



# ATTI

*Convegno nazionale congiunto*

**84° convegno SIBS**

**5° convegno ARNA**

## LA BIOLOGIA SPERIMENTALE E LA NUTRIZIONE: LE SCIENZE DELLA MATERIA VIVENTE

**Bologna 1-3 Dicembre 2011**

**Facoltà di Medicina Veterinaria**

**Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie**

**Università degli Studi di Bologna**



## DAGLI ACIDI GRASSI ESSENZIALI AGLI ENDOCANNABINOIDI EVOLUZIONE DELLE CONOSCENZE

G. Caramia

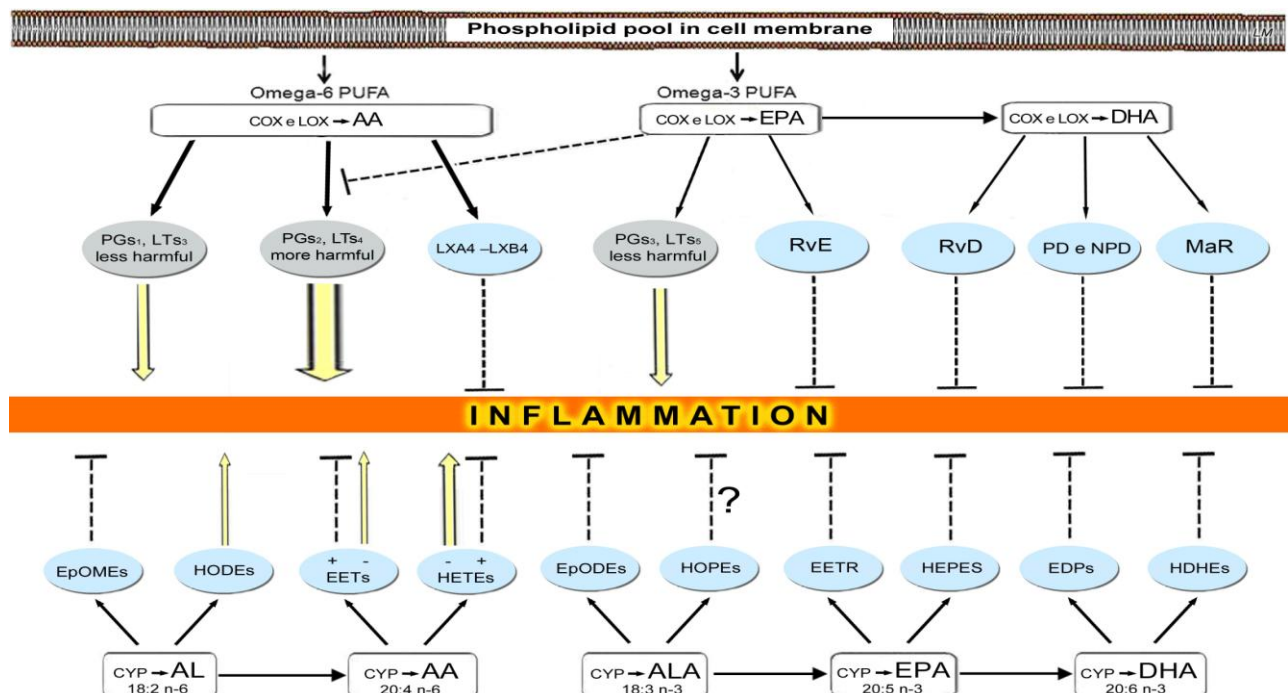
Prof. Dr. G. Caramia MD, Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia, Azienda Ospedaliera Specializzata Materno-Infantile "G.Salesi", Ancona - ITALY; email: [caramiagn@libero.it](mailto:caramiagn@libero.it); [www.bambinoprogettosalute.it](http://www.bambinoprogettosalute.it)

Nel 1929 Burr e Burr, hanno scoperto che l'uomo e gli animali, devono introdurre con la dieta l'acido linoleico (AL) e l'acido alfa linolenico (ALA) per mantenere l'organismo in buone condizioni di salute: per tale motivo sono stati chiamati acidi grassi essenziali (AGE). Successivamente è emerso che per l'azione delle desaturasi ed elongasi dall'AL deriva l'acido arachidonico (AA) e dall'ALA l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA), acidi grassi polinsaturi (PUFA) e a lunga catena (LCPUFA) importanti nella composizione delle membrane cellulari, nei processi metabolici, energetici e in molte interazioni cellulari. Inoltre per l'azione delle ciclossigenasi (COX) e lipossigenasi (LOX) vengono prodotte varie molecole, o mediatori lipidici, ad azione simil ormonale, spesso con attività contrapposte. Fra queste vanno ricordate le prostaglandine, prostaciline, trombossani, 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 sistema immunitario, aggregazione piastrinica, infiammazione ecc.

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 (1). 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 (2,3). Questi ultimi, oltre ad inibire la produzione di citochine pro infiammatorie e a produrne di anti-infiammatorie quali il transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), inglobano ed eliminano i neutrofili apoptotici drenandoli, con i vasi linfatici, ai linfonodi satelliti e ripulendo la sede dell'infiammazione (Caramia 2008). Dopo le LXA4, che riducono anche il dolore da infiammazione, intervengono nella risoluzione dell'infiammazione le resolvine della serie E (RvE derivate dall'EPA) (4) 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 (Caramia 2008). 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 (5,6). 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 (5,6). La scoperta dei metaboliti bioattivi, Rvs E, Rvs D, PD e infine le MaR evidenzia il ruolo degli AGE omega-3 sulle malattie infiammatorie/degenerative, prospettando possibili approcci terapeutici se si riuscisse a realizzare degli analoghi con simili effetti terapeutici e senza effetti avversi (5-7). Da alcuni anni è inoltre emerso che il metabolismo ossidativo degli AGE non è appannaggio solo degli enzimi COX e LOX, ma anche degli enzimi citocromo P450 (CYP). Due principali branche di enzimi CYP, le epossigenasi e le idrossilasi, determinano la produzione di composti diversi dai prostanoidi (Prostaglandina PGE1, PGI2 e Prostaciclina) e dai leucotrieni e danno luogo a prodotti epossigenati (metabolizzati a loro volta soprattutto dall'enzima solubile epossido idrolasi (sEH]) ed idrossilati, (8,9). Gli AGE, i PUFA e i LCPUFA sono pertanto dei substrati sui quali agiscono tali enzimi dando luogo a più di 100 metaboliti (Fig. 1) (10).

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



**Fig. 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 eossidazione 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 epossioctadecamonoenici ; HODEs: acidi idrossioctadecadienoici; EETs: acidi epossieicosatrienoici; HETEs: acidi idrossieicosatetraenoici; EpOME: acidi epossioctadecamonoenici; HDoHE: acidi idrossidocosaesaenoici; EETr: acidi eposseicosatetraenoici; HEPEs: acidi idrossieicosapentaenoici; EDP: acidi epossidocosaesaenoici; HDHEs: acidi idrossidocosaesaenoici

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, vasodilatatoria, anti-ipertensiva (il CYP2J2): una loro riduzione dà luogo ad aumento della pressione arteriosa e a disfunzione endoteliale (11,12). Alcune isoforme 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 (CYP2J2) (13).

AA: l'idrossilazione dà luogo alla produzione di acidi idrossieicosatetraenoici (HETEs) 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 di tali tessuti. Agisce pertanto in maniera opposta agli EET e si riscontra aumentato in corso di ischemia e patologia cerebrovascolare, renale, ipertensione, diabete e gravidanza (14-16). Alcune isoforme però 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 (17).

EPA e DHA: l'eossidazione dell'EPA dà luogo all'acido 17,18- epossieicosatetraenoico (EETr) e quella del DHA al 19,20- epossidocosapentaenoico (EDP) (18,19). 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 antiaritmica. Alcune isoforme (CYP2C e CYP2C23) metabolizzano più EPA e DHA che AA (20).

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 (15,16).

La doppia funzionalità, pro- e anti infiammatoria e cancerogena, degli enzimi COX, LOX e CYP, suggerisce un equilibrio nella cellula tra i vari eicosanoidi la cui alterazione potrebbe favorire anche la genesi dei tumori.

Infine, dal 1992, è emerso che dall'AA di macrofagi, piastrine e dai neuroni (per depolarizzazione della membrana ed aumento intracellulare di Ca<sup>2+</sup>), derivano dei neurotrasmettitori lipidici, l'endocannabinoide anandamide (AEA, dal sanscrito "ananda", beatitudine), il 2-arachidonilglicerolo (2-AG) il 2- arachidonil gliceril etere (noladina, 2-AGE), la virodamina (O-arachidonil etanolamina) e l'N-arachidonil-dopamina (NADA). Tali endocannabinoidi con le proteine coinvolte nel loro trasporto e metabolismo e con i recettori di membrana CB1, presenti soprattutto nel SNC, e CB2 nelle cellule immunocompetenti, formano il sistema endocannabinoide che è coinvolto nel controllo: dell'attenzione, memoria, apprendimento, emozioni, e comportamento; della postura, equilibrio e coordinazione del movimento; 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 (21-25). Recenti indagini inoltre hanno evidenziato che quando i lipidi vengono percepiti in bocca, parte uno stimolo al cervello e da qui all'intestino, a produrre endocannabinoidi. Questi a loro volta inviano al cervello segnali che richiedono l'assunzione di altri grassi e cibo: circolo vizioso difficilmente soddisfabile. Tale meccanismo troverebbe origine nei millenni in cui i cibi grassi erano scarsi e quindi preziosi, per cui l'organismo tendeva a ricercarli e immagazzinarli. Oggi però è responsabile di obesità, diabete, aterosclerosi. La messa a punto di inibitori degli endocannabinoidi a livello intestinale e non centrale, privi di effetti collaterali come il Rimonobant, potrebbero rappresentare un'importante presidio terapeutico contro l'obesità patologia infiammatoria cronica oggi a carattere endemico. Gli acidi grassi essenziali continuano a riservarci inaspettate sorprese (26).

## BIBLIOGRAFIA

- 1 - Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005;12:1191-97.
- 2 - Serhan CN. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol Clin* 2006;24:341-64.
- 3 - Caramia G. Omega-3:dall'olio di fegato di merluzzo alla nutrigenomica. *Minerva Pediatr* 2008;60:443-55.
- 4 - Svensson CI, Zattoni M, Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxin stop inflammatory pain processing. *J Exp Med*. 2007;204:245-52.
- 5 - 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.
- 6 - 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.
- 7 - 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.
- 8 - Capdevila J, Chacos N, Werringloer 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.
- 9 - Campbell WB, Gebremedhin D, Pratt PF, Harder DR. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*. 1996;78(3):415-23.
- 10 - 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.
- 11- Spector AA. Arachidonic acid cytochrome P450 epoxygenase pathway. *J Lipid Res* 2009;50:S52-S56
- 12 - Sato M, Yokoyama U, Fujita T, Okumura S et al. The roles of Cytochrome P450 in ischemic heart disease. *Current Drug Metabolism* 2011 Apr 8.
- 13 - 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.
- 14 - 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.
- 15 - 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.
- 16 - Konkol A, Schunck WH. Role of cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1814(1):210-22.
- 17 - 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.
- 18 - 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.
- 19 - 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.
- 20 - Morin C, Sirois M, Echavé V, Albadine R, et al. 17,18-epoxyeicosatetraenoic acid targets PPAR $\gamma$  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.

- 21 - Zanettini C, Panlilio LV, Alicki M, Goldberg SR, et al. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:57. Epub 2011 Sep 13.
- 22 - 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.
- 23 - Frazier CJ. Key questions of endocannabinoid signalling in the CNS: which, where and when? *J Physiol.* 2011; 589(Pt 20):4807-08.
- 24 - 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.
- 25 - Hermanson DJ, Marnett LJ. Cannabinoids, endocannabinoids, and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2011 Oct 27. [Epub ahead of print].
- 26 - 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.