

# Utjecaj bioaktivnih lipida na upalne procese, urođenu imunost i emocionalnu regulaciju

---

Zujić, Branimira

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:282380>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-30**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

Branimira Zujic

Utjecaj bioaktivnih lipida na upalne procese, urođenu imunost  
i emocionalnu regulaciju

Diplomski rad



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za neuroznanost Hrvatskog instituta za istraživanje mozga pod vodstvom prof. dr. sc. Gorana Šimića, dr.med.; i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020/2021.

## POPIS I OBJAŠNENJE KORIŠTENIH KRATICA:

FA – *fatty acids*, masne kiseline

Lyso PL – *lysophospholipids*, lizofosfolipidi

AA – *arachidonic acid*, arahidonska kiselina

C1P – *ceramide-1-phosphate*, ceramid-1-fosfat

S1P – *sphingosine-1-phosphate*, sfingozin-1-fosfat

TNF – *tumor necrosis factor*, faktor tumorske nekroze

CAPK – *ceramide activated protein kinase*, protein kinaza aktivirana ceramidom

CAPP – *ceramide activated protein phosphatase*, protein fosfataza aktivirana ceramidom

PLA2 – *phospholipase A2*, fosfolipaza A2

TLR – *Toll-like receptor*, receptor nalik Tollu

PG – prostaglandin

ROS – *reactive oxygen species*, reaktivni kisikovi spojevi

RNS – *reactive nitrogen species*, reaktivni dušikovi spojevi

PUFAs – *polyunsaturated fatty acids*, polinezasićene masne kiseline

COX – ciklooksigenaza

LOX – lipooksigenaza

EPA – eikozapentaenonska kiselina

DHA – dokozaheksaenonska kiselina

AEA – arahidonoiletanolamin

2-AG – 2-arahidonoilglicerol

CBR – kanabinoidni receptor

PPAR  $\gamma$  - *peroxisome proliferator-activated receptor-  $\gamma$* , receptor aktiviran proliferatorom peroksisoma  $\gamma$

PRR – *pattern recognition receptor*, receptor prepoznavanja uzorka

APC – *antigen-presenting cells*, antigen-prezentirajuća stanica

PAMP – *pathogen-associated molecular patterns*, molekularni uzorci povezani s patogenom

MS – multipla skleroza

AD – *Alzheimer's disease*, Alzheimerova bolest

# SADRŽAJ:

## POPIS I OBJAŠNJENJE KORIŠTENIH KRATICA

## SAŽETAK

## SUMMARY

1. Uvod u metabolizam bioaktivnih lipida.....	1
1.1. Lizofosfolipidi i sfingolipidi .....	2
1.1.1. Ceramidi .....	2
1.2. Arahidonska kiselina .....	4
1.3. Eikozanoidi.....	8
1.3.1. Prostaglandini, leukotrieni, tromboksani i prostaciklini.....	10
1.3.2. Upalostatički i proresorptivni eikozanoidi i dokozaanoidi: lipoksini, rezolvini i protektini.....	12
1.4. Endokanabinoidi.....	13
2. Uloga bioaktivnih lipida u urođenoj imunosti i upalnim procesima.....	15
2.1. Urođeni imunosni sustav i upala .....	15
2.2. Uloga lizofosfolipida i sfingolipida u urođenoj imunosti .....	18
2.3. Uloga eikozanoida u urođenoj imunosti .....	20
2.4. Uloga endokanabinoida u urođenoj imunosti.....	21
2.5. Uloga lizofosfolipida i sfingolipida u upalnim procesima .....	23
2.6. Uloga eikozanoida u upalnim procesima .....	24
2.7. Uloga endokanabinoida u upalnim procesima .....	25
3. Uloga bioaktivnih lipida u emocionalnoj regulaciji.....	26
ZAHVALE.....	29
POPIS KORIŠTENE LITERATURE.....	30
ŽIVOTOPIS.....	44

## SAŽETAK:

Utjecaj bioaktivnih lipida na upalne procese, urođenu imunost i emocionalnu regulaciju

Branimira Zujić

U ovom preglednom radu cilj je bio prikazati temeljne biokemijske karakteristike bioaktivnih lipida, isprepletenost njihovih složenih metaboličkih puteva, kao i njihove konačne učinke. Bioaktivni lipidi nastaju kao derivati arahidonske kiseline, ili cijepanjem drugih elemenata stanične membrane. Dugo vremena su lizofosfolipidi i sfingolipidi smatrani samo strukturnom komponentom stanične membrane, međutim današnje spoznaje otkrivaju njihov izravan utjecaj na signalne putove stanica urođene i stečene imunosti. Eikozanoidi, koji nastaju kao derivati dokozaheksaenonske ili eikozapentaenonske kiseline, svojevrsan su sinonim za bioaktivne lipide, te svojim proupalnim i protuupalnim učincima imaju važno mjesto u upalnom odgovoru organizma. U emocionalnoj regulaciji, kao predstavnici bioaktivnih lipida, najvažniji i najistraženiji su endokanabinoidi. Navedene spoznaje imaju velik potencijalni značaj jer čine bioaktivne lipide privlačnom metom za liječenje neuroinflamatornih i neuroimunoloških poremećaja, uključujući Alzheimerovu bolest, multiplu sklerozu, amiotrofičnu lateralnu sklerozu, traumatsku ozljedu mozga, anksioznost i depresiju.

Ključne riječi: bioaktivni lipidi, arahidonska kiselina, lizofosfolipidi, sfingolipidi, eikozanoidi, endokanabinoidi

## SUMMARY:

Influence of bioactive lipids on inflammatory processes, innate immunity and emotional regulation

Branimira Zujic

The aim of this thesis was to show the basic biochemical characteristics of bioactive lipids, the intertwining of their complex metabolic pathways, and their target effects. Bioactive lipids are formed as arachidonic acid derivatives or by cleavage of other cell membrane elements. For a long time, lysophospholipids and sphingolipids were considered only a structural component of the cell membrane, however, recent findings reveal their direct influence on signaling pathways within cells of innate and adaptive immunity. Eicosanoids, which are formed as derivatives of docosahexaenoic or eicosapentaenoic acid, are a kind of synonym for bioactive lipids, and their pro-inflammatory and anti-inflammatory effects have an important place in the inflammatory response of the organism. The most important and most researched investigated bioactive lipids involved in emotional regulation are endocannabinoids. These findings are of great potential significance because they make bioactive lipids an attractive target for the treatment of neuroinflammatory and neuroimmunological disorders, including Alzheimer's disease, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, traumatic brain injury, anxiety and depression.

Keywords: bioactive lipids, arachidonic acid, lysophospholipids, sphingolipids, eicosanoids, endocannabinoids

## 1. Uvod u metabolizam bioaktivnih lipida

Bioaktivni lipidi, poznati i pod nazivom lipidni glasnici, posebna su grupa staničnih lipida koji sudjeluju u signalnim putevima svih organizama, od bakterija do sisavaca. Membrane svih stanica čovjeka sastavljene su od lipidnog dvosloja, iz kojega i nastaju bioaktivni lipidi. Njihova kontrolirana proizvodnja je nužna za usklađeno i tečno funkcioniranje stanice. Djelovanje različitih regulacijskih sustava (sustav povratne sprege, konvergencija signala iz različitih metaboličkih puteva) pomaže osigurati da čak i poremećaj u jednom enzimu koji metabolizira lipide ne ometa sveukupno funkcioniranje bioaktivnih lipida. Teško je zamisliti ijedan signalni put ili proces u kojemu oni ne sudjeluju. Posebno važnu ulogu imaju u imunom sustavu, u kojem su bitni za pravilno funkcioniranje urođene i stečene imunosti. Potrebni su za održavanje strukture i „reda“ unutar stanice, za osnovno funkcioniranje stanice, kao i za posebne funkcije endokrinih stanica i neurona (1). Bioaktivni lipidi nastaju hidrolizom membranskih lipida posredstvom fosfolipaza. Kao produkti nastaju masne kiseline (*fatty acids*, FA) i lizofosfolipidi (*lysophospholipids*, lysoPL) koji mogu imati izvršne uloge u stanicama, pretvorbom u aktivne medijatore posreduju u staničnom odgovoru. Može se reći da cjelokupni koncept bioaktivnih lipida proizlazi iz prepoznavanja uloge lipida ne samo kao izvora energije i u strukturi stanice, već i u puno širem kontekstu - onome koji obuhvaća prijenos signala i biološke učinke. Analogno tome, promjene razina bioaktivnih lipida dovode i do patofizioloških promjena unutar organizma (2). Spomenut ćemo eikozanoide, endokanabinoide, te lizosfingolipide i sfingolipide, kao glavne obitelji bioaktivnih lipida. Jedna od najistraživanijih i najbitnijih molekula u kontekstu bioaktivnih lipida je arahidonska kiselina (arachidonic acid, AA), koja osim svojih samostalnih funkcija, služi i kao ishodišna molekula za mnoge druge vitalno važne molekule, pa tako i navedene skupine.



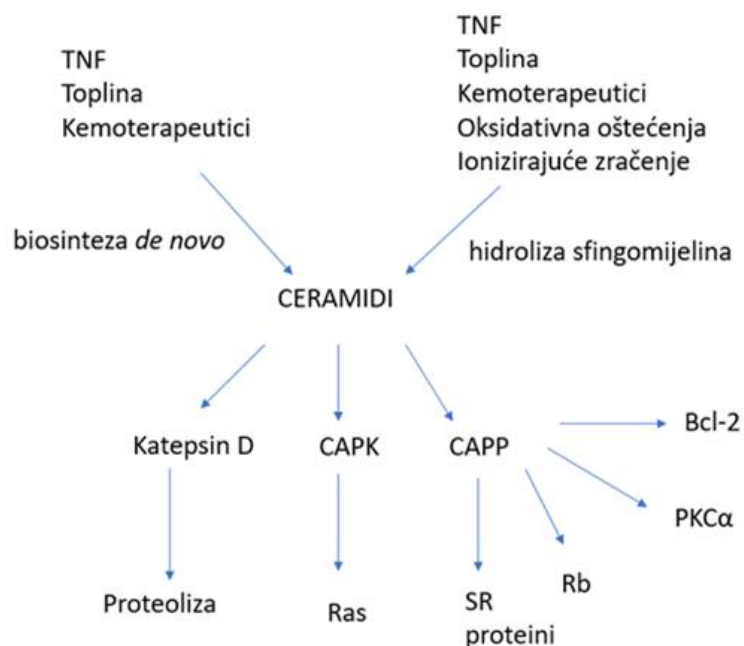
## 1.1. Lizofosfolipidi i sfingolipidi

Lizofosfolipidi i sfingolipidi su veoma raznoliki bioaktivni lipidi. Nalazimo ih u sastavu stanične membrane. Glavne gradivne molekule čine glicerol i sfingozin, a mogu biti udruženi s drugim molekulama kao što su etanolamin, serin, kolin, inozitol ili masne kiseline. Oni se mogu raznim metaboličkim putevima konvertirati i u druge bioaktivne lipide koje ćemo spomenuti kasnije, i to pomoću enzima fosfolipaze, lipidne kinaze, i fosfatne fosfataze (3). Glavni biološki aktivni lizofosfolipidi su lizofosfatidilkolin (LPC) i lizofosfatidilinozitol (LPI) koji imaju ulogu u oblikovanju plazmatskih membrana, staničnom rastu i smrti, i u upalnoj kaskadi (4). Glavni biološki aktivni sfingolipidi su ceramidi, i njihovi biološki produkti – ceramid-1-fosfat (*ceramide-1-phosphate*, C1P), i sfingozin-1-fosfat (*sphingosine-1-phosphate*, S1P). Sfingolipidi svoj naziv duguju tome što je njihova složena kemijska struktura dugo vremena zadavala glavobolju znanstvenicima, pa su im dali naziv inspiriran tajanstvenim egipatskim sfingama (5).

### 1.1.1. Ceramidi

Ceramidi su sfingolipidi najpoznatiji po svojim strukturnim ulogama u stanicama kože. Međutim, njihova još značajnija uloga je u tome što su posrednici između vanjskih signala i unutarstaničnog metabolizma. Njihovo djelovanje utječe na rast i diferencijaciju stanica, njihovu migraciju, adheziju, proces starenja i apoptozu. U zadnje vrijeme, ceramidi su dobili i naziv „tumor-supresorski lipidi“, zbog svojih utjecaja na tumorske stanice. Isto tako, jedna od najvećih zagonetki molekularne biologije – struktura stanične membrane, pokušava objasniti ulogu ceramida kao bitnih signalnih komponenata kroz teoriju o lipidnim domenama bogatim ceramidima (6). Ceramidi su bioaktivni lipidi čiji nastanak može biti potaknut djelovanjem raznih citokina i stresogenih čimbenika, kao što su primjerice faktor tumorske nekroze (*tumor necrosis factor*, TNF), ultraljubičasto zračenje i ionizirajuće zračenje, toplina, kemoterapeutici. Postoje dva načina nastanka ceramida u stanici: 1. hidrolizom sfingomijelina, koji je glavna

komponenta lipidnog dvosloja, 2. biosintezom *de novo*. Glavne ciljne molekule djelovanja ceramida su katepsin D, ceramidom aktivirana kinaza (*ceramide-activated protein kinase*, CAPK), i fosfataza aktivirana ceramidom (*ceramide-activated protein phosphatase*, CAPP). Praćenjem signalne kaskade dolazimo do konačnih učinaka ceramida (**Slika 1**). Nadalje, brojne studije potvrđuju ulogu ceramida u odgovoru stanice na određenu noxsu. Primjerice, povišenje razine ceramida može dovesti do apoptoze u određenim stanicama raka, dok inhibicija proizvodnje ceramida može dovesti do slabljenja apoptoze u mnogim, ali ne svim vrstama stanica. U drugim vrstama stanica, kao što su stanice endotela i fibroblasti, ceramidi su više povezani sa staničnim ciklusom, diferencijacijom i starenjem, negoli s apoptozom (7).



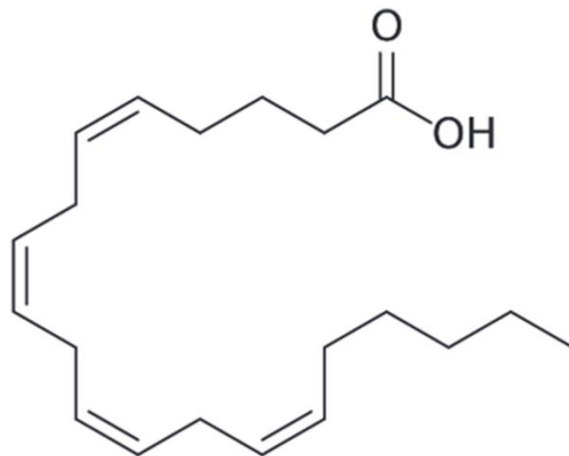
**Slika 1.** Prikazani su putevi posredovanja ceramida u pretvorbi izvanstaničnih signala u stanični odgovor. Slika je modificirana prema referenci 7.

U neuronima su posebno zastupljeni C-16, C-18 i C-24 ceramidi. C-24 oblici – ceramidi vrlo dugačkih lanaca, još su k tome obogaćeni mijelinom. Istraživanjem moždanog tkiva kod oboljelih od Alzheimerove bolesti, u više studija su utvrđene povišene razine ceramida, čak i u ranim stadijima razvoja bolesti (8). Povišene razine su pronađene i u cerebrospinalnoj tekućini oboljelih. Smatra se da je to posljedica pojačanog djelovanja sfingomijelinaze (7), koja pretvara sfingomijelin u ceramid. Međutim, ceramidi vrlo dugačkih lanaca (C-24) nađeni su u manjim koncentracijama u usporedbi sa zdravim moždanim tkivom. Nadalje, i u multiploj sklerozi je dokazana povišena razina ceramida u cerebrospinalnoj tekućini, koja je bila povezana s aktivacijom apoptoze u neuronima (9). Isto tako, i u samom procesu starenja dolazi do povišenja razine ceramida i sfingomijelina u moždanom tkivu, za što se smatra da bi mogao biti jedan od razloga neurodegenerativnih promjena povezanih sa starenjem. U različitim studijama je pokazano da bi se viši omjer ceramida i sfingomijelina mogao protumačiti kao rizični čimbenik za Alzheimerovu bolest i slabljenje kognitivnih funkcija. Međutim, neka kohortna istraživanja koja pokušavaju povezati demenciju s razinom cirkulirajućih ceramida su proturječna. Primjerice, jedna studija pokazuje da je ta veza dokazana samo u žena (10), dok je u drugoj studiji pokazano da je to slučaj samo u muškaraca (11, 12). Zanimljive su i nedavne studije koje pokazuju da povišene razine ceramida uzrokuju disfunkciju endotela u arteriolama, i posljedično mogu dovesti do pojave koronarne bolesti, dok istovremeno jedan od metabolita ceramida - SIP, stimulira proizvodnju dušikovog oksida koji je ključan za zdravlje arteriola (13).

## **1.2. Arahidonska kiselina**

Arahidonska kiselina je omega-6 (n-6) polinezasićena masna kiselina koja se nalazi u sastavu bioloških membrana. Dugo vremena je bila smatrana štetnom zbog svoje uloge ishodišne molekule za upalne čimbenike, međutim danas se zna da je esencijalna za zdravlje čovjeka.

Vrlo je bitna njezina uloga u fluidnosti, fleksibilnosti i permeabilnosti membrana, koja proizlazi iz njezine kemijske strukture – ima 4 dvostruke veze smještene na istoj strani molekule („cis“ dvostruke veze) (**Slika 2**). Fluidnost membrane ima utjecaj na specifične membranske proteine koji su uključeni u prijenos signala unutar stanice, i na integritet stanice i staničnih organela i vaskularnu permeabilnost, što objašnjava ključnu ulogu arahidonske kiseline u funkciji neurona, plastičnosti mozga i jačanju sinapsi (14). Njezine četiri dvostruke veze čine ju podložnom oksidacijskim reakcijama, kao i nastanku mnogobrojnih biološki važnih metabolita (pomoću enzimatskih ili neenzimatskih reakcija). Arahidonska kiselina ima važne uloge u normalnom funkcioniranju imunskog sustava, u ranom neurološkom razvoju, u regulaciji apetita i raspoloženja, te alergijskim i upalnim reakcijama. S obzirom da je jedna od glavnih sastavnica stanične membrane, od iznimne je važnosti za rast i razvoj, kao i za popravak oštećenih stanica. Za čovjeka su zasićene masti životinjskog porijekla glavni izvor arahidonske kiseline. Najviše arahidonske kiseline ima u žumanjku jajeta, tuni, lososu i mesu. Također, važan izvor za vegetarijance i ljude koji jedu isključivo biljnu hranu je linolna kiselina, koja je esencijalna masna kiselina (čovjek nema enzime potrebne za njezinu sintezu), iz koje dolazi do sinteze arahidonske kiseline. Izvori linolne kiseline su mnogi orašasti plodovi, kao i sjemenke i ulja koja se iz njih proizvode. Osim preko hrane koju unosimo izvana, arahidonska kiselina može nastati i endogenim putem, i to iz endokanabinoida (napose anandamida), o čemu će biti riječi u poglavlju o endokanabinoidima.



**Slika 2.** Shematski je prikazana kemijska struktura arahidonske kiseline. Shema je modificirana prema referenci 15.

Kao što je već spomenuto, arahidonska kiselina se nalazi u sklopu strukturnih fosfolipida u staničnim membranama, a može biti i pohranjena u lipidnim tjelešcima u stanicama imunskog sustava. Nalazimo ju u fosfolipidima skeletnih mišića, mozga, jetre, slezene i mrežnice. Koncentracija slobodne arahidonske kiseline u plazmi je niska. Na staničnoj razini, postoje tri glavna enzima koji mogu mobilizirati arahidonsku kiselina iz membranskih fosfolipida. Radi se o fosfolipazi A2 (PLA2), fosfolipazi C (PLAC) i fosfolipazi D (PLAD). Fosfolipaza A2 je enzim stanične membrane i lizosoma, u jednom koraku dovodi do otpuštanja arahidonske kiseline. Signal koji potiče aktivnost tog enzima mogu biti različiti tumorski faktori (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), aktivacija receptora koji sličje Toll proteinu (*Toll-like receptors 4*, TLR4), aktivacija purinergičkih receptora, peptid iz pčelinjeg otrova *melitin* i upalom aktivirani kalcijski ionski kanali. Također, i vezanje faktora tumorske nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) na odgovarajuće receptore

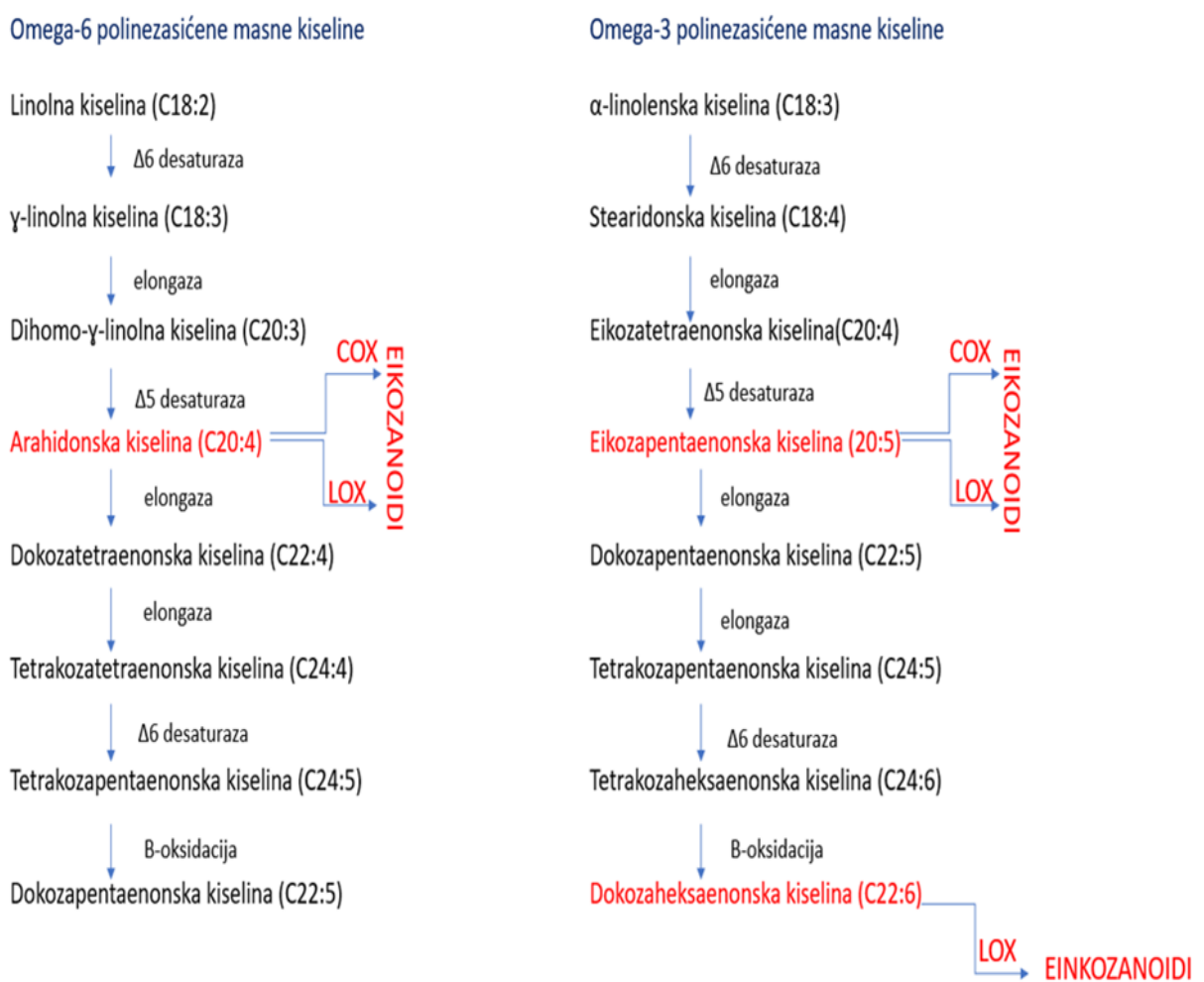
P55 i P75, dovodi do oslobađanja arahidonske kiseline iz fosfatidilkolina ili fosfatidiletanolamina.

Slobodna arahidonska kiselina može pokrenuti proces apoptoze stanice, budući da aktivira sfingomijelinazu, koja degradira sfingolipide na fosfokolin i ceramid. Stoga je u fiziološkim uvjetima razina slobodne arahidonske kiseline u stanici niska. Po oslobađanju iz stanične membrane ili unutarstaničnih lipidnih tjelešaca, arahidonska kiselina može biti metabolizirana, ponovno umetnuta unutar fosfolipidnog dvosloja ili može difundirati u drugu stanicu. Metabolizam arahidonske kiseline može, kako je već rečeno, biti posredovan enzimatski, ili se može odvijati neenzimatskim putem. Enzimi koji mogu metabolizirati arahidonsku kiselinu su iz obitelji ciklooksigenaza, lipooksigenaza, i obitelji citokroma P-450, ili može biti metabolizirana anandamidnim putem, čemu će biti više riječi kasnije. Što se neenzimatskih reakcija tiče, napravljene su studije na štakorima u kojima izlaganje štakora ugljikovom tetrakloridu (CCl<sub>4</sub>) dovodi do oponašanja oksidativnog stresa i pokretanja reakcija lipidne peroksidacije, što dovodi do nastanka spojeva sličnih prostaglandinu F<sub>2</sub> (PGF<sub>2</sub>), izoprostanima. Izoprostani su uključeni u regulaciju agregacije trombocita, vazokonstrikcije i proliferacije glatkog mišićja. Također, djelovanjem reaktivnih kisikovih spojeva (*reactive oxygen species*, ROS), i reaktivnih dušikovih spojeva (*reactive nitrogen species*, RNS), dolazi do autooksidacije arahidonske kiseline, što je još jedan primjer njezinog neenzimatskog oksidativnog metabolizma. Neki od tih produkata mogu se koristiti kao markeri oksidativnog stresa, što je koristan alat za istraživanje uloge slobodnih radikala u etiopatogenezi pojedinih bolesti, npr. neurodegenerativnih bolesti, kroničnih upalnih bolesti, autoimunih bolesti i dijabetesa (15).

### 1.3. Eikozanoidi

Eikozanoidi su signalne molekule topljive u lipidima koje se neprestano proizvode u različitim tkivima sisavaca. Radi se o derivatima polinezasićenih masnih kiselina (*polyunsaturated fatty acids*, PUFAs), najčešće ranije opisane arahidonske kiseline. Te molekule imaju proupalno (proinflamatorno) djelovanje, i važan su dio upalnog odgovora organizma. Polinezasićene masne kiseline se mogu kategorizirati kao omega-6 (n-6; uglavnom nastaju iz linolne kiseline) i omega-3 polinezasićene masne kiseline (n-3; zastupljene uglavnom u ribljim uljima, nastaju iz  $\alpha$ -linolenske kiseline), a s obzirom na to gdje im se nalazi zadnja dvostruka veza u odnosu na terminalnu metilnu skupinu molekule. Polinezasićene masne kiseline su većinom smještene u membranama stanica. Eikozanoidi nastaju lipidnom peroksidacijom polinezasićenih masnih kiselina, posredstvom nekoliko skupina enzima: ciklooksigenaze (COX), lipooksigenaze (LOX) i citokroma-P450 (**Slika 3**). Najpoznatije skupine eikozanoida su prostaglandini, prostaciklini, leukotrieni i tromboksani. Osim njih, za rezoluciju upale, kao upalostatički čimbenici, bitni su lipoksini, rezolvini i protektini. Imaju kratak poluvijek života, a kako bi ostvarili svoj autokrini i parakrini učinak, eikozanoidi moraju izaći iz stanice, i aktivacijom receptora povezanih s G-proteinima, djelovati na susjedne stanice (16). Također su uključeni u regulaciju urođene imunosti. Prilikom infekcije ili upale tkiva dolazi do oticanja i pojave boli koji su posljedica proizvodnje eikozanoida, ali isto tako zahvaljujući njima dolazi do amplifikacije upalnih signala za mobilizaciju leukocita, proupalnih citokina i imunskih stanica, kako bi došlo do što potpunije obrane od patogena. Nadalje, eikozanoidi dovode u ravnotežu nastale proupalne signale tako što proizvode rezolvine – metabolite koji utišavaju upalni odgovor, kako isti ne bi doveo do prevelikog oštećenja organizma (15). Među izvorima eikozanoida treba spomenuti mastocyte - posebice tijekom upale, i makrofage. Zanimljiva je i teorija prema kojoj rezidualni tkivni makrofagi nisu značajan izvor eikozanoida, već su to oni makrofagi koji se nalaze u različitim patološkim stanjima – u neoplazmama, aterosklerotskim

plakovima, itd. (17). U različitim tkivima, i od stanice do stanice, postoje razlike u tipu i količini sintetiziranih eikozanoida. Iako prilikom razgovora o sintezi eikozanoida glavni fokus stavljamo na arahidonsku kiselinu kao primarni izvor, valja napomenuti da su i eikozapentaenonska kiselina (EPA) i dokozaheksaenonska kiselina (DHA) važne prekursorne molekule za sintezu lipidnih medijatora upale. Eikozapentaenonska kiselina je kompetitivni antagonist ciklooksigenaze, pa može izravno inhibirati metabolizam arahidonske kiseline.



**Slika 3.** Shematski prikaz sinteze eikozanoida iz polinezasićenih masnih kiselina. COX, ciklooksigenaza; LOX, lipooksigenaza. Slika je modificirana prema referenci 15.



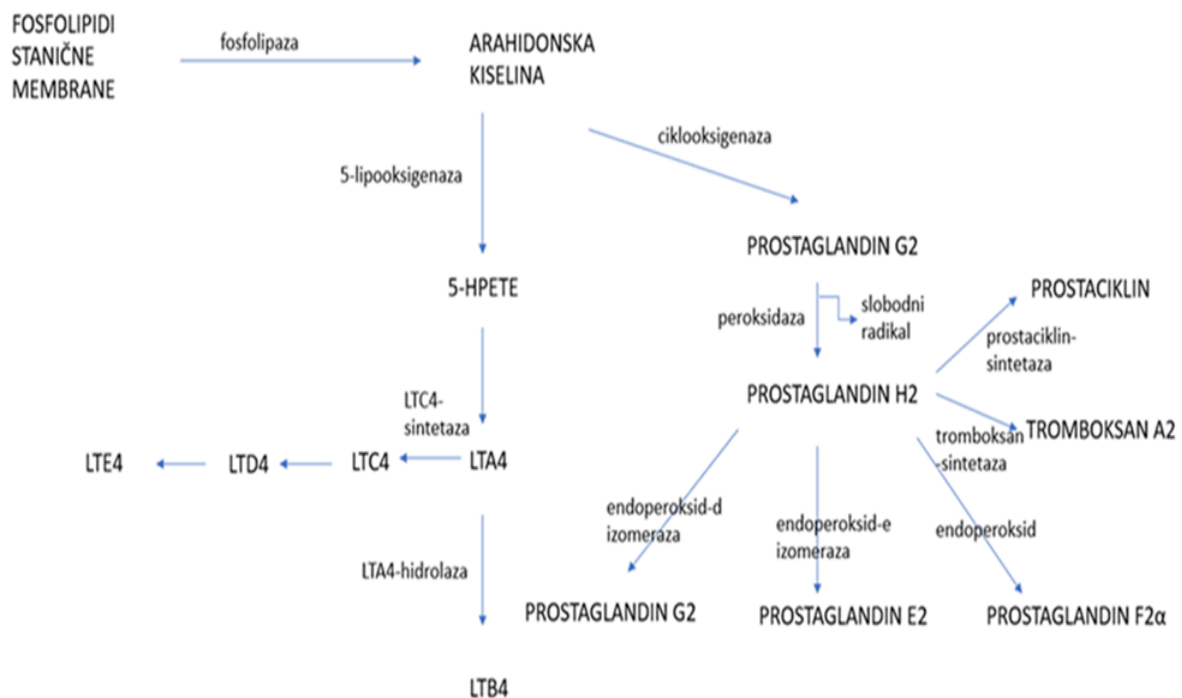
### **1.3.1. Prostaglandini, leukotrieni, tromboksani i prostaciklini**

Metaboliti arahidonske kiseline prostaglandini, leukotrieni, prostaciklini i tromboksani su lokalni hormoni. Proizvode se u svim stanicama osim u eritrocitima i imaju autokrini i parakrini učinak – djeluju na mjestu nastanka i u neposrednoj blizini stanice koja ih je izlučila. Pretvorba arahidonske kiseline se može odvijati u dva smjera (**Slika 4**). Ukoliko na arahidonsku kiselinu djeluje 5-lipooksigenaza, dolazi do nastanka leukotriena, odnosno lipoksina. Ako na arahidonsku kiselinu djeluje ciklooksigenaza, onda posljedično nastaju prostaglandini, tromboksan A<sub>2</sub> i prostaciklini. Ciklooksigenaza (COX) i lipooksigenaza (LOX) su enzimi koji djeluju na način da kataliziraju stereospecifično umetanje kisika na različita mjesta unutar arahidonske kiseline. S obzirom na navedenu činjenicu, možemo reći da su produkti njihova djelovanja oksidativni derivati. Razni lijekovi koriste princip blokiranja navedenih enzima kako bi se spriječio biološki učinak eikozanoida. Acetilsalicilna kiselina, koja inhibira ciklooksigenazu ireverzibilno, ima učinak sprječavanja sinteze prostaglandina i tromboksana A<sub>2</sub>. Na tome se temelji njezino protuupalno, analgetsko, antipiretsko i antiagregacijsko djelovanje. Glukokortikoidi također mogu imati protuupalno djelovanje, i to na način da induciraju sintezu lipokortina, koji inhibira djelovanje fosfolipaze A<sub>2</sub>, a time i oslobađanje arahidonske kiseline koja je neophodna za sintezu eikozanoida.

Prostaglandini su prvi put otkriveni u sjemenjnoj tekućini predstojne žlijezde (prostate), prema čemu su i dobili naziv. Bitni su za cijeli niz procesa u reprodukciji čovjeka, napose u mehanizmu porođaja, osobito prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) i prostaglandin F<sub>2</sub> (PGF<sub>2</sub>). Prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) je važan za održavanje prohodnim arterijskog duktusa tijekom intrauterinog života. Neki prostaglandini na krvne žile imaju vazokonstriksijski, a neki vazodilatacijski učinak, te svojim odnosima reguliraju protok krvi kroz pojedine organe. Prostaglandin F<sub>2</sub> uzrokuje vazokonstrukciju, dok prostaglandin E<sub>2</sub> i prostaglandin D<sub>2</sub> uzrokuju vazodilataciju.

Prostaciklini imaju vazodilatacijski učinak. Uz tromboksan A<sub>2</sub> prostaciklini djeluju na agregaciju trombocita: prostaciklini sprječavaju agregaciju trombocita, dok ju tromboksan A<sub>2</sub> potiče.

Leukotrieni su eikozanoidi koji imaju važne učinke u patogenezi upale, o čemu će biti više rečeno u poglavlju o upali. Osim toga, djeluje na vazomotorni tonus, ima kardiodepresivno djelovanje i uzrokuje bronhokonstrikciju (18). Put sinteze prostaglandina, prostaciklina, leukotriena i tromboksana je prikazan na **Slici 4**.



**Slika 4.** Shematski prikaz puta sinteze prostaglandina, prostaciklina, leukotriena i tromboksana. Kratice: 5-HPETE, 5-hidroperoksideikozatetraenonsa kiselina; LTA<sub>4</sub>, leukotrien A<sub>4</sub>; LTB<sub>4</sub>, leukotrien B<sub>4</sub>; LTC<sub>4</sub>, leukotrien C<sub>4</sub>; LTD<sub>4</sub>, leukotrien D<sub>4</sub>; LTE<sub>4</sub>, leukotrien E<sub>4</sub>. Slika je modificirana prema referenci 18.

### **1.3.2. Upalostatički i proresorptivni eikozanoidi i dokozanoidi: lipoksini, rezolvini i protektini**

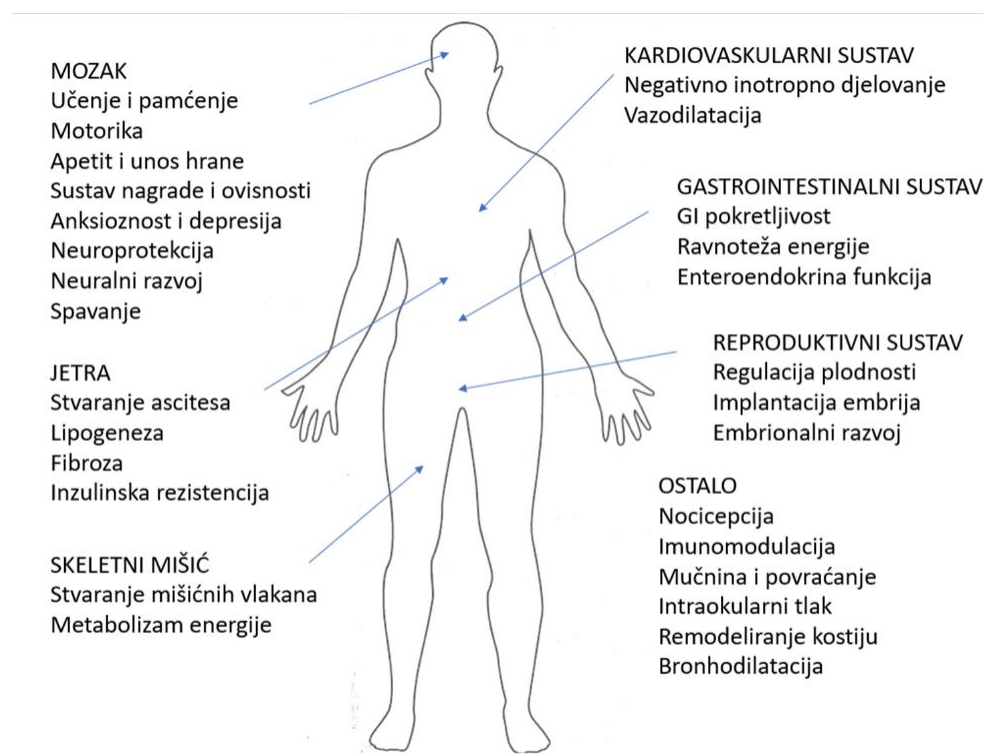
Lipoksini, rezolvini i protektini su bioaktivni lipidi koji imaju ulogu u utišavanju upale. To djelovanje ostvaruju kočeći funkciju granulocita i potičući djelovanje stanica monocitno-makrofagne loze. Rezolvini serije D i protektini su derivati dokozaheksaenonske kiseline (DHA) koji se pojačano sintetiziraju tijekom upale. Protektini se sintetiziraju iz DHA posredstvom nekoliko enzima, i imaju značajnu upalnostatičku ulogu u mozgu. Protektin D1 je bitan u utišavanju upale u mozgu i zbog toga se naziva još i neuroprotektin D1. Iz eikozapentaenonske kiseline nastaju rezolvini serije E. Rezolvini E1 se proizvode u zdravom organizmu, a kod ljudi koji uzimaju omega-3 polinezasićene masne kiseline i acetilsalicilnu kiselinu, njihova koncentracija u plazmi je povišena. Rezolvini pridonose promjeni kinetike upale i njezinom povlačenju, što će biti opisano kasnije.

Lipoksini su također derivati arahidonske kiseline. Nastaju djelovanjem lipooksigenaza iz endotela uz sudjelovanje leukocita i trombocita. S obzirom da endotel izražava lipooksigenazu 15-LOX, leukociti 5-LOX, a trombociti lipooksigenazu 12-LOX, za sintezu lipoksina intermedijarni produkti se moraju prebacivati iz stanice u stanicu. Taj proces se naziva transcelularna biosinteza i potaknut je infekcijom. Arahidonska kiselina je ishodišna molekula za proupalne čimbenike, jednako kao i za upalostatičke lipoksine, a porast cAMP-a u leukocitima je signal koji dovodi do pojačane sinteze upalostatičkih lipoksina. Pojedine vrste bakterija i protozoa imaju vlastite enzime koji pospješuju sintezu lipoksina (npr. *Pseudomonas aeruginosa* i *Toxoplasma gondii*). Na taj način suprimiraju upalni odgovor, što im pospješuje preživljavanje u domaćinu (18).

#### 1.4. Endokanabinoidi

Endokanabinoidi su spojevi nastali iz arahidonske kiseline. Obuhvaćaju N-arahidonoiletanolamin (AEA, anandamid) i 2-arahidonoilglicerol (2-AG). Najzastupljeniji su u mozgu, a nastaju sintezom na postsinaptičkom završetku. Mogu nastati djelovanjem različitih enzima fosfolipaze C (PLC) i diacilglicerol lipaze (DAGL), odnosno N-aciltransacilaze (NAT) i N-acil fosfatidiletanolamin fosfolipaze D (N-PLD). Anandamid i 2-AG su i anterogradni i retrogradni glasnici, a svoju biološku ulogu ostvaruju djelovanjem na kanabinoidne receptore povezane s G-proteinom: kanabinoidni receptor 1 (CB1R) i kanabinoidni receptor 2 (CB2R). CB1R se poglavito nalazi u mozgu, i to najviše u moždanoj kori, hipokampusu, malom mozgu i bazalnim ganglijima. Zanimljivo je da se nalaze u svim dijelovima mozga koji su uključeni u regulaciju unosa hrane. Njegova rasprostranjenost i uloga ilustrirani su na **Slici 5**. Nalazi se i u glutamatnim i GABA neuronima. CB2R su pronađeni u glija stanicama, cijelom nizu neurona središnjeg živčanog sustava, kao i u imunom sustavu. Nalaze se i u jetri, gušterači, srcu, bijelom masnom tkivu i skeletnom mišiću. Osim na navedene, endokanabinoidi djeluju i na još neke receptore. Vaniloidni receptor-1 (TRPV-1), izražava se u osjetnim stanicama i imunom sustavu, aktivira se anandamidom i ima značajnu ulogu u sinaptičkom prijenosu i regulaciji boli. Receptor aktiviran proliferatorom peroksisoma  $\gamma$  (*peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$* , PPAR  $\gamma$ ) je transkripcijski čimbenik u jezgri i bitan je za prijenos signala kod upalnih procesa. Endokanabinoidi su također i važan izvor eikozanoida, jer hidrolizom anandamida i 2-AG nastaje arahidonska kiselina, iz koje djelovanjem ciklooksigenaznih i lipooksigenaznih enzima mogu nastati eikozanoidi. U tom procesu vrlo važnu ulogu ima enzim ciklooksigenaza-2, za kojega možemo reći da objedinjuje metabolizam masnih kiselina i djelovanje endokanabinoida s aktivnošću neurona i neuroinflamatornim procesima. Dok je u drugim tkivima taj enzim inducibilan, u središnjem živčanom sustavu COX-2 ima konstitutivnu aktivnost, što je dokazano u moždanoj kori, hipokampusu i amigdaloidnoj jezgri

(19). Eksperimentalno je pokazano da COX-2 ima važnu ulogu u procesima učenja i pamćenja budući da njegovom inhibicijom dolazi do prekida glutamatne transmisije u hipokampusu, dok je njegovom pojačanom aktivnošću pojačana i glutamatna transmisija (20). Ti putevi su većinom posredovani prostaglandinom E2, koji je jedan od glavnih produkata COX-2. Tu se vidi sva složenost i isprepletenost do sada opisanih signalnih puteva i molekula. Iako produkti anadamida i 2-AG posredovani djelovanjem COX-2 pojačavaju sinaptičku transmisiju u hipokampusu, oni sami imaju suprotan učinak. Naime, vezanjem za kanabinoidne receptore, anandamid i 2-AG uzrokuju prekid sinaptičke transmisije na način da aktiviraju presinaptičke K<sup>+</sup> kanale, i inhibiraju N- i P/Q-tipove Ca<sup>2+</sup> ionskih kanala (21). Opisano nam pokazuje koliko je cijeli taj sustav fino ugođen i uravnotežen djelovanjem COX-2 (22). U daljnjim poglavljima ćemo se osvrnuti na važnost djelovanje endokanabinoida u prefrontalnoj moždanoj kori, kao i njihovom posljedičnom učinku na emocionalnu regulaciju.



**Slika 5.** Shematski prikaza rasprostranjenosti i raznolikosti uloga CB1R u tijelu čovjeka. Slika je modificirana prema referenci 23.

## **2. Uloga bioaktivnih lipida u urođenoj imunosti i upalnim procesima**

Kako bismo shvatili ulogu bioaktivnih lipida u upalnim procesima, potrebno je razumjeti njihovo postojanje kako unutar sustava urođene imunosti, tako i unutar sustava stečene imunosti, jer se isti preklapaju u svom odgovoru na noksu.

### **2.1. Urođeni imunosni sustav i upala**

Imunosni sustav sastoji se od dva dijela: urođenog i stečenog. Urođeni imunosni sustav je na prvoj liniji obrane od patogena, i na sve vrste patogena (bakterije, viruse, parazite) odgovara na jednak, nespecifičan način. Djeluje vrlo brzo, unutar nekoliko sati od dolaska patogena u organizam, i ima sposobnost sprječavanja širenja istih. Čine ga dvije razine zaštite: koža i sluznice, kao granica prema vanjskom svijetu, te stanice i proteini (24).

Koža i sluznice, osim što su fizička prepreka ulasku patogena u organizam, štite i na način da izlučuju primjerice enzime, sluz, kiselinu, što otežava bakterijama i virusima da se nasele u organizam. Također, neke stanice imaju specifičnu građu, kao cilijarne stanice dišnog sustava, koje pokretima cilija izbacuju patogene iz tijela (25).

U slučaju da patogeni uspiju probiti fizičku barijeru i ući u tijelo kroz kožu i sluznice, urođeni imunosni sustav djeluje putem stanica i proteina. Stanice urođenog imunosnog sustava su leukociti (neutrofili, eozinofili, bazofili, limfociti, mastociti, makrofagi, monociti, dendritičke stanice), u prvom redu makrofagi, koji svojom brzom aktivacijom dovode do nastanka upalnog odgovora (24).

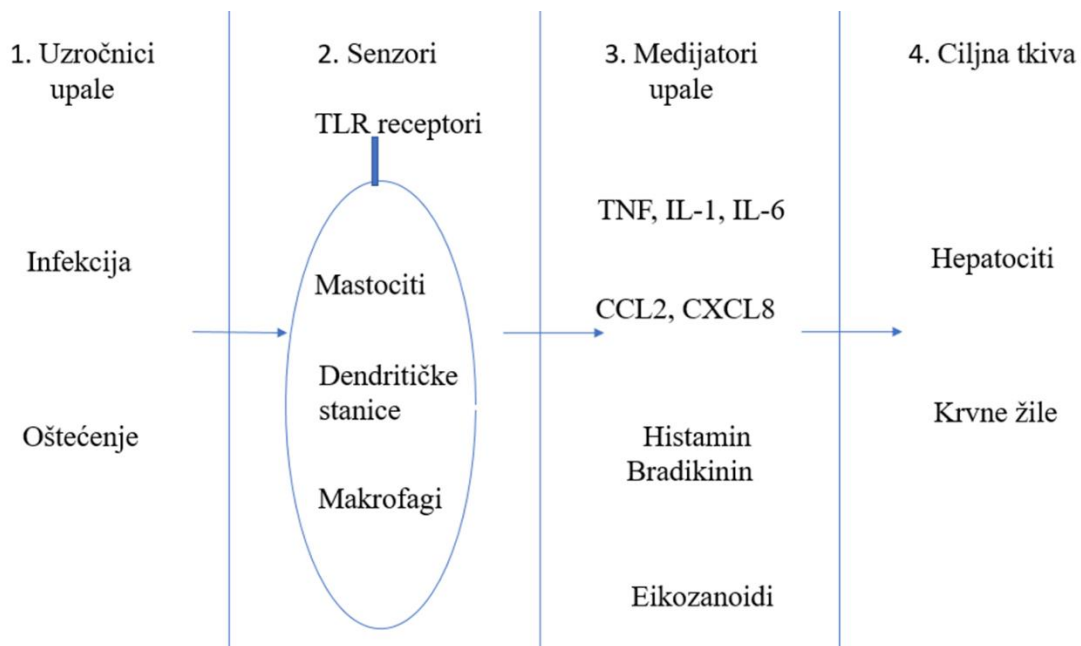
Makrofagi imaju važnu ulogu u sustavu urođene imunosti. Uklanjaju iz organizma patogene i apoptotske stanice, i utječu na djelovanje drugih stanica u svojoj okolini.. U različitim tkivima u tijelu ih nalazimo pod različitim nazivima (Kupferove stanice u jetri ili mikroglija u središnjem živčanom sustavu (26).

Dendritičke stanice su antigen-prezentirajuće stanice, važne u razvoju specifičnog odgovora T-limfocita na antigen. Nalazimo ih u tkivima koja su u dodiru s vanjskim okolišem, primjerice u epidermisu Langerhansove stanice, i u unutarnjim organima i perifernoj krvi (27).

Eozinofili i mastociti stanice su urođene imunosti uključene u alergiju i anafilaksiju, kao i u proces cijeljenja. Eozinofile nalazimo u krvi, dok su mastociti rezidentne stanice tkiva (primjerice u vezivnom tkivu i u živčanom sustavu) (28).

Neutrofili i NK stanice su stanice urođene imunosti uključene u obranu organizma od karcinoma i u antimikrobni odgovor. Neutrofili su stanice koje prve dolaze na mjesto akutne upale, a NK stanice su citotoksične stanice koje napadaju zaražene stanice i stanice karcinoma (29, 30).

Upala (lat. *inflammatio*) je središnji događaj u odgovoru imunosnog sustava na infekcije i ozljede. Ona osigurava preživljavanje organizma i održavanje tkivne homeostaze pod utjecajem noxe (31). O upali se mogu pronaći tekstovi stari i nekoliko tisuća godina, a prvi koji je definirao njezine kliničke simptome bio je rimski liječnik Cornelius Celsus u 1. stoljeću, u svom djelu *De medicina*. On navodi *rubor et tumor cum calore et dolore* (crvenilo i otekline uz toplinu i bol) kao 4 glavna simptoma upale. Kasnije, u 19. stoljeću, Rudolph Virchow navodi i *functio laesa* (ometanje funkcije) kao još jedan simptom upale. Dok su Celsusovi simptomi karakteristični poglavito za akutnu upalu, ometanje funkcije je simptom koji je zajednički svim oblicima upale, akutnim i kroničnim (32). Glavne sastavnice tipičnog upalnog odgovora su: 1. uzročnici upale, 2. „senzori“ koji detektiraju uzročnike, 3. upalni medijatori, 4. tkiva pogođena upalom (**Slika 6**).



**Slika 6.** Shematski prikaz sastavnica uključenih u tipični upalni odgovor pokrenut sastavnicama urođenog imunskog odgovora. Slika je modificirana prema referenci 33.

Primjerice, prilikom bakterijske infekcije TLR-receptori koji se nalaze na tkivnim makrofagima, a koji su specijalizirani receptori za prepoznavanje uzoraka (*pattern recognition receptors*, PRR) detektiraju bakterijski patogen i induciraju proizvodnju upalnih citokina, kemokina i prostaglandina. Zatim ti medijatori djeluju na krvne žile i posljedično dolazi do vazodilatacije, ekstravazacije neutrofila i eksudacije plazme u inficirano tkivo. Hepatociti reagiraju na način da proizvode proteine akutne faze (primjerice C-reaktivni protein) i koagulacijske faktore. Upalni medijatori TNF, IL-1 i IL-6, osim lokalnog, imaju i sistemni učinak. Potiču endotel krvnih žila u mozgu na proizvodnju prostaglandina, posebice proinflammatornog PGE2, koji onda djeluje na specifičnu skupinu neurona u mozgu, uzrokujući tipične simptome infekcije: vrućica, umor, pospanost, anoreksija... (34, 35). Ovisno o kakvom se tipu uzročnika radi (bakterija, virus, parazit, alergen, ozljeda), pojedine sastavnice upalnog odgovora se mijenjaju kako bi se aktivirao odgovarajući oblik upalne reakcije. Kod sterilne



ozljede tkiva, akutni upalni odgovor je važan za popravak tkiva i sprječavanje kolonizacije oportunističkim patogenima. Glavni senzori kod ozljede tkiva su rezidualni tkivni makrofagi, koji induciraju upalu i popravak tkiva, i nociceptori koji su odgovorni za pojavu boli u pogođenom području. Prostaglandini mogu povećati osjetljivost nociceptora, i sniziti prag boli prilikom ozljede tkiva (34). U akutnoj upali, dakle, dolazi do aktivacije stanica urođenog imunskog sustava, koje zatim sintetiziraju i izlučuju eikozanoide, kao glavne lipidne medijatore, što za posljedicu ima pojavu tipičnih znakova upale: crvenila, otekline, topline, boli i gubitka funkcije (32). Lokalna upala može biti potaknuta i aktivacijom sustava komplementa. Sustav komplementa je skup proteina plazme koji se udružuju u svrhu obrane organizma od patogena. Aktivacijom niza proteolitičkih reakcija na površini patogena dolazi do njihovog prekrivanja fragmentima koji se vežu za receptore na makrofagima i omogućuju fagocitozu (34). Aktivacija urođenog imunskog sustava potrebna je za daljnju aktivaciju stečenog imunskog sustava, i to preko dendritičkih stanica, koje su antigen-prezentirajuće stanice (*antigen-presenting cells*, APCs). Njihova uloga je da prezentiraju antigen perifernim limfnim čvorovima, i na taj način aktiviraju T-limfocite koji su specifični za taj antigen. Također, dendritičke stanice luče citokine koji su odgovorni za aktivaciju i urođenog, i stečenog imunskog sustava, i na taj način određuju kako će imunski sustav odgovoriti na prisutnost antigena. Nakon što prezentiraju antigen T-limfocitima, dendritičke stanice ulaze u apoptozu (36).

## **2.2. Uloga lizofosfolipida i sfingolipida u urođenoj imunosti**

Na stanicama urođenog imunskog sustava - mastocitima, dendritičkim stanicama, bazofilima, eozinofilima, makrofagima i NK (*natural killer*) stanicama, nalazimo S1P receptore. Vežanjem sfingozin-1-fosfata za svoje receptore dolazi do učinka na kemotaksiju, diferencijaciju i do odgovora izvršnih stanica imunskog sustava (37).

Većina gram negativnih bakterija na svojoj površini ima lipopolisaharide koji se ponašaju kao endotoksini (38). Lipopolisaharidi aktiviraju makrofage, potiču izlučivanje TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 i induciraju makrofage na proizvodnju dušikovog oksida, PGE2 i COX-2 putem jezgrinog faktora kB (*nuclear factor kB*, NFkB). Pokazano je da ceramidi imaju ulogu u sprječavanju aktivacije NFkB, i na taj način sprječavaju odgovor makrofaga na lipopolisaharide (39).

NK stanice su glavne citotoksične stanice u sustavu urođene imunosti, i glavni način njihovog djelovanja je ubijanje ciljnih stanica putem Fas/CD95 receptora ili pomoću citoplazmatskih toksina koji se izlučuju ukoliko dobiju signal za pokretanje apoptoze (40). Aktivacijom Fas antigena dolazi do pojačane aktivnosti sfingomijelinaze, nakupljanja ceramida, i povećanja sveukupne citotoksičnosti, što uzrokuje pojačanje signala za apoptozu (41).

Na dendritičkim stanicama urođenog imunskog sustava nalazimo receptore za CD40, TNF $\alpha$ , i IL-1. Njihova stimulacija prilikom sazrijevanja dendritičkih stanica dovodi do nakupljanja ceramida. Kao posljedica nakupljanja egzogenog ceramida dolazi do smanjene sposobnosti prezentacije antigena od strane dendritičke stanice (42).

Ceramidi imaju proapoptotsko djelovanje, dok s druge strane S1P djeluje kao antagonist ceramidima i potiče preživljenje i rast stanice. U različitim studijama je pokazano da S1P ima bitnu ulogu u razvoju stanica imunskog sustava. Potreban je za adheziju i migraciju leukocita. U epitelnim stanicama pluća čovjeka, nakon stimulacije tkiva S1P, uočene su povišene razine međustanične adhezijske molekule 1 (*intercellular adhesion molecule 1*, ICAM-1) i IL-8 (43). Na mastocitima nalazimo Fc $\epsilon$ RI receptor, čijom aktivacijom dolazi do metaboliziranja sfingozina u S1P pomoću sfingozin kinaze, i posljedično dolazi do aktivacije različitih signalnih molekula koje dovode do transkripcije TNF $\alpha$  i IL-5 (44). Prilikom bakterijske infekcije dolazi do nakupljanja ceramida, što stimulira NADPH oksidazu, ksantin oksidazu i NO sintazu u stanicama endotela, glatkim mišićima i u makrofagima, i posljedično dolazi do

oslobađanja reaktivnih kisikovih spojeva i superoksidnih radikala, koji pomažu u obrani organizma od bakterijske infekcije (45).

### **2.3. Uloga eikozanoida u urođenoj imunosti**

Možemo reći da su eikozanoidi spona između urođenog i stečenog imunskog sustava. Imaju ulogu u aktivaciji i sazrijevanju dendritičkih stanica, čija je intervencija potrebna za daljnju aktivaciju limfocita T i B, odnosno aktivaciju stečenog imunskog sustava (46). Stanice urođene imunosti proizvode eikozanoide, i također na sebi imaju receptore za iste (47), što znači da te stanice mogu biti pod utjecajem eikozanoida i na parakrini, i na autokrini način (36). Za razliku od stanica urođene imunosti, limfociti T i B nemaju enzime potrebne za sintezu prostanoida, što znači da u tom pogledu ovise o stanicama urođenog imunskog sustava (48).

Pokusima na polimorfonuklearnim stanicama čovjeka u kojima su korišteni PAMP-ovi (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) manan i peptidoglikani, koji se inače nalaze na površini nekih bakterija, pokazan je odgovor polimorfonukleara u smislu oslobađanja arahidonske kiseline, LTB<sub>4</sub> i PGE<sub>2</sub>. Dokazano je i da je receptor koji sudjeluje u odgovoru TLR receptor (49). U pokusima je pokazano i da u polimorfonuklearima koji nisu bili izloženi mananu i peptidoglikanima, postoji mRNA koja kodira za COX-2, koji je ključni enzim na putu sinteze eikozanoida, dok nakon stimulacije mananom i peptidoglikanima nalazimo COX-2 protein (50). Dodatkom aktinomicina D u pokusu, nije bilo nikakve promjene u reakciji polimorfonukleara nakon stimulacije mananom i peptidoglikanima, dok je nakon stimulacije lipopolisaharidima došlo do potpune inhibicije odgovora (51). Što se tiče ekspresije COX-2 u makrofagima i monocitima, u pokusima s rapamicinom nije bilo nikakvog utjecaja na njegovu ekspresiju, dok je ta ekspresija bila manja u polimorfonuklearima (50), što nas navodi na

zaključak o drugačijem načinu regulacije ekspresije COX-2 u različitim stanicama urođene imunosti.

Osim u aktivaciji i sazrijevanju dendritičkih stanica, eikozanoidi uvelike utječu na izlučivanje proupalnih i protuupalnih kemokina i citokina. Primjerice, PGE2 modulira izlučivanje TNF- $\alpha$  i IL-12 iz dendritičkih stanica (52), i suprimira proizvodnju citokina u makrofagima (49). PGD2 inhibira migraciju Langerhansovih stanica (dendritičke stanice koje nalazimo u epidermisu), i istovremeno aktivira eozinofile (53, 54). Tromboksen A2 sprječava interakciju dendritičkih stanica s T-limfocitima (55). LTB4 aktivira neutrofile i sudjeluje u migraciji dendritičkih stanica (56). Iz svega navedenog se da zaključiti da su eikozanoidi ključni modulatori u urođenom imunom sustavu, jer određuju u kojem smjeru će krenuti imunološki odgovor.

#### **2.4. Uloga endokanabinoida u urođenoj imunosti**

Na stanicama monocitno-makrofagnog sustava, uključujući mikrogliju, nalazi se visoka ekspresija CB1R i CB2R receptora (57). U odgovoru na prisutnost patogena, dolazi do stimulacije enzima odgovornih za metabolizam endokanabinoida. U stanicama makrofaga i mikroglije u pokusima je dokazano antiinflamatorno djelovanje anandamida, inhibicijom proinflamatornih medijatora (IL-6, IL-12, IL-23) i poticanjem aktivnosti antiinflamatornih medijatora (IL-10, CD200R). U većini slučajeva se radilo o odgovoru posredovanom CB2R receptorom (58). Što se tiče uloge 2-AG u makrofagima i mikrogliji, u pokusima se pokazuju oprečni učinci. S jedne strane potiče proizvodnju kemokina, adheziju i migraciju makrofaga (59), dok s druge strane potiče imunosupresivni odgovor (60). U nekim slučajevima nije do kraja razjašnjeno radi li se o učincima posredovanim CB2R receptorima, međutim, smatra se

da se određene nedosljednosti mogu pripisati konverziji 2-AG u bioaktivne COX-2 metabolite (61).

Što se tiče uloge endokanabinoida u djelovanju dendritičkih stanica, pokazano je da stimulacijom stanica lipopolisaharidima ne dolazi do promjene u izražaju receptora CB1R i CB2R, ali dolazi do značajnog porasta razine 2-AG (ali ne i anandamida) (62). U malobrojnim studijama pokazano je da je 2-AG ima ulogu kemoatraktanta za nezrele i zrele oblike dendritičkih stanica (63). Anandamid ima svojstvo indukcije apoptoze u dendritičkim stanicama preko CB1 i CB2 receptora (64).

Saznanja o djelovanju endokanabinoida unutar NK stanica su skromna. Tek rijetke studije pokazuju da postoji ekspresija CB1R i CB2R receptora, i da NK stanice proizvode 2-AG i anandamid (65). Nađena je i ekspresija CB3R receptora, čija aktivacija potiče lučenje TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  (66). Manjak podataka je vjerojatno posljedica velike varijacije u ekspresiji receptora.

U neutrofilima anandamid ima ulogu inhibicije njihove migracije (66) i ima pozitivnu korelaciju sa sposobnošću fagocitoze (28). Međutim, nema gotovo nikakvog učinka u sprječavanju proizvodnje superoksidnih i peroksidnih iona (67). Svi ti učinci nisu povezani s djelovanjem na endokanabinoidne receptore, ali aktivacija CB2R uzrokuje otpuštanje metaloproteinaza iz neutrofila, što može imati učinak u redukciji aterosklerotskih plakova (68). 2-AG aktivira neutrofile i snažan je regulator obrane domaćina, ali ne preko CB2R receptora, već pokretanjem biosinteze LTB4 preko LTB4 receptora 1 (29).

U eozinofilima je dokazana ekspresija CB2R i smatra se da skupa s djelovanjem 2-AG na receptor, i lučenjem IL-5 dolazi do aktivacije eozinofilnog funkcionalnog odgovora u alergijama (69).

Ukoliko dođe do nekontrolirane i dugotrajne imunodne reakcije, povećava se mogućnost razvitka kronične upale. Bioaktivni lipidi, osim što su odgovorni za početak, pravilan tijek i

završetak upale, također imaju jako bitnu ulogu u prelasku akutne upale u kroničnu mehanizmom pretjeranog djelovanja proupalnih medijatora u odnosu na rezolvine, koji su odgovorni za završetak upalne reakcije. Zahvaljujući toj sposobnosti, povezuju se s patogeneom brojnih kroničnih upalnih stanja kao što su multipla skleroza, reumatoidni artritis, dijabetes, rak, ateroskleroza, upalne bolesti crijeva, itd. (70).

## **2.5. Uloga lizofosfolipida i sfingolipida u upalnim procesima**

Već je spomenuto kako ceramidi i sfingozin imaju proapoptotsko i proinflamatorno djelovanje, dok s druge strane S1P ima antiapoptotsko i antiinflamatorno djelovanje (71). Naravno, njihova uloga u upalnim procesima je mnogo složenija i ovisi o okolišu u kojem se nalaze i o molekulama s kojima dolaze u dodir.

Lizofosfolipidi su pomno istraživani u multiploj sklerozi (MS), s posebnom pozornošću na ulogu S1P u patogenezi bolesti. Receptor za S1P (*sphingosine-1-phosphate receptor 1*, S1PR1) regulira prelazak limfocita T i B između limfatičnog i nelimfatičnog tkiva. Limfociti T i B imaju glavnu ulogu u imunopatogenezi MS (72). Zahvaljujući prepoznavanju uloge S1PR1 u nastanku bolesti, razvijen je i prvi oralni lijek za MS – Fingolimod. Djeluje na način da suprimira odgovor S1PR1 i inducira sekvestraciju limfocita u limfnim čvorovima, čime sprječava njihov ulazak u mozak i nastanak bolesti (73). Lizofosfolipin također ima mjesto u patogenezi MS, uzrokujući demijelinizaciju i gubitak pericita (74).

Iako etiopatogeneza Alzheimerove bolesti nije do kraja razjašnjena, zna se da nakupljanje amiloidnih plakova (napose u obiteljskom obliku bolesti), nakupljanje tau proteina, gliozna i disfunkcija mikroglije imaju veliku ulogu u nastanku bolesti (75). Poremećeni metabolizam sfingolipida sudjeluje u nastanku amiloidnih plakova na način da potiču aktivnost enzima koji uzrokuju proteolizu prekursorskog proteina za  $\beta$ -amiloid ( *$\beta$ -amyloid precursor protein*, APP)

(76). Nadalje, u mozgu oboljelih od Alzheimerove bolesti pronađene su povišene razine ceramida i S1P, koji izravno pojačavaju aktivnost  $\beta$ -sekretaze 1, enzima koji sudjeluje u nakupljanju amiloid- $\beta$  peptida. Aktivnost tog enzima je povišena u obliku bolesti s kasnim početkom (77).

## **2.6. Uloga eikozanoida u upalnim procesima**

U poglavlju o eikozanoidima navedene su njihove raznolike funkcije, međutim najvažniji su kao medijatori upalnog odgovora, i to kao njegovi začetnici. Na životinjskim i staničnim modelima kroničnih upalnih bolesti, dokazana je središnja uloga prostaglandina (poglavito PGE2 i PGI2) u prelasku iz akutne u kroničnu upalu (78). Oni to čine preko 5 glavnih mehanizama: 1. aktivacijom proizvodnje proinflamatornih citokina, 2. pojačavanjem odgovora stanica urođenog imunskog sustava preko PAMP-a i DAMP-a (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs), 3. aktivacijom specifičnih pomoćničkih T-limfocita (Th1 i Th17), 4. aktivacijom stanica odgovornih za kroničnu upalu (makrofagi), 5. pojačavanjem proinflamatornih gena preko citokina (79).

Osim prostaglandina, središnju ulogu u oštećenju tkiva u kroničnoj upali imaju leukotrieni. Dokazano je njihovo posredovanje u kroničnim upalnim stanjima kao što su multipla skleroza, psorijaza, iritabilna bolest crijeva, reumatoidni artritis i bronhalna astma. Oni djeluju kao kemoatraktanti za makrofage, neutrofile, eozinofile i Th17 limfocite (80).

Upalostatički i proresorptivni eikozanoidi imaju vrlo složenu ulogu u upalnim procesima, koja se sve više istražuje i razjašnjava. U ranim fazama upale, trombociti koji se nakupljaju na mjestu upale izlučuju lipoksin A4 i lipoksin B4 (81). Sprječavaju daljnju infiltraciju leukocitima, potiču ubijanje patogena i fagocitozu apoptotskih tjelešaca pomoću makrofaga (eferocitozu), inhibiraju proizvodnju proinflamatornih citokina i istovremeno induciraju

produkciju antiinflamatornih posrednika, potiču regeneraciju i cijeljenje tkiva (82, 83). Dokazano je da upalostatički i proresorptivni eikozanoidi imaju sposobnost izravnog utjecaja na limfocite T i B, i posljedično imaju ulogu u kroničnom upalnom odgovoru (84).

Kod pacijenata oboljelih od MS pokazana je povišena razina COX-2 u mozgu (85), i pokusima na miševima u kojima su inhibirani COX-1 i COX-2 došlo je do poboljšanja fenotipa za MS i AD (86, 87). Povišene razine PGE2 pronađene su u mozgu pacijenata s MS (88), i u cerebrospinalnom likvoru pacijenata s AD (89).

Postoje dokazi da u neurodegenerativnim bolestima koje nastaju kao posljedica kronične upale, kao što su MS, Alzheimerova bolest i amiotrofična lateralna skleroza, postoji izostanak aktivacije prorezolvinskih mehanizama i ukoliko se primijene *in vivo* ili *in vitro*, može se vidjeti neuroprotektivno djelovanje (90). *In vitro*, upalostatičke i prorezolvinske molekule pomažu u preživljenju neurona i u „čišćenju“ nakupina  $\beta$ -amiloida pomoću mikroglije (91). Nadalje, svakodnevnim primjenom rezolvina D1 u mišjim modelima multiple skleroze, smanjuje se napredak bolesti supresijom autoreaktivnih T-limfocita i aktivacijom M2 fenotipa monocita i makrofaga, i stanica mikroglije (92).

## **2.7. Uloga endokanabinoida u upalnim procesima**

Spomenuto je kako anandamid ima većinski antiinflamatorno djelovanje, potiskujući proliferaciju limfocita T i B, dok 2-AG ima i proinflamatorno, i antiinflamatorno djelovanje (93). S obzirom na rasprostranjenost endokanabinoida i rasprostranjenost njihovih receptora, varijacije u izražaju njihovih enzima i receptora čine bitnu komponentu u odvijanju upalnih procesa (94), i smatraju se imunomodulatornim medijatorima koji reguliraju upalu i promoviraju njezinu rezoluciju (95). U kroničnoj upali CB1R i CB2R receptori imaju suprotne učinke na fibrozu i oksidativno oštećenje tkiva (96). Aktivacijom CB2R receptora na stanicama



mikroglije i imunostanicama koje infiltriraju mozak, dolazi do smanjenja upale i oksidativnog stresa (97). U slučaju traumatske ozljede mozga, MS i AD, dokazano je sudjelovanje i CB1R receptora u imunomodulaciji (98). Povišenjem razine anandamida i 2-AG u mozgu inhibicijom glavnih degradirajućih enzima, u modelima MS i AD je postignuta kontrola odgovora imunostanog sustava. Inhibicija tih enzima pospješuje antiinflamatorni odgovor, i to putem više mehanizama: pomicanjem s proizvodnje proinflamatornih citokina na antiinflamatorne citokine, inhibicijom proliferacije limfocita T i B, indukcijom apoptoze limfocita T i dendritičkih stanica, i polarizacijom stanica mikroglije prema antiinflamatornom fenotipu (99). Treba istaknuti da s obzirom na isprepletenost metabolizma endokanabinoida s drugim bioaktivnim lipidima, farmakološkim manipulacijama razina endokanabinoida može doći do suprotnog, proinflamatornog učinka (100).

### **3. Uloga bioaktivnih lipida u emocionalnoj regulaciji**

Oscar Wilde je prije 150 godina napisao kako ne želi biti prepušten na milost i nemilost svojim emocijama, kako želi njima vladati i usmjereno ih koristiti. Može se reći da je to vječna borba svakoga od nas: ovladati stresom, ovladati osjećajem straha, ovladati apetitom, ovladati snom...

A na koji način bioaktivni lipidi sudjeluju u tom „ovladavanju“?

Kada govorimo o utjecaju bioaktivnih lipida na emocionalnu regulaciju, u prvom redu mislimo na utjecaj endokanabinoida, s obzirom na rasprostranjenost endokanabinoidnih receptora u mozgu, pa će nam tako i fokus biti na pojašnjenju mehanizama djelovanja endokanabinoida u regulaciji emocija.

Neuralni krugovi uključeni u regulaciju emocija su složeni, ali možemo reći da ih čine subkortikalne limbičke strukture - amigdala, hipokampus, ventralni strijatum i talamus,

zajedno s kortikalnim strukturama – prednjim cingularnim korteksom, i medijalnim i orbitalnim dijelovima prefrontalne moždane kore (*prefrontal cortex*, PFC) (101). Kada se govori o poremećajima raspoloženja, najviše pozornosti se pridaje proučavanju strukturnih i funkcionalnih poremećaja funkcije amigdala, prefrontalnog korteksa i hipokampusa (102). Amigdala ima ulogu svojevrsnog posrednika između ulaznih osjetnih signala i obrade u kortikalnim dijelovima mozga. Osobe s oštećenjem amigdala nemaju osjećaj ni reakciju straha. Isto tako mogu imati skup ponašanja koja upućuju na pogrešno usmjeravanje nagona i ciljeva, primjerice bulimiju, hiperseksualnost, utilizacijsko ponašanje (103). PFC je uključen u procesuiranje višeg reda i povezan je s prepoznavanjem neugodnih podražaja, i u donošenje zaključaka o mogućnosti kontrole podražaja (104). Hipokampus „surađuje“ s prefrontalnim korteksom, i uključen je u povratak hipofizno-pituitarno-adrenalne osi (HPA) u homeostazu nakon odgovora na stresni podražaj (105).

CB1R receptori smješteni su u kortikolimbickim regijama i smješteni su kako bi mogli modulirati ekscitaciju, inhibiciju i monoaminergičku transmisiju među strukturama kortikolimbickog sustava. U pokusima na miševima je pokazano da prilikom izlaganja ventromedijalnog dijela prefrontalnog korteksa stresnim podražajima, dolazi do značajnog pada u učinku anandamida na CB1R receptore, što se povezuje s usvajanjem loših obrazaca nošenja sa stresnim podražajima u tim modelima (106). Sukladno tome, facilitacija signalnog puta AEA/CB1R u medijalnom prefrontalnom korteksu dovodi do pojave anksiolitičkog ponašanja (107) i nestanka reakcija uzrokovanih strahom (108). Slično kao i u PFC-u, pojačano djelovanje endokanabinoidnog signalnog puta u hipokampusu dovodi do anksiolitičkog djelovanja (107), i antidepresivnog učinka (109), i povezano je sa smirivanjem HPA osi nakon stresnog podražaja, a ovisi o prethodnoj izloženosti stresnim podražajima (110). Naime, kronični stres koji je induciran dugotrajnom primjenom glukokortikoida, uzrokuje slabljenje

odgovora CB1R receptora u hipokampusu, što uzrokuje hiperreaktivnost HPA osi i pojačanu osjetljivost na emocionalnu disfunkciju (106).

Na životinjskim modelima depresije pokazano je da je endokanabinoidni sustav u amigdali reduciran (106), i da te promjene negativno utječu na proces navikavanja (111), što nam ukazuje da bi upravo to mogao biti podležeći uzrok smetnji kod pojedinaca s emocionalnom disfunkcijom povezanom sa stresom.

S obzirom na sva dosadašnja saznanja i istraživanja u tijeku, možemo reći da bi upravo razumijevanje djelovanja endokanabinoidnog sustava unutar kortikolimbicke regije moglo biti meta u sprječavanju emocionalne disregulacije uzrokovane stresom.

## ZAHVALE:

*Dragom mentoru prof. dr. sc. Goranu Šimiću hvala na prilici, strpljenju,  
angažmanu i pomoći.*

*Hvala Gašparu, Mariju, baki, didu, Leu, Tomi, Domi i Rovinježima na ljubavi,  
potpori i ohrabrenju.*

*Hvala prijateljima na vječnoj inspiraciji. Uz vas je lakše.*

*Onima gore: hvala vam što me čuvate uvijek i zauvijek.*

*Hvala Silvi i Elizabeti.*

*Luki hvala na nemedicinskim lekcijama života. Lijepo je moći rasti s tobom.*

*Ovaj rad posvećujem svima koji se bore.*

*„A sada: ostaju vjera, ufanje i ljubav*

*– to troje –*

*ali najveća je među njima ljubav.“*

*1 Kor 13, 13*

## POPIS KORIŠTENE LITERATURE:

1. B. Tu-Sekine, D.M. Raben. *Encyclopedia of Cell Biology*. Elsevier; 2016.
2. M. Alhouayek, G.G. Muccioli. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies*. London: Academic Press; 2017.
3. Bartke N, Hannun YA. Bioactive sphingolipids: metabolism and function. *J Lipid Res* (2009) 50:S91–6. doi:10.1194/jlr.R800080-JLR200.
4. Sevastou I, Kaffe E, Mouratis M-A, Aidinis V. Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders: the PLA2/LPC and ATX/LPA axes. *Biochim Biophys Acta* (2013) 1831:42–60. doi:10.1016/j.bbailip.2012.07.019.
5. Maceyka M, Spiegel S. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature* (2014) 510:58–67. doi:10.1038/nature13475.
6. William Stillwell. *An Introduction to Biological Membranes*. Elsevier Science; 2016.
7. Aldebaran M. Hofer. *Cell Physiology Source*. 4.izd. Academic Press; 2012.
8. Valery Filippov 1 , Minwoo Andrew Song, Kangling Zhang, Harry V Vinters, Spencer Tung, Wolff M Kirsch, Jun Yang, Penelope J Duerksen-Hughes, Increased ceramide in brains with Alzheimer's and other neurodegenerative diseases, *J Alzheimers Dis*. 2012;29(3):537-47.
9. Kamilah Castro, Achilles Ntranos, Mario Amatruda, Maria Petracca, Peter Kosa, Emily Y Chen, Johannes Morstein, Dirk Trauner, Corey T Watson, Michael A Kiebish, Bibiana Bielekova, Matilde Inglese, Ilana Katz Sand, Patrizia Casaccia, Body Mass Index in Multiple Sclerosis modulates ceramide-induced DNA methylation and disease course, *EbioMedicine*, 2019 May;43:392-410.

10. Michelle M Mielke, Veera Vankata Ratnam Bandaru, Norman J Haughey, Jin Xia, Linda P Fried, Sevil Yasar, Marilyn Albert, Vijay Varma, Greg Harris, Eric B Schneider, Peter V Rabins, Karen Bandeen-Roche, Constantine G Lyketsos, Michelle C Carlson, Serum ceramides increase the risk of Alzheimer disease: the Women's Health and Aging Study II, *Neurology*, 2012 Aug 14;79(7):633-41.
11. Michelle M Mielke, Norman J Haughey, Dingfen Han, Yang An, Veera Venkata Ratnam Bandaru, Constantine G Lyketsos, Luigi Ferrucci, Susan M Resnick, The Association Between Plasma Ceramides and Sphingomyelins and Risk of Alzheimer's Disease Differs by Sex and APOE in the Baltimore Longitudinal Study of Aging, *J Alzheimers Dis*, 2017;60(3):819-828.
12. Oana C. Marian, Anthony S. Don, Altered lipid metabolic homeostasis in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Lipid Signaling and Metabolism*, 2020.
13. M Schulz, B Katunarcic, K Cohen, D Gutterman, J Freed, Investigation of the Dual Functional Role of Ceramide in the Human Microcirculation, *The FASEB Journal* 35, May 2021, <https://doi.org/10.1096/fasebj.2021.35.S1.03010>.
14. Hatem Tallimaa, Rashika El Ridia, Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits – A review, *J Adv Res*. 2018 May; 11: 33–41.
15. Violette Said Hanna, Ebtisam Abdel Aziz Hafez. Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. *J Adv Res*. 2018 May; 11: 23–32., Published online 2018 Mar 13. doi: 10.1016/j.jare.2018.03.005.
16. Sheetal Gandotra, Lipid droplets in the immune response and beyond. *Lipid Signaling and Metabolism*. Elsevier Science; 2020.

17. Rishikesh C. Dandekar, Amaar V. Kingaonkar, and Gauri S. Dhabekar, Role of macrophages in malignancy, *Ann Maxillofac Surg.* 2011 Jul-Dec; 1(2): 150–154.
18. Stjepan Gamulin, Matko Marušić, Zdenko Kovač i sur. *Patofiziologija.* 6. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
19. Sang-Ho Choi, Robert Langenbach, Francesca Bosetti, Cyclooxygenase-1 and -2 enzymes differentially regulate the brain upstream NF- $\kappa$ B pathway and downstream enzymes involved in prostaglandin biosynthesis, *J Neurochem.* 2006 Aug; 98(3): 801–811.
20. Goran Šimić i suradnici, *Uvod u neuroznanost učenja i pamćenja*, Zagreb: Naklada Ljevak, 2019.
21. Maria Scherma, Paolo Masia, Valentina Satta, Walter Fratta, Paola Fadda & Gianluigi Tanda, Brain activity of anandamide: a rewarding bliss?, *Acta Pharmacologica Sinica*, Volume 40, 2019; 309–323.
22. Simon C. Dyall, *Interplay Between Lipid Mediators and Immune System in the Promotion of Brain Self-Repair, Role of the Mediterranean Diet in the Brain and Neurodegenerative Diseases*, 2018.
23. Shenglong Zou and Ujendra Kumar, Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System, *Int J Mol Sci.* 2018 Mar; 19(3): 833.
24. Wu J, Chen ZJ. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids. *Annu. Rev. Immunol.* 2014;32:461–488.
25. Janeway, C.A., Jr. & Medzhitov, R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 197–216 (2002).

26. Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:392–404.
27. Merad M, Sathe P, Helft J, Miller J, Mortha A. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:563–604.
28. Montecucco F, Di Marzo V, da Silva RF, et al. The activation of the cannabinoid receptor type 2 reduces neutrophilic protease-mediated vulnerability in atherosclerotic plaques. *Eur Heart J.* 2012;33:846–56.
29. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *J Exp Med.* 2013;210:1283–99.
30. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, Yokoyama WM, Ugolini S. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science.* 2011;331:44–9.
31. Karen T. Feehan, Derek W. Gilroy, Is Resolution the End of Inflammation?, *Trends in Molecular Medicine*, March 2019, Vol. 25, No. 3.
32. Ruslan Medzhitov, Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame, *Cell* 140, March 19, 2010, DOI 10.1016/j.cell.2010.03.006.
33. Tracey, K.J., The inflammatory reflex , *Nature*, 2002 Dec 19-26;420(6917):853-9. doi: 10.1038/nature01321.
34. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* (2002) 420:846–52. doi:10.1038/nature01320.
35. Charles Janeway. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5.izd., Taylor & Francis. Inc.; 1994.



36. H. Harizi, N. Gualde, The impact of eicosanoids on the crosstalk between innate and adaptive immunity: the key roles of dendritic cells. *Tissue Antigens* 2005; 65: 507–514.
37. Baker, J. E., Boudreau, R. M., Seitz, A. P., Caldwell, C. C., Gulbins, E., & Edwards. Sphingolipids and Innate Immunity: A New Approach to Infection in the Post-Antibiotic Era?. *Surgical Infections* 2018. doi:10.1089/sur.2018.187.
38. Alexander C, Rietschel ET. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res* 2001;7:167–202.
39. Hsu YW, Chi KH, Huang WC, Lin WW. Ceramide inhibits lipopolysaccharide-mediated nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 induction in macrophages: Effect on protein kinases and transcription factors. *J Immunol* 2001;166:5388–5397.
40. Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. *Molec Immunol* 2005;42:501–510.
41. Tepper CG, Jayadev S, Liu B, et al. Role for ceramide as an endogenous mediator of Fas-induced cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:8443–8447.
42. Sallusto F, Nicolo C, De Maria R, et al. Ceramide inhibits antigen uptake and presentation by dendritic cells. *J Exp Med* 1996;184:2411–2416.
43. Milara J, Mata M, Mauricio MD, et al. Sphingosine-1-phosphate increases human alveolar epithelial IL-8 secretion, proliferation and neutrophil chemotaxis. *Eur J Pharmacol* 2009;609:132–139.
44. Prieschl EE, Csonga R, Novotny V, et al. The balance between sphingosine and sphingosine-1-phosphate is decisive for mast cell activation after FcεR1 triggering. *J Exp Med* 1999;190:1–8.

45. Li PL, Zhang Y. Cross talk between ceramide and re-dox signaling: Implications for endothelial dysfunction and renal disease. *Handb Exp Pharmacol* 2013;216:171–197.
46. Harizi H, Grosset C, Gualde N. Prostaglandin E2 modulates dendritic cell function via EP2 and EP4 receptor subtypes. *J Leukoc Biol* 2003;73: 756–63.
47. Harizi H, Juzan M, Pitard V, Moreau JF, Gualde N. Cyclooxygenase-2-issued prostaglandin E2 enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. *J Immunol* 2002; 168: 2255–63.
48. Scandella E, Men Y, Legler DF et al. CCL19/CCL21-triggered signal transduction and migration of dendritic cells requires prostaglandin E2. *Blood* 2004; 103: 1595–601.
49. Valera I, Vigo AG, Alonso S, Barbolla L, Sánchez Crespo M, Fernández N. Peptidoglycan and mannose-based molecular patterns trigger the arachidonic acid cascade in human polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology*. 2007;81(4):925–933.
50. Fernández N, González A, Valera I, Alonso S, Sánchez Crespo M. Mannan and peptidoglycan induce COX-2 protein in human PMN via the mammalian target of rapamycin. *European Journal of Immunology*. 2007;37(9):2572–2582.
51. Duque J, Fresno M, Iñiguez MA. Expression and function of the nuclear factor of activated T cells in colon carcinoma cells: involvement in the regulation of cyclooxygenase-2. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(10):8686–8693.
52. Visintin A, Mazzoni A, Spitzer JH, Wyllie DH, Dower SK, Segal DM. Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol* 2001; 166: 249–5.
53. Angeli V, Faveeuw C, Roye O et al. Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection. *J Exp Med* 2001; 193: 1135–47.

54. Kabashima K, Murata T, Tanaka H et al. Thromboxane A2 modulates interaction of dendritic cells and T cells and regulates acquired immunity. *Nat Immunol* 2003; 4: 694–701.
55. Robbiani DF, Finch RA, Jager D, Muller WA, Sartorelli AC, Randolph GJ. The leukotriene C(4) transporter MRP1 regulates CCL19 (MIP-3beta, ELC)-dependent mobilization of dendritic cells to lymph nodes. *Cell* 2000; 103: 757–68.
56. Aliberti J, Hieny S, Reis e Sousa C, Serhan CN, Sher A. Lipoxin-mediated inhibition of IL-12 production by DC: a mechanism for regulation of microbial immunity. *Nat Immunol* 2002; 3: 76–82.
57. Galiègue S, Mary S, Marchand J, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995;232:54–61.
58. Shiratsuchi A, Watanabe I, Yoshida H, Nakanishi Y. Involvement of cannabinoid receptor CB2 in dectin-1-mediated macrophage phagocytosis. *Immunol Cell Biol.* 2008;86:179–84.
59. Loubopoulos A, Grigoriadis N, Lagoudaki R, et al. Administration of 2-arachidonoylglycerol ameliorates both acute and chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res.* 2011;1390:126–41.
60. Gokoh M, Kishimoto S, Oka S, Sugiura T. 2-Arachidonoylglycerol enhances the phagocytosis of opsonized zymosan by HL-60 cells differentiated into macrophage-like cells. *Biol Pharm Bull.* 2007;30:1199–205.
61. Alhouayek M, Muccioli GG. COX-2-derived endocannabinoid metabolites as novel inflammatory mediators. *Trends Pharmacol Sci.* 2014;35:284–92.

62. Matias I, Pochard P, Orlando P, Salzet M, Pestel J, Di Marzo V. Presence and regulation of the endocannabinoid system in human dendritic cells. *Eur J Biochem.* 2002;269:3771–8.
63. Maestroni GJ. The endogenous cannabinoid 2-arachidonoyl glycerol as in vivo chemoattractant for dendritic cells and adjuvant for Th1 response to a soluble protein. *FASEB J.* 2004;18:1914–6.
64. Do Y, McKallip RJ, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Activation through cannabinoid receptors 1 and 2 on dendritic cells triggers NF- $\kappa$ B-dependent apoptosis: novel role for endogenous and exogenous cannabinoids in immunoregulation. *J Immunol.* 2004;173:2373–58.
65. Kishimoto S, Muramatsu M, Gokoh M, Oka S, Waku K, Sugiura T. Endogenous cannabinoid receptor ligand induces the migration of human natural killer cells. *J Biochem.* 2005;137:217–23.
66. Chiurchiù V, Lanuti M, De Bardi M, Battistini L, Maccarrone M. The differential characterization of GPR55 receptor in human peripheral blood reveals a distinctive expression in monocytes and NK cells and a proinflammatory role in these innate cells. *Int Immunol.* 2014 pii: dxu097.
67. McHugh D, Tanner C, Mechoulam R, Pertwee RG, Ross RA. Inhibition of human neutrophil chemotaxis by endogenous cannabinoids and phytocannabinoids: evidence for a site distinct from CB1 and CB2. *Mol Pharmacol.* 2008;73:441–50.
68. Kaufmann I, Schelling G, Eisner C, et al. Anandamide and neutrophil function in patients with fibromyalgia. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33:676–85.
69. Kurihara R, Tohyama Y, Matsusaka S, Naruse H, Kinoshita E, Tsujioka T, Katsumata Y, Yamamura H. Effects of peripheral cannabinoid receptor ligands on motility and

polarization in neutrophil-like HL60 cells and human neutrophils. *J Biol Chem.* 2006;281:12908–18.

70. Jacobsen EA, Helmers RA, Lee JJ, Lee NA. The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood.* 2012;120:3882–90.

71. Valerio Chiurchiù, Alessandro Leuti, Mauro Maccarrone, Bioactive lipids and chronic inflammation: managing the fire within, doi: 10.3389/fimmu.2018.00038.

72. K. Czubowicz, H. Jęsko, P. Wencel, W.J. Lukiw, R.P. Strosznajder, The Role of Ceramide and Sphingosine-1-Phosphate in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders, *Mol. Neurobiol.* 56 (2019) 5436–5455. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1448-3>.

73. J.G. Cyster, S.R. Schwab, Sphingosine-1-Phosphate and Lymphocyte Egress from Lymphoid Organs, *Annu. Rev. Immunol.* 30 (2012) 69–94. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075011>.

74. R. Muramatsu, M. Kuroda, K. Matoba, H. Lin, C. Takahashi, Y. Koyama, T. Yamashita, Prostacyclin prevents pericyte loss and demyelination induced by lysophosphatidylcholine in the central nervous system, *J. Biol. Chem.* 290 (2015) 11515–11525. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.587253>.

75. Goran Šimić, Ena Španić, Lea Langer Horvat, Patrick R. Hof, Blood-brain barrier and innate immunity in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (2019) 168:99-144. doi:10.1016/bs.pmbts.2019.06.003.

76. A.S.B. Olsen, N.J. Færgeman, Sphingolipids: membrane microdomains in brain development, function and neurological diseases, *Open Biol.* 7 (2017). <https://doi.org/10.1098/rsob.170069>.

77. L. Puglielli, B.C. Ellis, A.J. Saunders, D.M. Kovacs, Ceramide Stabilizes  $\beta$ -Site

Amyloid Precursor Protein-cleaving Enzyme 1 and Promotes Amyloid  $\beta$ -Peptide Biogenesis, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 19777–19783.

78. Sonoshita M, Takaku K, Sasaki N, Sugimoto Y, Ushikubi F, Narumiya S, et al.

Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat Med* (2001) 7:1048–51. doi:10.1038/nm0901-1048.

79. De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis – 5-lipoxygenase,

leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med* (2004) 350:4–7. doi:10.1056/NEJMp038190.

80. Chiang N, Arita M, Serhan CN. Anti-inflammatory circuitry: lipoxin, aspirin-

triggered lipoxins and their receptor ALX. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* (2005) 73:163–77. doi:10.1016/j.plefa.2005.05.003.

81. Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology.

*Nature* (2014) 510:92–101. doi:10.1038/nature13479.

82. Buckley C, Gilroy D, Serhan C. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. *Immunity* (2014) 40:31527.

doi:10.1016/j.immuni.2014.02.009.

83. Ramon S, Gao F, Serhan CN, Phipps RP. Specialized proresolving mediators enhance human B cell differentiation to antibody-secreting cells. *J Immunol* (2012) 189:1036–42.

doi:10.4049/jimmunol.1103483.

84. J.W. Rose, K.E. Hill, H.E. Watt, N.G. Carlson, Inflammatory cell expression of

cyclooxygenase-2 in the multiple sclerosis lesion, *J. Neuroimmunol.* 149 (2004) 40–49.

<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2003.12.021>.

85. I.V. de A. Lima, L.F.S. Bastos, M. Limborço-Filho, B.L. Fiebich, A.C.P. de Oliveira, Role of Prostaglandins in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Diseases, *Mediators Inflamm.* 2012 (2012) 1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/946813>.
86. T. Hoshino, T. Nakaya, T. Homan, K. Tanaka, Y. Sugimoto, W. Araki, M. Narita, S. Narumiya, T. Suzuki, T. Mizushima, Involvement of prostaglandin E2 in production of amyloid-beta peptides both in vitro and in vivo, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 32676–32688. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703087200>.
87. Y. Kihara, T. Matsushita, Y. Kita, S. Uematsu, S. Akira, J. -i. Kira, S. Ishii, T. Shimizu, Targeted lipidomics reveals mPGES-1-PGE2 as a therapeutic target for multiple sclerosis, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106 (2009) 21807–21812. doi:10.1073/pnas.0906891106.
88. M. Combrinck, J. Williams, M.A. De Berardinis, D. Warden, M. Puopolo, A.D. Smith, L. Minghetti, Levels of CSF prostaglandin E2, cognitive decline, and survival in Alzheimer's disease, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 77 (2006) 85–88. doi: 10.1136/jnnp.2005.063131.
89. Wang X, Zhu M, Hjorth E, Cortés-Toro V, Eyjolfsdottir H, Graff C, et al. Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* (2015) 11:40.e–50.e. doi:10.1016/j.jalz.2013.12.024.
90. Zhu M, Wang X, Hjorth E, Colas RA, Schroeder L, Granholm A-C, et al. Pro-resolving lipid mediators improve neuronal survival and increase A $\beta$ 42 phagocytosis. *Mol Neurobiol* (2016) 53:2733–49. doi:10.1007/s12035-015-9544-0.
91. Fiala M, Halder RC, Sagong B, Ross O, Sayre J, Porter V, et al.  $\omega$ -3 supplementation increases amyloid- $\beta$  phagocytosis and resolvin D1 in patients with minor cognitive impairment. *FASEB J* (2015) 29:2681–9. doi:10.1096/fj.14-264218.

92. Poisson LM, Suhail H, Singh J, Datta I, Denic A, Labuzek K, et al. Untargeted plasma metabolomics identifies endogenous metabolite with drug-like properties in chronic animal model of multiple sclerosis. *J Biol Chem* (2015) 290:30697–712. doi:10.1074/jbc.M115.679068.
93. Cencioni MT, Chiurchiù V, Catanzaro G, Borsellino G, Bernardi G, Battistini L, et al. Anandamide suppresses proliferation and cytokine release from primary human T-lymphocytes mainly via CB2 receptors. *PLoS One* (2010) 5:e8688. doi:10.1371/journal.pone.0008688.
94. Valerio Chiurchiù, Alessandro Leuti<sup>1</sup>, Mauro Maccarrone. *Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within.*
95. V. Chiurchiù, L. Battistini, M. Maccarrone, Endocannabinoid signalling in innate and adaptive immunity, *Immunology*. 144 (2015) 352–364. <https://doi.org/10.1111/imm.12441>.
96. P. Mukhopadhyay, M. Rajesh, H. Pan, V. Patel, B. Mukhopadhyay, S. Bátkai, B. Gao, G. Haskó, P. Pacher, Cannabinoid-2 receptor limits inflammation, oxidative/nitrosative stress, and cell death in nephropathy, *Free Radic. Biol. Med.* 48 (2010) 457–467. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.022>.
97. E. Aso, E. Palomer, S. Juvés, R. Maldonado, F.J. Muñoz, I. Ferrer, CB1 agonist ACEA protects neurons and reduces the cognitive impairment of A $\beta$ PP/PS1 mice, *J. Alzheimers Dis. JAD*. 30 (2012) 439–459. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-111862>.
98. D. Panikashvili, N.A. Shein, R. Mechoulam, V. Trembovler, R. Kohen, A. Alexandrovich, E. Shohami, The endocannabinoid 2-AG protects the blood-brain barrier after closed head injury and inhibits mRNA expression of proinflammatory cytokines, *Neurobiol. Dis.* 22 (2006) 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.11.004>.



99. V. Chiurchiù, M. van der Stelt, D. Centonze, M. Maccarrone, The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation in multiple sclerosis: Clues for other neuroinflammatory diseases, *Prog. Neurobiol.* 160 (2018) 82–100. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.10.007>.
100. S. Valdeolivas, M.R. Pazos, T. Bisogno, F. Piscitelli, F.A. Iannotti, M. Allarà, O. Sagredo, V. Di Marzo, J. Fernández-Ruiz, The inhibition of 2-arachidonoylglycerol (2-AG) biosynthesis, rather than enhancing striatal damage, protects striatal neurons from malonate-induced death: a potential role of cyclooxygenase-2-dependent metabolism of 2-AG, *Cell Death Dis.* 4 (2013) e862. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.387>.
101. Price JL, Drevets WC (2010) Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 35:192–216.
102. Drevets WC, Price JL, Furey ML (2008) Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Struct Funct* 213:93–118.
103. Goran Šimić i sur., Uvod u neuroznanost emocija i osjećaja. Naklada Ljevak: Zagreb; 2020.
104. Ahn K, McKinney MK, Cravatt BF (2008) Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system. *ChemRev* 108:1687–1707. Amat J, Baratta MV, Paul E, Bland ST, Watkins LR, Maier SF (2005) Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nat Neurosci* 8:365–371.
105. Jankord R, Herman JP (2008) Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Ann N Y Acad Sci* 1148:64–73.

106. Hill MN, Carrier EJ, McLaughlin RJ, Morrish AC, Meier SE, Hillard CJ, et al. (2008b) Regional alterations in the endocannabinoid system in an animal model of depression: effects of concurrent antidepressant treatment. *J Neurochem* 106:2322–2336.
107. Rubino T, Guidali C, Vigano D, Realini N, Valenti M, Massi P, et al. (2008a) CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour. *Neuropharmacology* 54:151–160.
108. Bambico FR, Katz N, Debonnel G, Gobbi G (2007) Cannabinoids elicit antidepressant-like behavior and activate serotonergic neurons through the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 27:11700–11711.
109. McLaughlin RJ, Hill MN, Morrish AC, Gorzalka BB (2007) Local enhancement of cannabinoid CB1 receptor signalling in the dorsal hippocampus elicits an antidepressant-like effect. *Behav Pharmacol* 18:431–438.
110. Campos AC, Ferreira FR, Guimarães FS, Lemos JI (2010) Facilitation of endocannabinoid effects in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behaviors depending on previous stress experience. *Neuroscience* 167:238–246.
111. Hill MN, McLaughlin RJ, Bingham B, Shrestha L, Lee TT, Gray JM, et al. (2010) Endogenous cannabinoid signaling is essential for stress adaptation. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:9406–9411

## ŽIVOTOPIS:

Rođena sam 30. ožujka 1994. u Splitu. Osnovnu školu i prirodoslovno-matematičku gimnaziju sam završila u Imotskom, kao i osnovnu i srednju glazbenu školu – smjer klavir i glazbena teorija. Tijekom fakultetskog obrazovanja bila sam uključena u rad više studentskih udruga (CroMSIC, Studentska sekcija za ortopediju i traumatologiju, Studentska sekcija za neuroznanost, Studentska sekcija Hrvatskog liječničkog zbora) i obavljala različite studentske poslove. Bila sam demonstrator na Katedri za anatomiju.

