DHA into neuroprotectins has been shown to be alternatively involved in the protection against the $A\beta$ peptide. Eventually, results have been provided suggesting that particular membrane microdomains could be remodelled and subsequently be involved in the neuroprotective process induced by DHA.

Key words: Alzheimer's disease, docosahexaenoic acid, public health

étudierons tout d'abord les mécanismes qui pourraient expliquer la diminution des taux d'AGPI- ω 3 et du DHA, en particulier dans les tissus cérébraux, et comment ces mécanismes pourraient être amplifiés dans la MA. Dans ce but, nous précisons l'état de l'art relatif à la synthèse, au transport des AGPI et du DHA. Nous examinerons alors comment le DHA pourrait exercer un rôle neuroprotecteur, avant de conclure en envisageant comment il pourrait s'intégrer dans un arsenal thérapeutique.

La maladie d'Alzheimer : des mécanismes spécifiques et non pas un vieillissement accentué

Deux types de lésions pathognomoniques sont observés lors de l'analyse *postmortem* des cerveaux des patients atteints par la MA : les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) d'une part et les plaques amyloïdes d'autre part. Les DNF sont des lésions intraneuronales formées par l'accumulation de filaments dont le principal constituant est la protéine Tau sous forme hyperphosphorylée. Tau est une protéine cytosolique de la famille des protéines associées aux microtubules dont elles promeuvent l'assemblage et les stabilisent. Sous forme hyperphosphorylée, Tau s'agrège plus aisément en fibrilles insolubles qui s'accumulent dans le neurone, conduisant au démantèlement des microtubules et altérant en conséquence le

transport axonal. Certains auteurs défendent l'idée que l'hyperphosphorylation de Tau pourrait être la cause de la MA plutôt qu'une conséquence. Mais si la cause précise de la MA est encore inconnue, nul ne doute toutefois de l'implication directe du peptide β -amyloïde ($A\beta$) dans la dégénérescence et l'apoptose neuronales associées à la MA [2-4]. L'implication du peptide $A\beta$ a été démontrée par la mise en évidence d'agrégats de ce peptide dans les plaques amyloïdes observées *postmortem*. L'analyse immunohistochimique de ces plaques a aussi révélé la présence de nombreuses molécules associées, traduisant entre autres la survenue d'un processus inflammatoire et d'un stress oxydant, ainsi qu'une apoptose des neurones environnants [5]. Le peptide $A\beta$ est produit à partir de la protéine précurseur membranaire APP [6], sans doute impliquée dans des fonctions en lien avec le maintien de l'intégrité et la croissance des neurones [7]. La protéine APP est métabolisée selon deux voies se distinguant principalement par les protéases impliquées et les métabolites produits. La voie non amyloïdogène est caractérisée par deux clivages endoprotéolytiques séquentiels catalysés par une α -sécrétase puis par une γ -sécrétase, permettant entre autres la production du fragment APP α soluble (α -sAPP), lequel présente des propriétés neuroprotectrices et antiapoptotiques [8] (figure 1). Dans les conditions physiologiques et la plupart des types cellulaires, la maturation protéolytique de l'APP fait interve-

nir à 95 % un clivage au site α . Dans la voie amyloïdogène au contraire, le clivage de l'APP implique une β -sécrétase (suivie pareillement de la γ -sécrétase) pour produire notamment le peptide A β . En raison de la présence de sites alternatifs de coupure par les β - et γ -sécrétases, ce peptide peut comporter de 32 à 43 acides aminés, les formes principales étant les peptides A β [1-40] et A β [1-42]. Une fois généré, les peptides A β sont éliminés par différents mécanismes de clairance parmi lesquels la dégradation par diverses peptidases dont l'enzyme IDE dégradant l'insuline ou encore la néprilysine [9], mais ils peuvent aussi s'accumuler.

L'hypothèse de la cascade amyloïde est née de l'observation des formes génétiques de la MA associées à des mutations des gènes codant pour la protéine APP ou les enzymes impliquées dans la production de peptide A β . Ces mutations sont situées à proximité des sites de clivage de l'APP par les sécrétases et favorisent la protéolyse amyloïdogène de la protéine APP ou affectent les mécanismes de clairance du peptide A β , avec en conséquence une augmentation de ses taux dans le cerveau. Cette hypothèse suppose donc que l'accumulation du peptide A β soit le facteur premier conduisant à sa fibrillation puis à son agrégation déterminant l'apparition de plaques. Ces dernières induiraient alors une réaction inflammatoire et la mort neuronale associées au développement du processus démentiel [10]. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les patients atteints du syndrome de Down et présentant donc un gène *app* surnuméraire développent des plaques amyloïdes tôt dans leur vie. En outre, une

duplication du *locus app* a récemment été observée chez certains malades atteints de formes familiales de la MA [11].

Néanmoins, l'hypothèse de la cascade amyloïde ne rend pas compte de certaines observations cliniques, notamment la piètre corrélation entre le stade de la démence et la densité des plaques amyloïdes [12]. De nombreux travaux récents, y compris ceux de notre groupe, ont infirmé l'idée selon laquelle seule la forme fibrillaire du peptide A β serait neurotoxique. En effet, la perte synaptique dans le cerveau de patients est bien mieux corrélée avec les niveaux de peptide A β sous forme soluble que sous forme fibrillaire [13-17]. De plus, les oligomères A β solubles induisent une perte de la plasticité synaptique, une inhibition du processus de potentialisation à long terme dans l'hippocampe et une apoptose neuronale [18]. La perte neuronale est d'ailleurs fortement corrélée avec l'effet proapoptotique des oligomères A β solubles, *in vitro* comme *in vivo* [19-22]. En outre, ces oligomères sont responsables d'une toxicité régiospécifique vis-à-vis des neurones de la région CA1 de l'hippocampe impliquée dans les fonctions cognitives [23]. Ceci a été confirmé dans le cerveau de patient où les oligomères ont pour cibles les terminaisons synaptiques [24]. Enfin, la neurodégénérescence et le déficit d'apprentissage associés à l'accumulation précoce d'oligomères A β solubles sont des phénomènes observés bien avant l'apparition de plaques amyloïdes dans les souris transgéniques modèles de la MA [25-27]. L'ensemble de ces observations apporte des arguments tangibles et crédibles à l'hypothèse

proposant que les formes solubles de peptide A β sont impliquées dans la mort neuronale et les troubles cognitifs associés lors des phases précoces, précliniques, de la MA. Grâce à leurs propriétés fusogènes résultant de leur conformation particulière en solution [19], ces peptides sont en particulier capables d'interagir avec la membrane neuronale, d'en altérer directement certaines activités et d'induire l'apoptose [28, 29]. La recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques de la MA devrait bénéficier d'une meilleure connaissance des mécanismes de neurotoxicité des oligomères de peptides A β et des moyens de s'y opposer. Dans ce contexte, le DHA pourrait s'avérer une arme potentielle contre la neurotoxicité des oligomères du peptide A β .

Parmi les facteurs capables de moduler le risque de survenue de cette pathologie neurodégénérative, les facteurs nutritionnels et les habitudes alimentaires semblent jouer un rôle prépondérant. Différentes études épidémiologiques et expérimentales indiquent en particulier l'apport et le statut lipidiques comme des facteurs capables d'influer de façon significative sur la prévalence de la MA. Ces différentes études ont notamment permis de placer le statut en acides gras polyinsaturés à longue chaîne de type ω 3 (AGPI-lc ω 3), et plus particulièrement celui en acide docosahexaénoïque (DHA; C22 :6), comme un élément déterminant dans la survenue de cette pathologie. Ce dernier est particulièrement abondant dans les phospholipides des membranes excitables comme dans celles des neurones. Il est l'acide gras majoritaire dans le cerveau adulte et contribue à ce titre au maintien de la structure et des fonctions membranaires [30]. De plus en plus d'études rapportent l'association de déficits en AGPI-lc ω 3 à divers troubles comportementaux comme la schizophrénie, la dépression et l'hyperactivité [31]. Des taux d'AGPI-lc ω 3 inférieurs ont par ailleurs été mesurés dans le plasma et le cerveau de patients atteints de la MA [32-34] par rapport aux sujets du même âge non affectés par cette maladie. Les taux de DHA et d'acide arachidonique (AA; C20 :4, ω 6) ont tendance à diminuer avec l'âge dans les tissus cérébraux humains et de rongeurs [35, 36]. Une consommation fréquente de poissons gras et un apport alimentaire suffisant de DHA étant associés à un risque moindre de développer la MA [37, 38], l'apport de DHA aux neurones pourrait donc protéger de la MA. Néanmoins, compte tenu des inconnues qui subsistent sur la physiopathologie de cette maladie et de la propension individuelle à la déclarer, il est nécessaire de connaître davantage les mécanismes de cette neuroprotection afin de déterminer les modes d'apport susceptibles de diminuer effectivement la prévalence de la MA sans augmenter le risque d'autres pathologies.

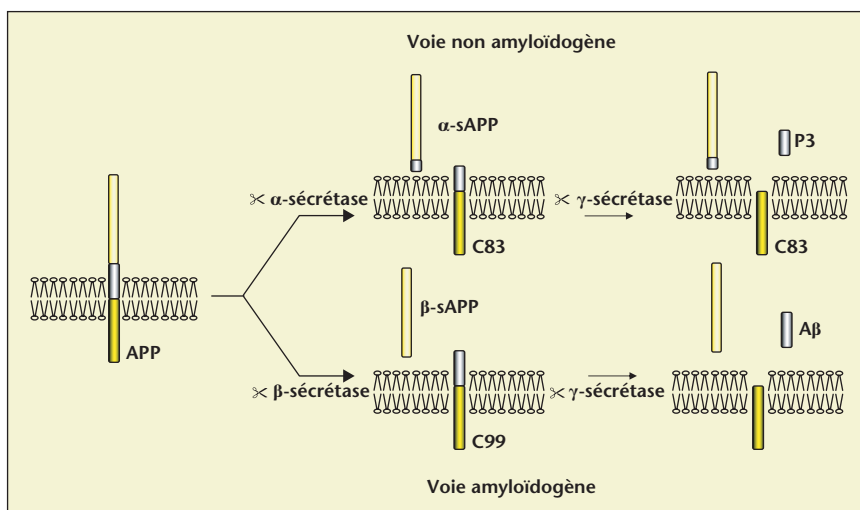


Figure 1. Voies de dégradation de la protéine APP par les différentes sécrétases et production du peptide A β . La protéine transmembranaire APP peut être hydrolysée soit par le couple α - et γ -sécrétases qui produit un peptide P3 court et non-amyloïdogène, soit par le couple β - et γ -sécrétases qui produit le peptide amyloïdogène A β . Le fragment intracellulaire libéré par les γ -sécrétases aurait une fonction de signalisation nucléaire. De même, le peptide extracellulaire libéré par les α -sécrétases serait impliqué dans la communication intercellulaire.

L'apport du DHA au système nerveux central : des régulations complexes modifiées par le vieillissement

La machinerie enzymatique présente dans les cellules de mammifères ne peut pas introduire de double liaison en $\omega 6$ et $\omega 3$. En conséquence, l'acide linoléique (LA ; C18 :2 $\omega 6$) et l'acide α -linoléique (ALA ; C18 :3 $\omega 3$) sont des pré-curseurs essentiels, leur présence dépendant directement de l'apport alimentaire. Une fois incorporé dans les cellules, le LA est converti en acide γ -linoléique (GLA ; C18 :3 $\omega 6$) puis en AA, alors que l'ALA est métabolisé en acide eicosapentaénoïque (EPA ; C22 :5 $\omega 3$) puis en DHA. Les enzymes catalysant ces étapes de désaturation et d'élongation (élongase, $\Delta 4$ -, $\Delta 5$ - et $\Delta 6$ -désaturases) sont communes pour la synthèse de l'AA et du DHA. L'importance relative de ces deux voies de synthèse dans l'organisme est en conséquence largement contrôlée par l'apport nutritionnel et la disponibilité relative de chaque pré-curseur [39]. De nombreux articles démontrent que la conversion de l'ALA en DHA est peu efficace [40, 41]. En revanche, cette dernière est plus efficace à partir du pré-curseur acide stéaridonique (SDA ; C18 :4, $\omega 3$) ayant déjà subi l'étape de désaturation catalysée par la $\Delta 6$ -désaturase. La $\Delta 6$ -désaturase apparaît donc comme une étape limitante de la conversion du LA en AA et de l'ALA en DHA, d'autant plus qu'elle pourrait également assurer dans les peroxysomes la rétroconversion à partir de l'acide tétracosahexaénoïque (THA ; C24 :6 $\omega 3$), soit la voie d'obtention majoritaire du DHA [42]. Au niveau du système nerveux central, les neurones ne disposent pas des désaturases nécessaires à la synthèse des AGPI- $\omega 6$ et $\omega 3$ à partir des pré-curseurs. Leur approvisionnement local dépend donc de leur apport direct par l'alimentation et de leur synthèse à partir des pré-curseurs par le foie, l'endothélium cérébral ou les astrocytes [43]. La synthèse par les astrocytes reste toutefois marginale, puisque plus des deux tiers du DHA parvenant aux neurones proviendraient de la synthèse hépatique [44] (figure 2). Ce rapport entre les synthèses hépatiques et astrocytaires reste toutefois débattu.

La nécessité du DHA dépend de son taux de renouvellement dans les phospholipides des membranes neuronales. Ce dernier implique un cycle de désacétylation-réacétylation relativement élevé dans le cerveau de rat. Ainsi, Rapoport *et al.* [45] ont montré, grâce à l'injection intraveineuse de DHA et d'AA radioactifs, que 2 à 8 % de ces acides gras se renouvellent chaque jour dans le cerveau. Chez l'homme par contre, un taux de renouvellement cérébral de l'AA dix fois moindre (0,3 %/jour) a été

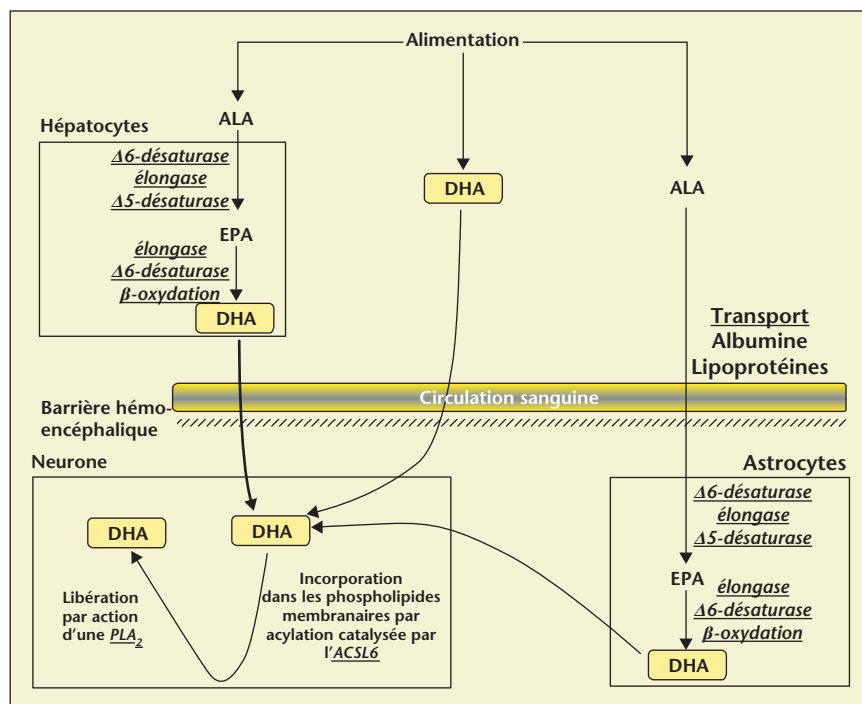


Figure 2. Voies de synthèse et d'apport du DHA aux neurones.

La majeure partie du DHA apporté aux neurones serait synthétisée par les $\Delta 5$ - et $\Delta 6$ -désaturases hépatiques et le reste serait produit par les astrocytes. La phospholipase A₂ spécifique des plasmalogènes et l'acyl-CoA synthétase spécifique du DHA (ACSL6) assurent respectivement la libération et l'incorporation du DHA dans les phospholipides membranaires.

mesuré par tomographie par émission de positons. Les auteurs n'ont pu mesurer le taux de renouvellement du DHA, mais s'il était identique à celui de l'AA, l'importance quantitative des apports aux neurones serait alors à relativiser.

Le DHA est principalement incorporé dans les phosphatidylsérines et les phosphatidyléthanolamines. Au sein des phosphatidyléthanolamines, le DHA peut en particulier être incorporé dans les plasmalogènes qui composent dans le cerveau la moitié de ce groupe de phospholipides, le plus important quantitativement avec les phosphatidylcholines. Les phospholipases A₂ spécifiques des plasmalogènes joueraient donc un rôle important dans la libération et le renouvellement du DHA. Bien que ces phospholipases A₂ soient présentes et aient été caractérisées dans les tissus cérébraux, leurs séquences géniques n'ont pas été clonées jusqu'ici. À l'inverse de sa libération, l'incorporation de DHA dépend de sa conversion en acyl-CoA. Une acyl-CoA synthétase spécifique du DHA (acyl-CoA synthétase de type 6, ACSL6 ou ACS2 antérieurement) a d'ailleurs été clonée récemment et est fortement exprimée dans les tissus cérébraux [46].

Quelle est l'influence du vieillissement sur la synthèse ou l'apport du DHA dans les tissus cérébraux ? Les niveaux sériques d'AGPI- $\omega 3$ des adultes sains ne sont pas corrélés aux variations

de l'apport alimentaire en AGPI pré-curseurs. Chez les adultes sains, les $\Delta 6$ - et $\Delta 5$ -désaturases sont induites seulement lorsque les pré-curseurs sont absents, mais sont réprimées quand leur apport est suffisant [47]. De même, certains auteurs ont pu réprimer l'activité $\Delta 6$ -désaturase par un régime riche en LA chez des rats d'âge différents, puis ont réinduit cette activité en substituant ce régime par un régime pauvre en cet acide gras. Par contre, la situation semble différente pour les personnes âgées qui présentent une carence en DHA souvent accentuée par un léger déficit chronique en ALA. Plusieurs études ont montré une diminution de l'activité de la $\Delta 6$ -désaturase dans les microsomes hépatiques ou cardiaques de rats âgés [48, 49]. L'évaluation du profil des acides gras hépatiques a montré une récupération diminuée chez les rats âgés, après un régime inducteur de la $\Delta 6$ -désaturase [50, 51]. En revanche, aucune altération des acides gras n'a été observée dans les tissus cérébraux [51] dans lesquels l'activité $\Delta 6$ -désaturase reste basse après la période post-natale [52]. Ceci suggère une protection de cet organe contre les variations des pré-curseurs alimentaires chez le rongeur. Aucune étude à ce jour ne s'est penchée sur l'expression des gènes des $\Delta 5$ - et $\Delta 6$ -désaturases chez l'homme en fonction de l'âge ou en cas de MA. De même, la littérature ne rapporte aucune information sur l'influence

éventuelle du vieillissement sur l'activité ou l'expression de l'acyl-CoA synthétase de type 3. Par contre, André *et al.* [53] ont montré une augmentation avec l'âge des activités phospholipase A₂ spécifique des plasmalogènes dans le cerveau de rats issus d'un élevage sur trois générations confronté à un régime pauvre en acide gras ω3 et donc carencé en DHA. Dans cette population particulière, la reprise d'un régime riche en DHA n'a pas réduit l'augmentation des activités phospholipase A₂, ni compensé la déficience en DHA. Des travaux supplémentaires sont donc encore nécessaires pour expliquer la diminution du DHA cérébral avec l'âge. Mais ces modifications ne peuvent vraisemblablement constituer à elles seules la base du rôle protecteur du DHA dans la MA dont nous proposons d'examiner les mécanismes dans l'état actuel des connaissances.

La neuroprotection par le DHA : un mécanisme à identifier

Le DHA s'oppose à la neurotoxicité du peptide Aβ

La réduction de l'apport alimentaire en AGPI- ω 3 chez des souris de la lignée transgénique Tg2576 entraîne une perte des protéines synaptiques comme le récepteur au *N*-méthyl-D-aspartate (NMDA) ou la protéine post-synaptique PSD95. Cette perte est associée à une activation des caspases et calpaïnes dans le cortex ainsi qu'à des troubles comportementaux et cognitifs [54-56]. Ces souris modèles de la MA expriment l'isoforme « Swedish » d'APP portant les mutations K670N et M671L qui entraînent une surproduction du peptide Aβ comparable à celle observée dans les formes familiales humaines où cette mutation est présente [57, 58]. Les troubles cognitifs et la perte des marqueurs synaptiques observés chez ces souris peuvent être corrigés par une alimentation riche en DHA [54]. Les mêmes effets neuroprotecteurs ont été observés chez des rats ayant subi une perfusion intracérébrale de peptide Aβ [59, 60]. Ces données sont en accord avec les résultats expérimentaux dont les nôtres dans lesquels le DHA protège *in vitro* les neurones de l'accumulation et de la toxicité du peptide Aβ à la fois en maintenant les voies de signalisation de survie cellulaire, dont celle impliquant la phosphatidylinositol-3 kinase (PI-3K), et en inhibant l'induction des signaux proapoptotiques [54-56, 61]. Bien que ces résultats soutiennent fortement les propriétés neuroprotectrices du DHA vis-à-vis du peptide Aβ, les mécanismes lui permettant de jouer ce rôle font l'objet de plusieurs hypothèses différentes, aucune n'excluant les autres par ailleurs.

Le DHA induit l'expression de gènes protecteurs

Une partie des effets biologiques des AGPI est due à leur influence sur la transcription de gènes. L'utilisation de micropuces d'ADNc a permis de montrer que la supplémentation du régime alimentaire en DHA induit une modification de la transcription de plusieurs gènes dont le nombre et l'importance des variations dépendent du niveau et de la durée de la supplémentation [62-65]. Ainsi, le gène codant pour la transthyréline, une protéine impliquée dans le transport des hormones thyroïdiennes du peptide Aβ [66], présente un niveau d'expression décuplé dans l'hippocampe après une alimentation comportant 27 % de DHA pendant un mois alors qu'il ne fait que doubler avec un régime comportant 11 % de DHA [64]. Ceci pose la question de l'importance du retentissement sur l'expression de ce gène, d'une alimentation comportant un niveau riche mais usuel d'acides gras ω3 chez l'homme.

Les dérivés du DHA : neuroprostanes et neuroprotectines

Le DHA peut être oxydé au sein des phospholipides et après libération par une phospholipase A₂, donner des composés désignés sous le nom de neuroprostanes. Dans le liquide céphalo-rachidien des patients affectés par la MA, le taux de neuroprostanes est significativement plus élevé [67], soulignant ainsi l'importance du stress oxydant dans la pathogénie de la MA. À l'inverse, après libération préalable par une phospholipase A₂, ce dernier peut être métabolisé pour donner naissance à une famille de molécules bioactives aux propriétés neuroprotectrices et anti-inflammatoires, les résolvines (pour *resolution phase interaction products*) [68]. La conversion du DHA ou de l'EPA libre en composés neuroprotecteurs est une hypothèse émergente née de la mise en évidence récente de nouveaux composés issus du DHA (résolvine de série D) (*figure 3*) et de l'EPA (résolvines de série E). Les docosatriènes sont, en particulier des résolvines de la série D qui présentent une structure triénique (double liaisons conjuguées et hydroxylations) et un potentiel bioactif élevé. Ils sont issus de deux voies métaboliques distinctes de celles qui convertissent l'EPA en molécules bioactives (*figure 3*). D'une part, la cyclo-oxygénase-2 convertit le DHA en 13(R)-hydroxy-DHA mais en présence d'aspirine va produire le 17(R)-hydroxy-DHA qui va aboutir à d'autres composés di- ou trihydroxylés. D'autre part, une activité 15-lipoxygénase catalyse la synthèse des isomères de la série S, et notamment du 10,17(S)-dihydroxy-DHA, désormais appelé *neuroprotectine D1* (NPD1) [69]. Ce produit a tout d'abord été caractérisé comme un com-

posé anti-inflammatoire sécrété par les neutrophiles et les cellules gliales [70, 71]. Il intervient aussi bien dans la régulation de l'immunité [72, 73] que dans les accidents vasculaires cérébraux [74, 75] ou les affections de la rétine [76] dans lesquels l'inflammation et le stress oxydant jouent un rôle important. L'implication de la NPD1 dans la MA a été examinée plus récemment [76] à l'aide d'un système de cocultures de cellules neuronales et gliales humaines. Cette démarche a permis de montrer qu'un traitement par des concentrations nanomolaires de DHA entraîne une diminution de 20-25 % de la production de peptide Aβ [1-40] et Aβ [1-42]. Parallèlement, l'incubation avec le DHA aboutit à une augmentation de la production de NPD1, capable de réduire de 50 % l'apoptose induite par le peptide Aβ [1-42] dans le système de cocultures associant neurones et cellules gliales. Cet effet peut en partie s'expliquer par une stimulation de l'expression des gènes antiapoptotiques de la famille *bcl-2*. Il est intéressant de noter aussi que la production de NPD1 dans l'hippocampe et le lobe temporal est diminuée dans le cerveau de patients affectés par la MA en comparaison de sujets contrôles [77], ainsi qu'une diminution de l'expression de la 15-lipoxygénase, l'enzyme clé de la synthèse de la NPD1. Ils ont aussi noté une surexpression de la phospholipase A₂ cytosolique (cPLA₂) qui ne semble pas agir sur les phospholipides comportant un DHA, au contraire de ceux présentant de l'AA qui serait alors spécifiquement libéré [78]. Ces résultats suggèrent que le rôle neuroprotecteur du DHA dans la MA et d'autres pathologies cérébrales passerait au moins en partie par sa conversion en NPD1. Toutefois, les voies de synthèse de cette molécule et leurs régulations méritent des travaux supplémentaires.

L'effet neuroprotecteur du DHA s'exerce à de faibles concentrations et nécessite un temps d'incubation assez long, *i.e.* quelques semaines dans les systèmes de cocultures neurones-glie exposées au peptide Aβ [76], 72 h dans le cas d'un modèle *in vivo* d'ischémie cérébrale [75]. Dans le même sens, notre groupe [61] a montré que les neurones en cultures primaires sont protégés par de faibles doses de DHA non estérifié (dès 5 nM), mais cette protection ne s'établit qu'après 24 à 48 h suivant le début du traitement. Il semble raisonnable de considérer que ce délai est requis afin d'assurer l'incorporation du DHA dans les phospholipides membranaires. Les faibles concentrations efficaces posent la question de l'implication de microdomaines membranaires spécifiques.

DHA et microdomaines membranaires (rafts)

De nombreuses études récentes ont porté sur la caractérisation des radeaux lipidiques, ou rafts,

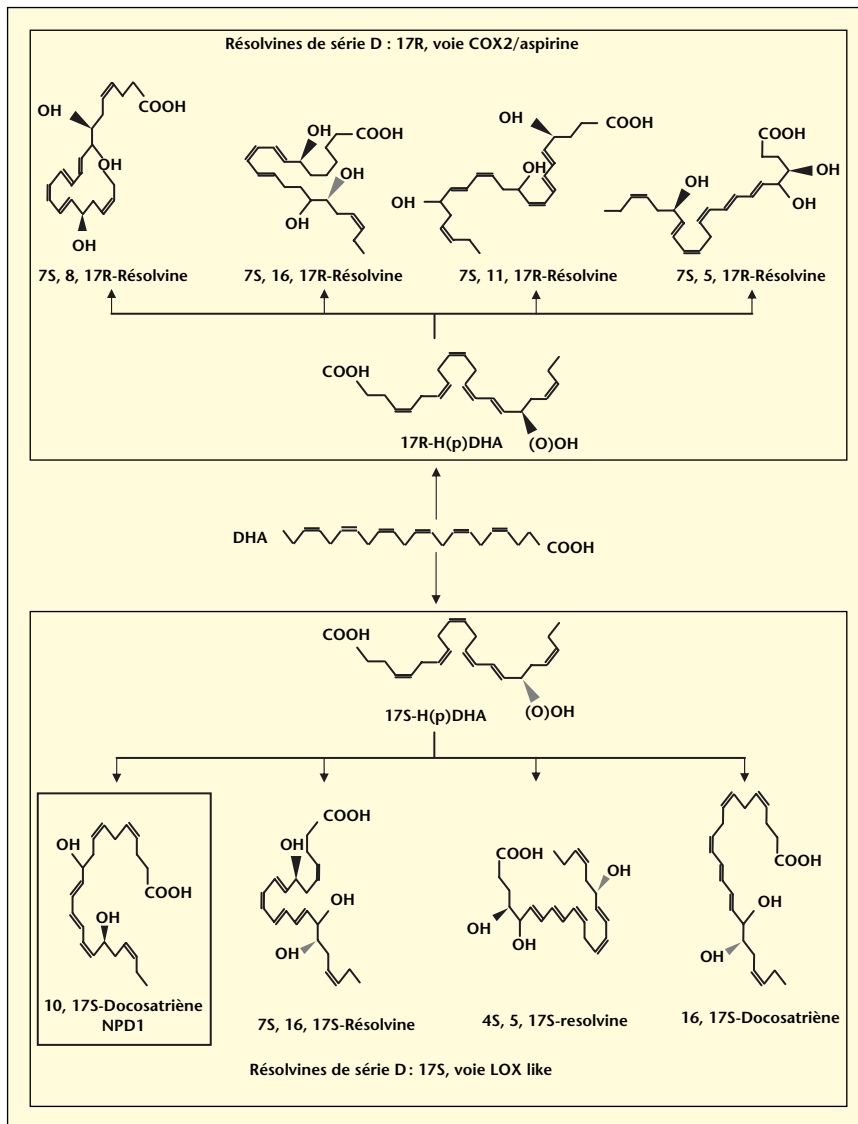


Figure 3. Voies de conversion du DHA et de synthèse des isomères D et S des docosatriènes. La cyclo-oxygénase-2 convertit le DHA en 13(R) hydroxy-DHA et en présence d'aspirine va produire le 17(R)-hydroxy-DHA qui va aboutir à d'autres composés di ou trihydroxylés. La synthèse des isomères de la série S, et notamment du 10,17(S)-dihydroxy-DHA ou neuroprotectine D1 (NPD1) est catalysée par une activité 15-lipoxygénase.

qui sont des microdomaines ordonnés, asymétriques, hautement dynamiques et hétérogènes, présents dans les membranes plasmiques et les endomembranes, riches en cholestérol, en sphingolipides et en glycolipides comme les gangliosides [79] (figure 4). Les rafts permettent entre autres de réguler les voies de signalisation cellulaire et les fonctions métaboliques par un mécanisme reposant sur la ségrégation de partenaires protéiques et lipidiques précis sur des plateformes distinctes. Les techniques d'approche actuelles ne rendent pas compte de cette diversité structurale et fonctionnelle des rafts et ne permettent que des études globales. L'influence de ces microdomaines sur

l'activité du complexe β -sécrétase indique une éventuelle modification des rafts dans la MA. Ainsi, la modification des rafts par l'extraction du cholestérol membranaire ou la destruction des protéines à ancre GPI diminuent la production de peptide A β [80, 81]. De plus, une surproduction de peptide A β serait corrélée avec une colocalisation préférentielle dans les radeaux de la β -sécrétase BACE et de la protéine APP, *in vitro* [80-82] et *in vivo* dans les neurones de souris transgéniques et de patients affectés par la MA [83]. La présence du complexe portant l'activité β -sécrétase dans les rafts suggère que ces derniers puissent être des plateformes dans lesquelles les différents acteurs

de la voie amyloïdogène sont co-localisés et actifs. Au contraire, les protéines responsables de l'activité α -sécrétase ainsi que la majorité du pool de protéine APP sont localisées hors des rafts. Ces observations suggèrent que la ségrégation des partenaires impliqués dans les voies amyloïdogène et non amyloïdogène constitue un mécanisme de régulation de l'activité des enzymes impliquées [83]. En outre, la cavéoline-1, qui structure certains rafts (cavéoles), verrait son expression augmentée dans les neurones sénescents. Elle interviendrait dans l'hydrolyse de la protéine APP par les β -sécrétases en diminuant l'action de certaines protéines kinases C [84], témoignant du rôle des rafts comme plateformes de signalisation. Le fait que le peptide A β s'accumule sous forme oligomérique dans les rafts de cerveau de souris de la lignée Tg2576 soutient aussi leur implication dans la production de peptides amyloïdes [85, 86]. L'équilibre entre les voies amyloïdogène et non amyloïdogène serait donc au moins en partie conditionné par la dynamique des rafts. Par ailleurs, il est possible que la dégradation du peptide A β par la néprilysine ou les autres enzymes intervenant dans la clairance de ce peptide dépende de leur localisation dans les rafts [87].

Les études menées sur des membranes modèles ont montré une tendance des phospholipides comprenant du DHA à ségréger en dehors des rafts [88-90] ainsi qu'une exclusion du cholestérol des domaines riches en DHA. Ainsi, chez la souris, un régime enrichi en huile de poisson entraîne un enrichissement en DHA, majoritairement hors des rafts, dans les lymphocytes spléniques [91] ayant pour conséquence l'exclusion en dehors des rafts, d'une isoforme de PKC, PKC θ , jouant un rôle critique dans la lymphoprolifération et la production d'interleukine-2 (IL-2). Cette dernière est d'ailleurs diminuée chez ces souris nourries avec l'huile de poisson. La voie de signalisation de l'IL-2 impliquant le couple de kinase et facteur de transcription JAK/STAT est également inhibée par le traitement *in vitro* de lymphocytes murins par 50 μ M de DHA [92]. Ce traitement entraîne un enrichissement considérable en DHA des fractions rafts et fluides (respectivement de 50 et 5 fois) qui se trouve à égalité alors que la composition basale en DHA des radeaux est 10 fois plus faible que celle des fractions fluides. Ces modifications sont associées à un passage des sous unités du récepteur de l'IL-2 ainsi que des JAK kinases et du facteur STAT5 dont les niveaux de phosphorylation (activation) sont diminués. De même, le traitement de cellules mononucléées circulantes humaines, dès une concentration de 15 μ M, entraîne en présence du signal mitogène de la concanavaleine A, un déplacement de la phospholipase D (PLD) des rafts vers les fractions

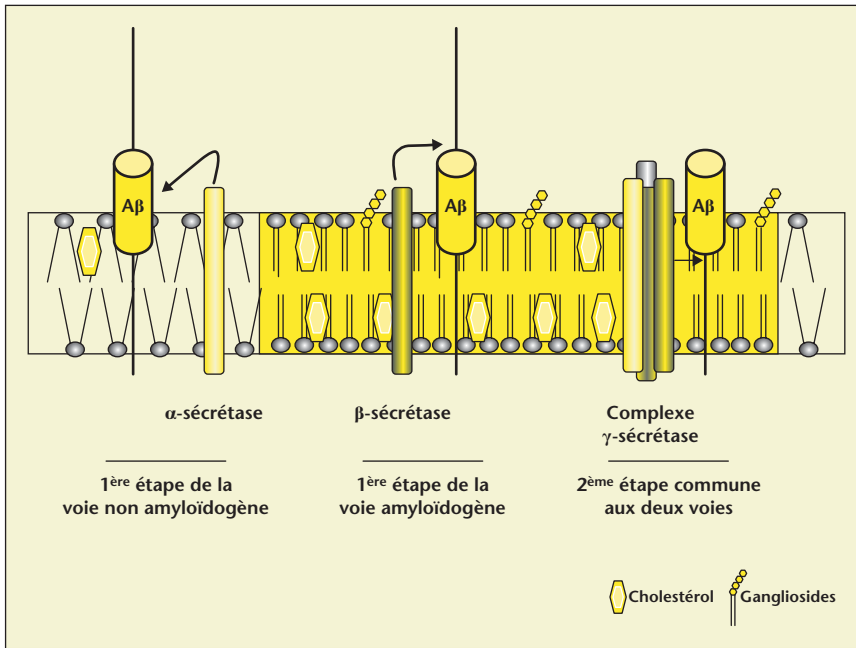


Figure 4. Rafts et DHA.

Les rafts sont des microdomaines membranaires enrichis en cholestérol et glycolipides. L'action des β -sécrétases peut être modulée par les rafts où le peptide $A\beta$ s'accumulerait. Le DHA, qui est incorporé principalement en dehors des rafts, pourrait modifier leur formation et dynamique.

fluides [93]. Il induit également une translocation vers les mêmes domaines membranaires de ARF, petite protéine G activatrice de la PLD. En définitive, la résultante globale de l'incorporation de DHA dans ce travail est une activation de la PLD. Celle-ci, comme l'inhibition du signal de l'IL-2 conduit à diminuer la lymphoprolifération et la modification de ces voies de signalisation sous-tendrait les propriétés immunosuppressives du DHA. Nous avons vu que le

DHA était capable de protéger les neurones contre la neurotoxicité du peptide $A\beta$ à des concentrations inférieures à $1 \mu\text{M}$. Il est possible que le DHA s'incorpore dans des domaines très spécifiques et modifie les voies de signalisation impliquée dans l'apoptose ou la survie neuronale (figure 5). La capacité de faibles taux de DHA à modifier la dynamique des radeaux dans les neurones où les apports de cet acide gras sont strictement régulés, constitue actuel-

lement une hypothèse de travail de plusieurs groupes de recherches. Ces travaux suggèrent un effet important du DHA sur la structuration et la dynamique des rafts dans les membranes cellulaires.

Conclusion

Plusieurs études épidémiologiques ont établi que l'apport alimentaire de DHA constitue un moyen de protection contre la MA. Ces résultats autorisent une politique préventive reposant sur l'incitation de la population à consommer une alimentation enrichie en acides gras $\omega 3$. Le faible taux de conversion des précurseurs en DHA et la diminution éventuelle de cette conversion avec l'âge incitent à orienter la population vers la consommation directe de DHA. Cependant, la question des apports minimaux nécessaires et suffisants reste posée. En outre, bien qu'il existe plusieurs hypothèses, les mécanismes de cette protection restent à établir. Les travaux récents, comme la découverte des effets des neuroprotectines, permettent de penser que le DHA pourrait agir à de faibles quantités et à travers des phénomènes de signalisation spécifique. En parallèle à une prévention de la MA et des maladies neurodégénératives par la nutrition dans la population générale, une meilleure connaissance des mécanismes neuroprotecteurs du DHA pourrait permettre de concevoir des formes actives et utilisables comme composés pharmacologiques chez les malades.

RÉFÉRENCES

1. GALLEZ C. Rapport sur la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées. Office Parlementaire d'Évaluation des Politiques de Santé, Bibliothèque des Rapports Publics (www.ladocumentationfrançaise.fr). 2005.
2. DROUET B, PINÇON-RAYMOND M, CHAMBAZ J, PILLOT T. Molecular basis of Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 2000 ; 57 : 705-15.
3. SELKOE DJ. Alzheimer disease : mechanistic understanding predicts novel therapies. *Ann Intern Med* 2004 ; 140 : 627-38.
4. LEBLANC AC. The role of apoptotic pathways in Alzheimer's disease neurodegeneration and cell death. *Curr Alzheimer Res* 2005 ; 2 : 389-402.
5. ARMSTRONG RA. β -Amyloid plaques : stages in life history or independent origin? *Dement Geriatr Cogn Disord* 1998 ; 9 : 227-38.
6. TANZI RE, GUSELLA JF, WATKINS PC, *et al*. Amyloid β protein gene : cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987 ; 235 : 880-4.

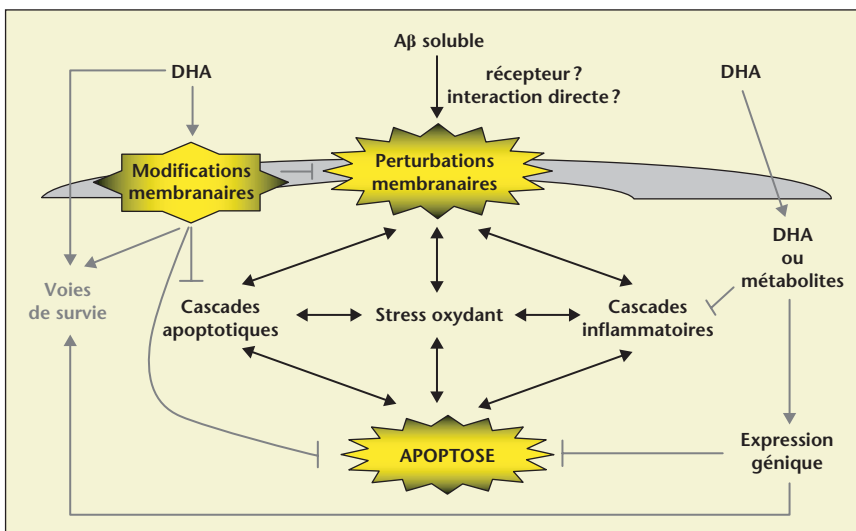


Figure 5. Mécanismes neuroprotecteurs du DHA vis-à-vis du peptide $A\beta$.

Le DHA ou ses dérivés empêchent l'apoptose neuronale en bloquant plusieurs étapes de la cascade cytotoxique induite par le peptide $A\beta$ et en préservant les voies de signalisation favorisant la survie/prolifération cellulaire.

7. PEREZ RG, ZHENG H, VAN DER PLOEG LHT, KOO EH. The β -amyloid precursor protein of Alzheimer's disease enhances neuron viability and modulates neuronal polarity. *J Neurosci* 1997 ; 17 : 9407-14.
8. MATTSON MP, CHENG B, CULWELL AR, ESCH FS, LIEBERBURG I, RYDEL RE. Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the β -amyloid precursor protein. *Neuron* 1993 ; 10 : 243-54.
9. ECKMAN EA, ECKMAN CBA. β -degrading enzymes : modulators of Alzheimer's disease pathogenesis and targets for therapeutic intervention. *Biochem Soc Trans* 2005 ; 33 : 1101-5.
10. HARDY J, HIGGINS GA. Alzheimer's disease : the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992 ; 256 : 184-5.
11. ROVELET-LECRUX A, HANNEQUIN D, RAUX G, et al. APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 24-6.
12. KATZMAN R, TERRY R, DETERESA R, 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.
13. WANG J, DICKSON DW, TROJANOWSKI JQ, LEE VM. The levels of soluble versus insoluble brain A β distinguish Alzheimer's disease from normal and pathologic aging. *Exp Neurol* 1999 ; 158 : 328-37.
14. MCLEAN CA, CHERNY RA, FRASER FW, et al. Soluble pool of β -amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999 ; 46 : 860-6.
15. LUE LF, KUO YM, ROHER AE, et al. Soluble amyloid β peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1999 ; 155 : 853-62.
16. ANDERSON AJ, SU JH, COTMAN CW. DNA damage and apoptosis in Alzheimer's disease : colocalization with c-Jun immunoreactivity, relationship to brain area, and effect of post-mortem delay. *J Neurosci* 1996 ; 16 : 1710-9.
17. ESTUS S, TUCKER HM, VAN ROOYEN C, et al. Aggregated amyloid- β protein induces cortical neuronal apoptosis and concomitant "apoptotic" pattern of gene induction. *J Neurosci* 1997 ; 17 : 7736-45.
18. WALSH DM, SELKOE DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron* 2004 ; 44 : 181-93.
19. PILLOT T, DROUET B, QUEILLÉ S, et al. The non-fibrillar amyloid β -peptide induces apoptotic neuronal cell death : involvement of its C-terminal fusogenic domain. *J Neurochem* 1999 ; 73 : 1626-34.
20. SPONNE I, FIFRE A, DROUET B, 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 : 3437-45.
21. WALSH DM, KLYUBIN I, FADEEVA JV, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid β protein potently inhibited hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Nature* 2002 ; 416 : 535-9.
22. WANG HW, PASTERNAK JF, KUO H, et al. Soluble oligomers of β amyloid (1-42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. *Brain Res* 2002 ; 924 : 133-40.
23. KIM HJ, CHAE SC, LEE DK, et al. Selective neuronal degeneration induced by soluble oligomeric amyloid β protein. *FASEB J* 2003 ; 17 : 118-20.
24. LACOR PN, BUNIEL MC, CHANG L, et al. Synaptic targeting by Alzheimer's-related amyloid β oligomers. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 10191-200.
25. HSIA AY, MASLIAH E, MCCONLOGUE L, et al. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 3228-33.
26. KOISTINAHO M, ORT M, CIMADEVILLA JM, et al. Specific spatial learning deficits become severe with age in β -amyloid precursor protein transgenic mice that harbor diffuse β -amyloid deposits but do not form plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 14675-80.
27. CHANG L, BAKHOS L, WANG Z, VENTON DL, KLEIN WL. Femtomole immunodetection of synthetic and endogenous amyloid- β oligomers and its application to Alzheimer's disease drug candidate screening. *J Mol Neurosci* 2003 ; 20 : 305-13.
28. RHEE SK, QUIST AP, LAL R. Amyloid β protein-(1-42) forms calcium-permeable, Zn²⁺-sensitive channel. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 13379-82.
29. LIN H, BHATIA R, LAL R. Amyloid β protein forms ion channels : implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *FASEB J* 2001 ; 15 : 2433-44.
30. SALEM JR. N, LITMAN B, KIM HY, GAWRISCH K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 2001 ; 36 : 945-59.
31. YOUNG G, CONQUER J. ω 3 Fatty acids and neuropsychiatric disorders. *Reprod Nutr Dev* 2005 ; 45 : 1-28.
32. SÖDERBERG 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.
33. CONQUER JA, TIERNEY MC, ZECEVIC J, BETTGER WJ, FISHER RH. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with Alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids* 2000 ; 35 : 1305-12.
34. TULLY AM, ROCHE HM, DOYLE R, et al. Low serum cholesteryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease : a case-control study. *Br J Nutr* 2003 ; 89 : 483-9.
35. YEHUDA S, RABINOVITZ S, CARASSO RL, MOSTOFSKY DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging* 2002 ; 23 : 843-53.
36. IKEMOTO A, OHISHI M, SATO 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.
37. GRANT WB, CAMPBELL A, ITZHAKI RF, SAVORY J. The significance of environmental factors in the etiology of Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis* 2002 ; 4 : 179-89.
38. MORRIS MC, EVANS DA, BIENIAS JL, et al. Consumption of fish and *n*-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003 ; 60 : 940-6.
39. NAKAMURA MT, NARA TY. Structure, function, and dietary regulation of Δ 6, Δ 5, and Δ 9 desaturases. *Annu Rev Nutr* 2004 ; 24 : 345-76.
40. YAMAZAKI K, FUJIKAWA M, HAMAZAKI T, YANO S, SHONO T. Comparison of the conversion rates of α -linolenic acid (18 :3 n -3) and stearidonic acid (18 :4 n -3) to longer polyunsaturated fatty acids in rats. *Biochim Biophys Acta* 1992 ; 1123 : 18-26.
41. ARTERBURN LM, HALL EB, OKEN H. Distribution, interconversion, and dose response of *n*-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2006 ; 83 : 1467S-1476S.
42. JUMP DB. The biochemistry of *n*-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 8755-8.
43. MOORE SA, YODER E, MURPHY S, DUTTON GR, SPECTOR AA. Astrocytes, not neurons, produce docosahexaenoic acid (22 :6 ω 3) and arachidonic acid (20 :4 ω 6). *J Neurochem* 1991 ; 56 : 518-24.
44. 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.
45. RAPOPORT SI, CHANG MC, SPECTOR AA. Delivery and turnover of plasma-derived essential PUFAs in mammalian brain. *J Lipid Res* 2001 ; 42 : 678-85.
46. MARSZALEK JR, KITIDIS C, DIRUSSO CC, LODISH HF. Long-chain acyl-CoA synthetase 6 preferentially promotes DHA metabolism. *J Biol Chem* 2005 ; 280 : 10817-26.

47. CHO HP, NAKAMURA MT, CLARKE SD. Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian $\Delta 6$ desaturase. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 471-7.
48. 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 : 659-67.
49. LOPEZ JIMENEZ JA, BORDONI A, HRELIA S, et al. Evidence for a detectable $\Delta 6$ -desaturase activity in rat heart microsomes : aging influence on enzyme activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 192 : 1037-41.
50. DINH TK, BOURRE JM, DURAND G. Effect of age and α -linolenic acid deficiency on $\Delta 6$ desaturase activity and liver lipids in rats. *Lipids* 1993 ; 28 : 517-23.
51. DINH L, BOURRE JM, DUMONT O, DURAND G. Comparison of recovery of previously depressed hepatic $\Delta 6$ desaturase. *Ann Nutr Metab* 1995 ; 39 : 117-23.
52. BOURRE JM, PICIOTTI M. $\Delta 6$ Desaturation of α -linolenic acid in brain and liver during development and aging in the mouse. *Neurosci Lett* 1992 ; 141 : 65-8.
53. ANDRE A, JUANEDA P, SEBEDIJO JL, CHARDIGNY JM. Plasmalogen metabolism-related enzymes in rat brain during aging : influence of $n-3$ fatty acid intake. *Biochimie* 2006 ; 88 : 103-11.
54. CALON F, LIM GP, YANG F, et al. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron* 2004 ; 43 : 633-45.
55. CALON F, LIM GP, MORIHARA T, et al. Dietary $n-3$ polyunsaturated fatty acid depletion activates caspases and decreases NMDA receptors in the brain of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci* 2005 ; 22 : 617-26.
56. LIM GP, CALON F, MORIHARA T, et al. A diet enriched with the $\omega 3$ fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 3032-40.
57. HOLCOMB L, GORDON MN, MCGOWAN E, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med* 1998 ; 4 : 97-100.
58. KAWARABAYASHI T, YOUNKIN LH, SAIDO TC, SHOJI M, ASHE KH, YOUNKIN SG. Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma A β protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001 ; 21 : 372-81.
59. HASHIMOTO M, HOSSAIN S, SHIMADA T, et al. Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. *J Neurochem* 2002 ; 81 : 1084-91.
60. HASHIMOTO M, TANABE Y, FUJII Y, KIKUTA T, SHIBATA H, SHIDO O. Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates the impairment of spatial cognition learning ability in amyloid β -infused rats. *J Nutr* 2005 ; 135 : 549-55.
61. FLORENT S, MALAPLATE-ARMAND C, YOUSSEF I, et al. Docosahexaenoic acid prevents neuronal apoptosis induced by soluble amyloid- β oligomers. *J Neurochem* 2006 ; 96 : 385-95.
62. PUSKAS LG, KITAJKA K, NYAKAS C, BARCELO-COBLIJN G, FARKAS T. Short-term administration of $\omega 3$ fatty acids from fish oil results in increased transthyretin transcription in old rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 1580-5.
63. BARCELO-COBLIJN G, KITAJKA K, PUSKAS LG, et al. Gene expression and molecular composition of phospholipids in rat brain in relation to dietary $n-6$ to $n-3$ fatty acid ratio. *Biochim Biophys Acta* 2003 ; 1632 : 72-9.
64. BARCELO-COBLIJN G, HOGYES E, KITAJKA K, et al. Modification by docosahexaenoic acid of age-induced alterations in gene expression and molecular composition of rat brain phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 11321-6.
65. KITAJKA K, PUSKAS LG, ZVARA A, et al. The role of $n-3$ polyunsaturated fatty acids in brain : modulation of rat brain gene expression by dietary $n-3$ fatty acids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 2619-24.
66. TSUZUKI K, FUKATSU R, YAMAGUCHI H, et al. Transthyretin binds amyloid β peptides, A β 1-42 and A β 1-40 to form complex in the autopsied human kidney - possible role of transthyretin for A β sequestration. *Neurosci Lett* 2000 ; 281 : 171-4.
67. ROBERTS 2ND LJ, MONTINE TJ, MARKESBERY WR, et al. Formation of isoprostane-like compounds (neuroprostanes) *in vivo* from docosahexaenoic acid. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 13605-12.
68. SERHAN CN, GOTTLINGER K, HONG S, ARITA M. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel $\omega 3$ -derived mediators, and their aspirin-triggered endogenous epimers : an overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2004 ; 73 : 155-72.
69. MUKHERJEE PK, MARCHESELLI VL, SERHAN CN, BAZAN NG. Neuroprotectin D1 : a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 8491-6.
70. SERHAN CN, HONG S, GRONERT K, et al. Resolvins : a family of bioactive products of $\omega 3$ fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med* 2002 ; 196 : 1025-37.
71. 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. Autocoids in anti-inflammation. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 14677-87.
72. ARIEL A, LI PL, WANG W, et al. The docosatriene protectin D1 is produced by TH2 skewing and promotes human T cell apoptosis via lipid raft clustering. *J Biol Chem* 2005 ; 280 : 43079-86.
73. SERHAN CN, GOTTLINGER K, HONG S, et al. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers : assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J Immunol* 2006 ; 176 : 1848-59.
74. MARCHESELLI VL, HONG S, LUKIWI WJ, et al. Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 43807-17.
75. BELAYEV L, MARCHESELLI VL, KHOUTOROVA L, et al. Docosahexaenoic acid complexed to albumin elicits high-grade ischemic neuroprotection. *Stroke* 2005 ; 36 : 118-23.
76. LUKIWI WJ, CUI JG, MARCHESELLI VL, et al. A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 2774-83.
77. COLANGELO V, SCHURR J, BALL MJ, PELAEZ RP, BAZAN NG, LUKIWI WJ. Gene expression profiling of 12633 genes in Alzheimer hippocampal CA1 : transcription and neurotrophic factor down-regulation and up-regulation of apoptotic and pro-inflammatory signaling. *J Neurosci Res* 2002 ; 70 : 462-73.
78. SHIKANO M, MASUZAWA Y, YAZAWA K, TAKAYAMA K, KUDO I, INOUE K. Complete discrimination of docosahexaenoate from arachidonate by 85 kDa cytosolic phospholipase A₂ during the hydrolysis of diacyl- and alkenylacylglycerophosphoethanolamine. *Biochim Biophys Acta* 1994 ; 1212 : 211-6.
79. PIKE LJ. Rafts defined : a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function. *J Lipid Res* 2006 ; 47 : 1597-8.
80. TUN H, MARLOW L, PINNIX I, KINSEY R, SAMBAMURTI K. Lipid rafts play an important role in A β biogenesis by regulating the β -secretase pathway. *J Mol Neurosci* 2002 ; 19 : 31-5.
81. EHEHALT R, KELLER P, HAASS C, THIELE C, SIMONS K. Amyloidogenic processing of the Alzheimer β -amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol* 2003 ; 160 : 113-23.

82. MARLOW L, CAIN M, PAPPOLLA MA, SAMBAMURTI K. β -Secretase processing of the Alzheimer's amyloid protein precursor (APP). *J Mol Neurosci* 2003 ; 20 : 233-9.
83. ABAD-RODRIGUEZ J, LEDESMA MD, CRAESAERTS K, *et al.* Neuronal membrane cholesterol loss enhances amyloid peptide generation. *J Cell Biol* 2004 ; 167 : 953-60.
84. KANG MJ, CHUNG YH, HWANG CI, *et al.* Caveolin-1 upregulation in senescent neurons alters amyloid precursor protein processing. *Exp Mol Med* 2006 ; 38 : 126-33.
85. KAWARABAYASHI T, SHOJI M, YOUNKIN LH, *et al.* Dimeric amyloid β protein rapidly accumulates in lipid rafts followed by apolipoprotein E and phosphorylated *Tau* accumulation in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 3801-9.
86. YU W, ZOU K, GONG JS, KO M, YANAGISAWA K, MICHIKAWA M. Oligomerization of amyloid β -protein occurs during the isolation of lipid rafts. *J Neurosci Res* 2005 ; 80 : 114-9.
87. CORDY JM, HOOPER NM, TURNER AJ. The involvement of lipid rafts in Alzheimer's disease. *Mol Membr Biol* 2006 ; 23 : 111-22.
88. WASSALL SR, BRZUSTOWICZ MR, SHAIKH SR, CHEREZOV V, CAFFREY M, STILLWELL W. Order from disorder, corralling cholesterol with chaotic lipids. The role of polyunsaturated lipids in membrane raft formation. *Chem Phys Lipids* 2004 ; 132 : 79-88.
89. SHAIKH SR, CHEREZOV V, CAFFREY M, STILLWELL W, WASSALL SR. Interaction of cholesterol with a docosahexaenoic acid-containing phosphatidylethanolamine : trigger for microdomain/raft formation? *Biochemistry* 2003 ; 42 : 12028-37.
90. SHAIKH SR, DUMAUAL AC, CASTILLO A, *et al.* (Oleic and docosahexaenoic acid differentially phase separate from lipid raft molecules : a comparative NMR, DSC, AFM, and detergent extraction study. *Biophys J* 2004 ; 87 : 1752-66.
91. 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 : 6151-60.
92. LI Q, WANG M, TAN L, *et al.* Docosahexaenoic acid changes lipid composition and interleukin-2 receptor signaling in membrane rafts. *J Lipid Res* 2005 ; 46 : 1904-13.
93. DIAZ O, BERQUAND A, DUBOIS M, *et al.* The mechanism of docosahexaenoic acid-induced phospholipase D activation in human lymphocytes involves exclusion of the enzyme from lipid rafts. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 39368-78.