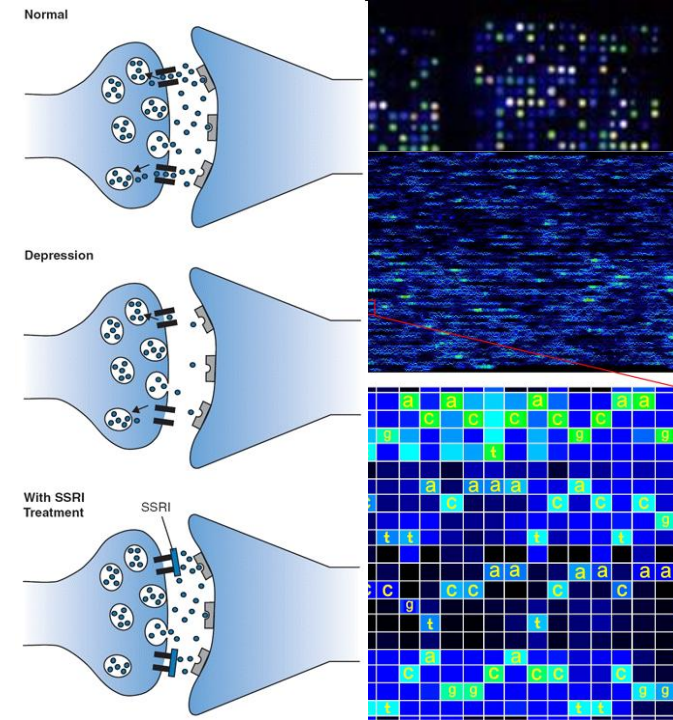


"Omikai" módszerek alkalmazása a neuropszichofarmakológiában

Tamási Viola PharmD, PhD

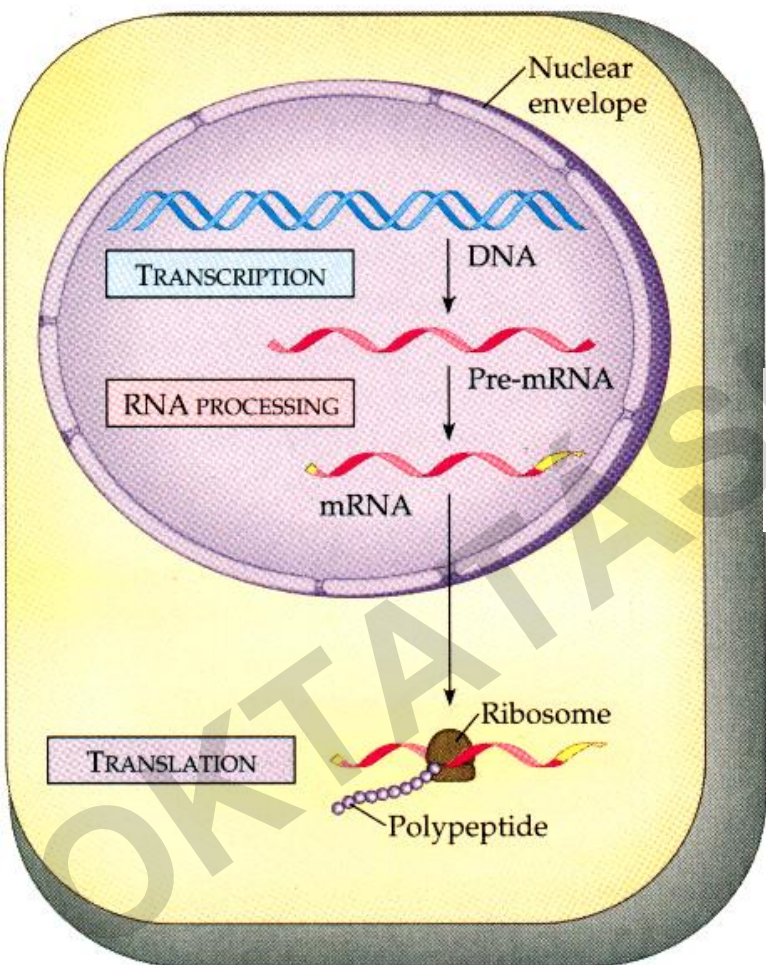


2013



Omikai-módszerek

A biológiai adatok kölcsönhatásának vizsgálata egy „ome-on” belül.

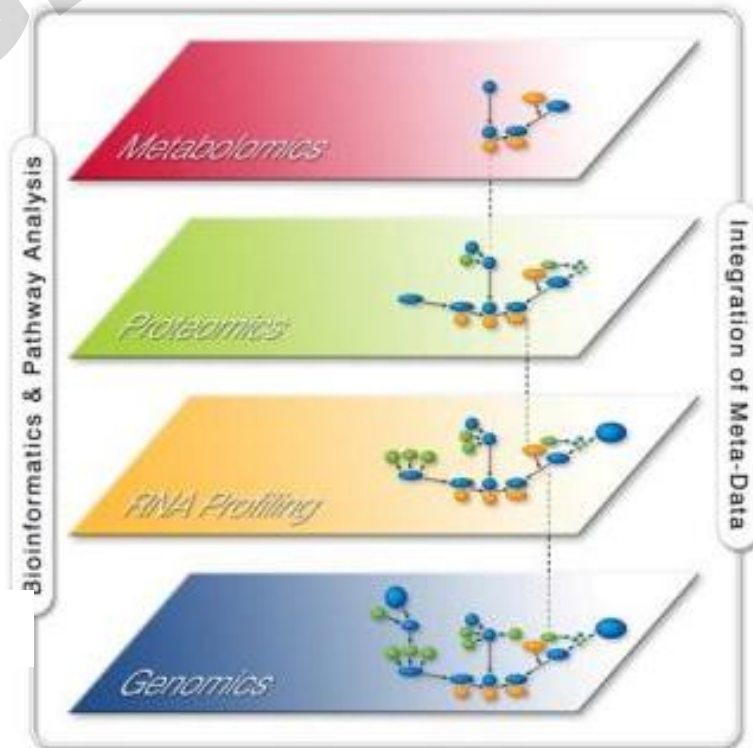


Genom

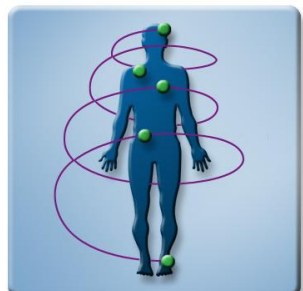
Transkriptom

Proteom

Metabolom



Omikai módszerek szerepe a pszichofarmakológiában-gén/fehérje mintázatok vizsgálata egy gén/fehérje helyett



Tünetek, betegség

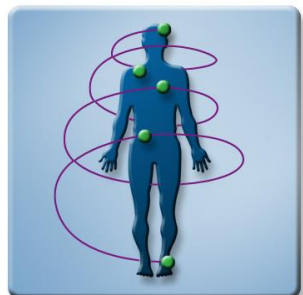


Gén, fehérje



Terápia

**Klasszikus
módszerek**



Tünetek, betegség



Gének, fehérjék
egyidejű változása;
több féle kombináció
vezethet hasonló
tünetekhez

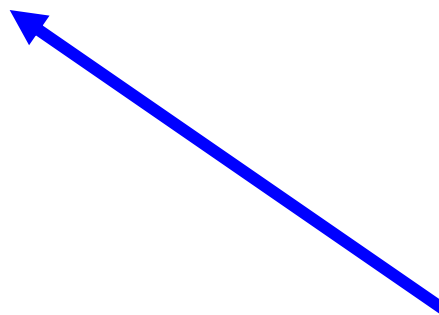


Individuális
terápia

**Omikai
módszerek**



Epigenetikus
hatások

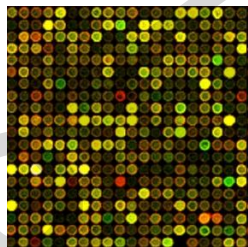
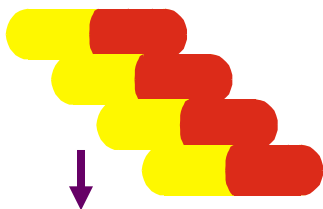


Gyógyszer hatása a
szervezetre



Omikai módszerek szerepe a pszihofarmakológiában - gyógyszerfejlesztés

preklinikai fázis



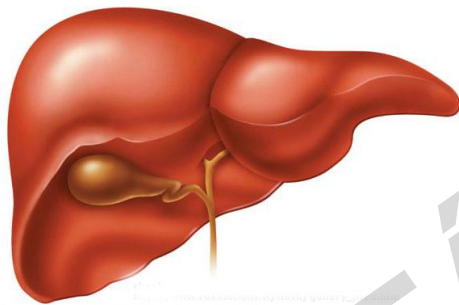
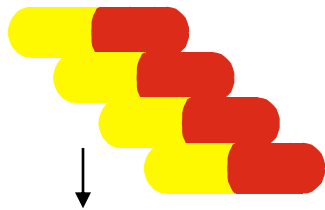
Hatásért felelős **expressziós mintázat**
(Hatássóság-farmakodinámia)

Mellékhatásért felelős
expressziós mintázat

Megfelelő paraméterekkel
rendelkező „drug lead”
választása

Omikai módszerek szerepe a pszihofarmakológiában - gyógyszerfejlesztés

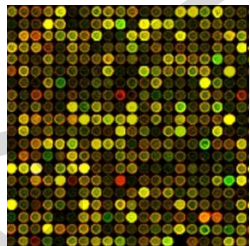
preklinikai fázis



Metabolikus profil (fázis I, fázis II. enzimek)

Máj toxicitás

Farmakokinetika - jelenlét a biológiai téridőben



Megfelelő paraméterekkel
rendelkező „drug lead”
választása

Omikai módszerek szerepe a pszihofarmakológiában - gyógyszerfejlesztés

klinikai fázis



DNS minta,
genetikai
elemzés,
csoportosítás
(SNP alapján
kizárás)



célcsoport



Heterogén
populáció

Genetikailag heterogén
- hasonló tünetek



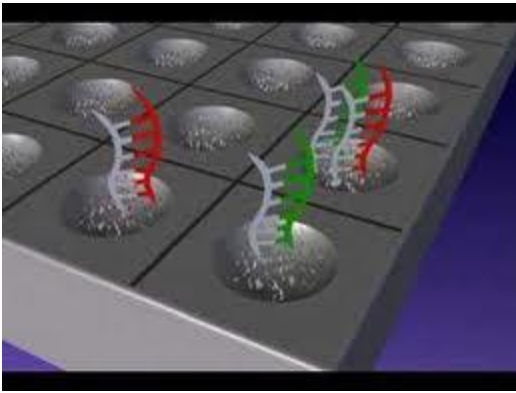
Genetikai háttér miatt
a vizsgálatban **NEM**
résztevő csoport

Omikai módszerek szerepe a pszihofarmakológiában - gyógyszerfejlesztés

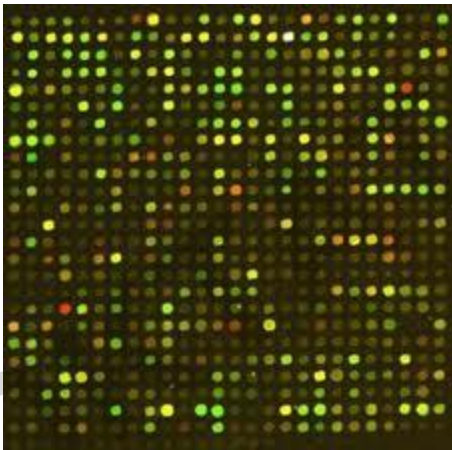
Retrospektív vizsgálatok

- Lehet, hogy hatásos volt, csak nem jó célcsoportot választottunk?
- Számtalan sikertelen vegyület **„újraéleszthető”** a genomikai módszerekkel, mivel így már ismeretes annak pontos toxicitási és hatásra vonatkozó mechanizmusa
- Ismeretes az a beteg szubpopuláció, ahol biztonsággal adagolható

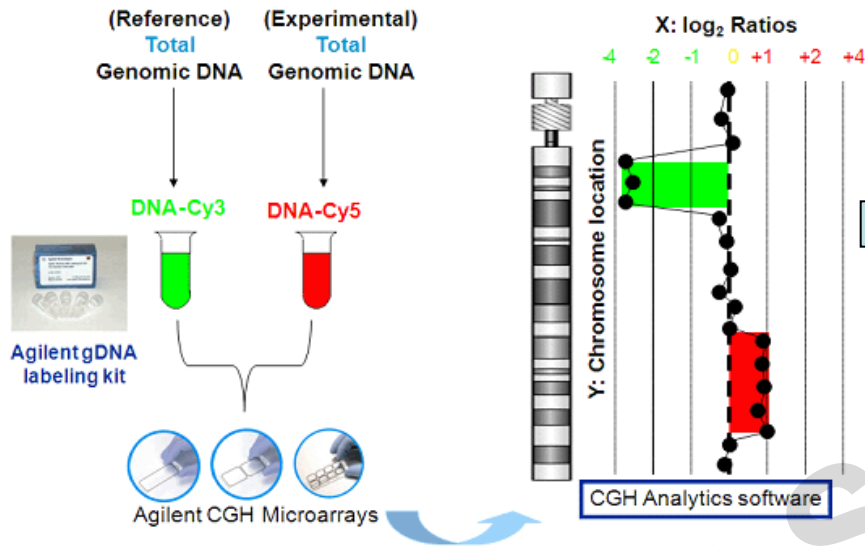
Array (génlapka) alapú technikák



1. CGH array (DNS)
2. SNP array (DNS-SNP)
3. Metilációs array (DNS metiláció)
4. cDNS array (mRNS, mikroRNS)

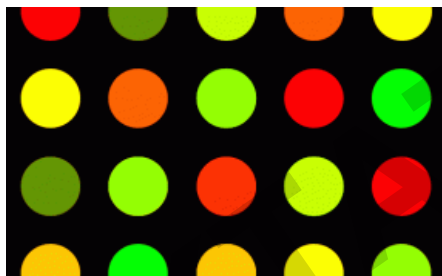


Teljes genom vizsgálata array CGH segítségével



Segítségével feltérképezhetők a kromoszomális rendellenességek pl. amplifikáció/deleció

A betegség okát ismerve alakítjuk ki a terápiát

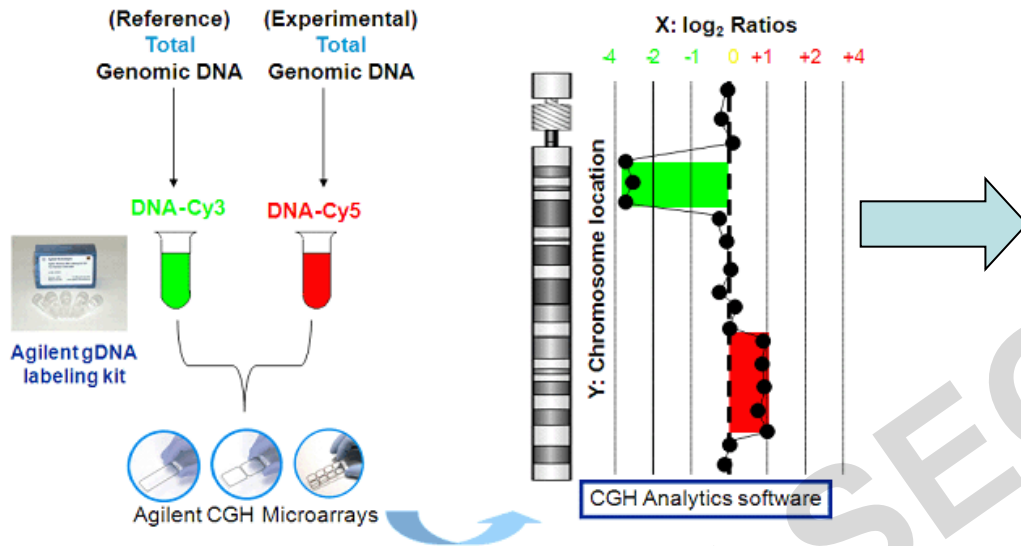


Cy5-al jelölt mintában több

Cy3-al jelölt mintában több

Két mintában egyforma mennyiségben

Teljes genom vizsgálata array CGH segítségével



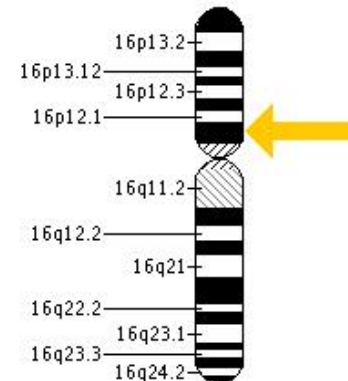
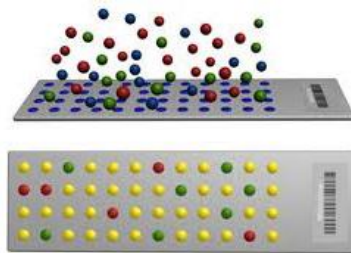
Segítségével feltérképezhetők a kromoszomális rendellenességek pl. amplifikáció/deleció

A betegség okát ismerve alakítjuk ki a terápiát

Beteg tünetei

Pl. skizofréniára utaló jelek, autizmus, nehézkes beszéd

aCGH



16p11.2 del.
(skizofréniára; 3:10 000)

CGH-Komparatív genomiális hibridizáció

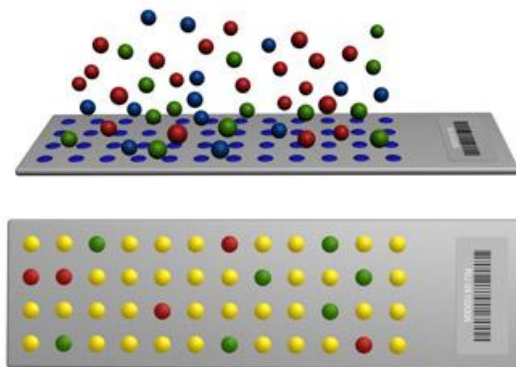
CGH

Előnyök

- Az egyik legjobb módszer a mikrodélációk, CNV-k feltérképezésére
- Duplikációk, deleciónok
- >1000 bp szakaszok vizsgálata (genotípus-fenotípus korreláció)

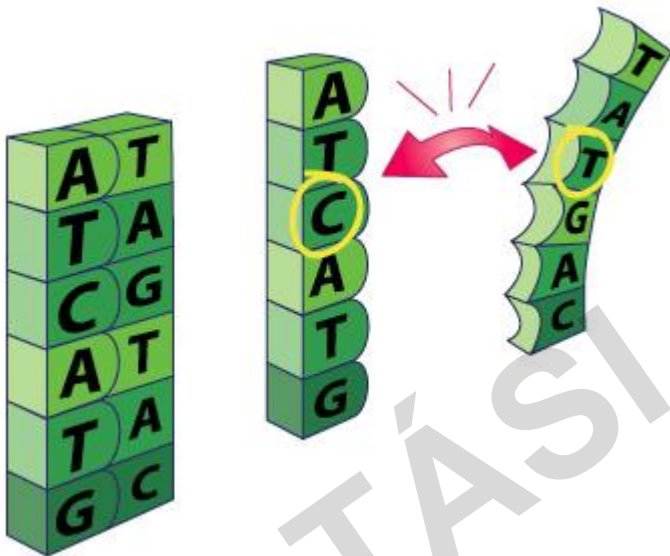
Hátrányok

- Kiegyenlített (balanszírozott) kromoszómaaberrációk nem mérhetőek
- Mozaicizmus nem vizsgálható

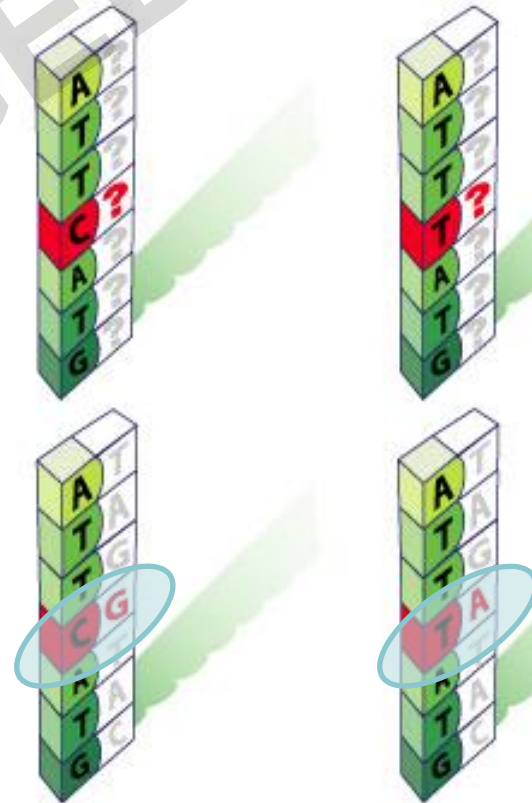


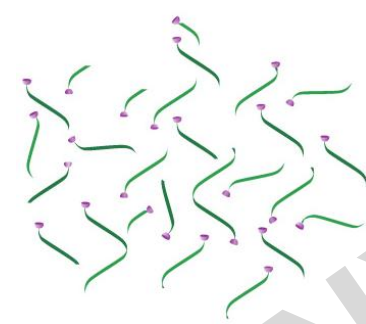
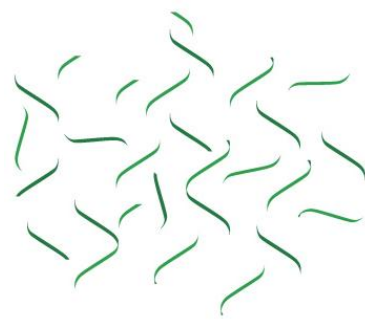
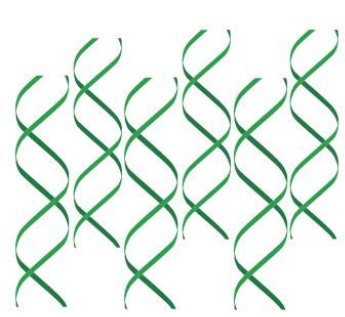
SNP array

ATTCATG
ATTATG C/T



Egy bázis különbség is elegendő ahhoz, hogy a két szál ne kapcsolódjék össze -**SNP** egy bázison alapuló mutáció

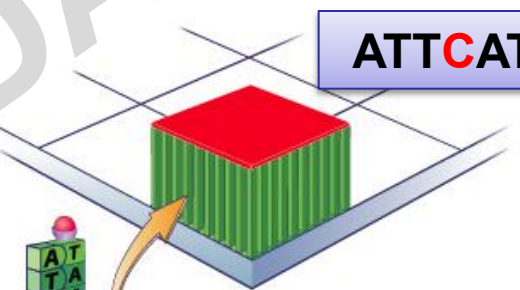
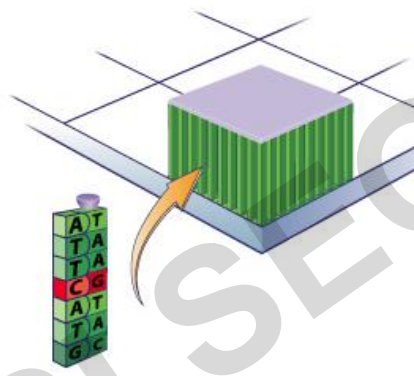
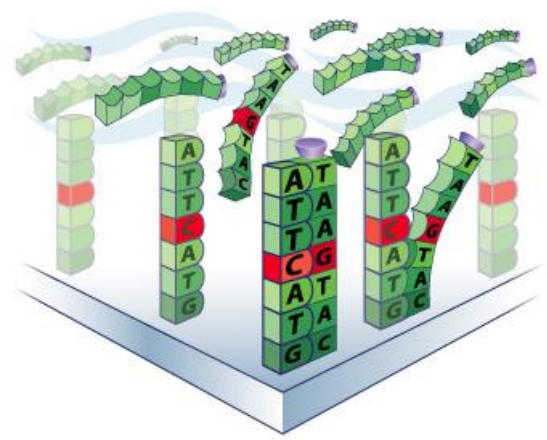




DNS izolálás

DNS fragmentálás

Jelölés biotinnal



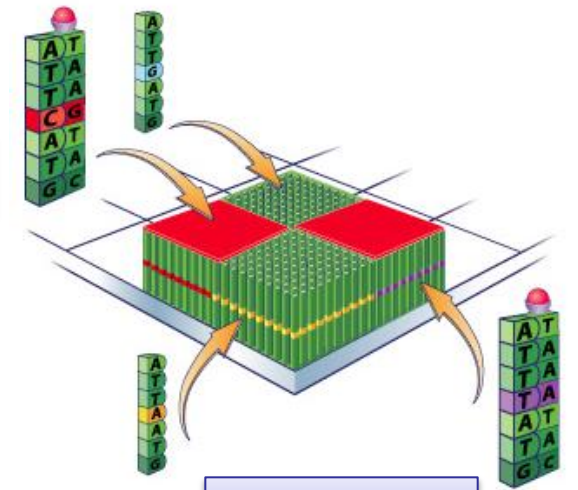
Ffluorezcens festék (biotinhoz kapcs.)

Hibridizálás

ATT**C**ATG

ATT**C**ATG

16h inkubálás-perfect match

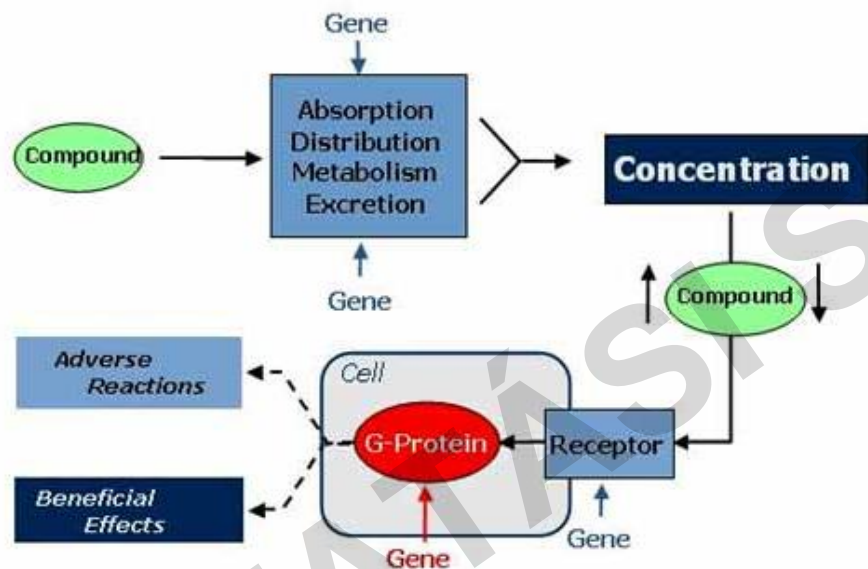


ATT**T**ATG

OKTATÁSI SEGÉDANYAG

SNP (single nucleotide polymorphism) vizsgálata genomikai módszerekkel

Genes Determine Drug Effects



célsejt

Farmakogenetikai különbségek okozta változások

- **Farmakokinetikai változások:** a biohasznosulást befolyásoló folyamatok genetikai polimorfizmusa következtében fellépő változások
(A szervezet hatása a gyógyszerre)
- **Farmakodinámiás változások:** A gyógyszerhatás célfehérjéinek genetikai polimorfizmusa következtében fellépő változások
(a gyógyszer hatása a szervezetre)

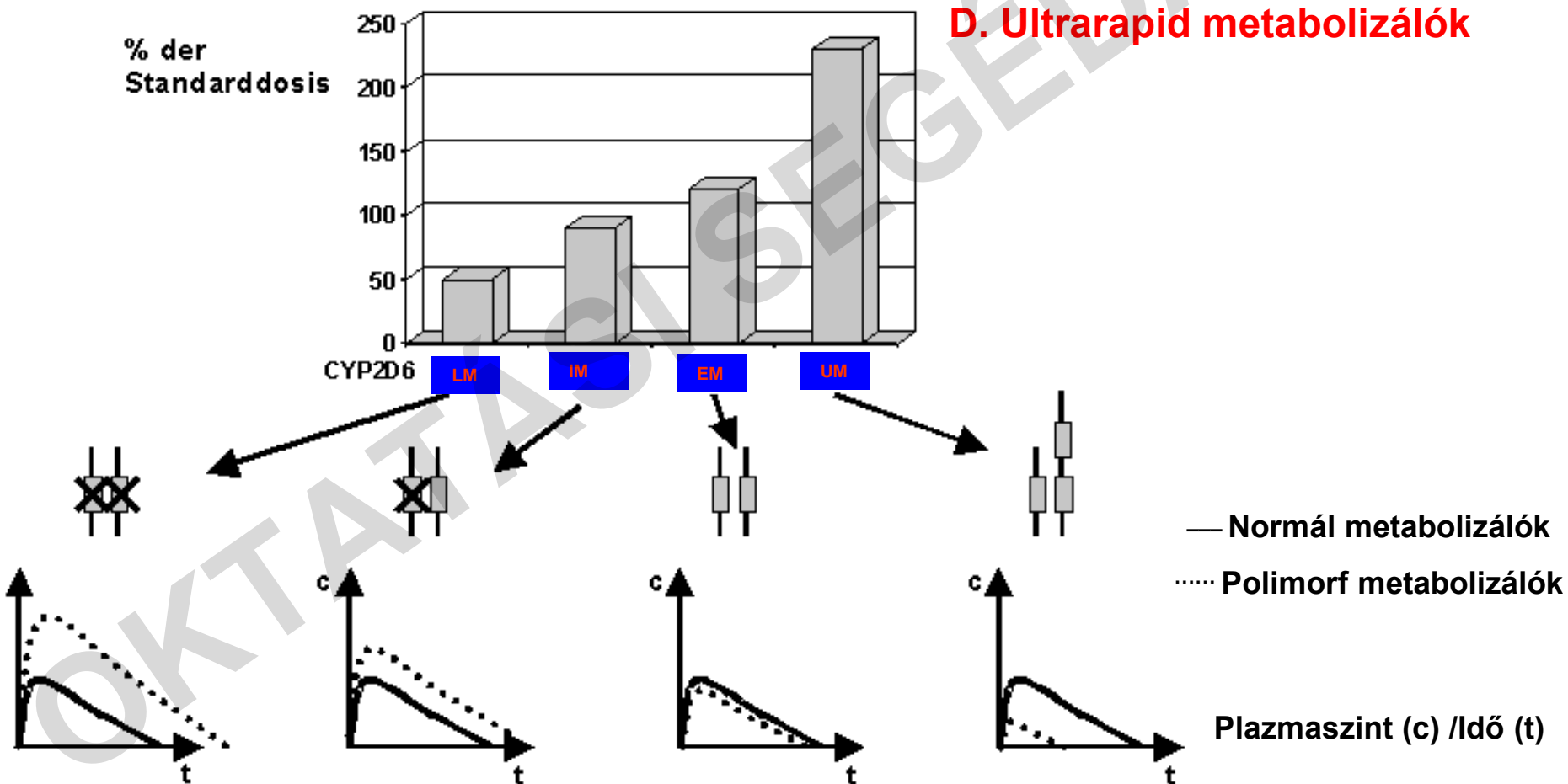
Polimorfizmusok farmakokinetikai hatása

A. Lassú metabolizálók

B. Intermediér metabolizálók

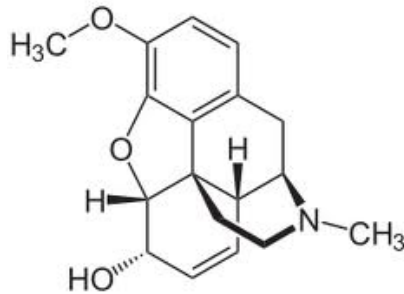
C. Extenzív metabolizálók

D. Ultrarapid metabolizálók



Esettanulmány I.

Polimorfizmusok hatása a morfin metabolizmusra



Kodein

10%

CYP2D6

Morfin

Glasgow Kóma skála 6
miótikus
tűhegy pupilla
lassú légzés

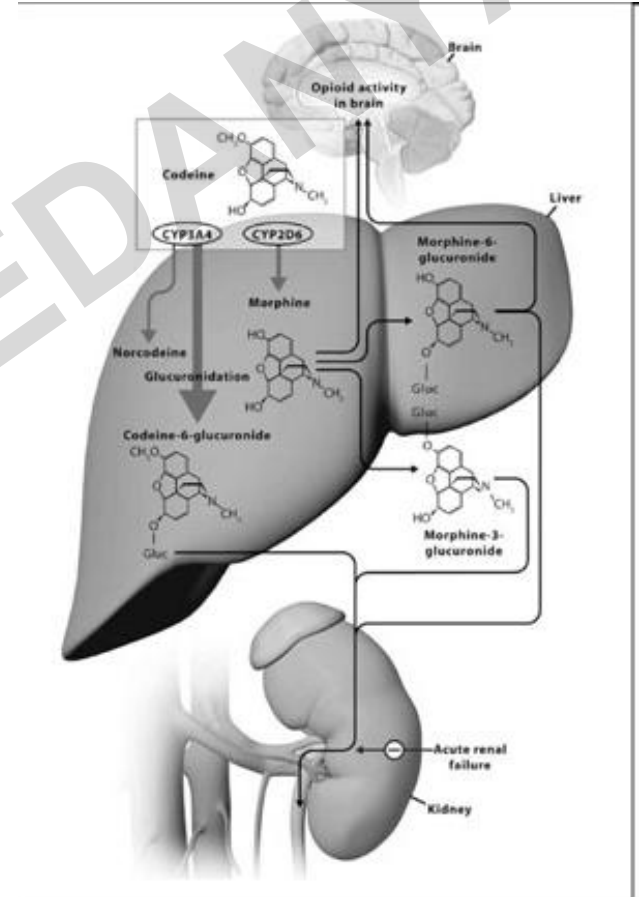
90%

CYP3A4

Norkodein

Kodein-6-glukuronid

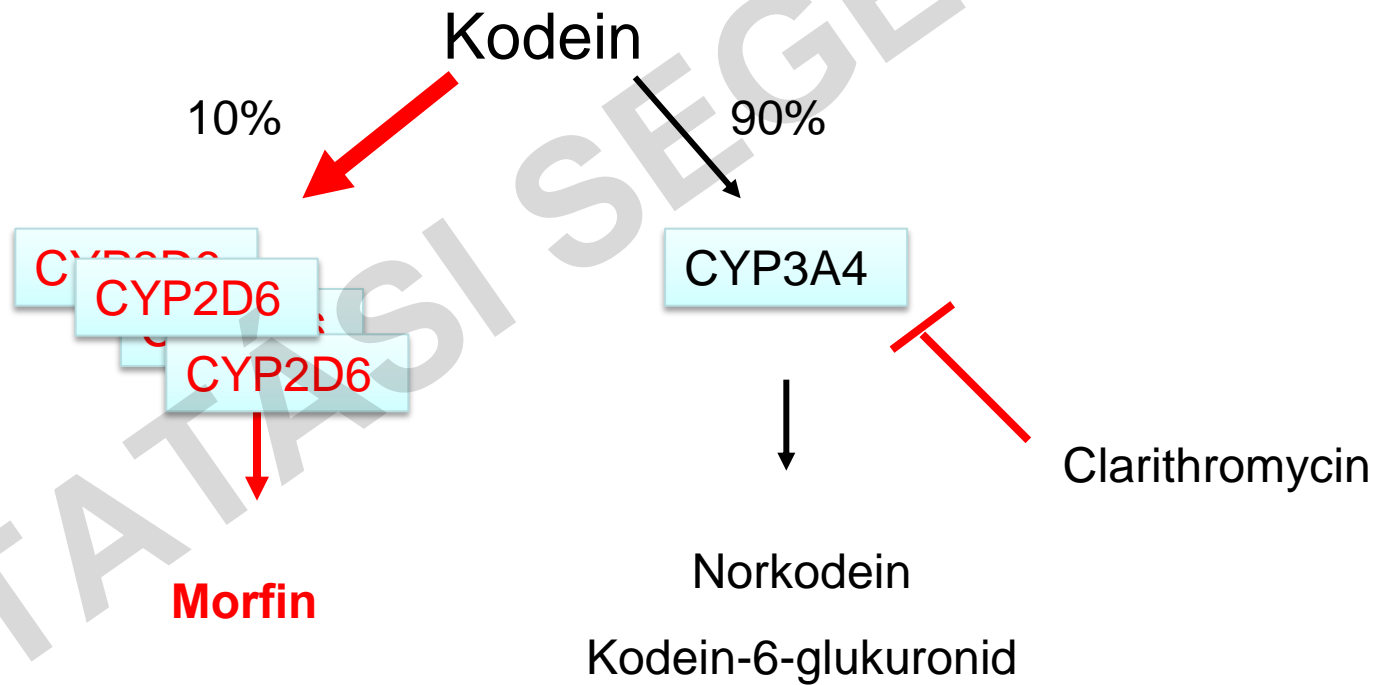
Hatástalan vegyületek



Esettanulmány I.

Polimorfizmusok hatása a morfin metabolizmusra

Genotípezálás: **4 kópia CYP2D6 gént találtak** (gén-dózis effektus)



Esettanulmány II.

Polimorfizmusok hatása az antidepresszánsok metabolizmusára

- 50 éves kórházi nővér
- Erős depresszió pszichotikus tünetekkel, melyek 45 éves korában kezdődtek
- Kipróbált, de abbahagyott kezelések:
- Venlafaxin-szájszárazság, hányinger
- Amyriptillin-egyensúlyvesztés
- Paroxetin-nincs adat mellékhatásról
- Sertralin-nincs adat mellékhatásról
- Escitalopam (10 mg/d)- szedáció
- Hatásos kezelés:
- Mirtazapin (15 mg/d)-hatásos



Esettanulmány II.

Polimorfizmusok hatása a morfin metabolizmusra

Genotípus vizsgálat AmpliChip CYP450 Test-el



CYP2D6 PM (*4/*4) és **CYP2C19 PM (*2/*2)**

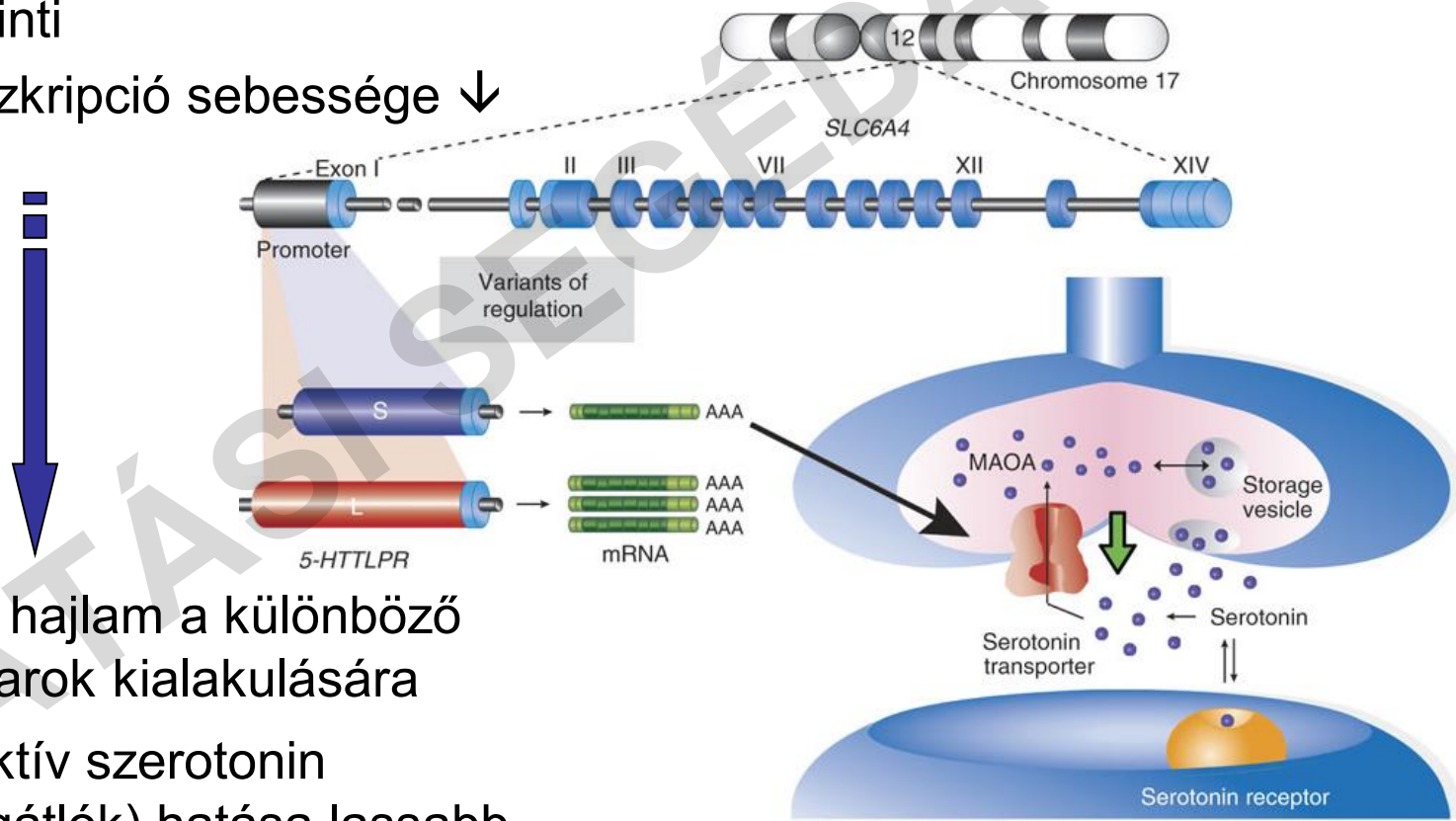
Nagyon ritka: <1%

Antidepresszánsokra nagyon rosszul reagálnak, különösen a triciklikus antidepresszánsokra

Szerotonin transzporter polimorfizmus szerepe a terápiában

Szerotonin transzportert érintő polimorfizmus

- 2 allél található: „s” és az „l”
- Promotert érinti
- S allél: transzkripció sebessége ↓



- Fokozódik a hajlam a különböző hangulatzavarok kialakulására
- SSRI (szelektív szerotonin visszavétel gátlók) hatása lassabb

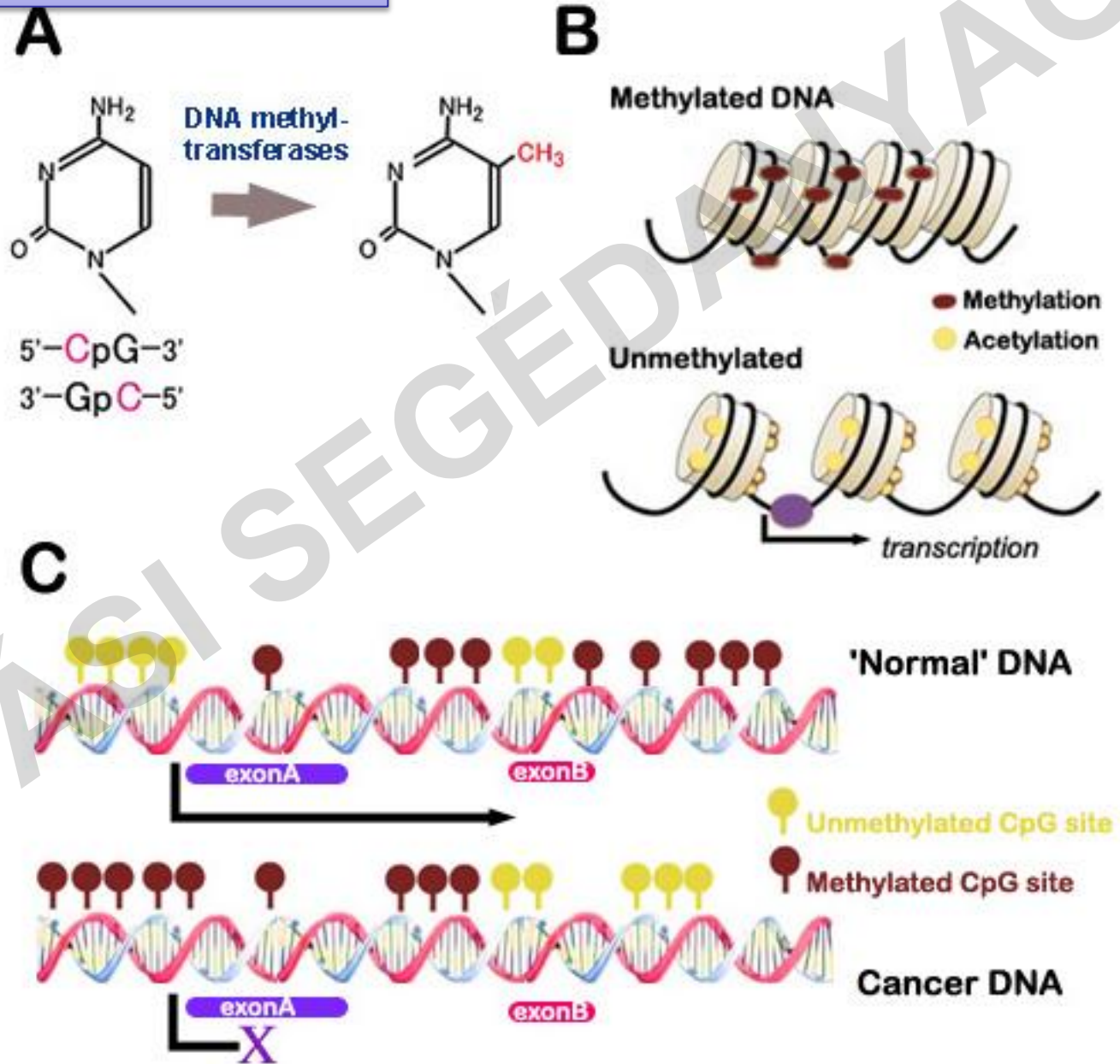
Polimorfizmusok jelentősége az antipszihotikumok mellékhatásának kialakulásában

Type of ADR	Gene	Polymorphism	Drug	Type of ADR	Gene	Polymorphism	Drug		
Tardive dyskinesia	DRD2	TaqIA	Typical antipsychotics	Hypersalivation	OPRD1 SOD	921T>C	Various		
		Ser311Cys	Various			Ala9Val	Various		
			Various				Various		
			Various		ESR1	Various			
		-141C Ins/Del Nine SNPs	Various		ADRA2A	1291C>G	Clozapine		
	DRD3	Ser9Gly	Various		Weight gain	HRH1 SerT HTR2A HTR2C	Glu349Asp	Clozapine	
			Typical antipsychotics				Several	Clozapine	
			Various				102T>C	Clozapine	
			Various				68G>C	Clozapine	
			Various				-759C>T	Clozapine	
Various				Clozapine					
DRD3 + Cyp17	Ser9Gly	Various	Nausea	HTR6	267C>T	Chlorpromazine/ Risperidone Clozapine			
		Various			SerT	44bpDel	Fluvoxamine		
		Various			TPH	VNTR	Fluvoxamine Fluvoxamine		
HTR2A	102T>C	Atypical antipsychotics	Mania	SerT	44bp Del VNTR	Anti depressants Anti depressants			
		Various				Akathisia	DRD3	Ser9Gly	Typical antipsychotics
		Atypical antipsychotics							Insomnia
Various	Unspecific	DRD4	12bp repeat, 13bpDel, Gly11Arg, 48bp repeat	Clozapine					
Atypical antipsychotics				HTR2A	102T>C	Paroxetine			
Various						HTR2C	Cys23Ser	Clozapine	
HTR2C	697G>C 759C>T Cys23Ser	Various	Neuroleptic malignant syndrome					DRD2	TaqI A Polym
		Various		Ser311Cys 141C Ins/Del	Various				
		Various			Various				
		Various			Various				
HTR6 SerT ACE OPRM1	267C>T 44bp Del 287bp Ins/Del 118A>G	Various							

PI. szerotonin transzporter, szerotonin receptor variánsok esetében elhízás, mint mellékhatás

DNS metiláció array

•DNS metiláció -
epigenetikai
módosítások egyike



DNS metiláció array

Hipo vagy hiper metilált szakaszok jellemzése

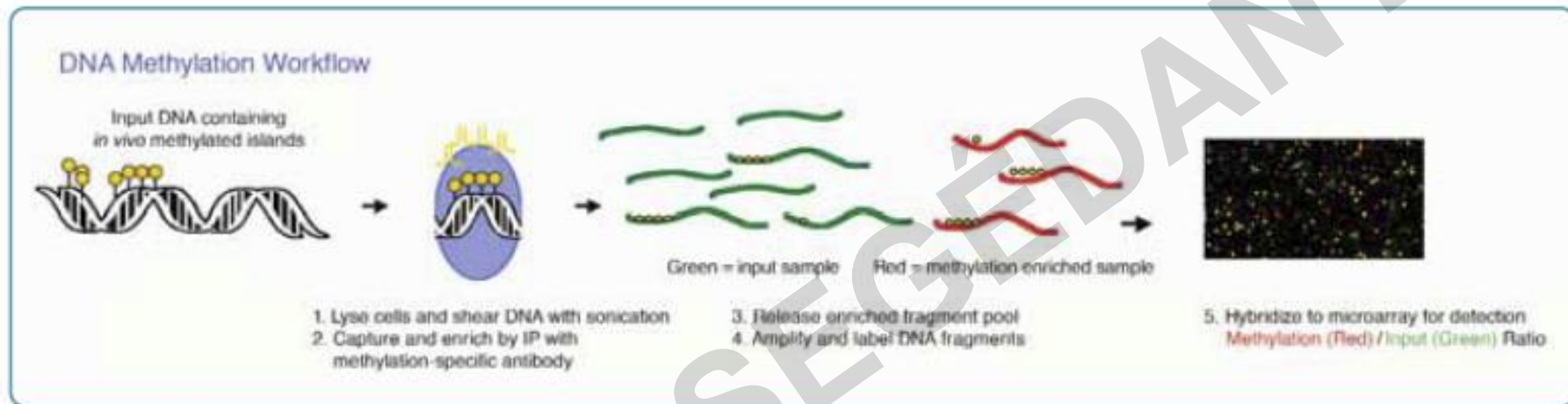
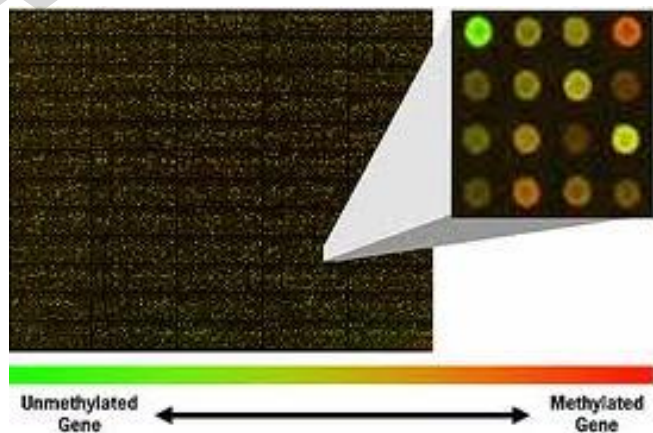


Figure 1. Affinity-based isolation of methylated DNA. A representative example of one method for isolation and enrichment of methylated DNA. Methylated regions of the genome (mDIP) from a genomic DNA sample are isolated with a monoclonal antibody to 5-methylcytosine. Isolated DNA is purified, Cyanine 5-labeled, and competitively hybridized against similarly Cyanine 3-labeled "input" genomic DNA onto a single microarray. Arrays are washed, scanned, and analyzed with Feature Extraction software. Relative DNA methylation levels for each probe/CpG Island are reflected in changes in Cyanine 5/Cyanine 3 ratios.



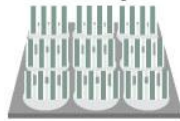
A microarray technológia elvi vázlatja

Experiment

Question: Can variation in gene expression, detected by microarrays, be used to predict the recurrence of breast cancer?

Methods

Microarray chip with DNA probes



Cancer cells



RNA



cDNA with fluorescent bases



Noncancer cells



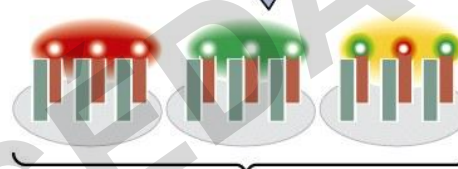
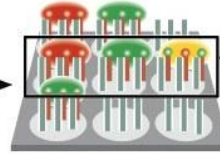
RNA



cDNA with fluorescent bases



Hybridization



1 Cancer and noncancer cells removed from 78 women with breast cancer.

2 Messenger RNA from the cells...

3 ...is converted into cDNA and labeled with red (cancer cells) or green (noncancer cells) fluorescent nucleotides.

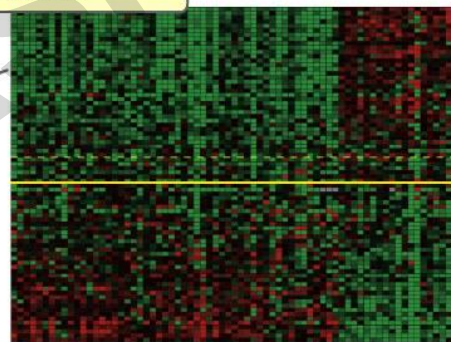
4 The cDNAs are mixed...

5 ...and hybridized to DNA probes on a chip.

6 The chip is scanned spot by spot. Yellow fluorescence (red + green) indicates equal expression of the gene in both types of cells; red indicates more expression in cancer cells; and green indicates more expression in noncancer cells.

Results

Each row represents the primary tumor from a patient and each column represents one of the 70 genes in the initial tumors.



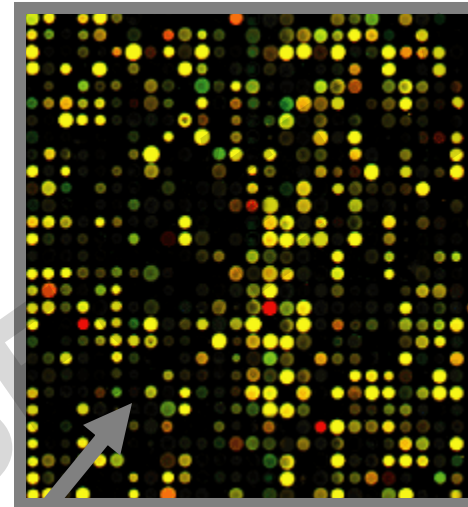
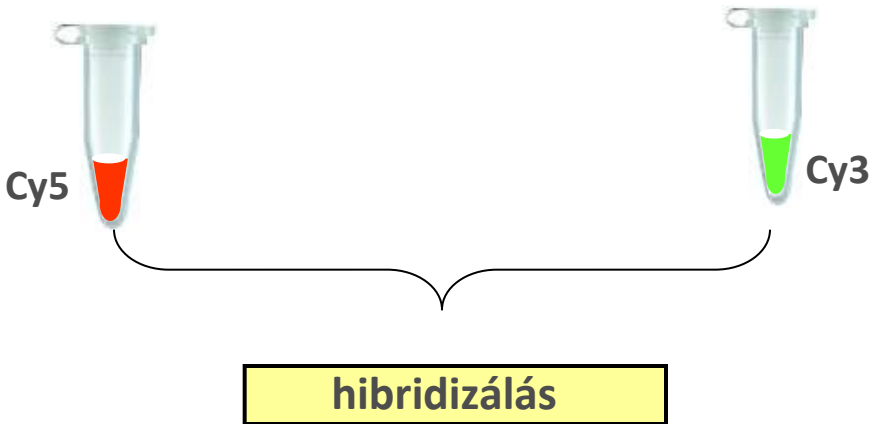
Tumors above the solid yellow line came primarily from patients who remained cancer free for at least 5 years.

Tumors below the solid yellow line came primarily from patients in whom the cancer spread within 5 years of diagnosis.

Conclusion: Seventy genes were identified whose expression patterns accurately predicted the recurrence of breast cancer within 5 years of treatment.

Figure 20-14

A microarray „beszkennelt” képe



A: piros B: zöld

Piros/zöld arány

-Fekete: nincs expresszió egyikben sem

-**Piros**: expresszió $A > B$

-**Zöld**: expresszió $B > A$

-**Sárga**: egyformán expresszálódik

Bei der Hybridisierung binden markierte einzelsträngige cDNA Stücke an ihren komplementären Gegenpart auf dem Array.

Analízis: intenzitás adatok kinyerésével (feature extraction software)

Minták (~10²)

1.400	1172.000	1206.100	902.700	626.100	216.900	267.000	202.000	712.000	349.000	752.0
1.600	2484.400	2804.800	2731.100	2242.900	2902.300	1877.000	2211.200	2040.200	2242.900	1800
1.000	4547.100	3670.300	3446.600	3230.800	4517.500	2630.800	3207.300	3171.300	3867.200	3730
500	507.100	352.300	454.200	353.000	258.200	671.100	262.500	557.800	272.600	411.8
1.600	5696.700	4546.500	4572.100	3768.300	7634.300	3225.600	4363.100	3112.700	5443.400	4742
1.400	5127.600	4331.300	4592.900	4181.200	7009.400	2944.200	2792.900	3255.000	2892.100	4335
800	570.700	499.200	572.800	655.200	391.400	415.200	494.800	659.000	381.100	571.2
800	413.500	694.800	795.600	791.300	710.300	849.000	542.600	876.000	438.300	537.8
1.300	4771.000	4036.500	3979.500	4302.600	7549.400	3835.000	4356.500	3955.100	5089.300	5179
1.900	4932.800	4806.000	4376.800	3585.600	6684.800	2611.100	3567.500	2787.900	3494.400	3289
1.600	6592.400	5309.300	5818.700	4940.200	9230.300	4594.300	6545.900	5831.100	6945.300	5134
1.000	4899.600	4291.500	5181.400	4413.000	6096.400	4046.100	4225.900	3218.400	4730.400	4573
1.700	587.900	348.100	420.000	545.000	463.400	419.000	494.300	308.300	376.700	432.0
1.900	6033.100	4728.500	4048.500	4109.500	6714.500	7093.700	9481.300	7369.900	8044.000	5003
1.000	5164.800	5689.100	5600.400	5092.500	7084.500	3327.000	5215.700	3586.800	5406.200	4396
1.200	2437.900	2339.900	2338.000	2002.000	2532.400	1774.900	2299.200	1679.800	2224.500	1695
1.400	5523.000	4822.200	4857.800	4551.200	4653.200	3596.200	5044.500	3431.500	5502.600	4066
1.100	6363.400	5005.900	5420.300	4799.900	7749.100	4136.900	5642.000	4050.400	6140.500	4799
1.000	6649.400	5438.500	4914.200	5508.000	14037.000	3576.900	7867.300	5693.900	8355.400	5668
1.700	350.900	635.800	785.600	622.400	740.700	643.400	826.400	683.300	508.000	545.8
1.800	206.200	481.400	956.000	562.200	583.200	542.400	669.700	1259.300	439.700	536.7
1.500	5518.900	5000.300	5285.700	5301.900	7817.000	4115.700	6569.900	4115.100	5558.000	5747
1.300	2106.500	2862.900	2619.700	1916.100	2421.500	2324.200	2545.400	1957.200	2203.500	2343
1.500	7557.100	6673.900	6821.400	5766.800	9741.200	5845.000	5584.000	4053.300	7076.800	7341
1.300	7563.700	5822.700	6247.400	6402.700	12065.600	5361.400	8418.700	5259.300	6745.500	6612
1.800	2215.700	955.900	1617.700	1705.200	2704.900	2517.600	1792.700	2319.200	1217.200	1696
1.800	3669.300	3397.400	3377.200	2778.200	6061.200	2522.400	3988.100	2545.600	4316.700	3737
1.900	480.700	416.600	519.100	286.000	362.400	394.000	486.500	311.600	378.700	292.8
1.900	4314.200	4306.900	4223.400	4202.000	3645.800	2082.400	5015.400	2859.200	4917.000	4628
1.300	642.600	576.100	553.300	724.600	752.700	604.700	599.800	765.900	681.200	565.8
1.300	5095.600	4688.600	4563.900	3935.000	9148.700	3497.300	5807.400	4177.600	6737.300	4007

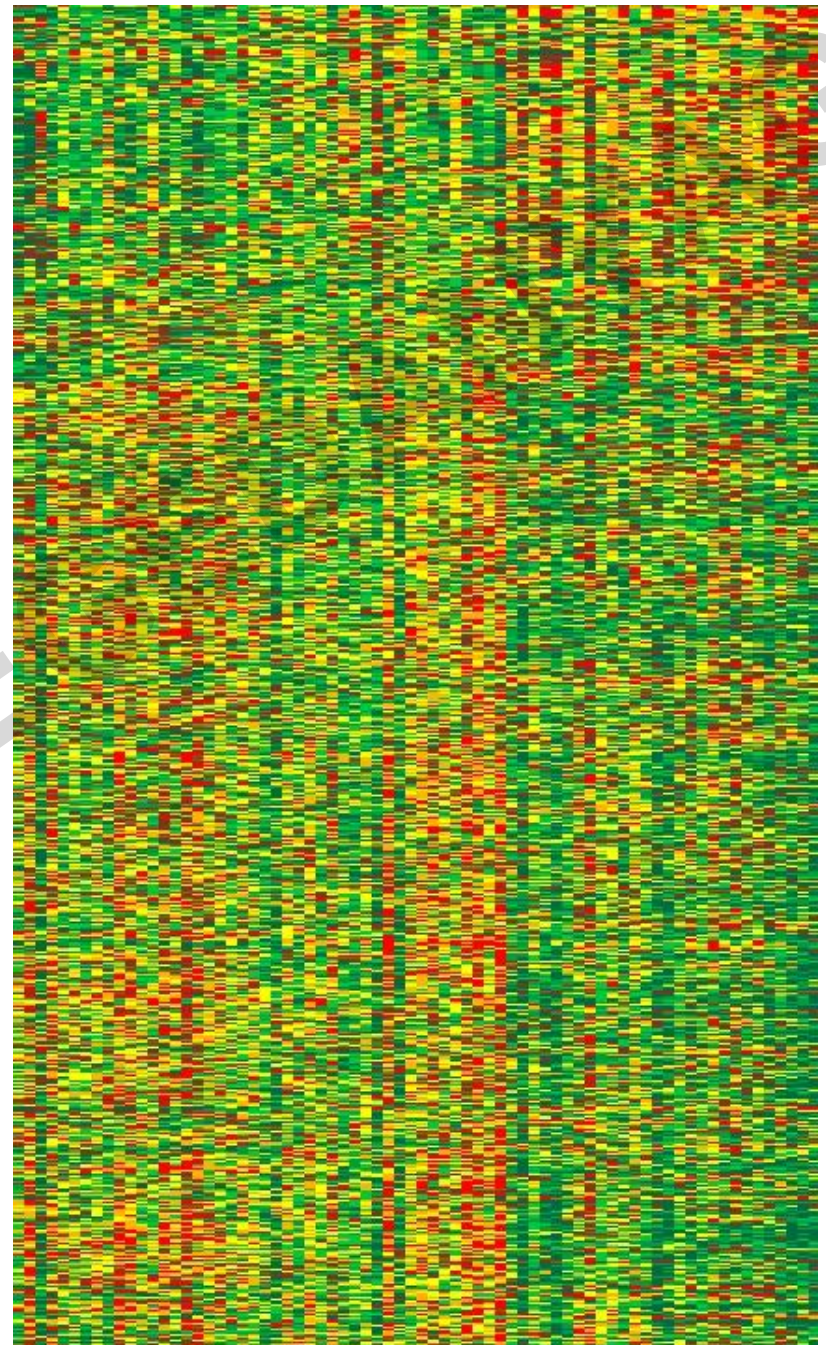
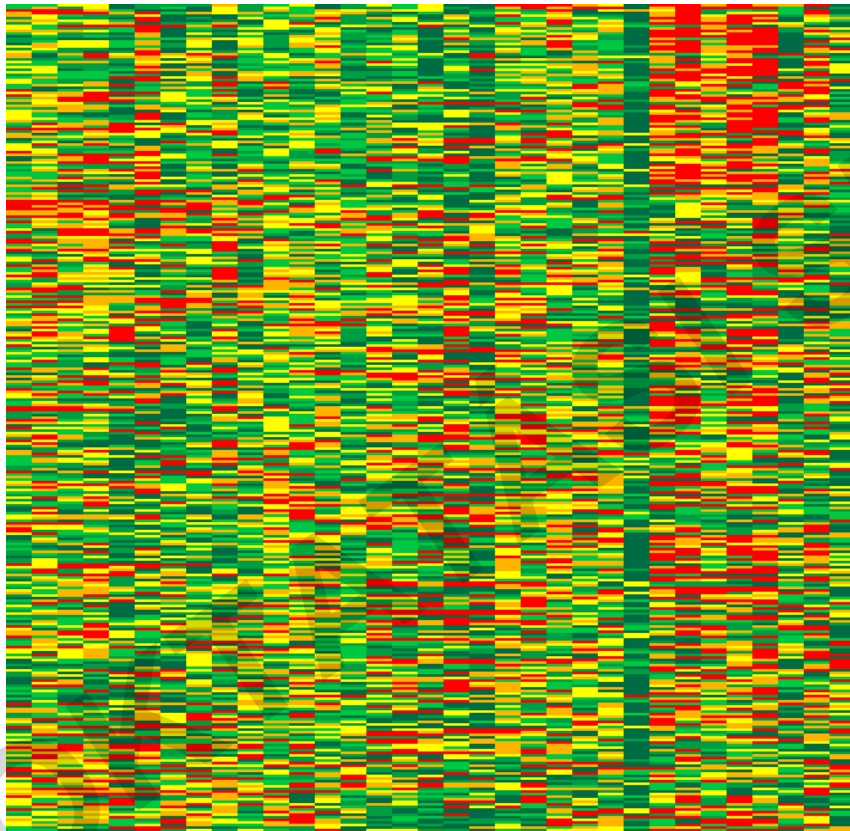
Gének
(~10³-10⁴)

OKTATÁSI

OKTATÁSI

Az adatmátrix vizualizációja (hő térkép, klaszterezés)

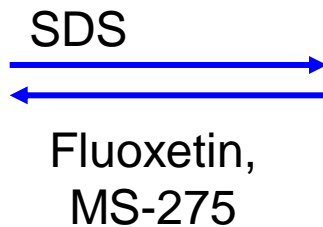
Részletek egy leukémiás
betegeken végzett microarray
Vizsgálat eredményeiből



Mire használhatók a kapott eredmények?

- Egy gén helyett-egyszerre több gén->**gén profil, génmintázat**
- Sejttípusok elkülönítése. Pl. különböző neuronok
- Egy sejttípuson belül különböző differenciáltsági fokok meghatározása
- Kezelés utáni időrendi változások (pl. immediate early gének, intermedier resonderek, late respomderek)
- Génexpresszió változása mutációk miatt-pl. tumor sejtek jellemzése
- Reguláló RNS-ek vizsgálata (miRNS array)
- Új biomarkerek vizsgálata farmakogenetika, toxicitás vizsgálatok, differenciáldiagnosztika stb.

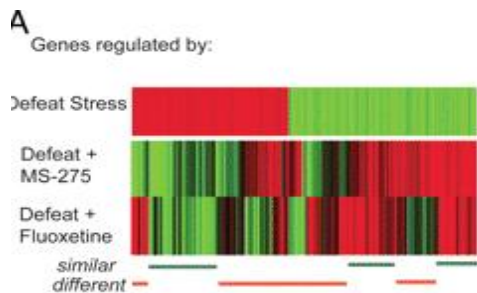
Depresszió



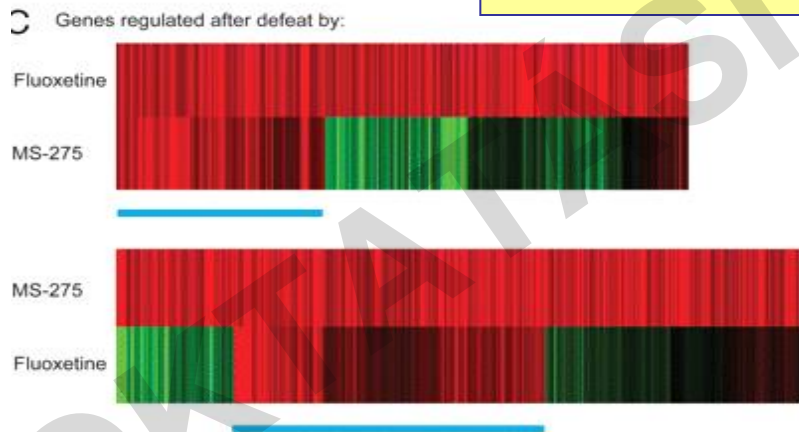
Sajátos gén mintázat a limbikus rendszerben

MS-275 fluoxetin típusú antidepresszáns

SDS-social defeat stress;-cd1 agresszív egér
jelenléte 5 percig naponta 10 napig

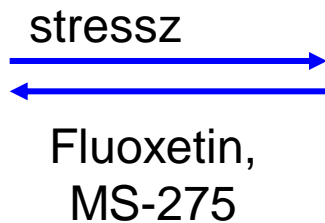


A gyógyszeres kezelés megváltoztatja stressz által kialakult génexpresszió mintázatot



A két gyógyszeres kezelés különböző génexpresszió mintázatot hoz létre

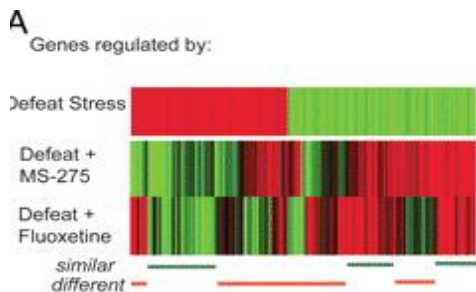
Depresszió



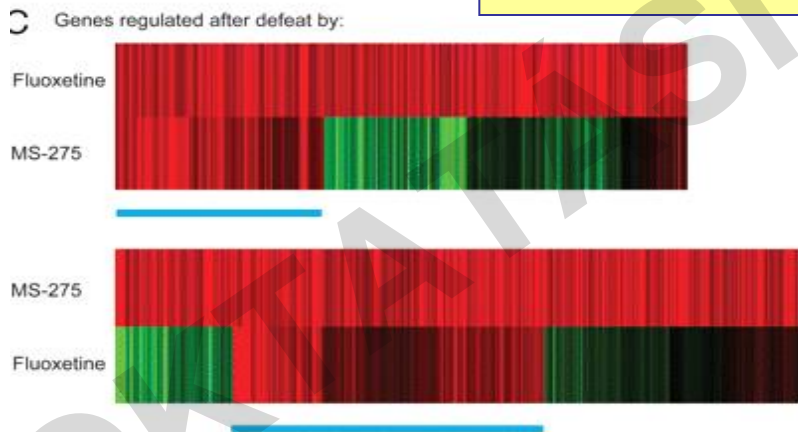
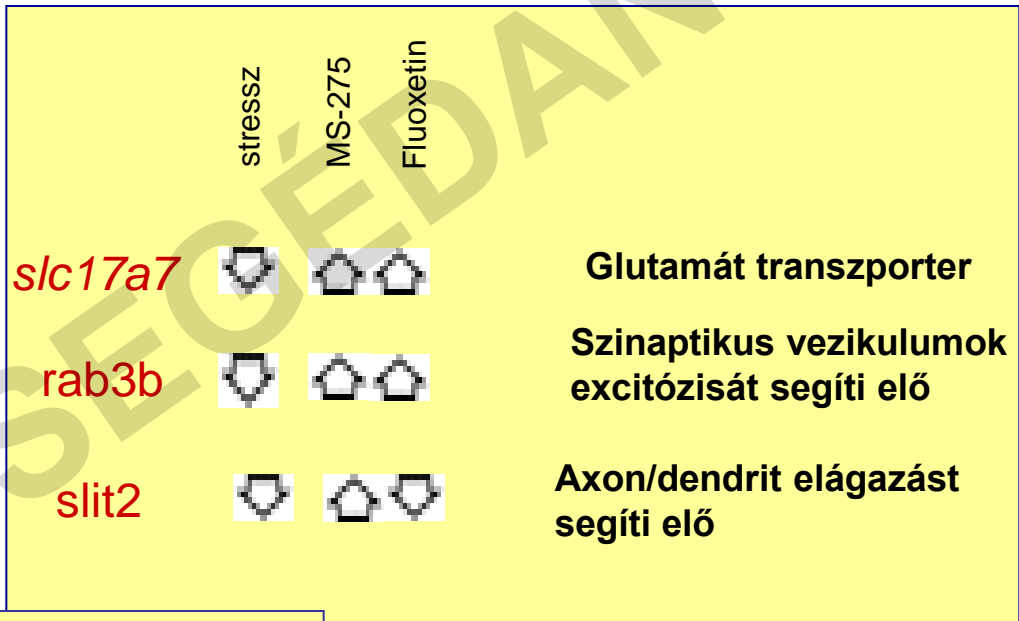
Sajátos gén mintázat a limbikus rendszerben

MS-275 fluoxetin típusú antidepresszáns

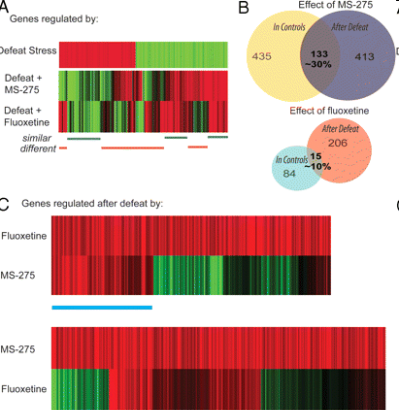
SDS-social defeat stress;-cd1 agresszív egér
jelenléte 5 percig naponta 10 napig



A gyógyszeres kezelés megváltoztatja stressz által kialakult génexpresszió mintázatot



A két gyógyszeres kezelés különböző génexpresszió mintázatot hoz létre

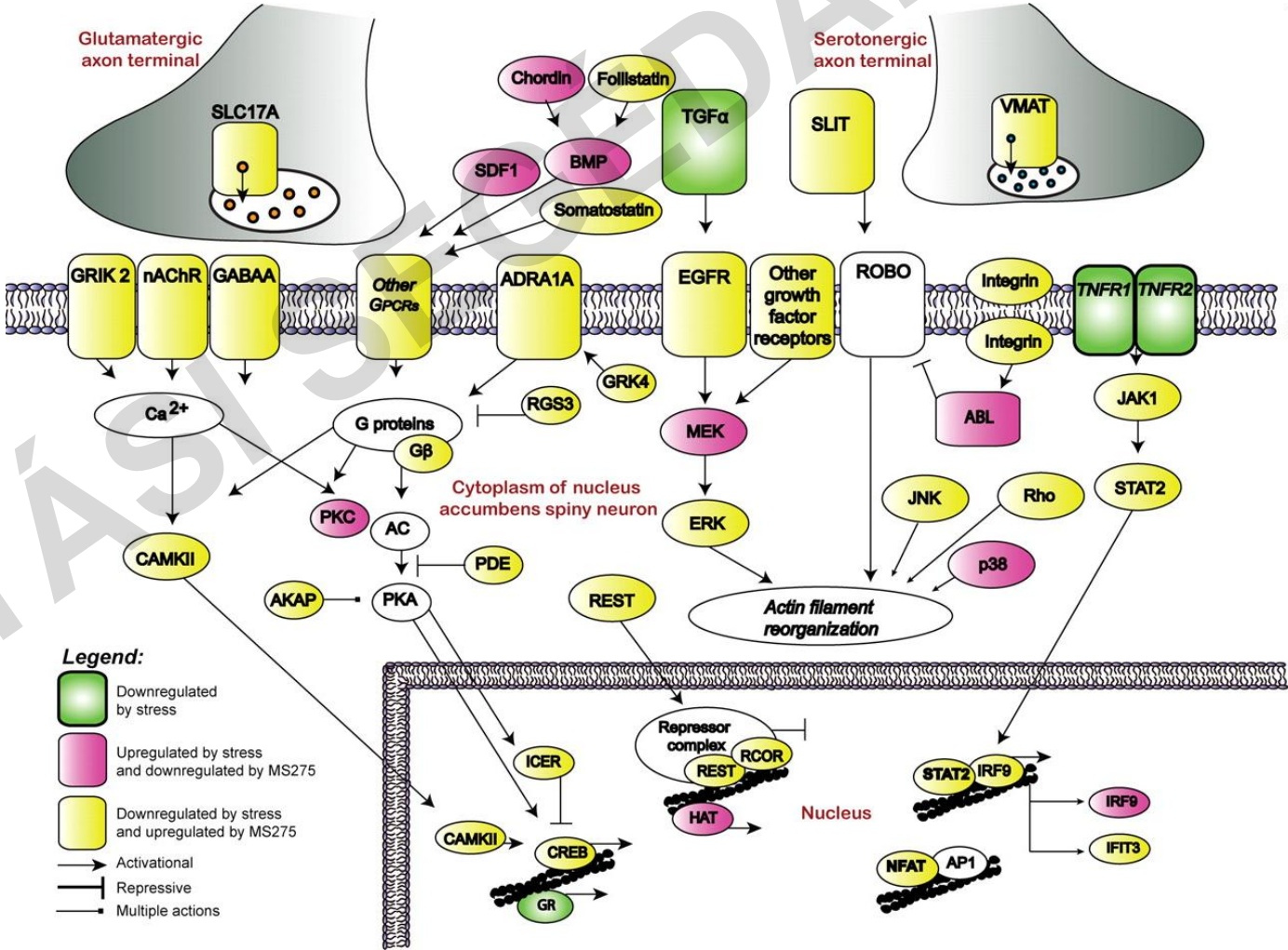


Depresszió

Fluoxetin, MS-275

Sajátos gén mintázat a limbikus rendszerben

Génmintázat értelmezése pathway segítségével

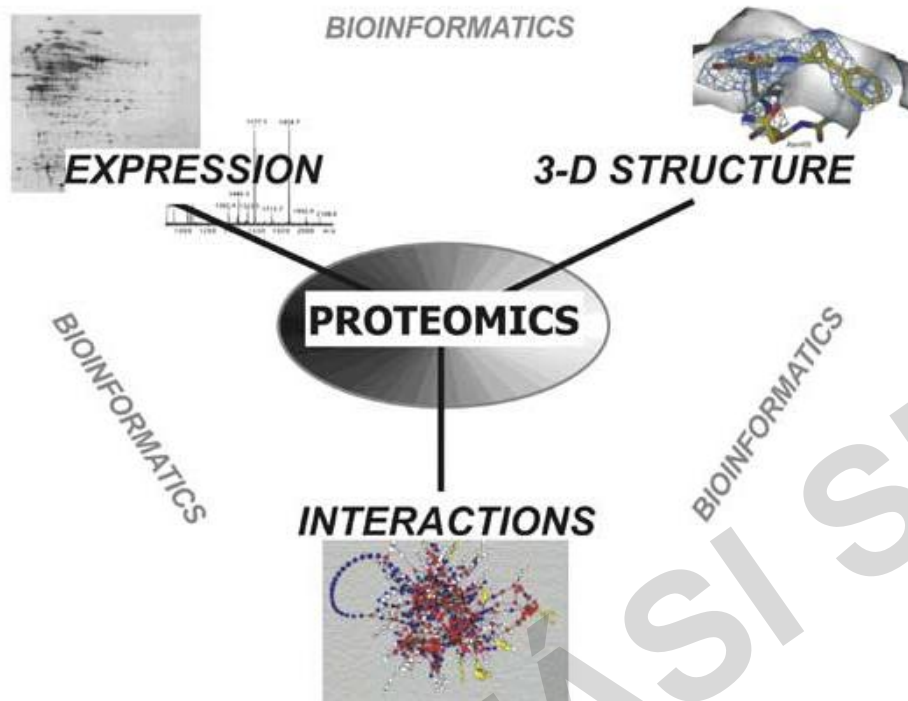


Legend:

- Green box: Downregulated by stress
- Pink box: Upregulated by stress and downregulated by MS275
- Yellow box: Downregulated by stress and upregulated by MS275
- Arrow: Activational
- Bar-headed line: Repressive
- Double-headed line: Multiple actions

J Neurosci. 2009 Sep 16;29(37):11451-60. Antidepressant actions of histone deacetylase inhibitors. Covington HE 3rd, Maze I, LaPlant QC, Vialou VF, Ohnishi YN, Berton O, Fass DM, Renthal W, Rush AJ 3rd, Wu EY, Ghose S, Krishnan V, Russo SJ, Tamminga C, Haggarty SJ, Nestler EJ

Proteomika



25000 gén
100 000 fehérje

- A fehérjeszintű vizsgálatok megváltoztatják a genomika vizsgálatok eredményét
- A fehérjeszintű vizsgálatok nagyobb felbontásúak
- Az RNS átíródásának valószínűsége nem 100%
- PI. Miller and Dulay at al.

Minta:

Plazma: 1000-2000 fehérje

Cerebrospinalis folyadék (CSF, liquor)

Skizofréniában kevés niacin receptor protein, de sok niacinR mRNS

Proteomika - MS vizsgálat

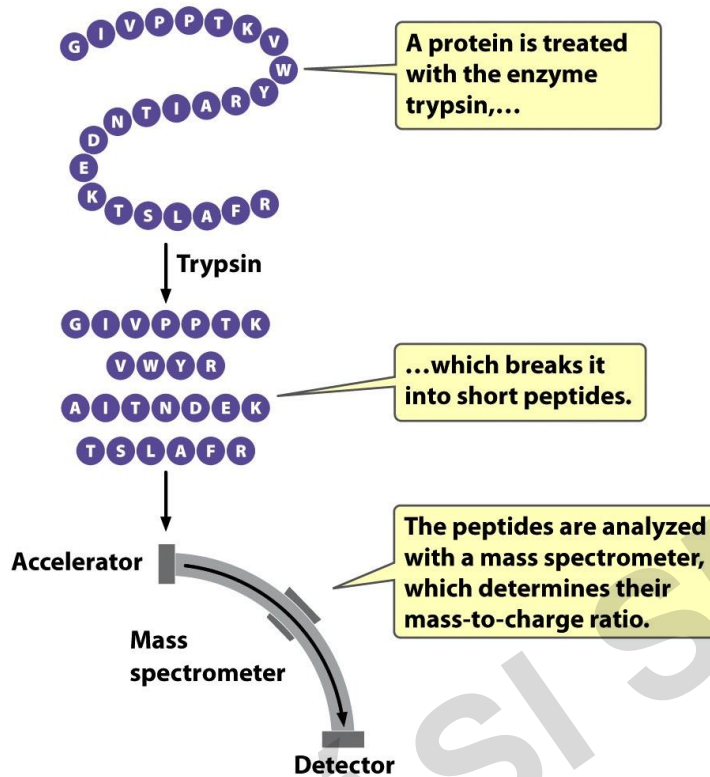


Figure 20-22 part 1
Genetics: A Conceptual Approach, Third Edition
© 2009 W. H. Freeman and Company

Fehérjék tömegspektrográfias (MS) vizsgálata. A tisztított fehérjét proteázok peptidekre bontják, ezek MS vizsgálata jellegzetes profilt eredményez. A profil alapján adatbázisból kikereshető a peptid aminosav sorrendje.

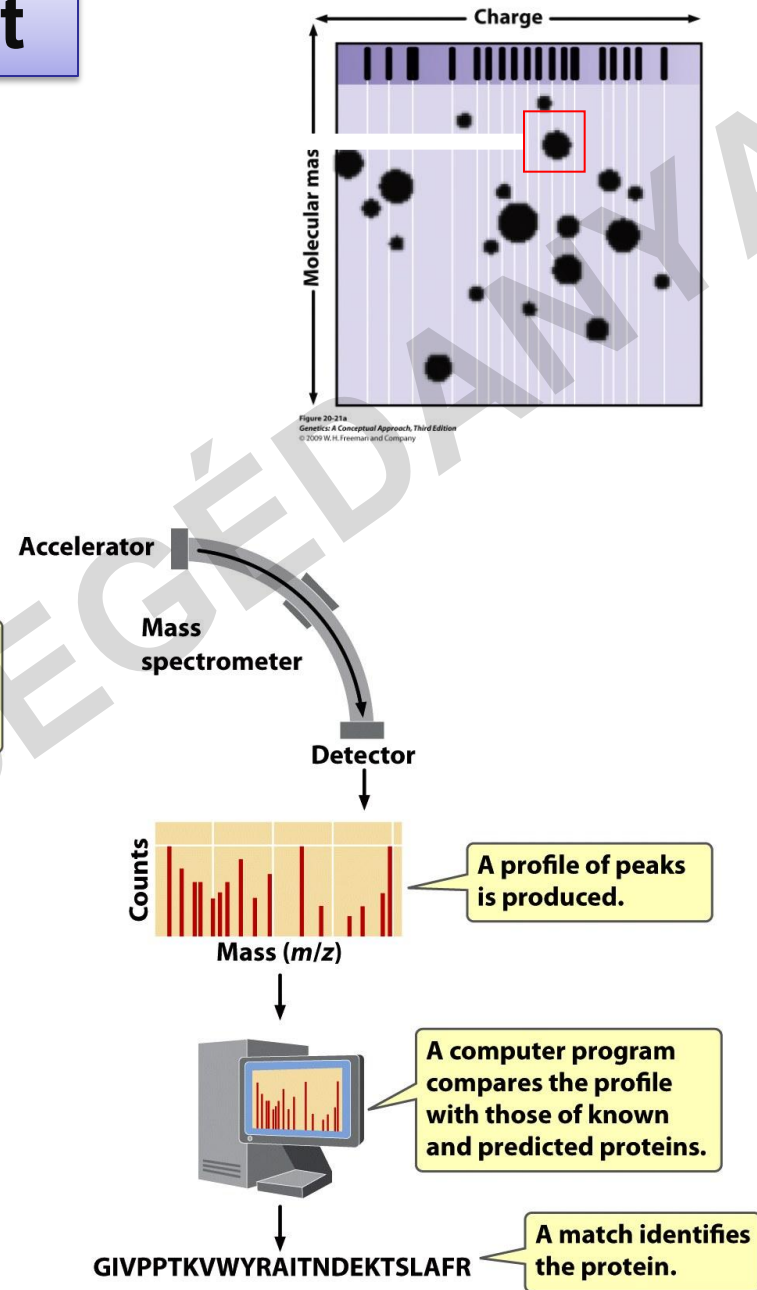
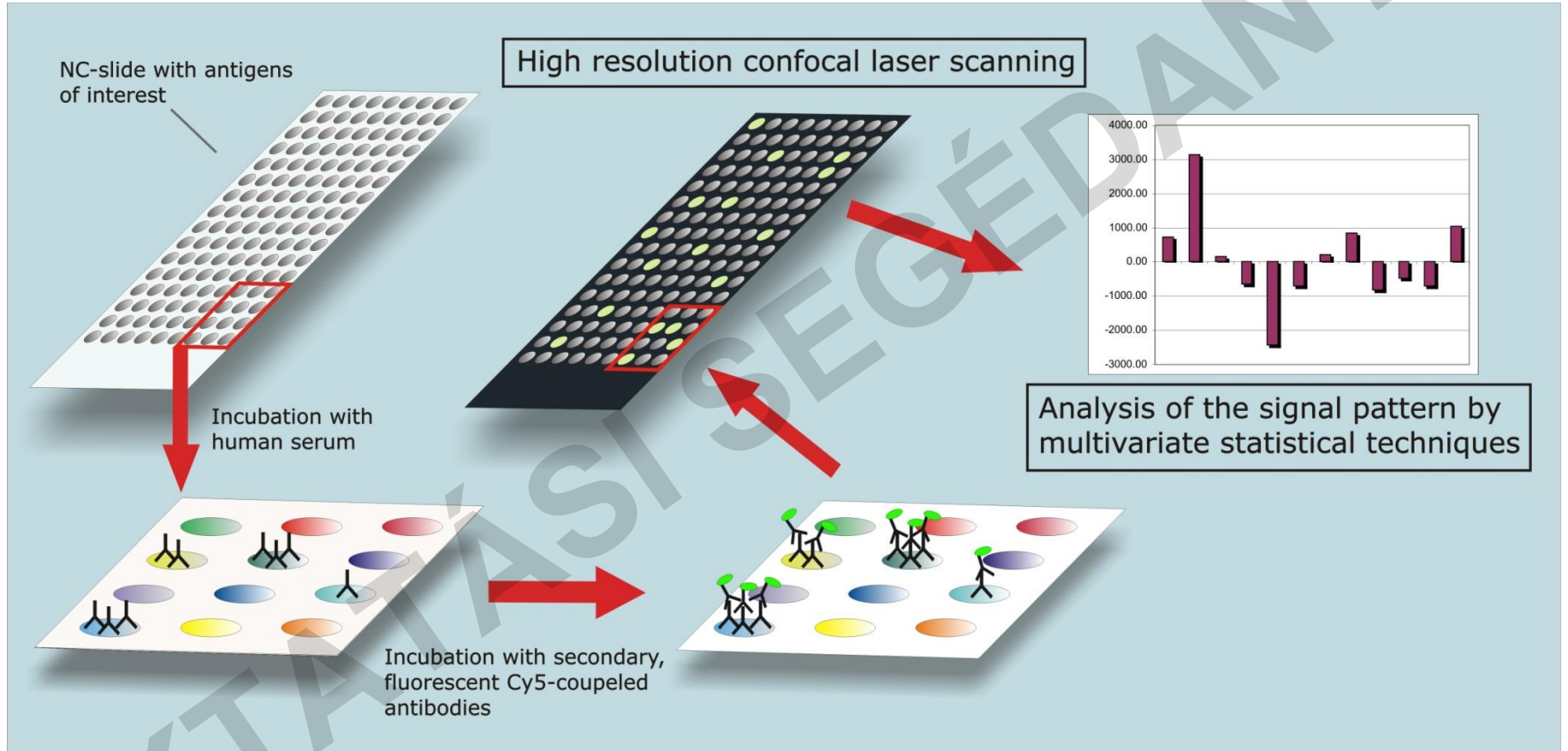
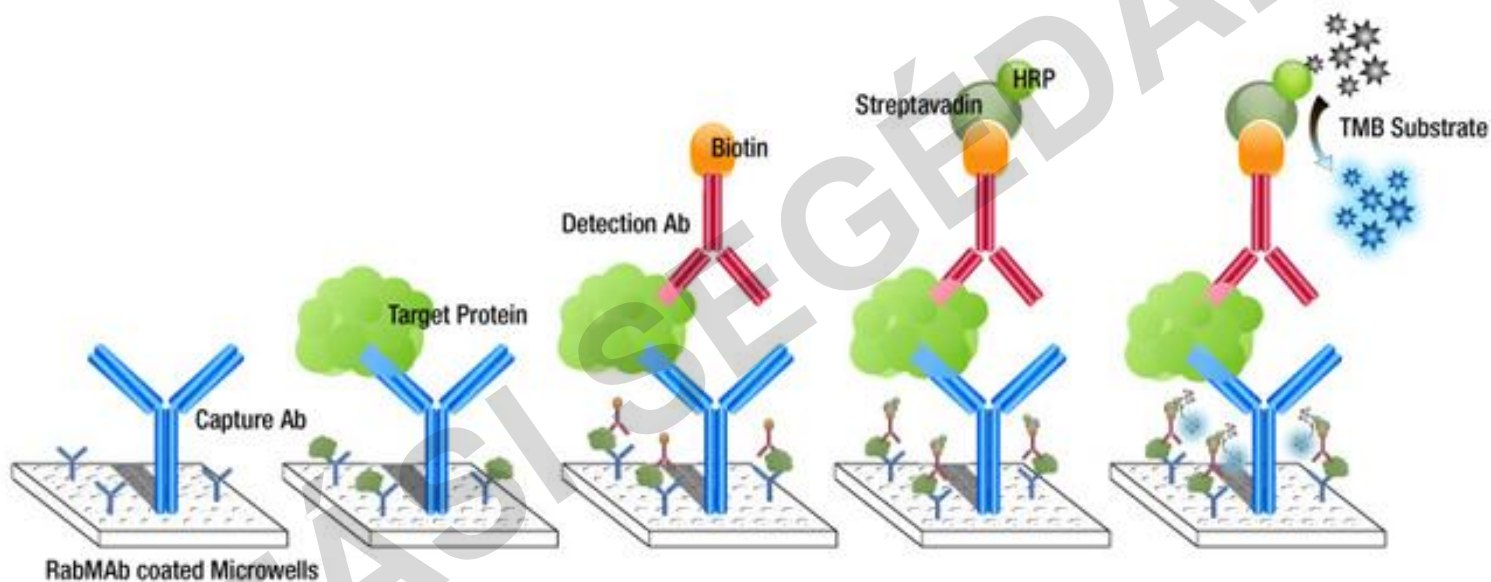


Figure 20-22 part 2
Genetics: A Conceptual Approach, Third Edition
© 2009 W. H. Freeman and Company

Protein array-antitestek detektálása



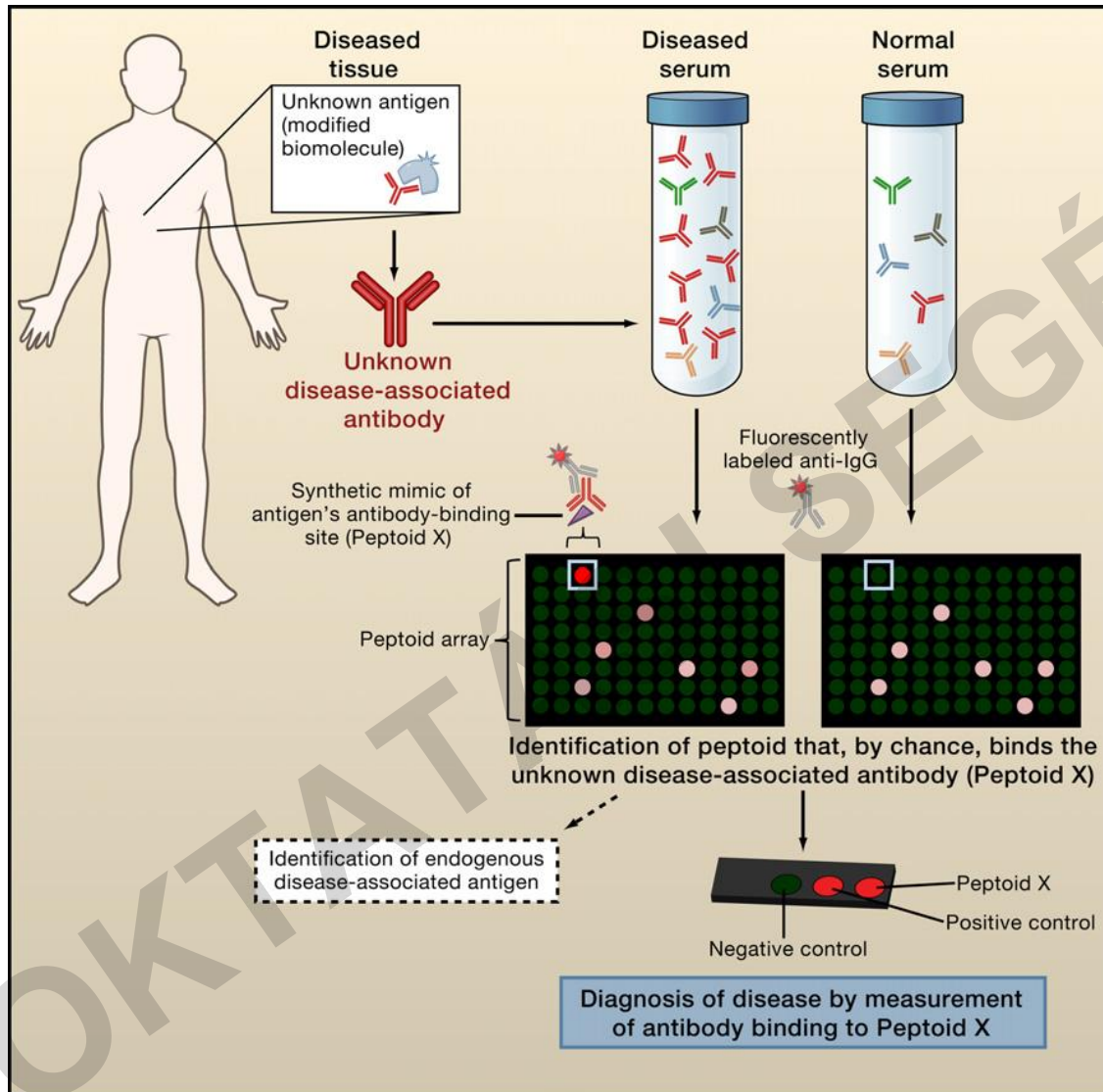
Protein array-antigén fehérjék detektálása



Nem antitest fehérjék keresése: NC-lapra antitesteket helyeznek, ami a mintából „kihalássza” az antigént

Antitest-biomarkererek keresése plazmából

Alzheimer kór



A peptoid X-hez kapcsolódó antitest az Alzheimer kór biomarkere lehet

PI.

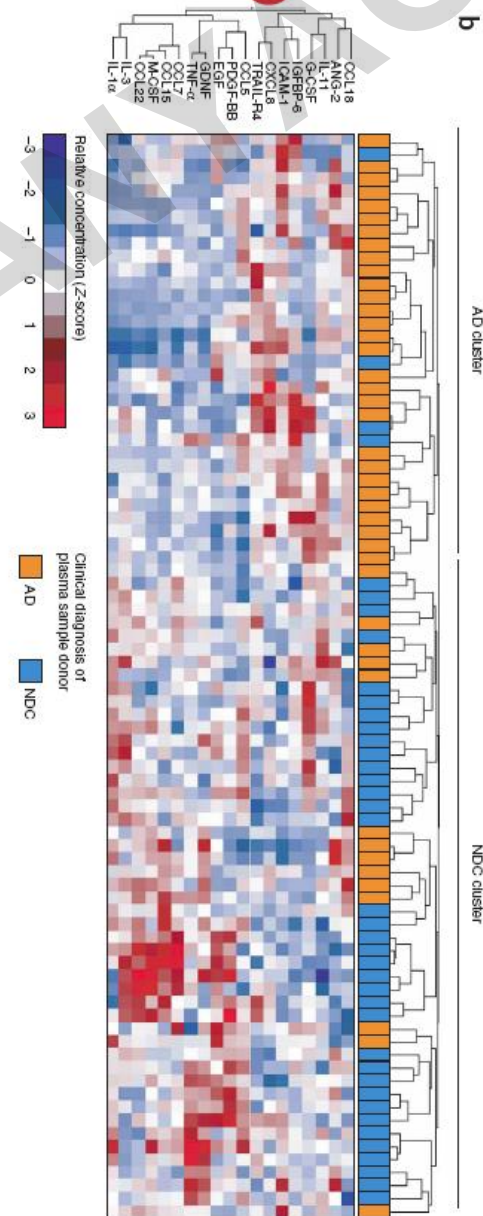
anti-B-amyloid antitest

anti-ATP-szintáz antitest

Alzheimer kór-biomarkererek keresése plazmából

Predictors	d-score	q-value (%)
ANG-2	2.1	≤0.05
CCL5	-2.9	≤0.05
CCL7	-1.7	≤0.05
CCL15	-1.6	≤0.05
CCL18	1.9	3.1
CXCL8	1.7	3.1
EGF	-2.7	≤0.05
G-CSF	-1.9	≤0.05
GDNF	-1.8	≤0.05
ICAM-1	2.2	≤0.05
IGFBP-6	1.5	3.1
IL-1 α	-2.9	≤0.05
IL-3	-2.0	≤0.05
IL-11	2.1	≤0.05
M-CSF	-2.4	≤0.05
PDGF-BB	-3.4	≤0.05
TNF- α	-2.6	≤0.05
TRAIL-R4	1.8	3.1

d-scores indicating the relative positive (increased) and negative (decreased) changes in concentration of these proteins in plasma of subjects with Alzheimer's disease in comparison to NDC subjects. SAM calculates a minimal false discovery rate (q-value) for significance. ANG-2, angiotensin-2. CCL, chemokine that contains a C-C motif; CXCL, chemokine that contains a C-X-C motif; G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; GDNF, glial-derived neurotrophic factor; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; IGFBP-1, insulin-like growth factor-binding protein-6; IL, interleukin; PDGF-BB, platelet-derived growth factor BB; TRAIL-R4, TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor-4.



Metabolomika

- Metabolomika: metabolitok mennyiségének meghatározása a metabolomon belül.
- Metabolitok mennyiségének változása kezelés hatására vagy az idő függvényében
- Metabolom: kis molekula súlyú endogén/exogén eredetű metabolitok < 1500 Da
- Metabolitok: metabolizmus köztes vagy végtermékei a sejtben
- Pigmentek, szénhidrátok, zsírsavak, aminok, aminosavak
- Primer és szekunder metabolitok

Metabolomika és vizsgálati módszerek

Szeperáló technikák:

Gázkromatográfia (GC)

Kapilláris elektroforezis (CE)

Nagynyomású folyadék kromatográfia (HPLC)

Detektálás:

Mag mágneses rezonancia spektroszkópia (NMR)

Tömegspektroszkópia (MS)

Kombinált technikák

GC-MS

HPLC-MS

Az emberi metabolom

3100 (T3DB)

Toxins/Env. Chemicals

1000 (DrugBank)

Drug metabolites

30000 (FooDB)

Food additives/Phytochemicals

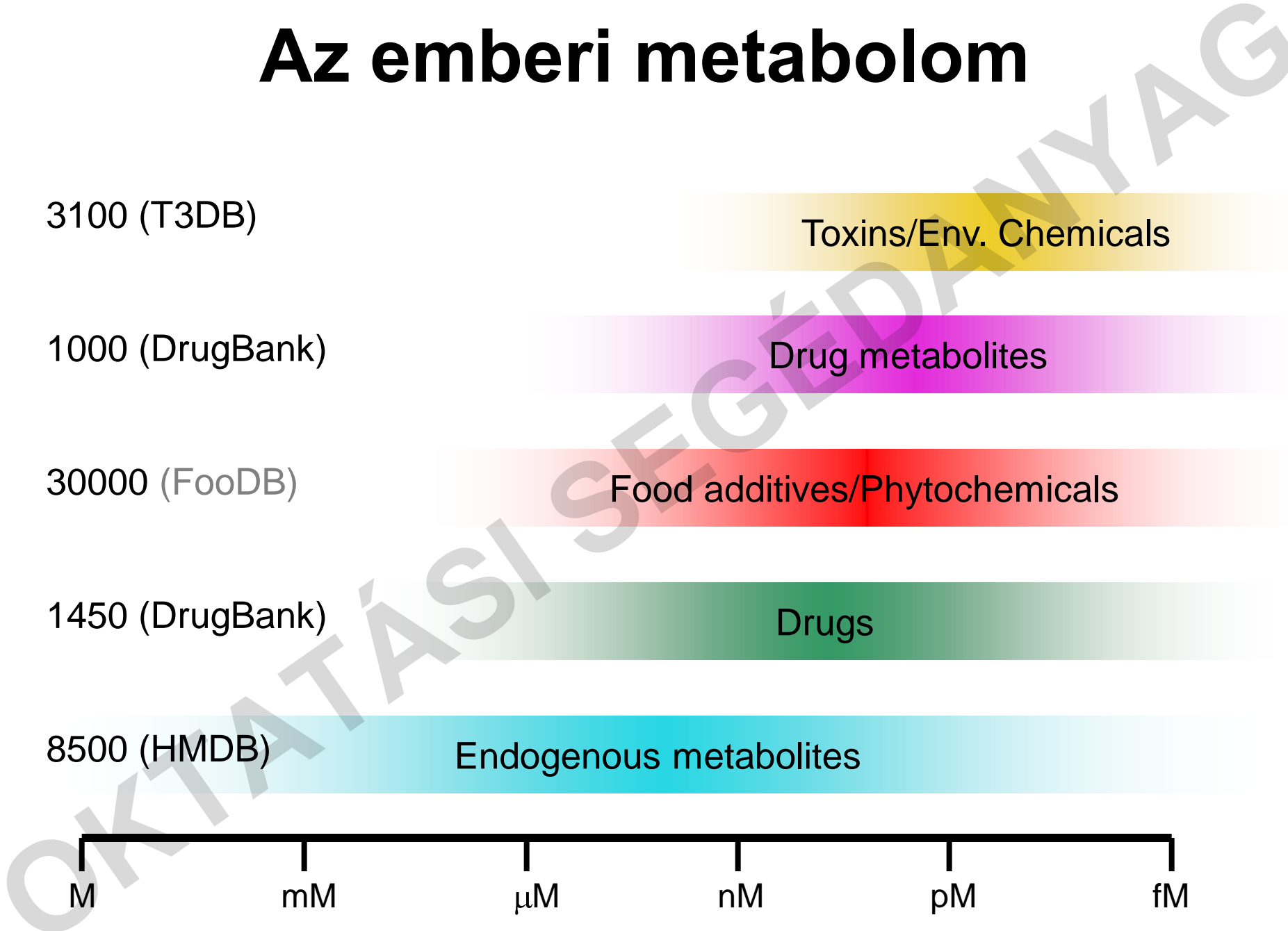
1450 (DrugBank)

Drugs

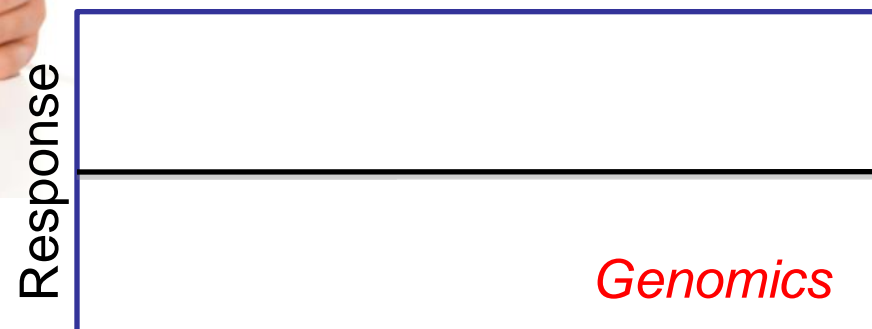
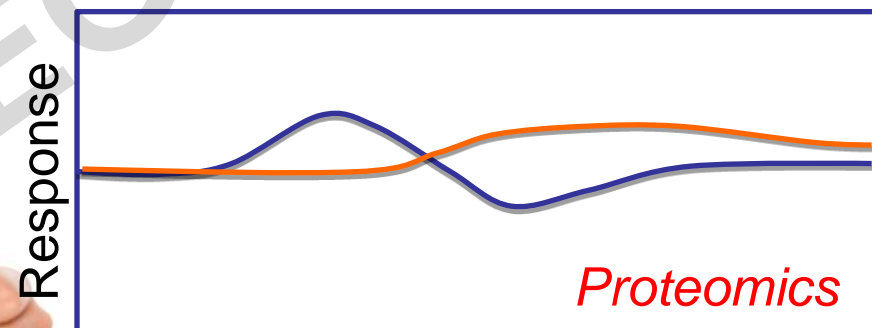
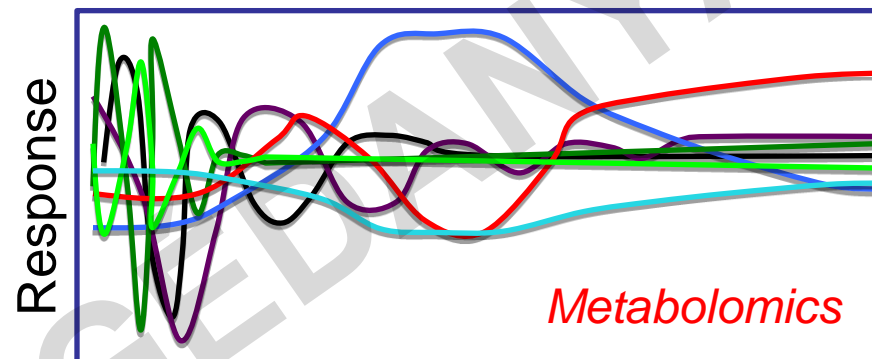
8500 (HMDB)

Endogenous metabolites

M mM μ M nM pM fM



Metabolomika és más omikák, valamint a környezeti hatásokra kiváltott válasz érzékenysége



Time

MND és riluzol kezelés hatásának vizsgálata metabolomikai módszerekkel

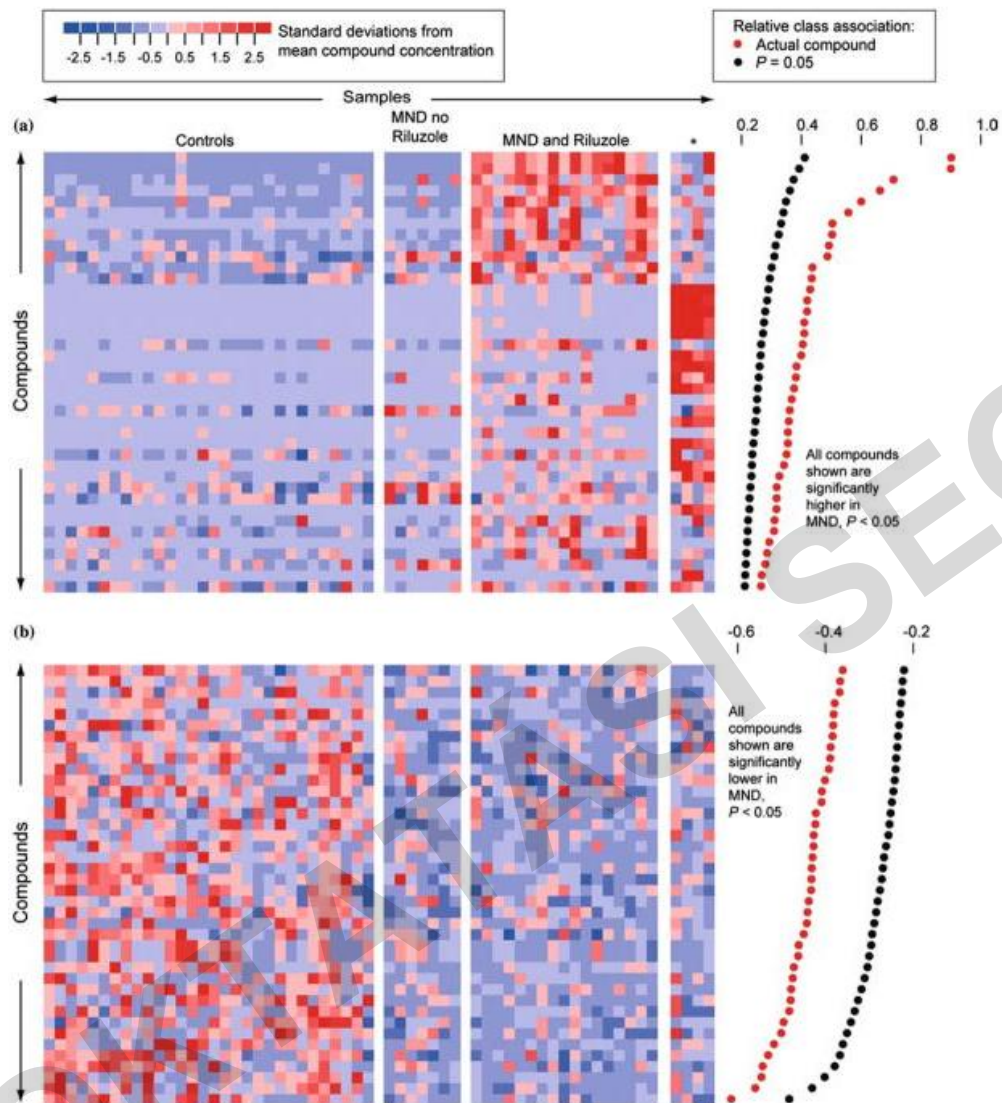
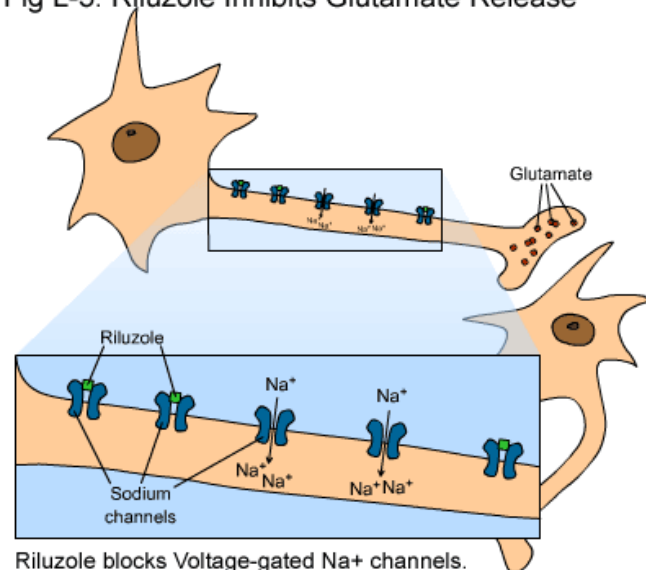


Fig L-3: Riluzole Inhibits Glutamate Release

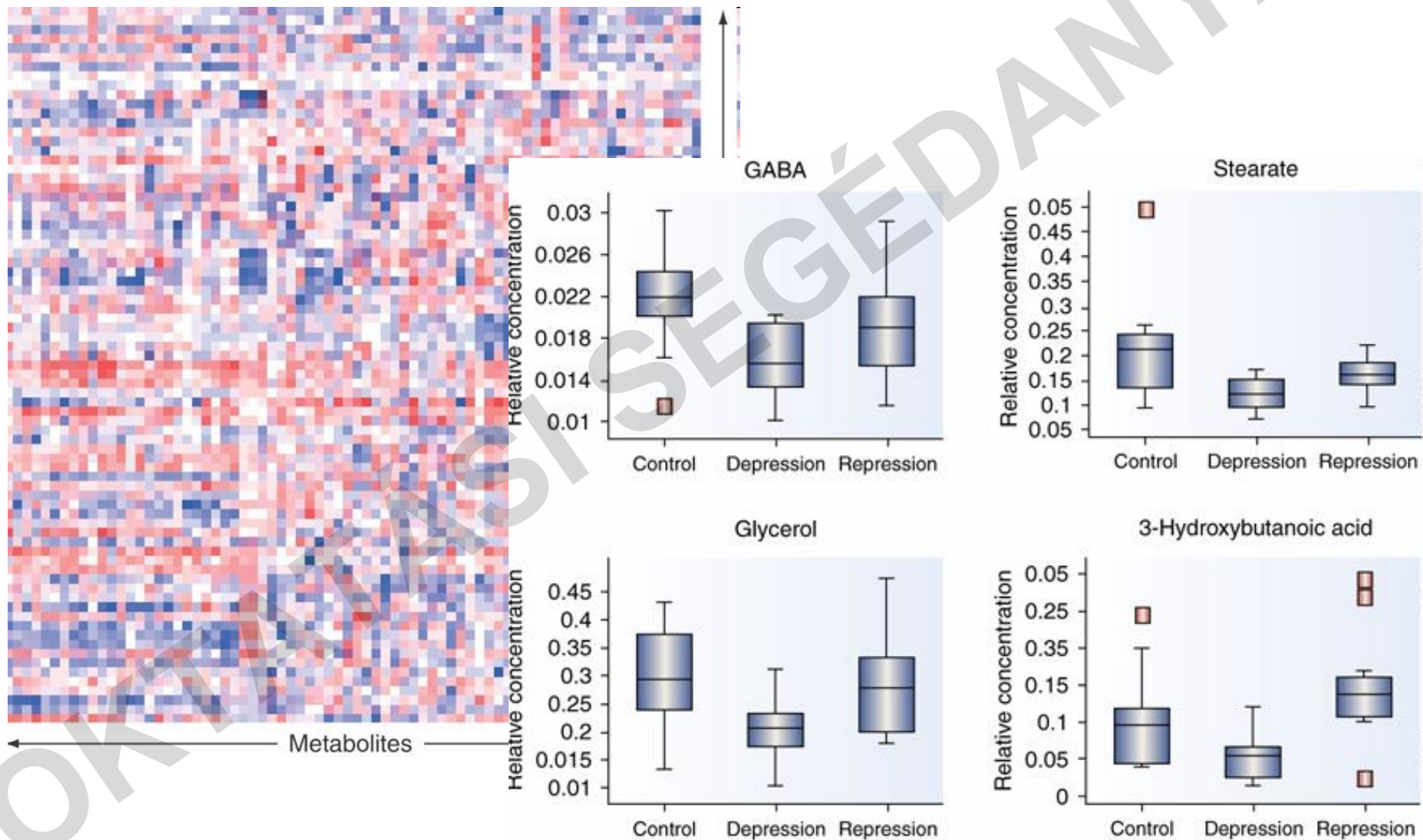


Riluzole blocks Voltage-gated Na^+ channels.

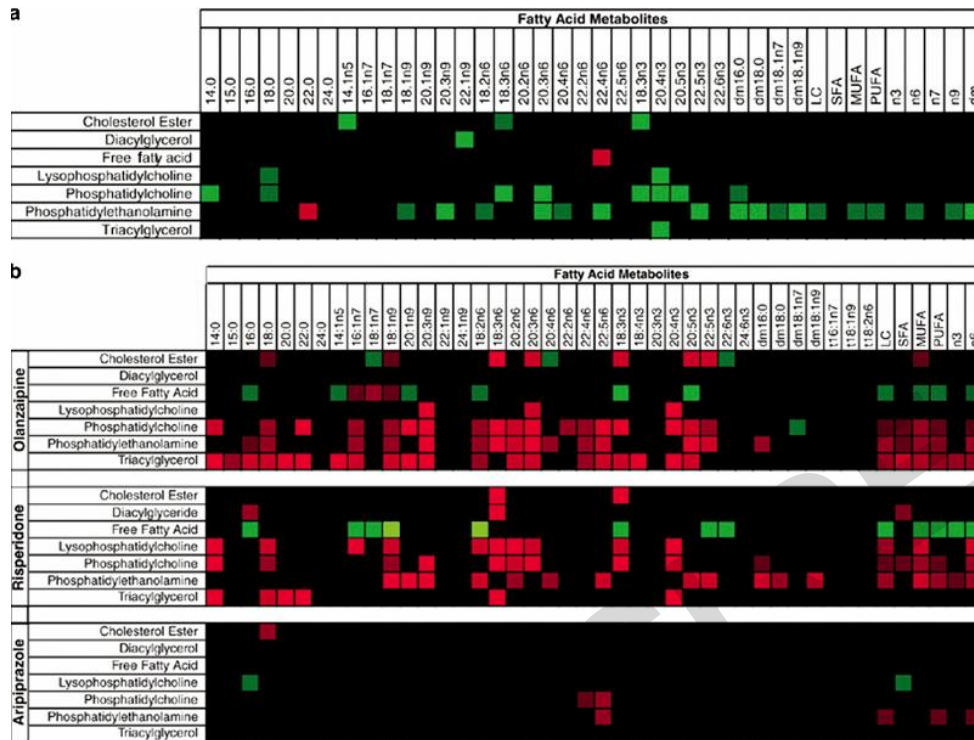
MND - Motor neuron disease (motoros idegsejtek sorvadásos *betegsége*)

Metabolomics. 2005; 1(2): 101–108.

Depresszió vizsgálata metabolomikai módszerekkel



Skizofréniában szenvedő betegek plazma lipid metabolikus profilja



Skizofrénia/kontrol

Skizofrénia/gyógyszeresen kezelt skizofrénia (Olanzapin, Risperidon, Aripiprazol)

Skizofrénia-elégtelen energia ellátás-glükóz mellett keton, telítetlen zsírsavak is

-a felhasználás miatt elégtelen foszfolipid szintézis-idegsejtek membránjai sérülhetnek

