

G. CARAMIA

Omega-6 e omega-3: dalla scoperta delle prostaglandine ai nuovi mediatori lipidici anti infiammazione: prospettive terapeutiche

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 12, N. 2, 137-159, 2010

TITLE

Omega-6 and omega-3: from discovery of prostaglandins to new anti-inflammatory lipid mediators: therapeutic perspectives

KEY WORDS

Prostaglandins, eicosanoids, arachidonic acid, eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, lipid mediators, lipoxins, resolvins, protectins, maresins, inflammation, anti-inflammatory

PAROLE CHIAVE

Prostaglandine, eicosanoidi, acido arachidonico, acido eicosapentaenoico, acido docosaesaenoico, mediatori lipidici, lipossine, resolvine, protectine, maresine, infiammazione, antinfiammatorio

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

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Dr. G. Caramia MD

Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia
Azienda Ospedaliera Specializzata Materno-Infantile "G. Salesi" Ancona - Italy
caramiagn@libero.it

www.bambinoprogettosalute.it

Summary

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) form an important constituent of all the cell membranes in the body. PUFAs such as arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) form precursors to both pro-inflammatory and anti-inflammatory compounds. Inflammation is a defensive response to injury and infection, but excessive or inappropriate inflammation contributes to a range of acute and chronic human diseases. Several clinical studies have identified a low-grade of systemic inflammation in clinical conditions such as insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, hypertension, atherosclerosis, coronary heart disease, inflammatory bowel disease and colitis, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), lupus, schizophrenia, Alzheimer's disease and other dementias and cancer are also characterized by an excess of pro-inflammatory eicosanoids. Much is known about the molecular basis of initiating signals and pro inflammatory chemical mediators in inflammation, and resolution of inflammation has historically been viewed as a passive process, occurring as a result of the withdrawal of pro-inflammatory signals, including lipid mediators such as leukotrienes and prostaglandins. Thus, most anti-inflammatory drugs have traditionally targeted primarily mediator pathways that are engaged at the onset of inflammation. Only recently it has become apparent that endogenous stop signals are present at a critical checkpoints, within the temporal events of inflammation, with the synthesis and release of anti-inflammatory mediators. Beneficial effects for the inflammatory diseases are due to recently identified molecules, lipoxins, generated from omega-6 PUFA precursors, and resolvins, protectins and maresins, generated from omega-3 PUFA precursors, yet without mechanistic explanations for the beneficial effects, supporting the notion that inflammatory resolution is an active process. An imbalance in the metabolism of essential fatty acids, that is more in favour of pro-inflammatory molecules or a decrease of these distinct set of chemical mediators with potent anti-inflammatory and pro-resolving properties, is now associated with diseases of prolonged inflammation. Designing pharmacological mimetic of naturally occurring pro-resolving mediators offers exciting targets for new drugs. This review describes the discovery and synthesis of these novel lipid mediators, and mechanisms of action, and summarizes the stu-

dies to date that have uncovered their roles in disease states. More robust data are needed especially in critically ill patients.

Riassunto

Gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) rappresentano importanti costituenti di tutte le membrane cellulari dell'organismo. I PUFA, quali l'acido arachidonico (AA), l'eicosapentaenoico (EPA), e il docosaesaenoico (DHA), sono i precursori di composti con azione pro e anti infiammatoria. L'infiammazione è una risposta difensiva a lesioni e infezioni di vario tipo ma una risposta eccessiva o inappropriata è responsabile di varie condizioni patologiche acute e croniche. Numerosi studi hanno evidenziato che una infiammazione sistemica anche se di modica entità, è presente in varie condizioni patologiche quali l'insulina resistenza, il diabete mellito tipo 2, l'ipertensione, l'aterosclerosi, la patologia coronarica, le malattie infiammatorie croniche intestinali, la colite, il fegato grasso non alcolico, il lupus sistemico, la schizofrenia, l'Alzheimer, il Parkinson, il cancro ed è caratterizzata da un eccesso di eicosanoidi pro infiammatori. Molto è stato chiarito circa le basi molecolari che attivano i mediatori chimici dell'infiammazione e quelli della risoluzione del processo infiammatorio da sempre considerato un processo passivo che si conclude quando vengono a mancare gli impulsi pro-infiammatori e i mediatori lipidici, quali i leucotrieni e le prostaglandine. Per tale motivo, la gran parte dei farmaci anti-infiammatori è stata realizzata contro quei mediatori lipidici che sono responsabili del processo infiammatorio. Solo recentemente è stata evidenziata l'esistenza di meccanismi endogeni che bloccano l'evento infiammatorio con la sintesi ed il rilascio di mediatori anti-infiammatori. Con l'identificazione delle lipossine, molecole prodotte dagli omega-6 PUFA, delle resolvine, protectine e maresine, prodotte dagli omega-3 PUFA oggi si possono ottenere significativi effetti positivi per la cura della malattie infiammatorie a conferma che la risoluzione del processo infiammatorio è un processo attivo anche se non sono ancora chiari i meccanismi che lo determinano. Uno squilibrio metabolico degli acidi grassi essenziali a favore delle molecole pro-infiammatorie o una carenza di mediatori anti-infiammatori sarebbero responsabili di malattie che presentano uno stato infiammatorio protratto. La messa a punto di composti analoghi anti infiammatori simili a quelli normalmente prodotti dall'organismo rappresenta una interessante e stimolante ipotesi di lavoro. Vengono brevemente riportate le scoperte che hanno condotto alle attuali conoscenze, i meccanismi d'azione dei nuovi mediatori lipidici e le prime prospettive terapeutiche. Ulteriori e approfonditi studi sono però necessari per ottenere risultati apprezzabili nelle patologie infiammatorie dell'uomo.

Acidi grassi essenziali: evoluzione storica

Per moltissimi millenni, a partire dal nostro progenitore, l'ominide *Ardipithecus ramidus* vissuto 4 milioni e mezzo di anni fa, l'obiettivo principale della alimentazione è progressivamente evoluto (1). Inizialmente doveva provvedere a saziare la fame, poi è emersa la necessità di apportare energia al corpo e, successivamente, di prevenire i deficit nutrizionali e le malattie carenziali.

Nel secolo da poco concluso si è scoperto che gli alimenti svolgono anche un ruolo salutistico per cui alcuni sono stati denominati funzionali e altri nutraceutici, e infine, del tutto recentemente dopo il sequenziamento del genoma umano e la nascita della nutrigenomica, stanno emergendo le importanti interazioni fra alimenti e geni che condizionano il nostro stato di salute dai primi momenti della vita (2, 3).

Nel corso degli anni, con lo sviluppo dell'agricoltura e dell'allevamento degli animali, iniziati circa 10.000 anni fa, il nostro modo di alimentarsi si è però sempre più allontanato da quello dei nostri progenitori. Il cibo e il cibarsi si sono trasformati in una invenzione complessa ed articolata, con risvolti piacevoli e gustosi ma, per molti aspetti, purtroppo, anche misteriosi e inquietanti: nonostante le no-

stre acquisizioni scientifiche, è stato posto in secondo piano il problema della qualità degli alimenti assunti ed in particolare dei lipidi il cui consumo è progressivamente aumentato soprattutto negli ultimi 100 anni con importanti risvolti sul nostro stato di salute (4).

Mentre evolvevano le condizioni tecnologiche, culturali e socio economiche, alla fine degli anni venti, nel 1929, quasi contemporaneamente alla scoperta della Vitamina E (ma anche della Penicillina e del fibra alimentare), G.O. Burr e M.M. Burr scoprono che l'acido linoleico (AL), capostipite degli acidi grassi della serie omega-6, e l'acido α -linolenico (AaL), capostipite della serie omega-3, sono indispensabili per la salute dell'uomo il quale, non essendo in grado di sintetizzarli, deve introdurli con gli alimenti per mantenere lo stato di benessere (Fig. 1) (5).

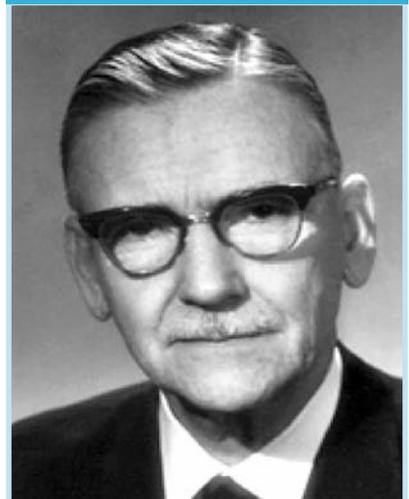
Figura 1 - Georg Oswald Burr



Vengono pertanto denominati, da G.O. Burr e M.M. Burr, acidi grassi essenziali (AGE) e per la presenza di doppi legami anche acidi grassi polinsaturi (PUFA) (6). Nel 1935, Ulf von Euler, fisiologo e farmacologo svedese premio Nobel per la medicina nel 1970, identifica nelle vescichette seminali delle sostanze, derivate dai derivati degli AGE, che chiama prostaglandine proprio perché trovate in piccole quantità nel liquido prostatico e nella prostata (Fig. 2).

Con il proseguire degli studi nel 1958 Bergstrom e Samuelsson scoprono la struttura delle prostaglandine, ottenendole anche per via sintetica, e la loro capacità di produrre citochine pro infiammatorie. Nel 1979 viene introdotto il termine leucotrieni (LT), per il ri-

Figura 2 - Ulf S. von Euler (1905-1983)



scontro che questi vengono prodotti dai leucociti e per la presenza nella loro struttura di tre doppi legami coniugati (“triene”) (7). Anche questi svolgono un’azione pro infiammatoria e danno luogo a citochine pro infiammatorie.

Un altro premio Nobel per “le scoperte sulla biochimica e fisiologia delle prostaglandine, e su altre molecole analoghe biologicamente attive” è stato assegnato nel 1982 a Sune K. Bergström (1916-2004), Bengt Ingemar Samuelsson e John Robert Vane (1927-2004) (Fig. 3) (8).

È quindi seguita la scoperta del trombossano, la biosintesi e la struttura dei leucotrieni ed è stato introdotto il termine cisteinil-leucotrieni (CysLT) per differenziare i leucotrieni contenenti cisteina, i LTC₄, LTD₄, LTE₄, dagli altri leucotrieni LTA₄ e LTB₄ (9).

Nel 1984 Serhan e Coll. scoprono che, leucociti attivati dell’uomo, producono dall’AA una nuova classe di mediatori lipidici eicosanoidi con azione anti-infiammatoria, denominati lipoxine (LX) la LXA₄ e la LXB₄ e gli epimeri la 15-epi-LXA₄ e la 15-epi-LXB₄, derivati dall’AA per acetilazione dell’aspirina sulla COX-2 (aspirin-triggered - ATL) (Fig. 4 e Fig. 5) (10, 11).

Nel 2000, gli stessi ricercatori hanno riportato la scoperta della resolvina E1 (RvE-Resolvina in quanto svolge un ruolo importante nella fase risolutiva dell’infiammazione ed E perché derivante dall’EPA), mentre dall’DHA originano le resolvine D (RvD), aventi

Figura 4 - Charles N. Serhan. Department of Anesthesiology, Perioperative and Pain Medicine Harvard Medical School - Boston



azione antinfiammatoria simile alle resolvine E e le protectine (PD)

Figura 3 - Sune Karl Bergström (1916 - 2004)



Figura 5 - Formule delle lipossine LXA₄ e LXB₄. Per acetilazione dell’aspirina sulla COX-2 vengono prodotte la 15-epi-LXA₄ e la 15-epi-LXB₄

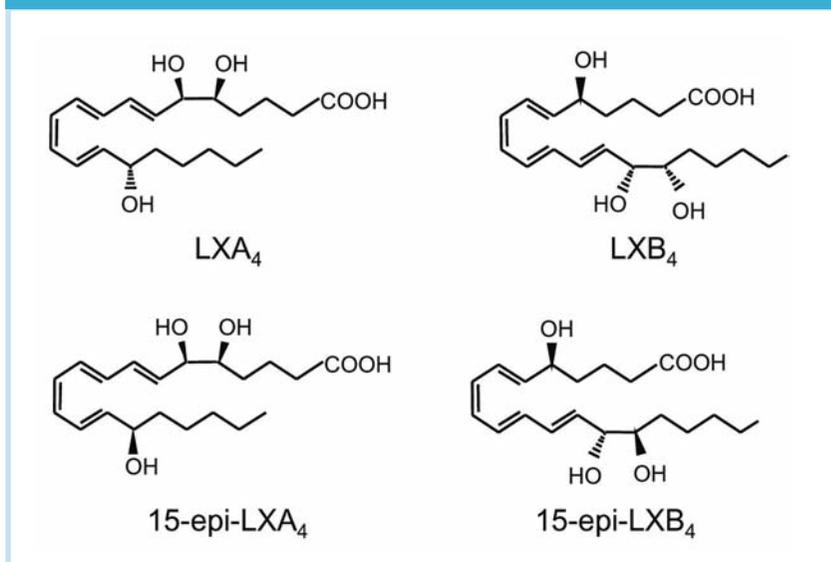
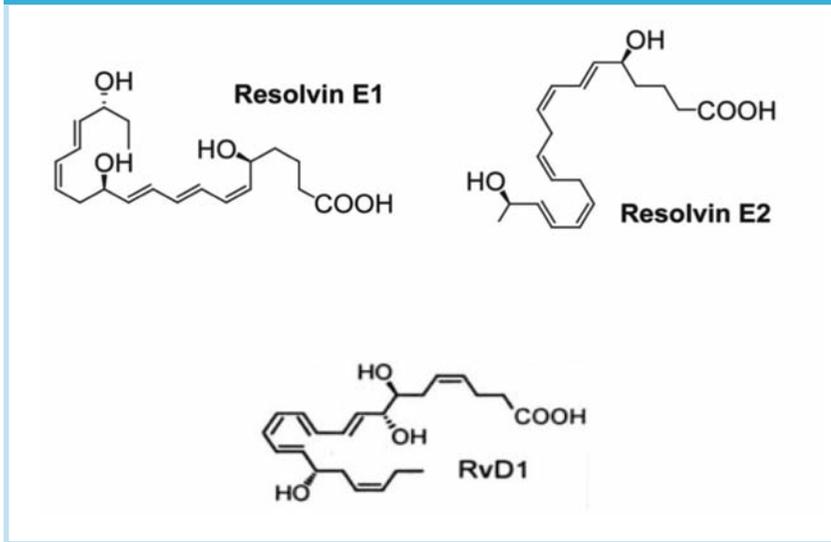


Figura 6 - Resolvina E1 - E2 - D1



o neuroprotectine (NPD) aventi azione immunoregolatrice (Figg. 6, 7) (12-16).

Del tutto recentemente gli stessi ricercatori che avevano scoperto le

LX, le resolvine e le protectine, hanno evidenziato che nella fase di risoluzione del processo infiammatorio, per l'azione dell'enzima 14-lipossigenase, dal DHA dei macrofagi vengono prodotti e reperiti negli essudati, altri potenti mediatori anti infiammatori coin-

volti nella risoluzione dell'infiammazione (17, 18).

Tali mediatori, denominati Maresine (17), hanno una efficacia simile alle RvE e RvD, e agiscono, molto verosimilmente, su differenti recettori (19) (Fig. 8).

Fisiopatologia e clinica dei mediatori lipidici dell'infiammazione

In seguito ad una alterazione della membrana cellulare di origine infettiva, traumatica, metabolica, ormonale e/o di altra origine, vengono liberati nel microambiente intra-extracellulare dagli AGE, attraverso l'attivazione di enzimi specifici, le fosfolipasi ed in particolare l'A2 (PLA2), gli acidi grassi a lunga catena o LCPUFA (Fig. 9).

Acido linoleico: dall'AL derivano, per azione delle delta desaturasi, l'acido gamma linoleico (GLA), il

Figura 7 - Protectina D1 e Neuroprotectina D1

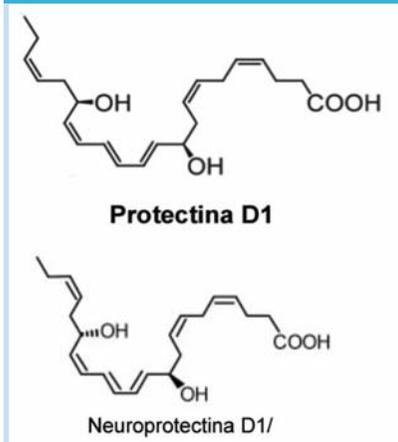
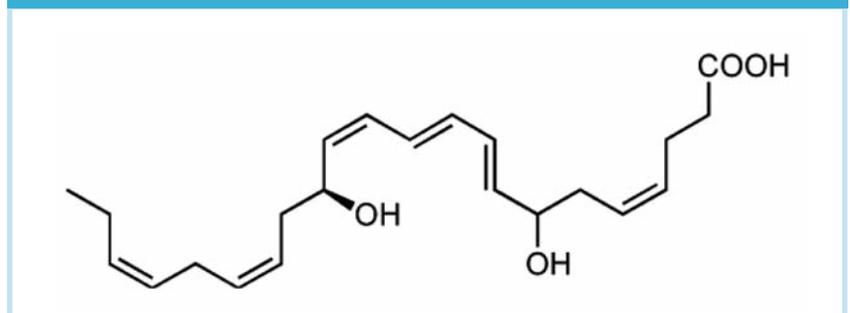


Figura 8 - Maresina/MaR1



diomogammalinoleico (DGLA) e l'acido arachidonico (AA). Dall'acido DGL, si formano, per azione degli enzimi cicloossigenasi (COX) e lipossigenasi (LOX), i trombossani e le prostaglandine della serie-1 (TX1 e PG1) e i leucotrieni della serie-3 (LTA3, LTC3, LTD3) che hanno un'azione moderatamente infiammatoria (e moderatamente inibente i LB4) (20, 21).

Dall'AA, sempre per l'azione degli enzimi cicloossigenasi (COX) si formano i trombossani della serie-2 (TXA2) con spiccata azione aggregante le piastrine, vasocostrizione e broncocostrizione; le prostaglandine della serie-2 (PGG2) e quindi PGH2, PGE2 e PGF2, responsabili della produzione di citochine con potente azione pro infiammatoria quali IL-1, IL-1 mRNA, IL-1 β , IL-6, interferone gamma (IFN- γ), TNF- α ed anche le PGI2 (prostacicline) e PGD2. Dall'AA deriva anche il fattore di attivazione delle piastrine (PAF), potente aggregatore delle piastrine responsabile anche di vasodilatazione e broncocostrizione, attivatore dei leucociti e del metabolismo dell'AA (20, 21).

Inoltre l'AA sequestrato dalla membrana nucleare, entra in contatto con la proteina che attiva la 5-lipossigenasi (FLAP) determinando così la formazione dell'enzima 5-lipoossigenasi (5-LOX). Quest'ultimo da un lato determina

la formazione del leucotriene instabile 5-HPETE (acido 5S-idrossiperossi-eicosatetraenoico), dal quale deriva per deidratazione il 5-HETE (acido 5-idrossieicosatetraenoico) che favorisce la flogosi non allergica, e dall'altro del leucotriene A4 (LTA4) intermedio fondamentale nella sintesi dei leucotrieni a valle. Da quest'ultimo derivano infatti tutti i leucotrieni della serie-4: il LTB4, potente fattore chemiotattico per i neutrofili, e i CysLT LTC4, LTD4, LTE4 tutti con spiccata azione pro infiammatoria (20, 21) (Fig. 9).

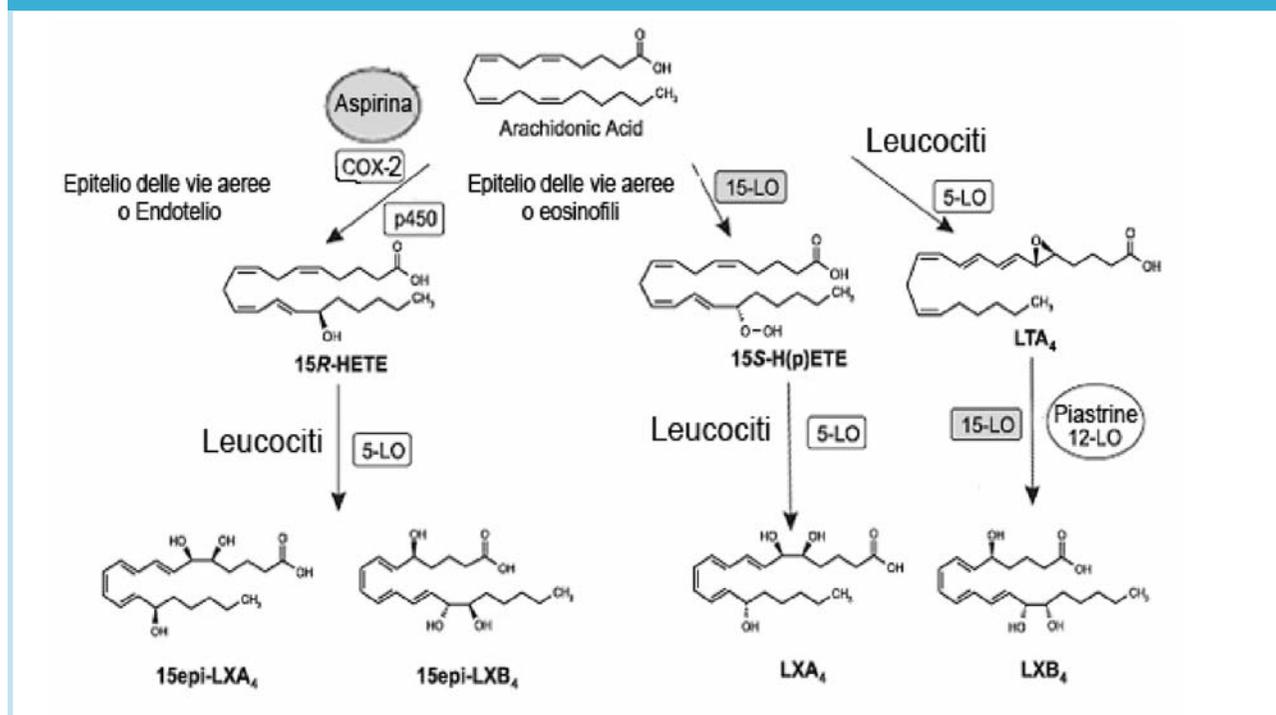
Lipossine

In seguito agli impulsi lesivi su riportati, subito dopo la produzione di mediatori lipidici e citochine pro-infiammatorie, o, secondo alcuni, in concomitanza con questi, inizia, dall'AA, la formazione delle lipossine A4 e B4 (LXA4 e LXB4) attraverso dei segnali programmati (22-24).

Infatti, le LX possono derivare da leucociti attivati (ma anche da cellule tissutali di pazienti con varie patologie immuno-infiammatorie quali artrite reumatoide, asthma, patologia polmonare cronica ecc.) che, invece di dar luogo, sotto l'azione dell'enzima 5-LOX, a leucotrieni A₄ (LTA₄), possono, sotto l'azione dell'enzima 15-LOX, trasformare l'AA in acido 15S-idro-

perossieicosatetraenoico (15S-HPETE) che, assunto dai neutrofili, dà luogo all'epoxitetraene e quindi, per idratazione, alla lipossina LXA₄ e al suo isomero, la lipoxina B₄ (LXB₄), mediatori lipidici eicosanoidi nativi con azione anti-infiammatoria (Fig. 10) (10, 12). Mediatori lipidici epimeri delle LX, la 15-epi-LXA₄ e la 15-epi-LXB₄, possono essere generati dall'AA per azione dell'aspirina, che interviene sulle ciclossigenasi-2 (COX2) o per azione del citocromo P450, dando luogo a tali metaboliti stabili: anche nell'uomo tutti agiscono su precisi recettori (FPR2/ALX) (Figg. 9, 11) determinando un'azione anti-infiammatoria e inibendo la risposta immuno mediata (25, 26). Le LX vengono inoltre prodotte nei vasi sanguigni anche da interazioni piastrine/leucociti in cui la 5-LOX dei leucociti trasforma l'AA nell'epossido LTA₄ che viene liberato e trasformato dalla 12-lipossigenasi (12-LOX) delle piastrine in LX (10, 12). Tali LX hanno una potente azione anti-infiammatoria e immunomodulatrice intervenendo su eosinofili, macrofagi, cellule dendritiche, linfociti Th1 e Th2, riducono l'afflusso di nuovi neutrofili negli essudati, bloccano in vivo la migrazione delle cellule T, inibiscono il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) la secrezione di IL-1, IL-6, TNF- α e di IFN- γ , l'adesione alle cellule

Figura 10 - Produzione delle lipossine e degli epimeri



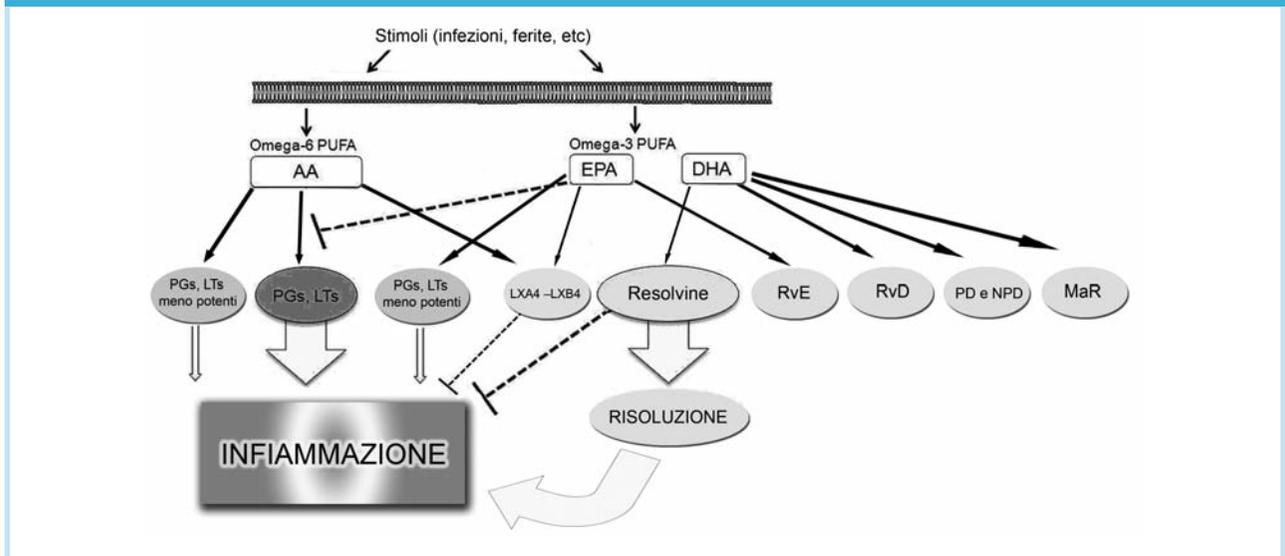
endoteliali nella sede dell'infiammazione, la permeabilità vascolare. Favoriscono inoltre l'infiltrazione non flogistica di monociti, utili per la risoluzione delle lesioni e stimolano i macrofagi (27-31). Questi ultimi, oltre ad inibire la produzione di citochine pro infiammatorie e a produrre citochine anti- infiammatorie quali il transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), inglobano ed eliminano i neutrofili apoptotici drenandoli, attraverso i vasi linfatici, ai linfonodi satelliti e ripulendo la sede dell'infiammazione (27, 30, 32, 33). Tendono così a risolvere il processo infiam-

matorio, prevengono e/o favoriscono la normalizzazione dei quadri allergici e le patologie croniche immunitarie (12).

Recentemente è stato evidenziato che le LX svolgono anche una azione antifibrotica agendo sulle citochine pro infiammatorie e sulla espressione dei geni correlati e che esistono delle differenze interindividuali nella biosintesi della 15-epi-LxA₄ ad opera dell'aspirina per cui tanto maggiore è la risposta infiammatoria, tanto maggiore sarebbe la risposta anti infiammatoria all'aspirina (26, 34). Al controllo dell'infiammazione

concorrono fattori endogeni, che comprendono le epi-LX, fattori che sono variamente espressi nella popolazione e che potrebbero favorire più o meno la tendenza a sviluppare malattie infiammatorie/autoimmuni croniche quali asma, grave patologia polmonare, porpora di Schonlein Henoch (35-37). Verrebbe così spiegato perché alcuni individui sono refrattari ai comuni farmaci antiinfiammatori e la necessità di una terapia antiinfiammatoria personalizzata sulla base del profilo personale della risposta infiammatoria (26).

Figura 11 - PUFA e mediatori lipidici pro e anti infiammatori



In ambito clinico, la prima dimostrazione della presenza di LX, eicosanoidi, come su riportato, distinti dai leucotrieni e dalle prostaglandine, è stato ottenuto dall'esame del lavaggio bronchiale in pazienti con grave patologia polmonare infiammatoria e una indiretta conferma di questa loro attività è inoltre emersa dal riscontro di una carenza di LXA₄ nel parenchima polmonare dei fibrosi cistici (FC) (38). In seguito alla terapia antibiotica è stato inoltre riscontrato che nello sputo dei FC il numero dei neutrofili e i livelli di IL-8 diminuiscono mentre aumenta il livello della LXA₄ (39). Questi ed altri risultati evidenzerebbero che, in seguito alla carenza omeostatica delle LX, l'infezione batterica nel-

l'apparato respiratorio dei FC determina un eccesso di neutrofili e di IL-8, l'esplosione infiammatoria, il danno tissutale e l'incapacità cronica ad eliminare i batteri dalla sede infettata (40-42). A conferma di ciò, nel topo con infezioni delle vie aeree, la somministrazione di analoghi di LXA₄ riduce l'accumulo di polimorfonucleati, aumenta quello dei linfociti e favorisce la guarigione delle infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* (41).

Nella *fibrosi cistica*, come nell'*asma grave*, la ridotta produzione di LXA₄ oltre a favorire il processo infiammatorio determina un'alterazione dell'epitelio con rottura delle giunzioni strette (o zonula occludens, ZO-1, o tight junctions) che formano una cintura

continua attorno alle cellule. L'esposizione delle cellule epiteliali bronchiali dei FC a quantità minime di LXA₄ normalizza, nelle culture cellulari, le tight junctions con meccanismi ancora da chiarire ma che coinvolgono il recettore FPR2/ALX (34).

Nell'asma e in varie patologie polmonari, le LX vengono prodotte in quantità tanto maggiore quanto più grave è il processo infiammatorio. Si legano al recettore denominato ALX e ad altri recettori affini, agiscono anche come antagonisti dei recettori dei cisteinil leucotrieni LTD₄ iniziando così il processo di guarigione (22, 44). La loro azione si realizza riducendo la chemiotassi dei PMN, la migrazione trans-endoteliale e trans-

epiteliale, la produzione di specie reattive dell'ossigeno e promuovendo la migrazione dei monociti, la clearance, con i macrofagi, dei PMN apoptotici e dei microbi fagocitati (45, 46).

Oltre all'azione sul sistema immunitario, le LX e gli epimeri potenziano la proliferazione delle cellule dell'epitelio bronchiale dopo un impulso dannoso, bloccano la liberazione di citochine pro-infiammatorie dalle cellule epiteliali aumentando l'attività anti-infettiva contribuendo alla risoluzione del processo infiammatorio (47, 48).

Processi irritativi e/o infiammatori delle vie aeree aumentano l'espressione dei recettori della LXA₄ e della 15-epi-LXA₄ nelle vie aeree prossimali e distali ma nell'asma grave la produzione di LX è ridotta e si correla con la funzionalità polmonare (49).

Le LX ed i loro analoghi hanno dimostrato un ruolo omeostatico anche nell'asma da intolleranza all'aspirina, in quella steroide dipendente, in molte condizioni patologiche infiammatorie quali malattie cardiovascolari, gastrointestinali, renali ed altre ancora nelle quali il quadro infiammatorio incontrollato gioca un ruolo determinante nella loro patogenesi (50, 51).

In alcuni soggetti con grave asma è stata recentemente riportata per la prima volta anche una carenza di LXA₄ con aumento dei leucotrieni, evidenziando così, come un

ulteriore possibile fattore patogenetico infiammatorio, lo squilibrio biosintetico degli eicosanoidi pro ed anti infiammatori (35). I diminuiti livelli sierici di LX nell'asma grave sarebbero correlati con il FEV1 e il più basso rapporto LX/cisteinil-leucotrieni riscontrato evidenzerebbe l'effetto protettivo delle LX (52).

Sempre in ambito sperimentale è stato dimostrato che un analogo sintetico del 15-epimero ATL, della LX previene l'infiammazione, l'accumulo di collagene e leucociti e il collasso alveolare della fibrosi polmonare indotta nell'animale da esperimento migliorandone anche la sopravvivenza. Questo fa ipotizzare che le LX e gli epimeri ATL possono essere considerate una promessa terapeutica nelle patologie da fibrosi polmonare (11).

Nell'artrite dell'uomo e nelle malattie infiammatorie cutanee, la LXA₄ per uso topico, antagonizza la liberazione di sostanze e citochine pro-infiammatorie, IL-1 β e IL-6 ed IL-8, da parte dei fibroblasti della sinovia e dalla cute (53).

Lesioni della cornea determinano una reazione infiammatoria con danni ai nervi sensitivi che, a loro volta, esercitano un'azione trofica sull'epitelio corneale: ne derivano perdita della trasparenza, ulcerazioni e perforazioni. In tali condizioni mentre i metaboliti del PAF e delle COX2 contribuiscono al

danno e alla neovascolarizzazione, la LXA₄ con la presenza di DHA, da cui deriva per azione della LOX la sintesi della neuroprotettin D1 (NPD1), favoriscono la rigenerazione dei nervi corneali e la proliferazione epiteliale, concorrendo a ristabilire l'integrità della cornea (54).

Inoltre nell'animale da esperimento dopo interventi corneali, la terapia con il fattore di crescita del nervo corneale (NGF) o del fattore derivato dal pigmento epiteliale (PEDF) in presenza di DHA determina la produzione di NPD1 che migliorano la funzionalità del nervo e la proliferazione delle cellule epiteliali della cornea (55). L'applicazione topica di tale derivato lipidico degli acidi grassi n-3 potrebbe rivelarsi utile nella prevenzione e trattamento delle erosioni ed ulcerazioni della cornea (55).

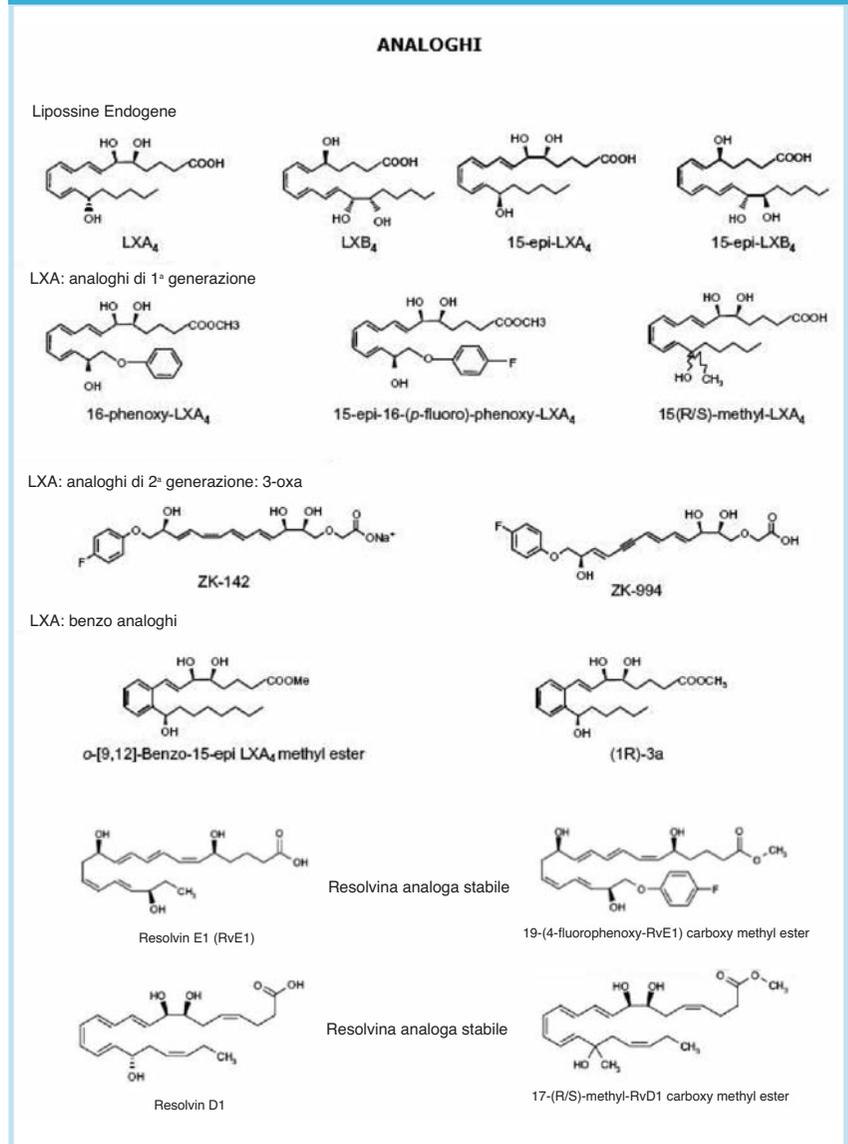
L'impianto di componenti protesiche permanenti è stata una delle procedure di maggior successo clinico in chirurgia ortopedica degli ultimi decenni. Tuttavia, la frequente e notevole reazione infiammatoria indotta dall'eccessiva produzione di particelle da usura dei componenti dell'impianto, il polimetilmetacrilato (PMMA), con eccessivo riassorbimento osseo peri-impianto, impone revisioni chirurgiche con gravi sofferenze psicofisiche e costi economici. Recentemente è stato dimostrato in

ambito sperimentale che la LXA₄ ha un effetto inibitorio sull'infiammazione indotta dal PMMA prospettando nuove e importanti possibilità terapeutiche (56). A tale scopo recentemente si stanno cercando di realizzare degli analoghi delle LX, stabili al calore e ai vari fattori metabolici, che contengono la stessa potente azione anti infiammatoria senza evidenti effetti collaterali. Tali analoghi sono risultati efficaci nel ridurre l'infiltrazione dei PMN, le citochine pro-infiammatorie anche nella peritonite e in altre condizioni patologiche dell'animale da esperimento (34,57) (Fig. 12).

Acido alfa linolenico: da tale AGE derivano, per azione delle delta desaturasi, gli acidi grassi eicosapentaenoico (EPA) e il docosae-saenoico (DHA), mediatori lipidici antinfiammatori omologhi dell'AA, che rappresentano degli inibitori competitivi del metabolismo dell'AA, ostacolando, con azione simile a quello dell'ibuprofene, la produzione di eicosanoidi proinfiammatori. Inibiscono inoltre l'attivazione del fattore nucleare kB (NFkB), che regola la trascrizione di oltre 100 geni, codificanti per numerosi fattori immunomodulatori e per citochine infiammatorie.

Inoltre dall'EPA si formano, per azione degli enzimi cicloossigenasi (COX) e lipossigenasi (5-LOX), i trombossani e le prostaglandine

Figura 12 - Evoluzione degli analoghi dalla LXA₄ e dalle RvE₁ e RsD₁ (da Maderna P. modificata)



della serie-3 (TX3 e PG3) e i leucotrieni della serie-5 (LTA5, LTB5, LTC5, LTD5, LTB5) che hanno un'azione moderatamente

infiammatoria vantaggiosa per l'organismo in quanto la loro abbondante presenza, per una dieta ricca di pesce, riduce i trombossani

e le prostaglandine della serie-2 molto più dannosi (20, 21) (Figg. 9, 11).

Resolvine

Come per le LX, in seguito ad impulsi lesivi quali, traumi, infezioni, processi infiammatori vari, dopo la produzione di mediatori lipidici e citochine pro-infiammatorie, o, secondo alcuni, in concomitanza con questi, inizia, molto verosimilmente con meccanismi programmati anche geneticamente, dapprima la produzione delle LX e, subito dopo, dall'EPA, la formazione di mediatori denominati resolvine E (RvE) e, dal DHA le resolvine D (RvD) con azione anti infiammatoria. Mediatori lipidici epimeri delle RvE e RvD, possono essere generati rispettivamente dall'EPA e dal DHA per azione dell'aspirina, che interviene sulle COX2 o per azione del citocromo P450, dando luogo a tali metaboliti stabili (15, 58) (Figg. 9, 11).

Tutti questi mediatori lipidici derivati dagli omega-3 e prodotti durante le interazioni transcellulari danno inoltre luogo a citochine anti infiammatorie l'IL-6r, IL-10 e il TGF- β 1. Sopprimono la capacità dei monociti di sintetizzare markers pro infiammatori (IL-1, IL-1 mRNA, IL-1 β , IL-6, IFN, TNF- α); di produrre dalle cellule endoteliali delle vene l'IL-8; di

produrre il PAF. Inoltre proteggono i tessuti dalla infiltrazione e dalle lesioni determinate dai leucociti e regolano l'espressione dei geni pro infiammatori (14, 15, 22, 27, 59-62).

Subito dopo le LXA₄, le resolvine della serie E (RvEs) ed in particolare le RvE₁ sono le prime ad intervenire, seguite dalle resolvine della serie D (RvDs), e precisamente dalle RvD₁, e quindi dalle protectine (PD₁) o neuroprotectine D₁, (NPD₁) dando luogo ad una serie di eventi chiamati "catabasis" cioè risoluzione del processo infiammatorio, con riduzione del numero di neutrofili affluiti nella sede d'infiammazione e accelerazione del ritorno alla normalità delle strutture coinvolte (15, 22, 59, 63).

I mediatori lipidici derivati dall'EPA, le RvE1 prodotte durante le interazioni trans cellulari, intervengono su funzionalità cellulari e di vari parenchimi e recentemente è stato evidenziato un recettore della RvE1, il ChemR23 42 espresso su monociti, macrofagi e cellule dendritiche con azione simile al recettore ALX delle LX (34).

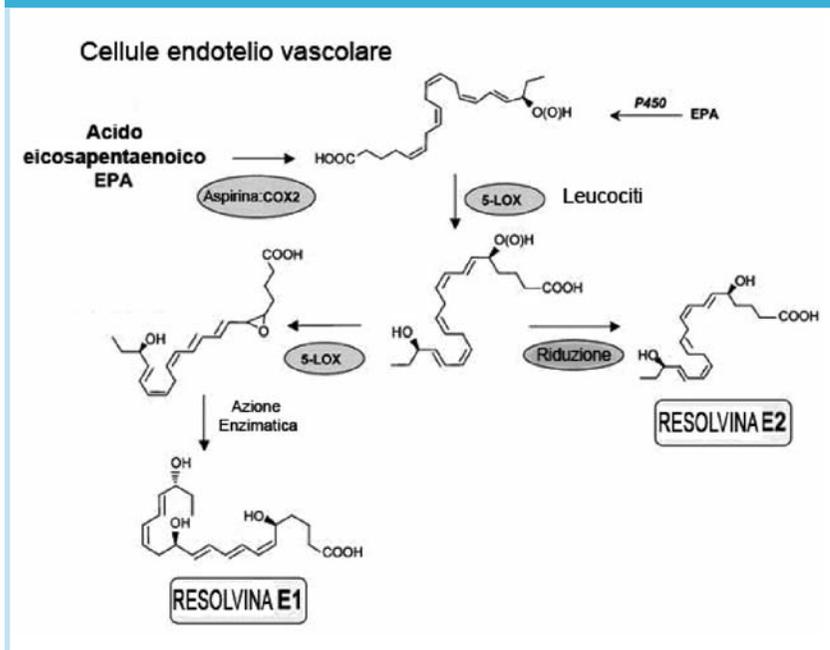
La RvE1 interagisce inoltre con il recettore BLT1 del LTB₄ espresso sui PMN, attenua i segnali pro infiammatori, aumenta la fagocitosi dei PMN, il killing della Candida albicans, importanti meccanismi per prevenire l'invasione di pato-

geni, blocca la migrazione delle cellule dendritiche, importanti nell'immunità innata ed adattativa, la produzione dell'IL-6, IL-12, TNF- α , aumenta l'apoptosi delle cellule T (64-66). La RvE1 favorisce la risoluzione del processo infiammatorio attivando i macrofagi a eliminare le cellule apoptotiche, blocca l'aggregazione piastrinica e l'afflusso dei leucociti (Fig. 13) (67, 68).

La RvE1 (a dosi minime di nanogrammi) inibisce la produzione del LTB₄ prodotto dai PMN, emigrati oltre le cellule endoteliali microvascolari anche della coroide della retina ecc, importante componente della risposta immune innata ed espressione patologica della infiammazione delle mucose (69). Alla luce di tale riscontro, è stato osservato che la somministrazione intraperitoneale di 10 ng/die di RvE1 o anche di RvD1, protegge gli occhi del topo neonato esposto ad una iperossia per cui viene prevenuta l'ischemia retinica, la proliferazione e la obliterazione vascolare, elementi di notevole importanza se trasferiti in ambito clinico neonatale (70).

Nella periodontite del coniglio, l'applicazione topica (4 μ g tre volte alla settimana) sui denti della RvE1 riduce l'infiltrazione neutrofila e la perdita di parenchima osseo portando alla risoluzione del quadro infiammatorio (71). Nell'uomo, nella periodontite aggres-

Figura 13 - Produzione dall'EPA della Resolvina E1 e Resolvina E2



siva caratterizzata da spiccata perdita di parenchima osseo, le varie LX sono risultate inattive sui neutrofili mentre questi ultimi sono risultati molto sensibili alla RvE1 in quanto questa si lega ai neutrofili in una sede distinta da quella delle LX.

La RvE1, in particolare se somministrata con l'aspirina, è in grado di ridurre, nell'animale da esperimento e in dosi nano molari, per la sua potente attività anti infiammatoria, la flogosi peritoneale indotta.

La RvE1 sintetica è inoltre in grado di ridurre l'infiltrazione leucocitaria e risolvere la colite infiammatoria, simile al morbo di

Crohn, chimicamente indotta nel topo. La somministrazione intraperitoneale di RvE1 (1 µg/ai giorni 8, 1, e 0) prima dell'induzione della malattia, riduce l'infiltrazione leucocitaria e il numero dei PMN nella mucosa, l'espressione di geni proinfiammatori, il TNF-α, l'IL-12 e le COX-2 e migliora il quadro istologico e la sopravvivenza (72). Si può pertanto ipotizzare che la RvE1 potrebbe rappresentare nell'uomo una alternativa alle terapie della patologia infiammatoria cronica dell'intestino quale il morbo di Crohn e la colite ulcerosa.

Nel topo reso allegico e asmatico cronico, in seguito alla sensibiliz-

zazione all'ovoalbumina, la somministrazione di RvE1 (100 ng/per 3 giorni) riduce la produzione di citochine proinfiammatorie IL-6, IL-17, IL-23, LTB4, la presenza di muco nelle vie aeree e la iper reattività bronchiale, mentre aumenta la produzione di LXA4 (59,73). Anche nella polmonite da acido idrocloridrico ed *E. coli* o da aspirazione la somministrazione di 100 ng di RvE1 migliora sensibilmente la sopravvivenza (74).

Recentemente è stata identificata una RvE2, sintetizzata in maggior quantità rispetto alla RvE1 dai neutrofili, che ha un'azione simile a quest'ultima se somministrata per via intravenosa, ma l'azione non è potenziata se entrambe vengono somministrate per via intraperitoneale, suggerendo l'esistenza di recettori differenti rispetto alla RvE1 (75).

Le resolvine della serie D (RvDs), comprese quelle attivate dall'aspirina, sono potenti regolatrici dell'afflusso di PMN nella sede dell'infiammazione e la riduzione della infiltrazione neutrofila viene aumentata dalla presenza contemporanea delle RvE1 e della RvD1 la cui formula chimica è stata identificata dai PMN e dalle cellule della glia dell'uomo ed è stato ottenuto il prodotto per sintesi (61).

Mediatori lipidici epimeri delle RvE1, delle RvD1, generati dall'a-

spirina per azione sulle COX-2 delle cellule endoteliali o dal citocromo P450, hanno un effetto terapeutico e preventivo sull'infiammazione simile alle molecole originali sia nella sede d'infezione sia nelle patologie infiammatorie croniche (15, 76, 77) (Fig. 14).

La somministrazione di analoghi stabili di RvE1 o RvD1 (0,3-20 ng) per via periferica o intratecale riduce, nell'animale da esperimento, i dolori causati dall'infiammazione secondaria alla somministrazione di sostanze infiammatorie (formalina, adiuvante di Freund ecc.), in sede periferica plantare, o alla iniezione di caspacina per via intratecale. La RvE1 svolge un ruolo anti infiammatorio e analgesico molto più potente della RvD1

e soprattutto degli inibitori delle COX-2 senza alterare la soglia della sensibilità (con una azione solo sul dolore da infiammazione) riducendo l'infiltrazione neutrofila, l'edema della zampa, l'espressione di citochine pro infiammatorie (TNF- α , IL-1 β , IL-6) e le chemochine MIP-1 α (Macrophage Inflammatory Protein 1 α) e MIP-1 β (Macrophage Inflammatory Protein 1 β). Questo senza incorrere negli effetti avversi dei composti, oppioidi (sedazione, depressione respiratoria, nausea, vomito, stipsi, dipendenza) e di COX inibitori (gravi effetti cardiovascolari per terapie protratte con inibitori delle COX-2) (Fig. 12) (78).

Nella peritonite sperimentale del topo, la RvD1 e il suo epimero AT-RvD1, hanno un'efficacia uguale e dose dipendente nel ridurre l'infiltrazione di PMN e la massima inibizione pari a circa il 35% si ottiene con dosi fra 10-100 ng anche se l'AT-RvD1 è statisticamente più potente alla dose di 10 ng (79) (Fig. 15).

La resolvina D2 (RvD2) riduce l'afflusso di neutrofili nella sede dell'infiammazione, riduce l'adesenza dei leucociti nei capillari venosi e le interazioni leucociti-endotelio con la produzione di ossido nitrico, favorisce la fagocitosi da parte dei macrofagi e dei PMN favorendo la risoluzione del processo infiammatorio ed è soprattutto dotata di un potente effetto

antinfiammatorio a livello degli endoteli vascolari.

Nella peritonite batterica sperimentale del topo, la RvD2 determina una spiccata riduzione dei batteri aerobi, sia nel sangue che nel peritoneo, senza però svolgere un'azione antibatterica diretta simile a quella dell'ampicillina. Inoltre la RvD2 riduce drasticamente i livelli di citochine proinfiammatorie, IL-6, IL-1 β , IL-23 and TNF- α associate ad un esito sfavorevole della sepsi: tali livelli si riducono progressivamente con l'aumento della clearance batterica. La RvD2 diminuisce però l'IL-17 e l'IL-10 diversamente dalla LXA4 che stimola la produzione della IL-10 (80). A dosi minime (10 ng), oltre alla fagocitosi aumenta la produzione di ossido nitrico da parte dell'endotelio e riduce il PAF (81). In particolari situazioni pertanto, nei vasi sanguigni non solo non vengono attivati dei processi infiammatori troppo intensi ma viene favorito il meccanismo di risoluzione dell'infiammazione (12-14, 82, 83).

Sembra infine che anche la RvD2 svolga un'azione analgesica in virtù dell'azione anti-infiammatoria e non presenti effetti collaterali, come i classici farmaci antinfiammatori, per cui sono in corso dei test in varie condizioni patologiche (14, 15, 22, 27, 82, 83).

Anche la RvD2, in considerazione delle piccole dosi necessarie per

Figura 14 - Resolvine D1 e D2

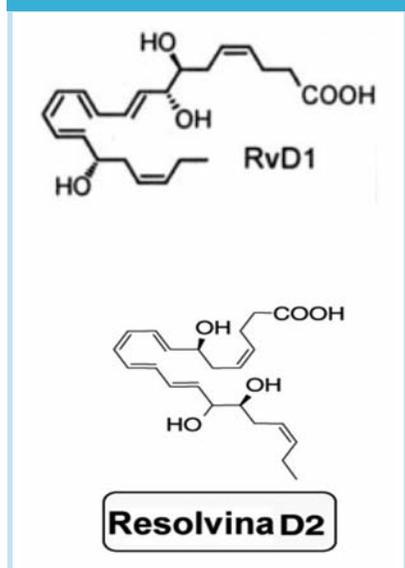
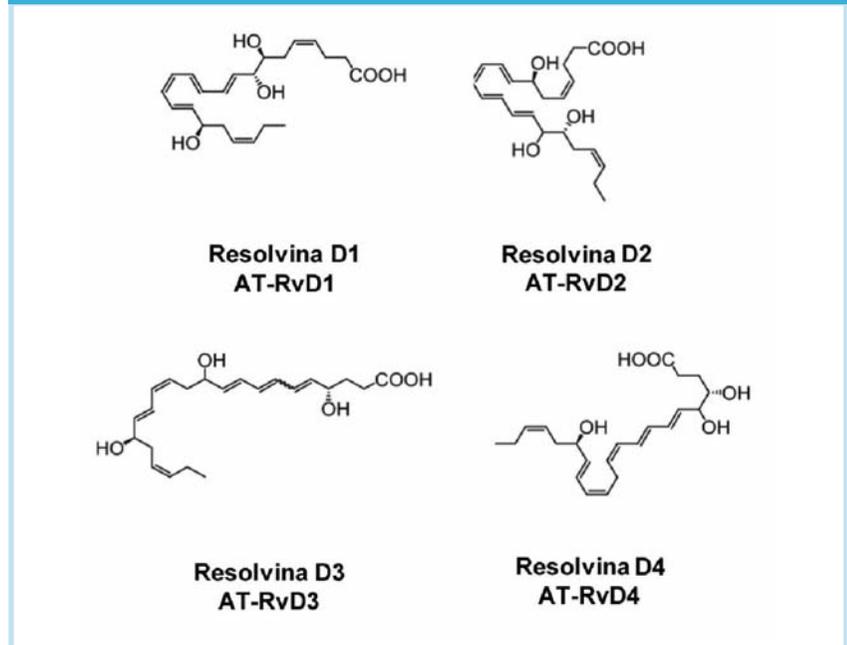


Figura 15 - Per acetilazione dell'aspirina sulla COX-2 vengono prodotte dall'DHA le AT-RvDs



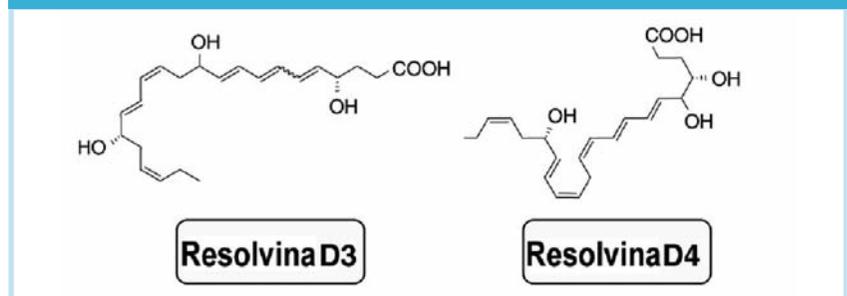
ottenere una buona azione anti infiammatoria, potrebbe diventare un'arma di notevole importanza contro malattie come artrite reumatoide, ictus e setticemia, tutte legate all'infiammazione. L'azione antinfiammatoria costante e quindi la terapia e/o la prevenzione pressochè duratura non mette però completamente al riparo da malattie nella quali entrano in gioco diversi altri fattori.

Nelle lesioni renali acute del topo, al processo infiammatorio segue una fibrosi con cicatrici e insufficienza renale, eventi in parte dovuti alla persistente infiltrazione leucocitaria. Dopo la fase ischemica nel parenchima renale sono stati evidenziati livelli aumentati di RvD2, RvD3 e RvD4 e la somministrazione di DHA aumenta la produzione di RvD1 e RvD3. I topi trattati con resolvine D o con RvD1 da 10 minuti prima dell'evento ischemico per 48 ore hanno evidenziato una protezione dal danno del parenchima renale e il ruolo protettivo contro la fibrosi (84) (Fig. 16).

Tutto ciò ha dato luogo alla produzione di vari composti sintetici con ottima attività terapeutica in ambito sperimentale prospettando nuove possibilità terapeutiche nell'uomo (61).

Potrebbero inoltre essere chiariti i numerosi dati della letteratura che riportano effetti benefici dalla supplementazione nella dieta di

Figura 16 - Resolvina D3 e Resolvina D4



composti contenenti il DHA e capire se e quanto ciò sia dovuto alle resolvine della serie D, in particolare la RvD1, delle quali è stato ottenuto il prodotto per sintesi, e alle protectine le PD1/NPD1.

Protectine

Come su riportato, in seguito ad impulsi lesivi, e a segnali molto ve-

temporaneamente o subito dopo la produzione delle LX, nel processo di risoluzione dell'infiammazione, intervengono prima le resolvine della serie E, soprattutto le RvE1, seguite dalle resolvine della serie D, in particolare le RvD1 e, infine inizia la produzione delle Protectine (PD) denominate anche docosatrieni (DT, metaboliti ossigenati del DHA) in quanto contengono una struttura trienica, e delle neuroprotectine (NPD) quando ven-

gono prodotte dalle cellule nervose. Hanno un'azione immunoregolatrice e protettiva nei vari parenchimi ed in particolare nell'apparato respiratorio, in corso di asma allergico, sul sistema nervoso e sulla retina (85, 86) (Fig. 7). Anche dalle PD e NPD per azione dell'aspirina che interviene sulle COX2 o per azione del citocromo P450, vengono prodotti dei mediatori lipidici epimeri stabili (14, 22, 27). Inoltre è stato evidenziato che anche gli stereoisomeri delle protectine hanno una uguale efficacia terapeutica (61) (Figg. 9, 11).

Le PD, primi metaboliti della classe dei docosatrieni, prodotte dai neutrofili nella fase risolutiva dell'infiammazione acuta, e le NPD dai neuroni, riducono l'afflusso e il numero dei PMN negli essudati contrastandone l'attivazione, bloccano in vivo la migrazione delle cellule T, inibiscono la secrezione di TNF- α e di IFN γ e promuovono l'apoptosi e la risoluzione del processo infiammatorio (14, 59, 60, 63).

A conferma di ciò recentemente è stata evidenziata, con particolari metodiche spettrometriche, la presenza di RvD1 e PD1 nei neutrofili e nel sangue ed è stata evidenziata l'azione antinfiammatoria della PD₁ in soggetti allergici asmatici (85, 87).

La produzione della PD1 è stata trovata nell'aria espirata in quantità che, nei soggetti con asma in fa-

se acuta, è significativamente diminuita rispetto ai soggetti normali (87). Nei topi con un quadro asmatico, la somministrazione di PD1 prima di un test di scatenamento con aero-allergeni, riduce l'afflusso di linfociti, i TH2 e le citochine infiammatorie. Inoltre il pre trattamento con PD1 determina nelle vie aeree un decremento di muco e della iperreattività bronchiale al test della metacolina (87). Come avviene per le LX, la produzione della PD1 dipende dall'attività dell'enzima 15-LO e l'asma grave è caratterizzata da una ridotta espressione di tale enzima per cui si può affermare che tale condizione patologica rappresenta uno stato deficitario di LX e PD1 (58).

Il DHA è il più abbondante AGE presente nel cervello e la sua carenza si associa a deficit visivi, dello sviluppo neurologico neonatale, a declino cognitivo, a degenerazione maculare della retina e ad altre malattie neurodegenerative. Il DHA è concentrato nei fosfolipidi del cervello e soprattutto nelle cellule fotorecettoriali della retina e la NPD1 che ne deriva, viene prodotta per aiutare le cellule a far fronte a un danno che si sta verificando (88).

Infatti la NPD1, per la sua azione antiossidante e neuroprotettiva è immediatamente prodotta in risposta a stress ossidativi quali ischemia-riperfusionne cerebrale,

nel danno cerebrale indotto sperimentalmente, nello stress ossidativo delle cellule epiteliali del pigmento della retina, nelle cellule del cervello dell'uomo in risposta all'azione dei peptidi dell'amiloid-beta (Abeta), nella malattia di Alzheimer e in altre condizioni di stress del cervello (89). La NPD1 regola la sopravvivenza delle cellule del cervello e della retina stimolando l'espressione dei geni antiapoptotici e neuroprotettivi, promuove la sintesi di proteine antiapoptotiche della famiglia delle Bcl-2, blocca l'espressione di proteine pro infiammatorie come le COX2 e sopprime la neurotossicità indotta dal peptide Abeta42. Può pertanto essere considerata una sentinella protettiva, la prima difesa che si attiva quando l'omeostasi cellulare è minacciata da squilibri nella normale funzione neurale (90).

Recentemente, sempre ricorrendo a tecniche molto sofisticate, sono state sintetizzate, purificate e rese stabili dal DPAn-6 (acido docosapentaenoico n-6) delle resolvine, il (17S)-hydroxy-DPAn-6 e il (10,17S)-dihydroxy-DPAn-6, composti analoghi in struttura e azione alle resolvine derivate dal DHA (91). Il DPAn-6 inoltre riduce i livelli di COX-2, è un potente inibitore della produzione delle PGE2 proinfiammatorie e, da studi condotti nell'animale da esperimento è emerso che la sommini-

strazione di DPAn-6 come etil estere, riduce l'edema nella zampa come l'indometacina e, se associato al DHA, ne aumenta l'azione anti-infiammatoria. Tali composti, somministrati per endovena o per os nell'animale da esperimento, per la potente azione anti-infiammatoria dimostrata, vengono da alcuni considerati una nuova classe di resolvine (92, 93).

Maresine

Recentemente sono stati reperiti negli essudati infiammatori del topo e dell'uomo, dei nuovi mediatori le maresine (acronimo di Macrophages resolving inflammation). Queste vengono prodotte dal DHA dei macrofagi che, per l'intervento in successione delle 12-LOX-5-LOX, genera il 14 S-HDHA trasformato poi per azione enzimatica nella MaR1 (Figg. 9, 11). Coinvolte nei processi di risoluzione dell'infiammazione fanno parte, assieme alle resolvine e protectine, del gruppo di mediatori lipidici anti-infiammatori. Svolgono un ruolo simile alle resolvine, con una potenza simile alle RvE1 e PD1, riducono l'infiltrazione dei PMN, stimolano la fagocitosi, aumentando la capacità dei macrofagi di rimuovere, dalla sede dell'infiammazione, le cellule apoptotiche, quelle necrotiche e le eventuali particelle microbiche

(17, 18). Il ridotto afflusso di PMN non solo accorcia i tempi di risoluzione del quadro ma protegge i tessuti da ulteriori danni e dallo stress ossidativo che accompagna l'infiammazione e l'infezione. L'azione antiinfiammatoria e risolutiva del processo è evidente a dosi di nanogrammi sia in vitro che in vivo, suggerendo che questo nuovo mediatore, unitamente agli altri, svolge un ruolo di primo piano nel processo di catabasi e nel ritorno dei tessuti dallo stato infiammatorio alla "restitutio ad integrum" (17, 18).

Le Rvs della serie D ed E e le PD1 hanno una simile azione pro risolutiva e anti infiammatoria, ma agiscono su specifici recettori fra loro diversi proteggendo i tessuti anche dallo stress ossidativo che accompagna infiammazione ed infezione e il progresso verso la guarigione.

Il riscontro di nuovi metaboliti bioattivi, le maresine, unitamente alle Rvs E, D e alle Protectine, evidenzia ulteriormente l'importante ruolo degli AGE omega-3 sulla condizione di salute e sul decorso di molteplici malattie e prospetta nuovi possibili approcci terapeutici dei gravi processi infiammatori (17, 18, 94, 95).

Considerazioni conclusive

I nostri antenati indicavano il processo infiammatorio acuto con i

termini "rubor, tumor, calor, dolor et laesa functio". Tale processo, secondario a stimoli infettivi, traumatici, chimici, immunitari ecc., è attualmente riconosciuto essere dovuto ad un accumulo di leucociti, mastociti e piastrine, prima linea di difesa dell'organismo, che liberano vari tipi di mediatori di natura lipidica (eicosanoidi), proteica (citochine e chemochine) ed anche gassosa (ossido nitrico, monossido di carbonio, specie reattive dell'ossigeno) allo scopo di delimitare la sede interessata, iniziare la risposta immune, eliminare il fattore scatenante e ristabilire quindi lo stato di integrità fisica.

Nei processi infiammatori acuti, come avviene nella maggioranza della patologia infettiva, l'infiltrazione è prevalentemente neutrofila e l'eliminazione dell'agente patogeno, con l'intervento o meno della terapia anti infettiva, porta a risoluzione del quadro clinico-patologico mentre in quelli cronici, prevale l'infiltrazione di linfociti e macrofagi. La mancata clearance delle cellule T e di altre cellule infiammatorie determina la persistenza della risposta infiammatoria con distruzione tissutale, proliferazione vascolare, fibrosi e possibili danni irreversibili (22, 60).

L'evoluzione verso la guarigione veniva in qualche modo prevista, molti secoli fa, dagli illustri maestri del tempo i quali, pur privi di sofisticate tecnologie, considerava-

no l'infiammazione-infezione con "pus bonum et laudabile" cioè giallo, denso e cremoso (oggi nota espressione di una infiltrazione da PMN), quella ad evoluzione favorevole e per la quale, secondo Galeno, la migliore terapia consigliata risiedeva nell'aforisma "ubi pus ibi evacua" cioè l'eliminazione di quella che veniva considerata la "materia peccans" (96). Tale tipo di infiammazione era distinta da quella in cui le secrezioni erano più liquide, chiare e maleodoranti, espressione di inadeguate difese dell'organismo o della particolare virulenza dei patogeni.

Nonostante il progredire delle conoscenze, i meccanismi sull'evoluzione dell'infiammazione sono però rimasti alquanto nel vago fino a quando è emerso che, subito dopo l'inizio del processo infiammatorio, si innesca anche un programma di risoluzione del processo stesso. Infatti con la scoperta dapprima delle LX e successivamente delle resolvine, delle protectine-neuroprotectine e del tutto recentemente delle maresine, mediatori lipidici anti infiammatori, è emerso che queste svolgono un ruolo di primo piano nel controllare e programmare la risoluzione del processo infiammatorio (17, 18, 58, 94).

All'inizio del processo infiammatorio acuto, i mediatori lipidici come le prostaglandine e i leucotrieni giocano un ruolo di primo piano nell'orchestrare i cambiamenti

emodinamici utili ad attrarre, nella sede della lesione, i granulociti neutrofili, vari altri elementi e a produrre molteplici composti dando luogo al classico quadro dell'infiammazione. Subito dopo però si innesca, per un meccanismo ancora non noto ma che fa ipotizzare l'esistenza di un "orologio biologico personale", cioè con alcune caratteristiche tipiche di ogni individuo, il viraggio nella produzione da prostaglandine e leucotrieni a LX. Queste iniziano la cessazione del richiamo di neutrofili, l'apoptosi e la sintesi, dagli acidi grassi omega-3, di altri mediatori lipidici anti infiammatori, resolvine, protectine e maresine che concorrono a ridurre l'infiltrazione di neutrofili, a potenziare l'apoptosi, ad innescare la fagocitosi dei neutrofili apoptotici da parte dei macrofagi, a determinare quindi la clearance dei neutrofili e il rilascio di citochine anti infiammatorie e riparative quali il TGF- β 1 (22, 97, 98). Il programma anti infiammatorio termina con la migrazione, attraverso i vasi linfatici, dei macrofagi dalla sede in via di guarigione.

Da quanto ora riportato, frutto di molti anni di ricerche, emerge chiaramente che la risoluzione del processo infiammatorio non è un processo passivo ma un processo attivo realizzato, attraverso programmi biochimici, da potenti mediatori lipidici con azione anti infiammatoria e risolutiva (22). La

LX inoltre, come recentemente dimostrato, pone anche fine alla sintomatologia dolorosa secondaria all'infiammazione (99).

In tale ambito l'aspirina gioca un importante ruolo anti infiammatorio non solo perché blocca le prostaglandine e il trombossano ma anche perché innesca la formazione di potenti mediatori lipidici endogeni epimeri (AT aspirin-triggered) da LX, resolvine, protectine, neuroprotectine, a volte meno sensibili alla deidrogenazione e quindi con più lunga emivita, attivi in vivo in quantità minime (picogrammi-nanogrammi) e con attività anti fibrotica. Questo fa inoltre ritenere che il benefico effetto dei PUFA, associati all'aspirina nei famosi studi GISSI di 11.323 pazienti sopravvissuti all'infarto, sia almeno in parte dovuto alla concomitante azione anti infiammatoria dei mediatori lipidici AT (100-103).

Dalla scoperta delle LX, e quindi del primo composto endogeno deputato fisiologicamente alla risoluzione del processo infiammatorio, parecchi studiosi hanno pensato al loro possibile impiego come farmaci, spesso in sostituzione ai cortisonici e ai farmaci anti infiammatori non cortisonici, in moltissimi processi infiammatori acuti secondari a meningiti, encefaliti congenite (es. da citomegalovirus) e non, emorragie cerebrali, a sindromi anossiche ischemiche, epa-

topatie, nefropatie, pancreatiti, artriti, malattie autoimmuni oltre alle già citate retiniti, peritoniti, asma, fibrosi cistica. Inoltre tenendo presente le molte patologie infiammatorie croniche oggi tanto frequenti quali diabete mellito tipo 1 e 2, l'ipertensione, la patologia aterosclerotica cardiovascolare, le malattie infiammatorie croniche intestinali, la colite, il fegato grasso non alcolico, il lupus sistemico, la schizofrenia, l'Alzheimer, il Parkinson, il cancro, molti hanno pensato di dirigere la ricerca in ambito farmacologico non solo verso l'antagonismo dei mediatori pro infiammatori, ma anche verso la realizzazione di composti anti infiammatori analoghi a quelli normalmente prodotti dall'organismo e sfruttare quindi questa nuova possibile via terapeutica. Per tale motivo, onde aumentare l'emivita della LXA4 e della ATL e la resistenza all'ossidazione, dopo il primo composto, il 15-epi-16-(para-fluoro)-phenoxy-LXA4, sono stati messi a punto e sperimentati nel corso degli anni diversi analoghi, fra i quali il 3-oxa LXA4, fino al più recente, l'analogo aromatico, la benzo LXA4, che ha un importante profilo terapeutico (34, 104-106) (Fig. 12). È stato così confermato che gli analoghi stabili della LX e dell'ATL hanno una potente azione anti infiammatoria e anti fibrotica (a dosi di picogrammi/nanogrammi) in varie condi-

zioni patologiche nell'animale da esperimento per cui vi sono valide prospettive per iniziare il loro uso sperimentale anche nell'uomo.

Per quanto riguarda le resolvine e le protectine, si è cercato dapprima di migliorare le varie condizioni clinico-patologiche facilitando la biosintesi ed il contenuto endogeno di omega-3 con elevati apporti di EPA e DHA: si sono così ottenuti discreti risultati in vitro, nell'animale da esperimento ed anche nei tessuti dell'uomo compreso il fegato e il sistema nervoso favorendo la sopravvivenza cellulare e l'espressione di geni protettivi (107-113). Questo sarebbe dovuto al ristabilito ed adeguato contenuto di omega-3, in precedenza alterato per un ridotto apporto o per particolari condizioni clinico-patologiche (114-117). La sintesi organica delle RvE1, RvD1, Protectin D1/Neuroprotectin D1, e delle loro forme attivate dall'aspirina, hanno dato luogo a prodotti analoghi che hanno confermato la potente azione sia in vitro che in vivo alcuni dei quali, evoluti nel tempo, hanno dimostrato una sempre migliore stabilità chimica e metabolica per cui sono in programma sperimentazioni anche nell'uomo (34, 95, 115, 116, 118-121) (Fig. 12).

Da quanto fin qui riportato, vi sono pertanto fondati motivi per ritenere che, con la scoperta dei mediatori lipidici anti infiammatori, si è aperta una nuova era non solo

nella comprensione dei meccanismi biochimici alla base dei processi infiammatori ma anche nella ricerca per realizzare nuovi e più efficaci composti attivi, soprattutto contro quello che è stato da molti definito "The secret killer": il processo infiammatorio cronico.

Bibliografia

1. Gibbons A. *Ardipithecus ramidus*. Science 2009; 326 (5960): 1598-99.
2. DellaPenna D. Nutritional genomics: manipulating plant micronutrients to improve human health. Science 1999; 285 (5426): 375-79.
3. Subbiah MT. Understanding the nutrigenomic definitions and concepts at the food-genome junction. OMICS. 2008; 12 (4): 229-35.
4. Marinelli P. Forum: Agricoltura e qualità della vita. Firenze 16 ottobre 2000.
5. Burr GO, Burr MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J Biol Chem 1929; 82: 345-67.
6. Burr GO, Burr MM. The nature and role of the fatty acids essential in nutrition. Biol Chem 1930; 86: 587-21.
7. Samuelsson BI, Borgeat P, Hammarstrom S, et al. Introduction of a nomenclature: leukotrienes. Prostaglandins 1979; 17: 785-7.
8. Samuelsson B. From studies of biochemical mechanism to novel biological mediators: prostaglandin endoperoxides, thromboxanes, and leukotrienes. Nobel Lecture. Biosci Rep 1983; 3: 791-813.
9. Samuelsson BI. Leukotrienes mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. Science 1983; 220:568-75.
10. Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B. Lipoxins: novel series of biologically active compounds formed from arachi-

- donic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5335-9.
11. Martins V, Valença SS, Farias-Filho FA, et al. ATLa, an aspirin-triggered lipoxin A4 synthetic analog, prevents the inflammatory and fibrotic effects of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2009; 182 (9): 5374-81.
 12. Serhan CN, Clish CB, Brannon J, et al. Novel functional sets of lipid-derived mediators with anti-inflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase2- non steroidal anti-inflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med* 2000; 192: 1197-204.
 13. Serhan CN, Hong S, Gronert K, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter pro-inflammation signals. *J Exp Med* 2002; 196: 1025-37.
 14. Hong S, Gronert K, Devchand P, et al. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood and glial cells: autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem* 2003; 278: 14677-87.
 15. Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, et al. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin triggered endogenous epimers: an overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2004; 73: 155-72.
 16. Caramia G, Fanos V. Mediatori lipidici, infezioni e infiammazioni: evoluzione delle conoscenze e prospettive terapeutiche. *Giorn Ital Mal Infet Ped Giorn It Inf. Ped* 2007; 9: 15-27.
 17. Serhan CN, Yang R, Martinod K, et al. Maresins: novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and pro-resolving actions. *J Exp Med* 2009; 206 (1): 15-23.
 18. 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.
 19. Arita M, Bianchini F, Aliberti J, et al. Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. *J Exp Med* 2005; 201:713-22.
 20. Drazen JM. Leukotrienes as mediators of airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158: S193-200.
 21. Caramia G, Cocchi M, Frega N. Recenti progressi in nutrizione. *Progress In Nutrition* 2000;2:25-40.
 22. Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005;12:1191-97.
 23. Caramia G. Gli acidi grassi essenziali omega-3 ed omega-6:dalla loro scoperta alle prospettive terapeutiche. *Minerva Pediatr* 2008;60(2):219-33.
 24. Morris T, Stables M, Colville-Nash P, et al. Dichotomy in duration and severity of acute inflammatory responses in humans arising from differentially expressed proresolution pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (19): 8842-47.
 25. Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: an update and role in anti inflammation and pro-resolution. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 2002;68-69: 433-55.
 26. Morris T, Stables M, Hobbs A, et al. Effects of low-dose aspirin on acute inflammatory responses in humans. *J Immunol* 2009; 183 (3): 2089-96.
 27. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans* 2005; 33: 423-7.
 28. Maddox JF, Serhan CN. Lipoxin A4 and B4 are potent stimuli for human monocyte migration and adhesion: selective inactivation by dehydrogenation and reduction. *J Exp Med* 1996; 183: 137-46.
 29. Takano T, Clish CB, Gronert K, et al. Neutrophil-mediated changes in vascular permeability are inhibited by topical application of aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 and novel lipoxin B4 stable analogues. *J Clin Invest* 1998; 10: 819-26.
 30. Godson C, Mitchell S, Harvey K, et al. Cutting edge: Lipoxins rapidly stimulate non phlogistic phagocytosis of apoptotic neutrophils by monocyte-derived macrophages. *J. Immunol* 2000; 164: 1663-67.
 31. Baker N, O'Meara SJ, Scannell M, et al. Lipoxin A4: anti-inflammatory and anti-angiogenic impact on endothelial cells. *J Immunol* 2009; 182 (6): 3819-26.
 32. Huynh MLN, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promoted TGF- β 1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41-50.
 33. Lawrence T, Bebie M, Liu GY, et al. IKKa limits macrophage NF-kappaB activation and contributes to the resolution of inflammation. *Nature* 2005; 434: 1138-43.
 34. Maderna P, Godson C. Lipoxins: revolutionary road. *Br J Pharmacol* 2009; 158 (4): 947-59.
 35. Levy BD, Bonnans C, Silverman ES, et al. Diminished lipoxin biosynthesis in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 824-30.
 36. Kowal-Bielecka O, Kowal k, Distler O, et al. Cyclooxygenase- and lipoxygenase-derived eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid from patients with scleroderma lung disease: An imbalance between proinflammatory and antiinflammatory lipid mediators. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3783-91.
 37. Wu SH, Liao PY, Yin PL, et al. Inverse temporal changes of lipoxin A4 and leukotrienes in children with Henoch-Schönlein purpura. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009; 80: 177-83.
 38. Lee TH, Crea AE, Gant V, et al. Identification of lipoxin A4 and its relationship to the sulfidopeptide leukotrienes C4, D4, and E4 in the bron-

- choalveolar lavage fluids obtained from patients with selected pulmonary diseases. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:1453-58.
39. Chiron R, Grumbach YY, Quynh NV, et al. Lipoxin A(4) and interleukin-8 levels in cystic fibrosis sputum after antibiotherapy. *J Cyst Fibros* 2008; 7(6):463-8.
 40. Karp CL, Flick LM, Park KW, et al. Defective lipoxin-mediated anti-inflammatory activity in the cystic fibrosis airway. *Nat Immunol* 2004;5:388-92.
 41. Takai D, Nagase T, Shimizu T. New therapeutic key for cystic fibrosis: a role for lipoxins. *Nature Immunology* 2004; 4: 357-58.
 42. Karp CL, Flick LM, Yang R, et al. Cystic fibrosis and lipoxins. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:263-70.
 43. Grumbach Y, Quynh NV, Chiron R, et al. LXA4 stimulates ZO-1 expression and transepithelial electrical resistance in human airway epithelial (16HBE14o-) cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296(1):L101-08.
 44. Gronert K, Martinsson-Niskanen T, Ravasi S, et al. Selectivity of recombinant human leukotriene D(4), leukotriene B(4), and lipoxin A(4) receptors with aspirin-triggered 15-epi-LXA(4) and regulation of vascular and inflammatory responses. *American Journal of Pathology* 2001; 158 (1): 3-9.
 45. Godson C, Mitchell S, Harvey K, et al. Cutting edge: lipoxins rapidly stimulate nonphlogistic phagocytosis of apoptotic neutrophils by monocyte-derived macrophages. *Journal of Immunology* 2000; 164 (4):1663-67.
 46. Levy BD, De Sanctis GT, Devchand PR, et al. Multi-pronged inhibition of airway hyper-responsiveness and inflammation by lipoxin A(4). *Nature Medicine* 2002; 8 (9): 1018-23.
 47. Bonnans C, Fukunaga K, Levy MA, et al. Lipoxin A(4) regulates bronchial epithelial cell responses to acid injury. *American Journal of Pathology* 2006; 168 (4): 1064-72.
 48. Canny G, Levy O, Furuta GT, et al. Lipid mediator induced expression of bactericidal/ permeability-increasing protein (BPI) in human mucosal epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002; 99 (6): 3902-7.
 49. Celik GE, Erkekol FO, Misirligil Z, et al. Lipoxin A4 levels in asthma: relation with disease severity and aspirin sensitivity. *Clinical & Experimental Allergy* 2007; 37 (10): 1494-501.
 50. Fiorucci S, Wallace JL, Mencarelli A, et al. A beta-oxidation-resistant lipoxin A4 analog treats hapten-induced colitis by attenuating inflammation and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 15736-41.
 51. Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxins are the first lipid mediators of endogenous anti-inflammation and resolution. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 73: 141-62.
 52. Levy BD. Lipoxins and lipoxin analogs in asthma. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:231-37.
 53. Romano M. Lipid mediators: lipoxin and aspirin-triggered 15-Epi-Lipoxins. *Inflammation & Allergy - Drug Targets* 2006; 5: 81-90.
 54. Kenchegowda S, Bazan HE. Significance of lipid mediators in corneal injury and repair. *J Lipid Res* 2010; 51(5): 879-91.
 55. He J, Bazan HE. Omega-3 fatty acids in dry eye and corneal nerve regeneration after refractive surgery. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid.* 2010;82(4-6):319-25
 56. Li G, Wu P, Xu Y, et al. The effect of Lipoxin A4 on the interaction between macrophage and osteoblast: possible role in the treatment of aseptic loosening. *BMC Musculoskelet Disord* 2009; 10:57.
 57. Sun YP, Tjonahen E, Keledjian R, et al. Anti-inflammatory and pro-resolving properties of benzo-lipoxin A(4) analogs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009; 81(5-6):357-66.
 58. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and proresolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology* 2008; 8 (5): 349-61.
 59. Bannenberg GL, Chiang N, Ariel A, et al. Molecular circuits of resolution: Formation and actions of resolvins and protectins. *J Immunol* 2005; 174: 4345-55.
 60. Ariel A, Li PL, Wang W, et al. The docosatriene protectin D1 is produced by TH2 skewing and promotes human T cell apoptosis via lipid raft clustering. *J Biol Chem* 2005; 280: 43079-86.
 61. Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, et al. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J Immunol* 2006; 176:1848-59.
 62. Chiang N, Serhan CN. Cell-cell interaction in the transcellular biosynthesis of novel omega-3-derived lipid mediators. *Methods Mol Biol* 2006; 341: 227-50.
 63. Serhan CN. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol Clin* 2006; 24: 341-64.
 64. Campbell EL, Louis NA, Tomassetti SE, et al. Resolvin E1 promotes mucosal surface clearance of neutrophils: a new paradigm for inflammatory resolution. *FASEB J* 2007; 21: 3162-70.
 65. Arita M, Ohira T, Sun YP, et al. Resolvin E1 selectively interacts with leukotriene B4 receptor BLT1 and ChemR23 to regulate inflammation. *J Immunol* 2007; 178: 3912-7.
 66. Haas-Stapleton EJ, Lu Y, Hong S, et al. *Candida albicans* modulates host defense by biosynthesizing the pro-resolving mediator resolvin E1. *PLoS One* 2007; 2: e1316.
 67. Schwab JM, Chiang N, Arita M, et al.

- Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes. *Nature* 2007;447: 869–74.
68. Dona M, Fredman G, Schwab JM, et al. Resolvin E1, an EPA-derived mediator in whole blood, selectively co-counterregulates leukocytes and platelets. *Blood* 2008; 112: 848–55.
 69. Tian H, Lu Y, Sherwood AM, et al. Resolvins E1 and D1 in choroid-retinal endothelial cells and leukocytes: biosynthesis and mechanisms of anti-inflammatory actions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50:3613–20.
 70. Connor KM, SanGiovanni JP, Lofqvist C, et al. Increased dietary intake of omega-3-polyunsaturated fatty acids reduces pathological retinal angiogenesis. *Nat Med* 2007; 13:868–73.
 71. Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, et al. RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J* 2006;20:401–03.
 72. Arita M, Yoshida M, Hong S, et al. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(21):7671–76.
 73. Haworth O, Cernadas M, Yang R, et al. Resolvin E1 regulates interleukin 23, interferon-gamma and lipoxin A4 to promote the resolution of allergic airway inflammation. *Nat Immunol* 2008;9:873–79
 74. Seki H, Fukunaga K, Arita M, et al. The anti-inflammatory and proresolving mediator resolvin E1 protects mice from bacterial pneumonia and acute lung injury. *J Immunol* 2010; 184: 836–43.
 75. Tjonahen E, Oh SF, Siegelman J, et al. Identification and anti-inflammatory actions: pivotal role of human 5-lipoxygenase in resolving E series biosynthesis. *Chem Biol* 2006; 13: 1193–202.
 76. Arita M, Clish CB, Serhan CN. The contributions of aspirin and microbial oxygenase to the biosynthesis of anti-inflammatory resolvins: novel oxygenase products from omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 149–57.
 77. Janakiram NB, Rao CV. Role of lipoxins and resolvins as anti-inflammatory and proresolving mediators in colon cancer. *Curr Mol Med* 2009; 9 (5):565–79.
 78. Xu ZZ, Zhang L, Liu T, et al. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med* 2010; 16 (5):592–97.
 79. Sun YP, Oh SF, Uddin J, et al. Resolvin D1 and its aspirin-triggered 17 Repimer: stereochemical assignments, anti-inflammatory properties and enzymatic inactivation. *J Biol Chem* 2007; 282 (13): 9323–24.
 80. Souza DG, Fagundes CT, Amaral FA, et al. The required role of endogenously produced lipoxin A4 and annexin-1 for the production of IL-10 and inflammatory hyporesponsiveness in mice. *J Immunol* 2007; 179:8533–43.
 81. Spite M, Norling LV, Summers L, et al. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature* 2009;461:1287–91.
 82. Seki H, Sasaki T, Ueda T, et al. Resolvins as regulators of the immune system. *Scientific World Journal*. 2010; 10:818–31.
 83. Levy BD. Resolvins and protectins: natural pharmacophores for resolution biology. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2010;82(4–6):327–32.
 84. Duffield JS, Hong S, Vaidya V, et al. Resolvin D series and protectin D1 mitigate acute kidney injury. *J Immunol* 2006; 177:5902–11.
 85. Levy BD, Kohli P, Gotlinger K, et al. Protectin D1 is generated in asthma and dampens airway inflammation and hyperresponsiveness. *J Immunol* 2007;178:496–02.
 86. Mukherjee PK, Marcheselli VL, Serhan CN, et al. Neuroprotectin D1: a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 8491–96.
 87. Hong S, Lu Y, Yang R, et al. Resolvin D1, Protectin D1, and related Docosahexaenoic acid-derived products: analysis via electrospray/low energy tandem mass spectrometry based on spectra and fragmentation mechanisms. *J Am Soc Mass Spectrom* 2007;18:128–44.
 88. Palacios-Pelaez R, Lukiw WJ, Bazan NG. Omega-3 Essential Fatty Acids modulate initiation and progression of neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol*. 2010 May 14. [Epub ahead of print]
 89. Zhang C, Bazan NG. Lipid-mediated cell signaling protects against injury and neurodegeneration. *J Nutr* 2010; 140 (4):858–63.
 90. Antony R, Lukiw WJ, Bazan NG. Neuroprotectin D1 induces dephosphorylation of BCL-XL in a PP2A-dependent manner during oxidative stress and promotes retinal pigment epithelial cell survival. *J Biol Chem*. 2010 Apr 2. [Epub ahead of print]
 91. Dangi B, Obeng M, Nauroth JM, et al. Biogenic synthesis, purification, and chemical characterization of anti-inflammatory resolvins derived from docosapentaenoic acid (DPAn-6). *J Biol Chem* 2009; 284(22): 14744–59.
 92. Dangi B, Obeng M, Nauroth JM, et al. Metabolism and biological production of resolvins derived from docosapentaenoic acid (DPAn-6). *Biochem Pharmacol* 2010; 79(2):251–60.
 93. Nauroth JM, Liu YC, Van Elswyk M, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPAn-6) algal oils reduce inflammatory mediators in human peripheral mononuclear cells in vitro and paw edema in vivo. *Lipids* 2010; 45 (5): 375–84.
 94. 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 Apr 28. [Epub ahead of print]
95. Bannenberg GL. Therapeutic applicability of anti-inflammatory and pro resolving polyunsaturated fatty acid-derived lipid mediators. *Scientific World Journal* 2010;10:676-712.
 96. Kantarci A, Van Dyke TE. Resolution of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 2005;76(11 Suppl): 2168-74.
 97. Serhan CN, Yacoubian S, Yang R. Anti-inflammatory and proresolving lipid mediators. *Annu Rev Pathol* 2008;3:279-312.
 98. Krishnamoorthy S, Recchiuti A, Chiang N, et al. Resolvin D1 binds human phagocytes with evidence for proresolving receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(4):1660-5.
 99. Svensson CI, Zattoni M, Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxin stop inflammatory pain processing. *J Exp Med* 2007; 20:245-52.
 100. GISSI-Prevenzione Investigators (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico): Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet* 1999;354:447-55.
 101. Gissi-HF Investigators, Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 372 (9645): 1223-30.
 102. Marchioli R, Sillelta MG, Levantesi G, et al. Omega-3 fatty acids and heart failure. *Curr Atheroscler Rep* 2009; 11 (6): 440-47.
 103. Marchioli R, Sillelta MG, Levantesi G, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids in heart failure: mechanisms and recent clinical evidence. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2010; 56 (1): 110-30.
 104. Guilford WJ, Bauman JG, Skuballa W, et al. Novel 3-oxa lipoxin A4 analogues with enhanced chemical and metabolic stability have anti-inflammatory activity in vivo. *J Med Chem* 2004;47(8):2157-65.
 105. O'Sullivan TP, Vallin KS, Shah ST, et al. Aromatic lipoxin A4 and lipoxin B4 analogues display potent biological activities. *J Med Chem* 2007; 50 (24):5894-902.
 106. Petasis NA, Keledjian R, Sun YP, et al. Design and synthesis of benzo-lipoxin A4 analogs with enhanced stability and potent anti-inflammatory properties. *Bioorg Med Chem Lett* 2008;18(4):1382-87.
 107. Vrablík M, Prusíková M, Snejdrlová M, et al. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease risk: do we understand the relationship? *Physiol Res* 2009;58 Suppl 1:S19-26.
 108. de Goede J, Geleijnse JM, Boer JM, et al. Marine (n-3) fatty acids, fish consumption, and the 10-year risk of fatal and non fatal coronary heart disease in a large population of Dutch adults with low fish intake. *J Nutr* 2010;140(5):1023-28.
 109. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev* 2010;68(5):280-89.
 110. Masterton GS, Plevis JN, Hayes PC. Review article: omega-3 fatty acids – a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31 (7): 679-92.
 111. Lukiw WJ, Cui JG, Marcheselli VL, et al. A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest* 2005; 115 (10): 2774-83.
 112. González-Pérez A, Planagumà A, Gronert K, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *FASEB J* 2006;20:2537-39.
 113. Caramia G. Omega-3: dall'olio di fegato di merluzzo alla nutrigenomica. *Minerva Pediatr* 2008; 60:443-55.
 114. Caramia G, Nobilini A. Il ruolo degli acidi grassi essenziali in età pediatrica. *Fano Pediatrica* 1990; 49-55.
 115. Bannenberg GL. Resolvins: Current understanding and future potential in the control of inflammation. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; 12 (5): 644-58.
 116. Caramia G. Gli acidi grassi essenziali omega-3: influenza sull'organismo e nuove prospettive terapeutiche *Giornate Nazionali di Nutrizione Pratica Milano* 2009; 100-115.
 117. Hassan IR, Gronert K. Acute changes in dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids have a pronounced impact on survival following ischemic renal injury and formation of renoprotective docosahexaenoic acid-derived protectin D1. *J Immunol* 2009;182(5):3223-32.
 118. Schottelius AJ, Giesen C, Asadullah K, et al. An aspirin-triggered lipoxin A4 stable analog displays a unique topical anti-inflammatory profile. *J Immunol* 2002; 169:7063-70.
 119. Fiorucci S, Wallace JL, Mencarelli A, et al. A beta-oxidation-resistant lipoxin A4 analog treats hapten-induced colitis by attenuating inflammation and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:15736-41.
 120. Wu SH, Wu XH, Liao PY, et al. Signal transduction involved in protective effects of 15(R/S)-methyl-lipoxin A(4) on mesangio proliferative nephritis in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2007; 76(3):173-80.
 121. Guilford WJ, Parkinson JF. Second-generation beta-oxidation resistant 3-oxa-lipoxin A4 analogs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 73:245-50.