

Acidi grassi essenziali, mediatori lipidici ed endocannabinoidi

Essential fatty acids and lipid mediators. Endocannabinoids

G. Caramia¹

Key words: *Fatty acids omega-6, omega -3, Inflammation, Lipid mediators, Cytochrome P450. Endocannabinoids*

Riassunto

Dopo la scoperta degli acidi grassi essenziali omega-6 e omega-3 da parte di Burr e Burr nel 1929, molti ricercatori hanno studiato il metabolismo dei derivati, gli acidi grassi polinsaturi (PUFA), in quanto sono i precursori dei “mediatori lipidici” prostaglandine, prostaciline, trombossani, leucotrieni, lipossine, resolvine, protectine e maresine, molecole spesso con effetti opposti, che regolano l'immunità, l'aggregazione piastrinica, l'infiammazione ecc. Hanno così evidenziato che l'equilibrio fra omega-6 ed omega-3 ha una profonda influenza su tutti i processi infiammatori dell'organismo, e che un aumento dei PUFA omega-3 nei tessuti si associa ad una ridotta incidenza di malattie degenerative cardiovascolari, di alcune malattie mentali come la depressione e di malattie neuro degenerative come l'Alzheimer.

L'epossidazione e l'idrossilazione dell'acido arachidonico (AA) da parte del citocromo P450 (CYP) è stata evidenziata recentemente ed è considerata la terza branca della cascata dell'AA con produzione di altri “mediatori lipidici”. La CYP epossigenasi trasforma l'AA in quattro acidi epossieicosatrienoici (EET) regioisomeri che danno luogo a rilassamento della muscolatura vascolare, ad effetto anti infiammatorio sui vasi e a livello renale, all'angiogenesi e alla protezione del miocardio e del cervello dalla patologia ischemica.

Come per l'AA, gli enzimi CYP metabolizzano anche l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA). I metaboliti derivati dall'EPA sono gli acidi epossieicosatetraenoici (EETR) e gli acidi idrossieicosapentaenoici (19- e 20-HEPE), mentre i deri-

vati del DHA sono gli acidi epossidocosapentaenoici (EDP) ed idrossidocosapentaenoici (21- e 22-HDoHE). Per molte isoforme dei CYP gli n-3 PUFA sono i substrati preferiti e i dati ad oggi disponibili evidenziano che alcuni degli effetti protettivi vascolari e cardiaci attribuiti all'apporto dietetico di acidi grassi n-3 PUFA sarebbero in realtà da attribuire a metaboliti derivati dall'azione dei CYP su EPA e DHA.

Dall'AA derivano l'anandamide (N-arachidonylethanolamine) e il 2-arachidonoilglicerolo, che svolgono un'azione farmacologica uguale a quella del principio attivo dell'hashish e della marijuana ottenuti dalla Cannabis sativa, il (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol. Agiscono come dei veri ‘cannabinoidi endogeni’ legandosi e attivando uno o entrambi i recettori dei cannabinoidi presenti sulle membrane delle cellule nervose e periferiche. Gli enzimi che danno luogo all'ossidazione dell'anandamide sono le stesse ossigenasi degli acidi grassi che agiscono sull'acido arachidonico endogeno le lipossigenasi (LOX), le ciclossigenasi COX, e gli enzimi della famiglia del citocromo P450.

I recenti progressi delle conoscenze sulla biochimica e farmacologia del sistema degli endocannabinoidi, anche per ciò che riguarda il ruolo centrale e periferico nel regolare l'assunzione di cibo, darà luogo allo sviluppo di nuovi presidi terapeutici.

Abstract

In 1929 Burr and Burr discovered the essential fatty acids omega-6 and omega-3. Since then, researchers have shown a growing interest in polyunsaturated fatty acids (PUFA) as precursors of “lipid mediator” molecules, often with opposing effects, prostaglandins, prostacyclins, thromboxanes, leukotrienes, lipossines, resolvines, protectines, maresins that regulate immunity, platelet aggregation, inflammation, etc.

They showed that the balance between omega-3 and omega-6 acids has a profound influence on all the body's inflammatory responses and a raised level of PUFA

¹ Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia, Azienda Ospedaliera Specializzata Materno Infantile "G. Salesi" - Ancona

Indirizzo per la corrispondenza (Corresponding author):

Prof. Dr. G. Caramia MD

Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia

Azienda Ospedaliera Specializzata Materno-Infantile "G.Salesi"

Ancona - ITALY

caramiagm@libero.it

www.bambinoprogettosalute.it

omega-3 in tissue correlate with a reduced incidence of degenerative cardiovascular disease, some mental illnesses such as depression, and neuro-degenerative diseases such as Alzheimer's.

The CYP-catalyzed epoxidation and hydroxylation of arachidonic acid (AA) were established recently as the so-called third branch of AGE cascade.

Cytochrome P450 (CYP) epoxygenases convert AA to four epoxyeicosatrienoic acid (EET) regioisomers, that produce vascular relaxation anti-inflammatory effects on blood vessels and in the kidney, promote angiogenesis, and protect ischemic myocardium and brain.

Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) are accessible to CYP enzymes in the same way as AA. Metabolites derived from EPA include epoxyeicosatetraenoic acids (EETR) and hydroxyeicosapentaenoic acids (19- and 20-HEPE), whereas DHA include epoxydocosapentaenoic acids (EDPs) hydroxydocosahexaenoic acids (21- and 22-HDoHE). For many of the CYP isoforms, the n-3 PUFAs are the preferred substrates and the available data suggest that some of the vasculo- and cardioprotective effects attributed to dietary n-3 PUFAs may be mediated by CYP-dependent metabolites of EPA and DHA.

From AA derives also endocannabinoids like anandamide (N-arachidonoyl ethanolamine) and 2-arachidonoylglycerol, capable of mimicking the pharmacological actions of the active principle of Cannabis sativa preparations such as hashish and marijuana (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol. They act as true 'endogenous cannabinoids' by binding and functionally activating one or both cannabinoid receptor present on nervous and peripheral cell membranes.

Enzymes that carry out anandamide oxidation are the same fatty acid oxygenases that are known to act on endogenous arachidonic acid namely, the members of the COX, LOX, and P450 families of enzymes.

Recent advances in the biochemistry and pharmacology of the endocannabinoid system, also for its central and peripheral roles in regulating food intake, will offer the development of novel therapeutic agents.

Gli anni venti del secolo da poco concluso sono stati particolarmente fruttuosi per alcune importanti scoperte. Nel 1920 infatti è stata scoperta la Vitamina B2 (Riboflavina), nel 1922 la vitamina E, è stata confermata l'azione preventiva e terapeutica dell'olio di fegato di merluzzo e dei raggi solari contro il rachitismo, nel 1926 è stata scoperta la Vitamina B12 (Cianocobalamina) e sono iniziate le prime scoperte sull'importanza dello zinco (uso legalizzato dall'FDA americano solo nel 1974). Nel 1929 è stata scoperta la Vitamina K (Fillochinone), Fleming ha scoperto la penicillina e Burr OO e Burr MM hanno scoperto gli acidi grassi essenziali

(AGE), l'acido linoleico (AL), capostipite della serie omega-6, e l'acido alfa-linolenico (ALA), capostipite della serie omega-3. Questi sono stati così denominati in quanto indispensabili per la salute dell'uomo il quale, non essendo in grado di sintetizzarli, li deve introdurre con i grassi animali e vegetali contenuti nel pesce, nel latte, nei formaggi, nella carne, nella frutta secca, negli oli ecc.¹

Dopo la scoperta degli AGE numerosi ricercatori hanno evidenziato la loro importanza, quella dei loro derivati, gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) e gli acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LCPUFA) nella composizione delle membrane cellulari, in particolare dei neuroni, nei processi energetici e nelle interazioni cellulari.

Sono così derivati due filoni di ricerca: quello clinico e quello biochimico che da sempre si sono intrecciati fornendo interessanti indirizzi terapeutici.

Infatti, in ambito clinico, dai primi anni '70 è emersa una netta relazione tra la bassa incidenza di malattie cardiovascolari nelle popolazioni Inuit originarie della zona artica e la loro dieta basata essenzialmente sul pesce caratterizzata dall'assunzione in media di 10 gr di acidi grassi n-3 al giorno.^{1,2} Da allora numerosi ricercatori hanno indagato, e riportato in articoli che fanno parte della storia degli studi su tale tema, le proprietà benefiche di questi acidi grassi per le loro proprietà anti-aterogene con riduzione delle placche aterosclerotiche,³ ipotensive e antidislipidemiche,⁴ per la loro azione su importanti patologie autoimmuni quali artrite reumatoide, colite ulcerosa, psoriasi, dermatiti atopiche e patologie cancerose,^{5,6} per lo sviluppo e la maturazione delle strutture nervose nella vita fetale e nella prima infanzia.⁷

Bassi livelli di n-3 nel tessuto nervoso sono spesso associati allo sviluppo di malattie neurodegenerative, la malattia di Alzheimer, la schizofrenia, l'arteriosclerosi e la demenza senile: sembrano essere patologie correlate positivamente con un'alimentazione ricca di grassi ed ad elevato contenuto calorico, mentre sono negativamente associate ad una dieta a base di pesce e ricca in n-3.⁸⁻¹⁴

Gli acidi grassi n-3 svolgono inoltre un'azione anti-dislipidemiche, incrementando la "ratio" HDL (high-density lipoproteins)/LDL (low-density lipoproteins) e abbassando i livelli del colesterolo totale, diminuendo così i rischi di coronaropatie.^{15,16} Svolgono anche azione antitrombotica per la capacità di ridurre la concentrazione dei fattori di rischio quali: il trombossano A2 (TXA2), il fattore di attivazione piastrinica (PAF), il fibrinogeno, diminuendo così l'adesione, l'aggregazione piastrinica e potenziando la fibrinolisi.¹⁷⁻²⁰ A livello dei grandi vasi gli omega-3 migliorano la regolazione del tono vasale con riduzione della pressione arteriosa diastolica e sistolica, per inibito rilascio di eicosanoidi ad azione vasocostrittrice, ed aumentata sintesi di ossido nitrico (NO) con spiccate azioni vasodilatanti.²¹

La varietà di effetti benefici apportato dagli n-3, anche a livello di organi che non rappresentano propriamente il loro bersaglio elettivo, è da imputare alla loro capacità di modulare la funzionalità del sistema immunitario che fa da sfondo alla regolare attività di tutti gli altri sistemi.²²

Tali risultati clinici, si sono intrecciati con la ricerca biochimica evidenziando che dall'AL per l'azione di enzimi desaturasi ed elon-

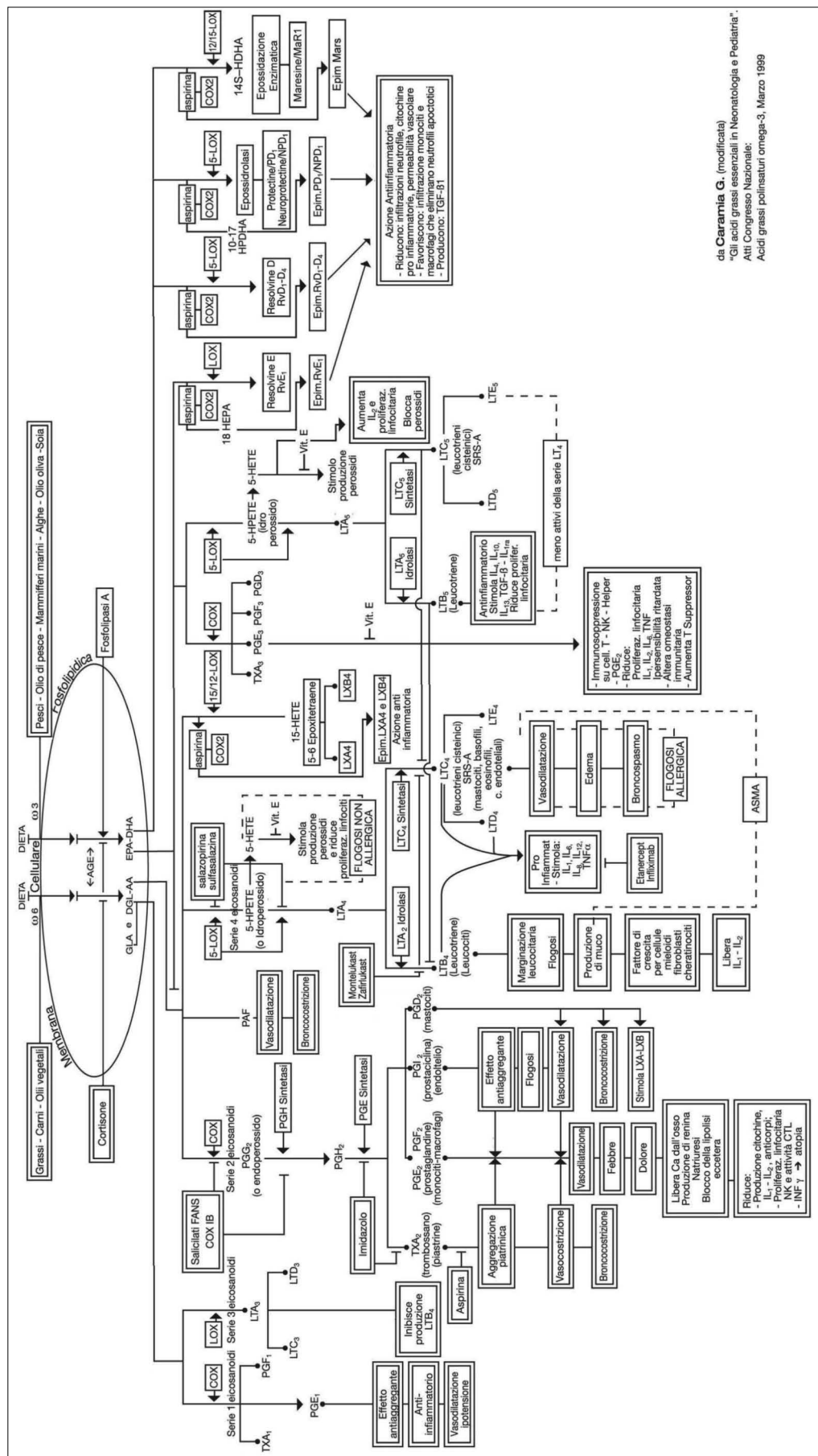


Figura 1.

Cortisone: blocca la Fosfolipasi A e quindi la produzione dei derivati di entrambi gli AGE con conseguente interruzione di tutte le successive reazioni a cascata. **Salicilati e FANS:** bloccano la cicloossigenasi e quindi la produzione di PGZ endopero ossido. **Coxibs:** bloccano tutte le cicloossigenasi nelle varie sedi. **2. Imidazolo:** blocca la PGH sintetasi e quindi la produzione di TX A₂. **Aspirina:** blocca l'azione del TXA₂ nelle piastrine. **Salazopirina e Sulfasalazina:** bloccano la lipossigenasi e quindi la produzione di idrossipero ssido, 5-HETE e dei suoi alcali 5-HETE responsabile di flogosi mentre la vitamina E blocca l'azione di perossidi e la proliferazione di linfociti innescando la flogosi non allergica. **EPA:** blocca l'azione dell'AA e può interferire sulla produzione dei suoi derivati. **PAF:** fattore attivante piastrinico: mediatore lipidico prodotto dai basofili e probabilmente dai mastociti. **Montelukast e Zafirlukast:** bloccano LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄, quindi il quadro infiammazione-asma. **LTB₄ e LTC₄:** inibiscono i corrispettivi LTB₄ e LTC₄. **Vit. E:** inibisce la produzione di perossidi dal derivato dell'idropero ssido (5-HETE), aumenta la LT-2 e la proliferazione linfocitaria ed inibisce l'azione della PGE₂ dovuta ad eccesso di EPA. **5-HETE (idropero ssido):** blocca la vit. E. **Etanercept e Infliximab:** bloccano TNF- α , LTB₄, LTC₄: mediatori pro infiammatori.

Citochine	Macrofagi/Monociti	Linfociti Th1	Th2
Pro infiammatorie	IL-1α · IL-1β · TNFα IL-6 · IL-12 · IL-8	IL-2 · INFγ TNF	IL-4 · IL-13 IL-5 · IL-10
antinfiammatorie	IL-4 · IL-10 TFGβ1 · IL-1ra		

gasi deriva l'acido arachidonico (AA) e dall'ALA l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA). Per l'azione di molteplici enzimi, ciclossigenasi (COX) e lipossigenasi (LOX), su tali PUFA vengono inoltre prodotte varie molecole o mediatori lipidici ad azione simil ormonale, spesso con attività contrapposte, quali prostaglandine, prostacicline, thrombossani, leucotrieni (LT), lipossine (LX), resolvine (Rv. resolution phase interaction products), protectine (PD denominate anche docosatrieni, metaboliti ossigenati del DHA), maresine (MaR - acronimo di Macrophages Resolving Inflammation) che regolano il sistema immunitario, l'aggregazione piastrinica, l'infiammazione ecc. (Tab. 1).²³⁻²⁷

Gli enzimi COX, codificati da geni situati in differenti cromosomi e scoperti alla fine degli anni '80, intervengono nell'ossidazione dell'AA, dell'EPA e del DHA. L'isoforma COX-1 è espressa costitutivamente in una ampia gamma di tessuti normali dove stimola la sintesi delle prostaglandine che regolano le normali attività cellulari, contribuendo a processi fisiologici quali la citoprotezione gastroenterica, il flusso renale e l'aggregazione piastrinica. Questo enzima ha un ruolo importante quando le prostaglandine hanno una funzione protettiva, come nella produzione del muco gastrico o nel mantenimento del flusso ematico renale.

La COX-2, quasi assente in condizioni fisiologiche, è indotta da endotossine batteriche e citochine, è presente nelle sedi dell'infiammazione, è responsabile della formazione delle PG che causano infiammazione, febbre, dolore ed è espressa in risposta a citochine ed ormoni. La funzione di COX-2 e dei suoi eicosanoidi derivati (prostaglandine della serie 2 [PG-2] e trombossani della serie 4 [TX-4]) è probabilmente quella di indurre e promuove la proliferazione e l'angiogenesi per cui la sua inibizione risulta anti-neoplastica.²⁸

La ciclossigenasi-3 (COX-3): si trova nelle cellule del Sistema Nervoso Centrale ed è coinvolta nella genesi del dolore e della febbre.

Le lipossigenasi (LOXs) la prima delle quali scoperta nel 1974, nelle piastrine di sangue umano, catalizzano la diossigenazione degli acidi grassi insaturi trasformandoli nei corrispondenti derivati idroperossidi gli acidi idrossieicosatetraenoici (HETEs), gli acidi idroperossieicosatetraenoici (HpETEs) e i leucotrieni (LTs), più in generale detti eicosanoidi.^{23,29,30}

La famiglia delle LOXs conta diverse isoforme distinte in base alla posizione della diossigenazione inserita sulla catena acilica dell'acido grasso e al tipo di metabolita secondario prodotto. Gli enzimi lipossigenasi -12, -5, e -8 (12-LOX, 5-LOX, 8-LOX) espressi in normali condizioni fisiologiche, vengono trascritti e tradotti con maggiore frequenza dalla cellula durante le fasi iniziali della carcinogenesi con un conseguente aumento della loro attività.

La doppia funzionalità, pro- e anti-infiammatoria e cancerogena caratteristica degli enzimi COXs e LOXs, suggerisce un equilibrio all'interno della cellula tra i relativi eicosanoidi da esse prodotti, il disturbo di tale equilibrio sfocia in uno stato di disordine generale e infiammatorio che potrebbe essere implicato nelle fasi iniziali della tumori genesi^{27,31} (Tab. 1).

Le indagini che sono seguite, hanno evidenziato che nella progressione dell'infiammazione, l'interazione fra piastrine, leucociti ed altre cellule, stimolerebbe dapprima la formazione di mediatori lipidici eicosanoidi pro infiammatori e poi, con un meccanismo secondo alcuni programmato e legato ad un "orologio", situato nei neutrofili, darebbe luogo alla produzione di mediatori lipidici eicosanoidi anti infiammatori. Tale processo sarebbe attivato nella sede dell'infiammazione da un circuito di molteplici segnali chimici intra ed extracellulari ancora da chiarire, dipendente, in ogni singolo individuo, da età, fattori genetici, metabolici, nutrizionali. Fra questi ultimi gli AGE assunti con la dieta svolgono un ruolo di primo piano.²³ Infatti, nella sede dell'infiammazione, dopo la produzione di mediatori lipidici e citochine pro-infiammatorie, la formazione delle lipossine, LXA4 e LXB4, attraverso segnali programmati, riduce l'afflusso di neutrofili, l'adesione alle cellule endoteliali, la permeabilità vascolare. Favorisce inoltre l'infiltrazione non flogistica di monociti, utili per la risoluzione delle lesioni, e stimola i macrofagi^{23,24}. Questi ultimi, oltre ad inibire la produzione di citochine pro infiammatorie e a produrne di anti-infiammatorie quali il transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), inglobano ed eliminano i neutrofili apoptotici drenandoli, con i vasi linfatici, ai linfonodi satelliti e ripulendo la sede dell'infiammazione.²⁷

Dopo le LXA4, che riducono anche il dolore da infiammazione, intervengono nella risoluzione dell'infiammazione le resolvine della serie E (RvE derivate dall'EPA)²⁶ poi, derivate tutte dal DHA, le resolvine della serie D (RvD), le protectine (PD) dette anche neuroprotectine D (NPD) se prodotte dalle cellule nervose. Le Rvs E, D e le PD hanno simile azione pro risolutiva e anti infiammatoria, ma agiscono su recettori diversi, proteggendo i tessuti da infiammazione, stress ossidativo ed infezione, favorendo la guarigione. Le PD e le NPD prodotte dal DHA di neutrofili e tessuto nervoso nella risoluzione dell'infiammazione acuta, hanno azione immunoregolatoria e protettiva nei vari parenchimi, in particolare sistema nervoso, retina e apparato respiratorio.³⁰ Riducono anche afflusso e numero dei PMN negli essudati contrastandone l'attivazione, bloccano in vivo la migrazione delle cellule T, inibiscono la secrezione di TNF-alfa e di interferon gamma e promuovono l'apoptosi e la risoluzione del processo infiammatorio. Dal DHA dei macrofagi per azione delle 12-LOX e 5-LOX, sono prodotte le MaR mediatori lipidici anti infiammatori con potenza simile alle RvE1 e PD1. Riducono l'infiltrazione dei PMN riducendo così infiammazione e stress ossidativo, stimolano la fagocitosi aumentando la capacità dei macrofagi di rimuovere, dalla sede dell'infiammazione, le cellule apoptotiche, quelle necrotiche e le eventuali particelle microbiche.^{23,26,27,29} Mediatori lipidici epimeri delle RvE, RvD PD e MaR, possono essere generati dall'aspirina, per azione delle ciclossigenasi-2 (COX2) ed hanno un effetto nella sede d'infezione simile alle molecole originali favorenti la "restitutio ad integrum". L'insieme di tali eventi, condizionato anche da fattori genetici, è stato chiamato "catabasis" cioè risoluzione del processo infiammatorio.^{23, 26,27,29} La scoperta dei metaboliti bioattivi, Rvs E, Rvs D, PD e infine le MaR evidenzia il ruolo degli AGE omega-3 sulle malattie infiammatorie/degene-

ative, prospettando possibili approcci terapeutici se si riuscisse a realizzare degli analoghi con simili effetti terapeutici e senza effetti avversi.^{27,29-32}

Da alcuni anni è inoltre emerso che il metabolismo ossidativo degli AGE non è appannaggio solo degli enzimi COX e LOX, ma è specifico anche di una superfamiglia di enzimi e di diversi isoenzimi, indicati come citocromi P450 (CYPs) che danno origine a molteplici mediatori lipidici.

Tali enzimi, presenti in tutte le classi di organismi viventi, per cui si pensa si siano originati milioni di anni fa, sono ubiquitari, prevalentemente localizzati nelle membrane del reticolo endoplasmatico liscio e genericamente costituiti da un gruppo prostetico, la ferroprotoporfirina IX, e da un polipeptide. Sono codificati da singoli geni e svolgono un ruolo anche sul catabolismo del colesterolo, nella biosintesi degli ormoni steroidei, nel metabolismo di farmaci ecc. I CYP sono presenti soprattutto nelle cellule dei tessuti epatici e renali e le sottofamiglie 4A, 2E e 2C sono quelle più strettamente associate al metabolismo degli acidi grassi.

Le epossigenasi e le idrossilasi sono due principali famiglie di enzimi CYP, che intervengono nel metabolismo degli acidi grassi, ed hanno la funzione di trasformare, mediante reazioni di ossidazione e di idrossilazione, vari acidi grassi essenziali in derivati secondari diversi dai prostanoidei (Prostaglandina PGE₁, PGI₂ e Prostaciclina) e dai leucotrieni e cioè a prodotti epossigenati (metabolizzati a loro volta soprattutto dall'enzima solubile epossido idrolasi [sEH]) ed

idrossilati.^{33,34} Tali enzimi agendo sugli AGE, sui PUFA e sui LCPUFA danno luogo a più di 100 mediatori lipidici (Fig. 1).³⁵

AL: l'eossidazione e l'idrossilazione determinano rispettivamente la produzione di acidi che sembrano svolgere azioni benefiche, gli epossioctadecamonoeni (EpOMEs), e di acidi idrossioctadecadienici (HODEs): di entrambi però non è ancora ben noto il significato biologico.

AA: l'eossidazione dà luogo a quattro isomeri gli acidi epossieicosatrienoici (EETs) alcuni dei quali però prevalgono in alcuni tessuti es. cuore, rene, agendo sugli elettroliti Ca e sui canali del K, muscolatura liscia dei vasi, con azione anti-infiammatoria sull'endotelio vascolare, cardioprotettiva, vasodilatoria, anti-ipertensiva (il CYP2J2): una loro riduzione dà luogo ad aumento della pressione arteriosa e a disfunzione endoteliale.^{36,37} Alcune isoforme (la stessa CYP2J2 e CYP2C) però producono delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), promuovono il fenotipo neoplastico inducendo la trasformazione e la proliferazione di cellule tumorali e fornendo loro resistenza all'attivazione di un programma apoptotico.³⁸

AA: l'idrossilazione dà luogo alla produzione di acidi idrossieicosatetraenoici (HETE) il più importante il 20-HETE, prodotto dalle sottofamiglie CYP4A e CYP4F, nel fegato, reni e apparato cardiovascolare, è potente vasoconstrictore a livello del microcircolo cardiaco. Agisce pertanto in maniera opposta agli EET e si riscontra aumentato in corso di ischemia e patologia cerebrovascolare, renale, ipertensione, diabete e gravidanza.³⁹⁻⁴¹ Alcune isoforme però

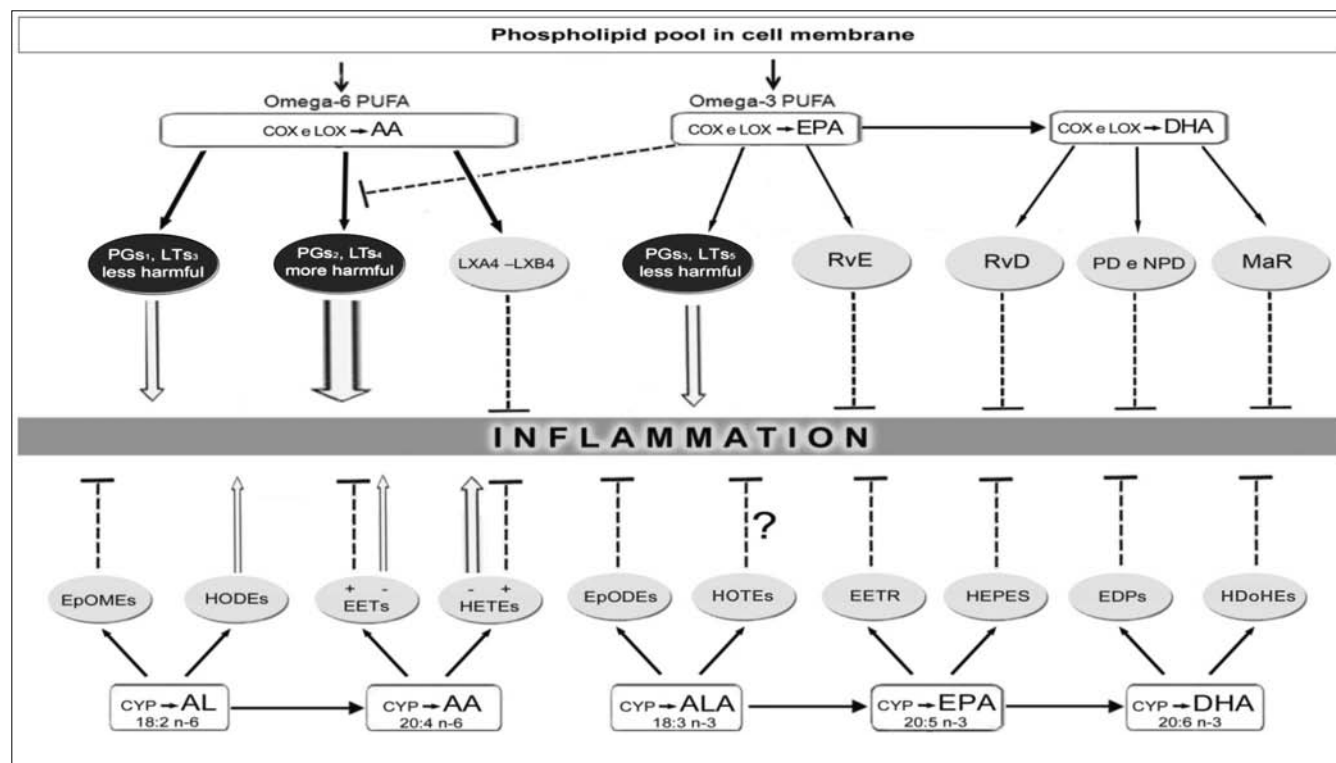


Figura 1.

Mediatori lipidici con azione pro e anti infiammatoria

Mediatori lipidici derivati da AGE e PUFA per azione delle COX e LOX (in alto) e degli enzimi CYP (in basso). I CYP per epossidazione producono composti epossigenati (E) e per idrossilazione composti idrossilati (H). Le linee tratteggiate indicano blocco dell'infiammazione ed effetti benefici di varia natura; le frecce continue indicano stimolo all'infiammazione ed effetti dannosi. Isoforme di enzimi CYP possono agire su AA, EPA e DHA determinando effetti positivi o negativi.

EpOMEs: acidi epossioctadecamonoeni; **HODEs:** acidi idrossioctadecadienici; **EETs:** acidi epossieicosatrienoici; **HETEs:** acidi idrossieicosatetraenoici; **EpODEs:** acidi epossioctadecadienici; **HOTEs:** acidi idrossioctadecatrienici; **EETR:** acidi epossieicosatetraenoici; **HEPES:** acidi idrossieicosapentaenoici; **EDPs:** acidi epossidocapentaenoici; **HDoHEs:** acidi idrossidocosaeisenoici.

producono il 18-HETE e il 19-HETE che determinano vasodilatazione, prevengono il danno endoteliale ed inibiscono l'azione del 20-HETE per cui sono allo studio composti inibitori della sintesi dell'acido 20-HETE.⁴²

ALA: dall'epossidazione derivano gli acidi epossioctadecadienoici (EpODEs) mentre dall'idrossilazione derivano gli acidi idrossioctadecatrienoici HOTEs: gli studi sui loro effetti devono ancora fornire dei dati attendibili.

EPA e DHA: l'epossidazione dell'EPA dà luogo all'acido 17,18-epossicosatetraenoico (EETr) e quella del DHA al 19,20-epossidocosapentaenoico (EDP) (43,44). Sono i maggiori metaboliti nel cuore dell'uomo dopo assunzione di EPA/DHA. Soprattutto l'EETr determina rilassamento della muscolatura liscia delle vie aeree, dilatazione dell'arteria polmonare e azione anti-infiammatoria e anti-ritmica. Alcune isoforme (CYP2C e CYP2C23) metabolizzano più EPA e DHA che AA.⁴⁵

EPA e DHA: l'idrossilazione dell'EPA (attuata da varie isoforme), dà luogo all'acido 20-HEPE cioè il 20-idrossieicosapentaenoico e quella del DHA al 22-idrossidocosaeisanoico (22-HDHE) che ha azioni simili; sono in competizione con il 20-HETE derivati dall'AA e metabolizzano meglio EPA e DHA rispetto all'AA con produzione di metaboliti utili all'organismo.^{40,41}

La doppia funzionalità, pro- e anti infiammatoria e cancerogena, non solo dei prodotti degli enzimi COX e LOX ma anche di quelli della famiglia degli enzimi CYP, conferma la necessità di un equilibrio nella cellula tra i vari eicosanoidi la cui alterazione potrebbe favorire un vasto quadro di condizioni patologiche.

Infine, dal 1992, è emerso che dall'AA di macrofagi, piastrine e dei neuroni (per depolarizzazione della membrana ed aumento intracellulare di Ca²⁺), derivano degli altri mediatori lipidici, l'endocannabinoide anandamide (AEA, dal sanscrito "ananda", beatitudine) scoperta nel 1992, il 2-arachidonilglicerolo (2-AG) ed altri ancora quali il 2-arachidonil gliceril etere (noladina), la virodamina (O-arachidonil etanolamina) e l'N-arachidonil-dopamina (NADA).⁴⁶

Tali composti sono simili al primo cannabinoide scoperto nel 1964, il Δ⁹-tetraidrocannabinolo (THC), componente psicoattivo della Cannabis sativa o canapa indiana pianta conosciuta ed utilizzata per alcune sue azioni terapeutiche dalla medicina popolare cinese dal 3.000 a. C.^{47,48} Gli studi sulle potenziali applicazioni terapeutiche dei derivati della Cannabis a livello di sistema nervoso, hanno evidenziato che tali mediatori lipidici sono piccole molecole, piuttosto diverse da qualunque altro neurotrasmettitore conosciuto. Per la loro natura lipidica sono prodotti "a richiesta" e la sintesi avviene a partire da fosfolipidi di membrana, precursori che, dopo idrolisi attuata da specifici enzimi, liberano, rispettivamente, gli endocannabinoidi AEA o 2-AG dalla membrana post sinaptica, nello spazio intersinaptico.^{46,49} Non vengono immagazzinati nelle vescicole sinaptiche ma, altrettanto rapidamente vengono rimossi dallo spazio extracellulare sia ad opera di una idrolasi specifica, sia mediante meccanismi di trasporto all'interno della cellula, la cui natura non è stata ancora chiarita. I cannabinoidi naturali, di sintesi e gli endocannabinoidi sono in grado di legare ed attivare specifici recettori accoppiati alla proteina G delle membrane cellulari quali il recetto-

re CB1 e il CB2. Il CB1 scoperto nel 1990, è presente soprattutto nel SNC e periferico (strati 1 e 6 della corteccia, ippocampo, ipotalamo, nuclei talamici, cervelletto, tronco encefalico, gangli della base) ma anche in periferia (occhio, intestino, fegato, vescica, muscolo e tessuto adiposo). Il recettore CB2 individuato per la prima volta nel 1993, è presente nelle cellule immunocompetenti ed anche nel sistema immunitario periferico (timo, linfonodi, tonsille, midollo osseo, milza, pancreas). Il CB2 però è stato localizzato anche nel sistema nervoso, inizialmente solo nelle cellule gliali, dunque immunitarie, e successivamente nel cervelletto e nella corteccia.⁵⁰ La stimolazione dei recettori CB1, che avviene preferibilmente dall'anandamide, è responsabile degli effetti euforizzanti dei cannabinoidi derivati dalla marijuana ed anche della loro azione antiemetica, antiossidante, ipotensiva, immunosoppressiva, antinfiammatoria, analgesica, antispastica e stimolante dell'appetito. La stimolazione dei recettori CB2, che avviene preferibilmente da parte del 2-AG, sembra essere invece responsabile principalmente dell'azione infiammatoria e immunomodulatrice dei cannabinoidi.⁵¹

Gli endocannabinoidi con le proteine coinvolte nel loro trasporto e metabolismo e con i recettori di membrana CB1 e CB2 (ma ci sono crescenti evidenze dell'esistenza di ulteriori recettori cannabinoidi), formano il sistema endocannabinoide che è coinvolto nel controllo: dell'attenzione, della memoria, dell'apprendimento, dell'emozioni e comportamento; della postura, dell'equilibrio e del movimento, del bilancio energetico; del metabolismo del glucosio, dei lipidi e del peso corporeo, mentre nei neuroni del sistema mesolimbico modula l'assunzione di alimenti dolci o grassi; della sensibilità a stimoli dolorosi e piacevoli; della neuroprotezione del SNC da sovrastimolazione o sovrainibizione da altre sostanze; dello sviluppo neuronale, cerebrale e plasticità sinaptica; delle funzioni immunitarie e dell'infiammazione; della secrezione di ghiandole endocrine; della maturazione di spermatozoi, funzione ovarica e attecchimento dell'embrione; della vasodilatazione e ipotensione; dei processi di proliferazione cellulare alla base della crescita dei tumori.^{52-58;21-25}

Recenti indagini hanno evidenziato che l'anandamide è inattivata dall'enzima idrolasi FAAH (fatty acid amide hydrolase) per cui, si stanno ricercando inibitori di tale enzima o di aumentarne la componente endogena per il trattamento del dolore e dell'infiammazione.⁵⁸⁻⁶⁰ Del tutto recentemente è però emerso che quando i lipidi vengono percepiti in bocca, parte uno stimolo molecolare che va al cervello e da qui di ritorno all'intestino, dove determina la produzione di due endocannabinoidi, l'AEA e il 2-AG. Questi si legano al loro recettore CB-1, e, molto verosimilmente, regolano il rilascio di sostanze chimiche coinvolte nella fame e nella sazietà. Tali sostanze a loro volta inviano al cervello segnali che richiedono l'assunzione di altri grassi e cibo. Il circolo vizioso, difficilmente soddisfabile, è quindi sostenuto dagli endocannabinoidi che modulano il senso di appetito e di sazietà e, in sostanza, creano una certa dipendenza.

Secondo gli studiosi, il meccanismo troverebbe origine nei nostri antenati del Pleistocene che hanno vissuto a lungo nella savana dove i cibi grassi erano scarsi e quindi preziosi per la sopravvivenza in quanto rappresentavano un'importante e primaria fonte di energia per cui l'organismo tendeva a ricercarli e ad immagazzinarli. Ma,

oggi, non è più così, sia perché nell'ambiente in cui viviamo abbiamo a disposizione tutti i nutrienti di cui abbiamo bisogno, sia perché lo sforzo fisico a cui siamo sottoposti è molto minore rispetto al passato. Tale meccanismo, necessario nel passato, è così diventato oggi responsabile di obesità, diabete, aterosclerosi, neoplasie ecc. A conferma di ciò, è interessante notare che, topi CB1 knockout sono resistenti all'obesità indotta dall'assunzione di alimenti ad alto contenuto calorico.

La messa a punto di inibitori degli endocannabinoidi a livello intestinale e non centrale, privi di effetti collaterali quali ansia, depressione ecc. come il Rimonabant, potrebbe ridurre il desiderio di cibi grassi e cibo e rappresentare un'importante presidio terapeutico contro l'obesità, patologia infiammatoria cronica oggi a carattere endemico.⁶¹

I molteplici mediatori lipidici degli acidi grassi essenziali si stanno pertanto rivelando sempre più degli elementi di primo piano nella salute dell'uomo per cui sono un corso molti studi per potenziarne l'efficacia e/o per mettere a punto degli analoghi con effetti terapeutici.

Bibliografia

- ¹ Bang HO, Dyerberg J, Hjøorne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand*. 1976;200(1-2):69-73..
- ² Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, et al. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet*. 1978;2(8081):117-19.
- ³ De Lorgeril, Salen. Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2004; 14(3):162-9.
- ⁴ Breslow JL. n-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2006Jun;83(6 Suppl):1477S-82S.
- ⁵ Cleland LG, James MJ, Proudman SM. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drugs* 2003; 63(9): 845-53.
- ⁶ Bougnoux P, Hajjaji N, Ferrasson MN, Giraudeau B, et al. Improving outcome of chemotherapy of metastatic breast cancer by docosahexaenoic acid: a phase II trial. *Br J Cancer*. 2009;101(12):1978-85.
- ⁷ Caramia G. Gli acidi grassi essenziali omega-3: influenza sull'organismo e nuove prospettive terapeutiche Giornate Nazionali di Nutrizione Pratica Milano. 2009; 100-115.
- ⁸ Grant WB. Dietary links to Alzheimer's disease: 1999 update. *J Alzheimers Dis*. 1999;1(4-5):197-201.
- ⁹ Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, et al. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2003;60(7):940-46.
- ¹⁰ Alessandri JM, Guesnet P, Vancassel S, Astorg P, et al. Polyunsaturated fatty acids in the central nervous system: evolution of concepts and nutritional implications throughout life. *Reprod Nutr Dev*. 2004;44(6):509-38
- ¹¹ Yao JK, Sistilli CG, van Kammen DP. Membrane polyunsaturated fatty acids and CSF cytokines in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent. Fatty Acids*. 2003;69(6):429-36.
- ¹² Zamaria N. Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. *Reprod Nutr Dev*. 2004;44(3):273-82.
- ¹³ Young G, Conquer J. Omega-3 fatty acids and neuropsychiatric disorders. *Reprod. Nutr.Dev*. 2005; 45(1):1-28.
- ¹⁴ Solfrizzi V, Frisardi V, Capurso C, D'Introno A, et al. Dietary fatty acids in dementia and predementia syndromes: epidemiological evidence and possible underlying mechanisms. *Ageing Res Rev*. 2010;9:184-99.
- ¹⁵ Harris WS, Park Y, Isley WL. Cardiovascular disease and long-chain omega-3 fatty acids. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14(1): 9-14.
- ¹⁶ Saremi A, Arora R. The utility of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. *Am J Ther*. 2009;16:421-36.
- ¹⁷ McCowen KC, Bistran BR.. Essential fatty acids and their derivatives. *Curr Opin Gastroenterol*. 2005; 21(2):207-15.
- ¹⁸ Shahidi F, Miraliakbari H. Omega-3 (n-3) fatty acids in health and disease: Part 1-cardiovascular disease and cancer. *J Med Food* 2004 Winter;7(4):387-401.
- ¹⁹ Schmidt EB, Arnesen H, de Caterina R, Rasmussen LH, et al. Marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease. Part I. Background, epidemiology, animal data, effects on risk factors and safety. *Thromb Res*. 2005;115(3):163-70.
- ²⁰ Caramia G. Omega-3:dall'olio di fegato di merluzzo alla nutrigenomica. *Minerva Pediatr* 2008;60:443-55.
- ²¹ de Leiris J, de Lorgeril M, Boucher F. Fish oil and heart health. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;54:378-84.
- ²² Calder PC, Yaqoob P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. *Biofactors*. 2009 ; 35(3):266-72.
- ²³ Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005;12:1191-97.
- ²⁴ Serhan CN. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol Clin* 2006;24:341-64.
- ²⁵ Caramia G, Fanos V. Mediatori lipidici, infezioni e infiammazioni: evoluzione delle conoscenze e prospettive terapeutiche. *Giorn Ital Mal Infet Ped*. 2007;9:15-27.
- ²⁶ Svensson CI, Zattoni M, Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxin stop inflammatory pain processing. *J Exp Med*. 2007;204:245-52.
- ²⁷ Caramia G. Gli acidi grassi essenziali omega-3 ed omega-6:dalla loro scoperta alle prospettive terapeutiche. *Minerva Pediatr*. 2008;60(2):219-33.
- ²⁸ Clària J, Romano M. Pharmacological intervention of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. Impact on inflammation and cancer. *Curr Pharm Des*. 2005;11(26):3431-47.
- ²⁹ Serhan CN. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *J Thromb Haemost*. 2009;7 Suppl 1:44-48.
- ³⁰ Caramia G. Omega-6 e omega-3: dalla scoperta delle prostaglandine ai nuovi mediatori lipidici anti infiammazione: prospettive terapeutiche. *Progress In Nutrition* 2010; 12:137-59.
- ³¹ González-Pérez A, Clària J. New approaches to the modulation of the cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. *Curr Top Med Chem*. 2007;7(3):297-309.
- ³² Norling LV, Serhan CN. Profiling in resolving inflammatory exudates identifies novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators and signals for termination. *J Intern Med*. 2010;268(1):15-24.
- ³³ Capdevila J, Chacos N, Werringer J, Prough RA, et al. Liver microsomal cytochrome P-450 and the oxidative metabolism of arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(9):5362-66.
- ³⁴ Campbell WB, Gebremedhin D, Pratt PF, Harder DR. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*. 1996;78(3):415-23.
- ³⁵ Levick SP, Loch DC, Taylor SM, Janicki JS. Arachidonic acid metabolism as a potential mediator of cardiac fibrosis associated with inflammation. *J Immunol* 2007;178:641-46.

- ³⁶ Spector AA. Arachidonic acid cytochrome P450 epoxygenase pathway. *J Lipid Res* 2009;50:S52-S56.
- ³⁷ Sato M, Yokoyama U, Fujita T, Okumura S et al. The roles of Cytochrome P450 in ischemic heart disease. *Current Drug Metabolism* 2011; 12(6):526-32.
- ³⁸ Jiang JG, Chen CL, Card JW, Yang S, et al. Cytochrome P450 2J2 promotes the neoplastic phenotype of carcinoma cells and is up-regulated in human tumors. *Cancer Res.* 2005;65(11):4707-15.
- ³⁹ Minuz P, Jiang H, Fava C, Turolo L, et al. Altered release of cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in renovascular disease. *Hypertension* 2008;51:1379-85.
- ⁴⁰ Arnold C, Konkol A, Fischer R, Schunck WH. Cytochrome P450-dependent metabolism of omega-6 and omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pharmacol Rep.* 2010;62(3):536-47.
- ⁴¹ Konkol A, Schunck WH. Role of cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1814(1):210-22.
- ⁴² Snider NT, Walker VJ, Hollenberg PF. Oxidation of the endogenous cannabinoid arachidonoyl ethanolamide by the cytochrome P450 monooxygenases: physiological and pharmacological implications. *Pharmacol Rev.* 2010;62(1):136-54.
- ⁴³ Arnold C, Markovic M, Blossey K, Wallukat G, et al. Arachidonic acid-metabolizing cytochrome P450 enzymes are targets of {omega}-3 fatty acids. *J Biol Chem.* 2010;285(43):32720-33.
- ⁴⁴ Falck JR, Wallukat G, Puli N, Goli M, et al. 17(R),18(S)-epoxyeicosatetraenoic acid, a potent eicosapentaenoic acid (EPA) derived regulator of cardiomyocyte contraction: structure-activity relationships and stable analogues. *J Med Chem.* 2011;54(12):4109-18.
- ⁴⁵ Morin C, Sirois M, Echavé V, Albadine R, et al. 17,18-epoxyeicosatetraenoic acid targets PPAR α and p38 mitogen-activated protein kinase to mediate its anti-inflammatory effects in the lung: role of soluble epoxide hydrolase. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010;43(5):564-75.
- ⁴⁶ Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003;4:873-84.
- ⁴⁷ Hansen HS. New biological and clinical roles for the n-6 and n-3 fatty acids. *Nutr Rev.* 1994;52:162-67.
- ⁴⁸ Musty RE, Reggio P, Consroe P. A review of recent advances in cannabinoid research and the 1994 International Symposium on Cannabis and the Cannabinoids. *Life Sci.* 1995;56(23-24):1933-40.
- ⁴⁹ Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature.* 1997;388(6644):773-78.
- ⁵⁰ Van Sickle M., Duncan M., Kingsley P., Mouihate A., et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005;310: 329-32.
- ⁵¹ Piet R, Garenne A, Farrugia F, Le Masson G, et al. State-dependent, bidirectional modulation of neural network activity by endocannabinoids. *J Neurosci.* 2011;31(46):16591-96.
- ⁵² Zanettini C, Panlilio LV, Alici M, Goldberg SR, et al. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:57.
- ⁵³ Sigel E, Baur R, Rácz I, Marazzi J, et al. The major central endocannabinoid directly acts at GABAA receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(44):18150-55.
- ⁵⁴ Frazier CJ. Key questions of endocannabinoid signalling in the CNS: which, where and when? *J Physiol.* 2011; 589(Pt 20):4807-08.
- ⁵⁵ Cunha P, Romão AM, Mascarenhas-Melo F, Teixeira HM, et al. Endocannabinoid system in cardiovascular disorders - new pharmacotherapeutic opportunities. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(3):350-60.
- ⁵⁶ Cunha P, Romão AM, Mascarenhas-Melo F, Teixeira HM, Reis F. Endocannabinoid system in cardiovascular disorders - new pharmacotherapeutic opportunities. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(3):350-60.
- ⁵⁷ Hermanson DJ, Marnett LJ. Cannabinoids, endocannabinoids, and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2011;30(3-4):599-612.
- ⁵⁸ Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7:438-55.
- ⁵⁹ Schlosburg JE, Kinsey SG, Lichtman AH. Targeting fatty acid amide hydrolase (FAAH) to treat pain and inflammation. *AAPS J* 2009;11:39-44.
- ⁶⁰ Snider NT, Walker VJ, Hollenberg PF. Oxidation of the endogenous cannabinoid arachidonoyl ethanolamide by the cytochrome P450 monooxygenases: physiological and pharmacological implications. *Pharmacol Rev.* 2010;62(1):136-54.
- ⁶¹ DiPatrizio NV, Astarita G, Schwartz G, Li X, Piomelli D. Endocannabinoid signal in the gut controls dietary fat intake. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(31):12904-08.
- ⁶² Caramia G. Dagli acidi grassi essenziali agli endocannabinoidi. Evoluzione delle conoscenze. Atti Convegno Nazionale Congiunto - 84° Convegno Società Italiana Biologia Sperimentale. - 5° Convegno Associazione Ricercatori Nutrizione e Alimenti. La biologia sperimentale e la nutrizione: le scienze della materia vivente. Bologna 1-3 Dicembre 2011;50-54.