LIPIDOMICA E MEMBRANA CELLULARE

di Giuseppe Pigoli

La lipidomica è una disciplina che studia le molecole lipidiche non solo da un punto di vista strutturale e funzionale, ma anche e soprattutto, ne studia le modificazioni in relazione al metabolismo cellulare, sia in condizioni fisiologiche che patologiche e ne definisce il ruolo nel mantenimento del complesso equilibrio che governa l'intero organismo.

Da quanto appena detto si evince il ruolo fondamentale che le molecole lipidiche (acidi grassi, AG) rivestono nel mantenimento dello stato di salute della cellula e della sua membrana in particolare.

Per meglio comprendere le relazioni intercorrenti fra membrana cellulare e molecole lipidiche è necessario in prima istanza fornire nozioni generali sui lipidi.

Generalità sui lipidi.

Gli Acidi Grassi sono la componente più importante e comune di tutte le classi di lipidi e svolgono importanti funzioni strutturali (a livello delle membrane cellulari), energetiche (in quanto fonte di energia) e metaboliche. Gli acidi grassi presenti nell'organismo in parte vengono sintetizzati dall'organismo stesso, in parte derivano dalla dieta, veicolati dai trigliceridi (*figura 1*), vengono incorporati nella membrana cellulare.

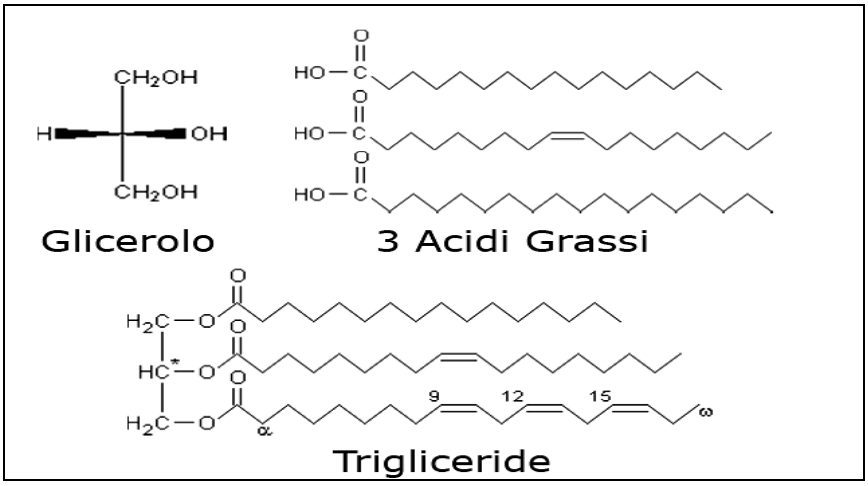


Fig 1: rappresentazione di una molecola di trigliceride.

Si conoscono i seguenti tipi di AG:

Acidi Grassi SATURI (SFA): di cui fanno parte sia i trigliceridi di deposito sia i componenti strutturali di membrana, quali: acido palmitico e acido stearico. Se assunti in eccesso sono implicati nella genesi di malattie cardiovascolari; un complesso polienzimatico noto come *Fatty Acid Synhtase* (FAS) ne regola la sintesi, dipendente

Ricevuto 1 Settembre 2013

dall'insulina. Quest'ultima, a sua volta, è correlata all'assunzione di carboidrati. questo spiega come un eccesso di carboidrati sia direttamente correlabile all'accumulo lipidico. Il primo prodotto FAS dipendente è l'acido palmitico da cui deriva l'acido stearico.

Acidi Grassi MONOINSATURI (MFA): esercitano effetti benefici sulla salute, regolando il tasso di colesterolo e intervengono nella protezione del sistema cardiovascolare.

Acidi Grassi POLINSATURI (PUFA): si distinguono in due famiglie che hanno effetti fisiologici differenti:

Gli acidi grassi della serie **omega 6** diminuiscono il tasso di colesterolo e sono indispensabili alla struttura della membrane cellulari; hanno una funzione pro-infiammatoria.

Gli acidi grassi della serie **omega 3** hanno importanti funzioni anti-infiammatorie e favoriscono la prevenzione delle malattie cardiovascolari.

Le molecole AG possono essere a catena corta (< 14 atomi di carbonio) o lunga (> 14 atomi di carbonio) inoltre, come appena accennato, possono essere classificati come **insaturi** o **saturi** secondo il livello di saturazione dei legami con l'idrogeno.

Gli **acidi saturi** (stearico, butirrico, palmitico) hanno legami semplici e risultano più stabili all'ossidazione e al calore. Nella loro struttura tutti i legami sono saturati con l'idrogeno. Sono contenuti nei grassi animali (burro, carni, lardo…).

Gli **acidi grassi insaturi** (oleico, linoleico, linolenico, arachidonico…) sono suddivisi in **monoinsaturi** o **polinsaturi (PUFA)**, secondo la presenza di uno o più doppi legami non saturati con l'idrogeno. Sono più sensibili ai processi di ossidazione e derivano da alimenti vegetali (oli di oliva e di semi, nocciole, arachidi…). Alcuni acidi grassi insaturi sono definiti **essenziali** perché, al pari degli aminoacidi essenziali, non sono sintetizzati dall'organismo ma devono essere introdotti con la dieta. Fra questi vanno ricordati : l'acido **linoleico** (LA), l'acido **linolenico** (LNA), l'acido **arachidonico** (AA).

L'aspetto chimico-strutturale di maggior rilievo che differenzia i grassi saturi dagli insaturi consta in una maggiore "flessibilità" della molecola insatura nei punti in cui è presente il doppio legame: la molecola carboniosa presenta dei punti di "torsione" proprio in corrispondenza del doppio legame, rendendola così meno rigida.

Da un punto di vista morfo-funzionale il fenomeno si traduce in una maggiore fluidità della membrana cellulare di cui gli acidi grassi sono una componente di rilievo. Un esempio per tutti può risultare chiarificatore: se la membrana cellulare delle emazie è elastica (quindi

ricca di grassi insaturi), le emazie stesse potranno più agevolmente deformarsi durante il loro transito lungo i capillari, svolgendo appropriatamente la loro funzione.

Le ragioni per cui è stata posta attenzione sul ruolo degli acidi grassi in generale e sugli acidi grassi polinsaturi in particolare, sono identificabili con le prerogative di questi ultimi: le serie PUFA n-3 e n-6 sono incorporate nelle membrane biologiche sotto forma di componenti di fosfolipidi e glicolipidi. A tale livello competono per lo stesso sistema enzimatico; essendo il loro metabolismo completamente separato, non è possibile una loro interconversione. Dall'acido linoleico (n-6) origina l'acido arachidonico (AA), dall'acido linolenico (n-3) origina l' acido eicosapentaenoico (EPA) che può essere ulteriormente allungato e denaturato ad acido deicosaesaenoico (DHA)

alcuni concetti di base: il termine acido grasso saturo indica che tutti gli atomi di carbonio della molecola lipidica sono saturati dall'idrogeno; il termine monoinsaturo indica che un solo atomo di carbonio della molecola non è saturato dall'idrogeno, mentre il termine polinsaturo indica che più atomi di carbonio non sono saturati dall'idrogeno. In corrispondenza degli atomi non saturati si stabilisce quindi un doppio legame che unisce due atomi di carbonio successivi (*figura 2*)

Gli acidi grassi insaturi (mono e polinsaturi) sono contrassegnati dalla lettera ω e da un numero : la lettera **ω** indica l'estremità carbossilica della molecola (COOH) e il numero (6,3, 9) indica il primo atomo di carbonio , contando anche il C dell'estremità carbossilica, in cui è presente il primo doppio legame. Gli acidi grassi possono essere descritti nel seguente modo, specifico per ognuno di essi: es.C18:2 (acido linoleico) dove C18 indica il numero di atomi di C e 2 il numero di doppi legami presenti nella molecola.

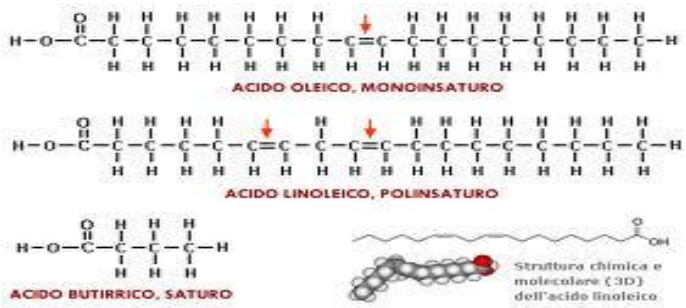


Fig 2: rappresentazione di alcune molecole di acidi grassi: le frecce rosse indicano il sito di doppio legame partendo dall'estremità carbossilica (indicata dalla parentesi). acido *oleico* o ω 9, acid linoleico o ω 6. In corrispon denza del doppio legame, la molecola dell'acido insaturo possiede la caratteristica di subire una torsione (in basso a destra) che ha riflessi positivi sull'equilibrio funzionale della membrana cellulare di cui entra a fare parte (vedi oltre).

Dato che l'organismo umano non è in grado di sintetizzare i PUFA della serie ω-3 ed ω-6, sarà compito, quindi di una corretta alimentazione, introdurre almeno i "progenitori" delle due grandi categorie di PUFA: l'acido linolenico, precursore degli ω-3 (da non confondere con l'acido di-homo linolenico, della "pista" ω-6) e l'acido linoleico, precursore degli ω-6. Una volta resisi disponibili nell'organismo, tali "capostipiti", attraverso l'azione catalitica di specifici enzimi – quali *elongasi* e *desaturasi* – daranno origine ai vari prodotti intermedi e finali, quali, rispettivamente, l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosoesaenoico (DHA) per gli ω-3 e l'acido arachidonico (AA), per gli ω-6. I PUFA della membrana cellulare subiscono trasformazioni ad opera degli enzimi *cicloossigenasi* e *lipoossigenasi* dando origine ai loro metaboliti attivi , gli **eicosanoidi o prostanoidi,** responsabili dell'azione metabolica dei PUFA: questi eicosanoidi (prostaglandine, leucotrieni, interleuchine) se prodotte dai grassi n-3, possiedono azione antinfiammatoria (TXA2, PGI2, PGD2, LTB4, LTC4, PGI2, PGD2), viceversa se prodotte dai grassi n-6 possiedono azione pro-infiammatoria. (TXA2, PGI2, PGD2, LTB4, LTC4, PGI2, PGD2) (*figura 3)*

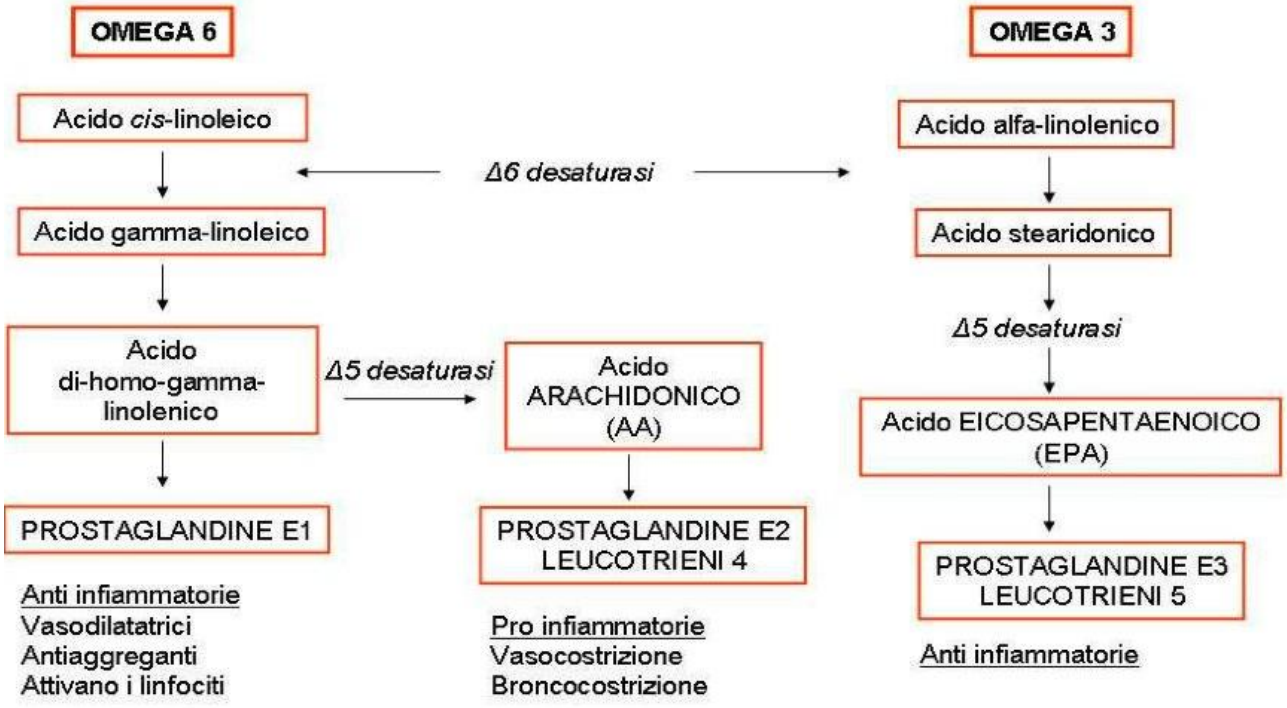
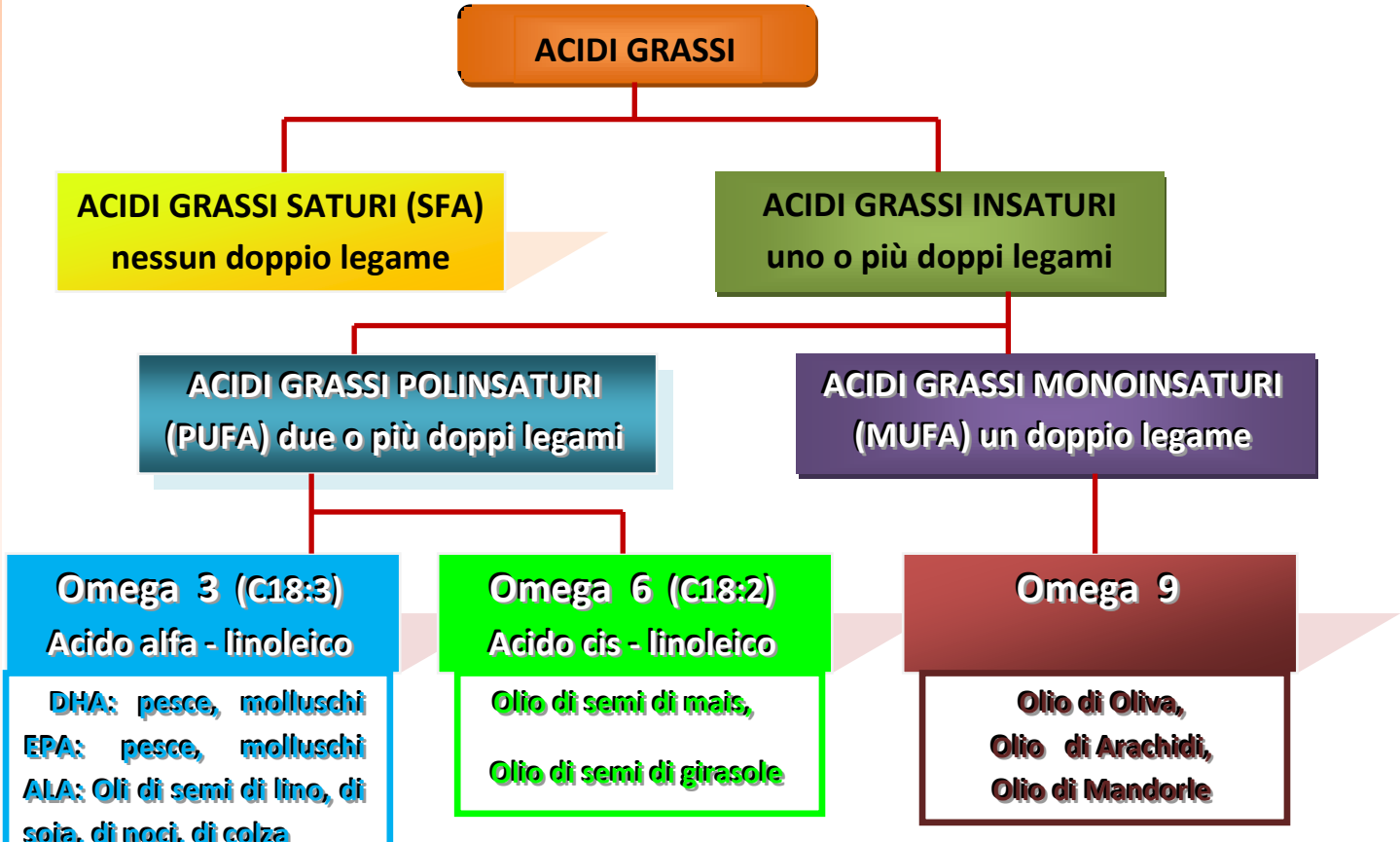


figura 3 Rappresentazione schematica della biosintesi degli acidi grassi della serie omega 6 ed omega 3, con le rispettive funzioni dei prodotti del metabolismo.

Più in generale gli eicosanoidi n-3 e n-6 derivati esplicano azioni fra loro opposte su:

- **la proliferazione cellulare**
- **la risposta immunitaria**
- **l'aggregazione piastrinica**
- **la vasocostrizione/vasodilatazione**
- **la risposta al dolore**
- **aspetti comportamentali e funzioni cognitive (es. stati depressivi)**

Proprietà epigenetiche degli acidi grassi essenziali (EFA): Il metabolismo è in funzione dell'energia necessaria al funzionamento cellulare. È stato riconosciuto ai PUFA il ruolo di influenzare le vie metaboliche e la crescita cellulare : l' EPA aumenta alcune funzioni mitocondriali, gli n-3 in genere inducono modificazioni nell'mRNA . L'LA inibisce i cheratociti, l'AA promuove la crescita tumorale *in vitro* . Quindi gli EFA e i loro metaboliti, non sono soltanto passivi fornitori di energia , ma controllano la trascrizione genica, sono cioè regolatori metabolici a tutti gli effetti in quanto inducono cambiamenti nell'espressione genica agendo direttamente sull'attività che regola la trascrizione .



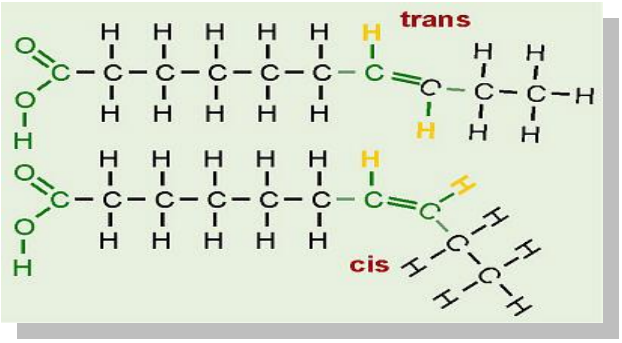
Nella figura 4 viene schematizzata la classificazione generale dei grassi

Fig 4: schema di rappresentazione dei lipidi e loro principali fonti alimentari: Gli acidi grassi circolano sotto forma di trigliceridi, cioè una molecola di glicerolo legata a tre molecole di acidi grassi. I trigliceridi veicolano gli acidi grassi nei loro siti di azione metabolica. Da quanto detto è intuibile come il dosaggio dei trigliceridi ematici, di per sé, non possa essere indicativo della "qualità" dei lipidi circolanti, in quanto la molecola di glicerolo può legare a sé sia acidi grassi saturi che insaturi.

Importanza dei grassi insaturi

Come appena accennato nel paragrafo precedente, la presenza di uno o più atomi di carbonio non saturati dall'idrogeno, definisce le famiglie degli acidi grassi mono e polinsaturi. E' stato altresì detto come in corrispondenza del doppio legame la molecola sia torta, conferendo alla molecola stessa caratteristiche spaziali e funzionali di duttilità non ascrivibili ad altre molecole lipidiche. Infine appare doveroso ricordare che i grassi insaturi possono presentarsi nelle due forme isomeriche *cis* e *trans* (figura 5). la prima è la forma "naturale" con gli atomi di idrogeno posti dallo stesso lato della molecola, la seconda presenta gli atomi di idrogeno ai lati opposti della molecola stessa che perde così le caratteristiche di duttilità tipiche della prima.

Figura 5: isomeri



Gli acidi grassi, veicolati dai trigliceridi, raggiungono la cellula dove entrano a fare parte della membrana (ciò avviene tramite la fosforilazione del glicerolo e l'intervento di enzimi della famiglia delle *fosfolipasi*). Nella membrana cellulare (figura 5) svolgono due funzioni fondamentali:

- strutturale o anatomo- plastica
- metabolica

funzione anatomo – plastica: la membrana cellulare è costituita da un doppio strato fosfolipidico. il fosfolipide è formato da una testa polare e una coda idrofobica, costituita dagli acidi grassi. il doppio strato è fluido, cioè in un continuo movimento e ospita e organizza proteine, recettori e canali che, a loro volta, consentono i necessari scambi da e

per l'interno della cellula stessa, garantendone l'omeostasi. Gli acidi grassi insaturi, quando presenti in adeguate quantità, migliorano la stabilità e fluidità rendendo la cellula più adattabile all'ambiente. La presenza di grassi insaturi (e di polinsaturi in particolare) garantisce il mantenimento della fluidità della membrana stessa in virtù della torsione molecolare che allontana le molecole stesse fra loro, rendendo le forze di van der Waals meno tenaci.

funzione metabolica: gli AG omega 3 e omega 6, una volta entrati a far parte della membrana, sono precursori di altre molecole, chiamate prostanoidi o eicosanoidi che sono mediatori di stimolo per il metabolismo cellulare. i prostanoidi vengono liberati dalla molecola di AG grazie all'enzima *fosfolipasi A*. Una volta che l'enzima ha liberato l'acido grasso dal fosfolipide di membrana, nella membrana stessa residua una sola coda legata alla testa polare denominata liso- fosfolipide; essendo il doppio strato non più funzionale, il liso-fosfolipide residuo viene sostituito da un nuovo fosfolipide.

Seguendo il destino dell'acido grasso staccato, si nota che questo va incontro a trasformazioni metaboliche che portano alla sintesi di eicosanoidi (prostaglandine, leucotrieni, trombossani):

- gli omega 3 "producono" eicosanoidi ad azione antinfiammatoria (**TXA3, PGE3, PGI3, LTB5, LTC5, LTE5)**
- gli omega 6 "producono" eicosanoidi ad azione pro infiammatoria **(TXA2, PGE2, PGI2, LTB4, LTC4, LTE4**

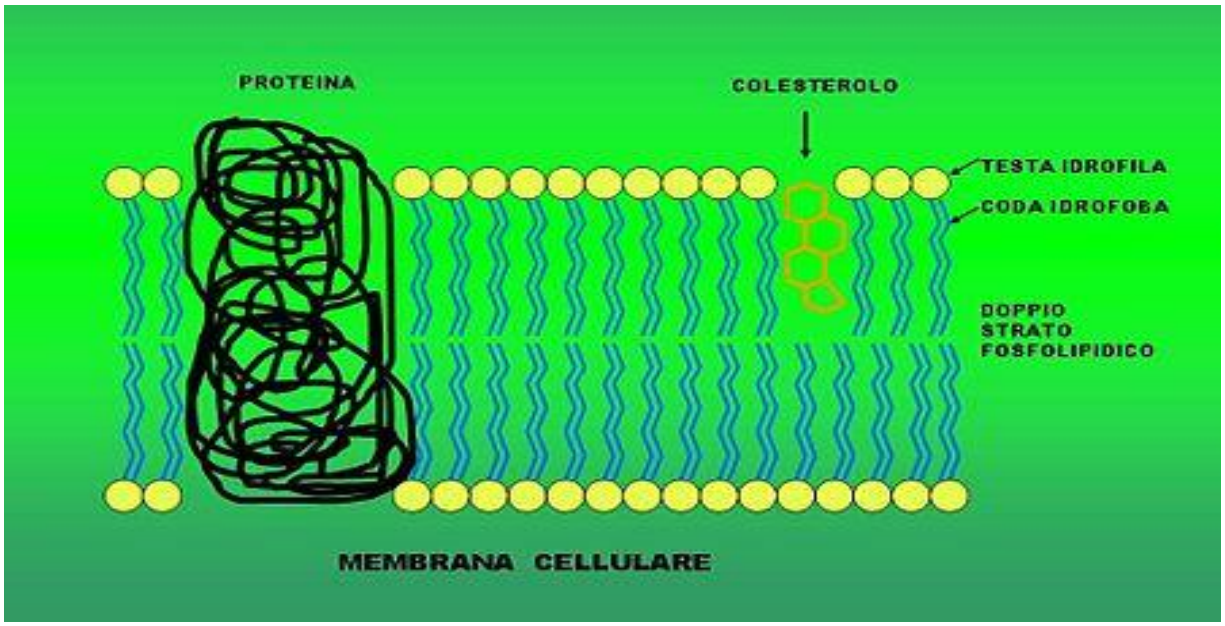


Figura 6: schema costitutivo della membrana cellulare

LABORATORIO (significato clinico e campi di applicazione diagnostica)

Con l'analisi della composizione lipidica possono essere monitorati i cambiamenti degli acidi grassi dovuti al metabolismo ed a varie condizioni, fisiologiche e patologiche, nonché a fattori esterni (dieta, farmaci, stress, radicali liberi).
Il test può, quindi, essere utile sia come monitoraggio della salute cellulare in condizioni fisiologiche, ma anche in corso di malattia. In particolare il test consente di:

- ***Identificare i fattori di rischio cardiovascolare***: gli acidi grassi intervengono nella regolazione dei livelli di colesterolemia e della progressione della lesione aterosclerotica (trombogenesi)
- ***Monitorare la gravidanza e l'allattamento***: deficit di acidi grassi essenziali possono influenzare negativamente lo sviluppo del sistema nervoso centrale e della funzione visiva, il metabolismo glucidico, il processo dell'infiammazione e anche la regolazione delle difese immunitarie (riduzione dell'attività T-helper ed aumento dell'attività T-suppressor)
- ***Inquadrare l'obesità***: riequilibrio della condizione metabolica
- ***Valutare aspetti dietetici e nutrizionali***: per definire il reale fabbisogno di supplementazione
- ***Monitorare l'invecchiamento***: nel processo di invecchiamento alcuni enzimi coinvolti nella sintesi di acidi grassi che derivano dai capostipiti Omega 3 ed Omega 6 vengono a mancare, pertanto la dieta deve tenere conto di questi fenomeni, per ridurre il rischio di uno squilibrio dell'assetto lipidico a livello di membrana, necessario per il buon mantenimento di uno stato di salute e benessere
- ***Valutare le patologie dermatologiche***: è ampiamente dimostrato che la carenza di acidi grassi essenziali si ripercuote anche a livello cutaneo ed uno dei segni clinici più evidenti è la secchezza. Con il test possono essere evidenziate carenze o eccessi di acidi grassi fondamentali per l'idratazione e l'infiammazione cutanea.
- ***Valutare le malattie neurodegenerative***: gli acidi grassi, oltre ad essere costituenti strutturali di lipidi di membrane delle cellule neuronali, hanno anche effetti neuro-protettivi, antiossidanti e anti-infiammatori.

Bilancio tra omedga-3 e omega-6 e patologie correlate.

Sulla base di quanto esposto sinora emerge l'importanza dell'apporto dietetico degli EFA: si è detto infatti che i metaboliti attivi esercitano funzioni biologiche fra loro opposte secondo se questi derivano dagli acidi grassi n-3 o n-6.

Il giusto equilibrio tra le due famiglie di acidi grassi è dunque fondamentale per il mantenimento o il ripristino delle condizioni di buona salute dell'organismo. La dieta gioca un ruolo fondamentale in quanto, come già ricordato, gli acidi grassi essenziali, non possono essere sintetizzati dall'organismo, ma devono necessariamente essere assunti con l'alimentazione.

Ricevuto 1 Settembre 2013

La quantità e la qualità di acidi grassi essenziali introdotti con la dieta influenza inequivocabilmente la produzione di eicosanoidi . In realtà ciò che più conta è un approvvigionamento adeguato di omega-3 ed il mantenimento del rapporto fra le due famiglie entro certi valori, rapporto che, a causa delle comuni abitudini alimentari, è sempre a favore degli omega-6 e a scapito degli omega-3.

- È appurato che l'uomo moderno occidentale rispetto ad individui vissuti in stadi precedenti dell'evoluzione della nostra specie (tardo paleolitico) o rispetto a differenti aree geografiche di appartenenza , presenta una maggior concentrazione in acidi grassi omega-6 ed una minor concentrazione in acidi grassi omega-3. Di conseguenza il rapporto n-6/n-3 risulta più˘ elevato. Solitamente, come rappresentanti delle due famiglie, per un **indice di questo rapporto**, vengono presi in esame i livelli di EPA (omega-3) e acido arachidonico (omega-6). Inoltre si tiene conto anche di un altro parametro**: l'omega 3 index che misura la percentuale di EPA e DHA nelle membrane eritrocitarie.** L'indice deve essere compreso fra 8-10% dei grassi di membrana per assicurare una adeguata protezione nei confronti degli accidenti cardiovascolari.

Studiando le concentrazioni degli acidi grassi nelle membrane dei trombociti nelle diverse popolazioni si è arrivati alla conclusione secondo cui le popolazioni con una dieta povera di n-3 presentavano alti livelli del rapporto n-6:n-3 (AA/EPA).

A questo alto rapporto si affianca, a livello patologico, una maggior incidenza della mortalità per malattie cardiovascolari.

Sono svariati i lavori scientifici che evidenziano come l'integrazione con omega-3 influisca sul decorso o l'instaurarsi di patologie cardiovascolari. Degno di nota è lo studio GISSI-Prevenzione Trial, che prendendo in considerazione 11324 pazienti in fase post infartuale verificò l'efficacia di un adeguato apporto in n-3 per la riduzione della mortalità per arresto cardiaco (riduzione stimata intorno al 20%).

Quanto detto in precedenza è ampiamente giustificato dal fatto che gli omega-3:

- riducono il livello dei trigliceridi nel sangue
- portano alla regressione del processo aterosclerotico
- prevengono la trombosi

Patologie tumorali: uno studio sulla popolazione Giapponese ha evidenziato che 'aumento del rapporto omega-6/omega-3 che negli ultimi 40 anni è passato da un valore di 2,8 a un valore di 4 ha portato ad un **aumento dell'incidenza di tumori al colon, ai polmoni alla prostata e al pancreas**.

Sono state evidenziate carenze di acidi grassi essenziali nelle cellule dei tessuti tumorali. In tali condizioni le cellule aumentano la proliferazione e diminuiscono l'apoptosi favorendo, in entrambi i casi la proliferazione cellulare. Ad alte concentrazioni di EPA è stata evidenziata inoltre una protezione verso il cancro colon-rettale.

Patologie del sistema nervoso: L'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA) hanno un ruolo fondamentale nello sviluppo e nella crescita del sistema nervoso e sono direttamente coinvolti nella regolazione delle capacità cognitive come, ad esempio, la memoria. Hanno inoltre dimostrato entrambi un'azione neuroprotettiva.

Studi sulla **malattia di Alzheimer** hanno evidenziato che una dieta povera in n-3 e ricca in acidi grassi saturi aumenta l'incidenza della malattia, bassi livelli di DHA sono considerati un suo fattore di rischio e per finire, pazienti con l'Alzheimer presentano livelli sierici di DHA minori rispetto a soggetti sani.

Alti valori del rapporto n-6/n-3 nei fosfolipidi plasmatici sono stati correlati a manifestazioni cliniche di **depressione**.

In **bambini autistici** il rapporto n-6/n-3 è decisamente superiore rispetto ai soggetti sani di controllo. Sono in corso diversi studi che stanno dimostrando l'importanza di una corretta assunzione di n-3 per la prevenzione e la cura di **patologie oculari**. La ricerca in questo campo, pur presentando già numerosi lavori scientifici in merito, è ancora agli inizi e questo fa presupporre un coinvolgimento molto più ampio degli acidi grassi essenziali nella cura/prevenzione di molte patologie.

Il significato del rapporto AA/EPA (acido arachidonico/acido eicosapentaenoico) : Molti studi scientifici, hanno rilevato l'importanza di questo indice per la prevenzione di svariate patologie: è stato dimostrato che stati patologici e/o l'assunzione scorretta di questi nutrienti (causa una dieta carente e l'impossibilità di utilizzare integratori alimentari adeguati) portano ad un rapporto AA/EPA poco funzionale per il mantenimento di una buona salute.

Simopoulos ha evidenziato che nella dieta di tipo Occidentale il rapporto AA/EPA oscilli tra 15/1 a 16,7/1, si tratta quindi di una dieta squilibrata per eccesso di acidi grassi omega-6. descrive inoltre l'associazione fra l'alto rapporto n-6/n-3 e l'incidenza di patologie infiammatorie, neoplastiche e cardiovascolari.

Drastiche riduzioni del rapporto a valori di 2-3/1, quindi un maggiore apporto di omega-3

rispetto a quello di omega-6, esercitano un effetto inibente sulla flogosi ed un' inibizione della proliferazione cellulare neoplastica del tessuto colon-rettale.

Berra e coll. hanno dimostrato come negli individui sani le variazioni del rapporto AA/EPA siano correlate con le variazioni di importanti parametri ematici (insulina, omocisteina, trigliceridi) e con lo stato dell'umore, sottolineando così la valenza preventiva nei confronti di varie patologie.

Il prelievo

Il test può essere eseguito su :

1) sangue intero venoso
2) sangue intero capillare (sono disponibili kit per autoprelievo di una goccia di sangue depositare su apposita carta assorbente)

La richiesta al laboratorio

In base alle informazioni che si vogliono ottenere è possibile richiedere:

1) **pattern acidi grassi eritrocitari** (profilo lipidico di membrana): la vita media della membrana eritrocitaria (120 giorni) consente di raccogliere il risultato di una serie di fattori metabolici, fornendo una visione funzionale dello stato del soggetto nel formare il compartimento della membrana, escludendo interferenze derivanti dall'apporto lipidico dell'alimentazione a breve termine;
2) **pattern acidi grassi plasmatici**: il dosaggio degli acidi grassi plasmatici consente una visione metabolica recente: 7-10 giorni precedenti il prelievo, la presenza nel plasma è transitoria ed è influenzata da ciò che il paziente ha assunto recentemente (es. pasto abbondante di acidi grassi saturi);
3) **pattern acidi grassi su sangue intero** (anche capillare): fornisce informazioni globali sullo stato metabolico e nutrizionale del paziente e permette di valutare l'effettiva incorporazione (nelle membrane) dell'apporto di acidi grassi**.**

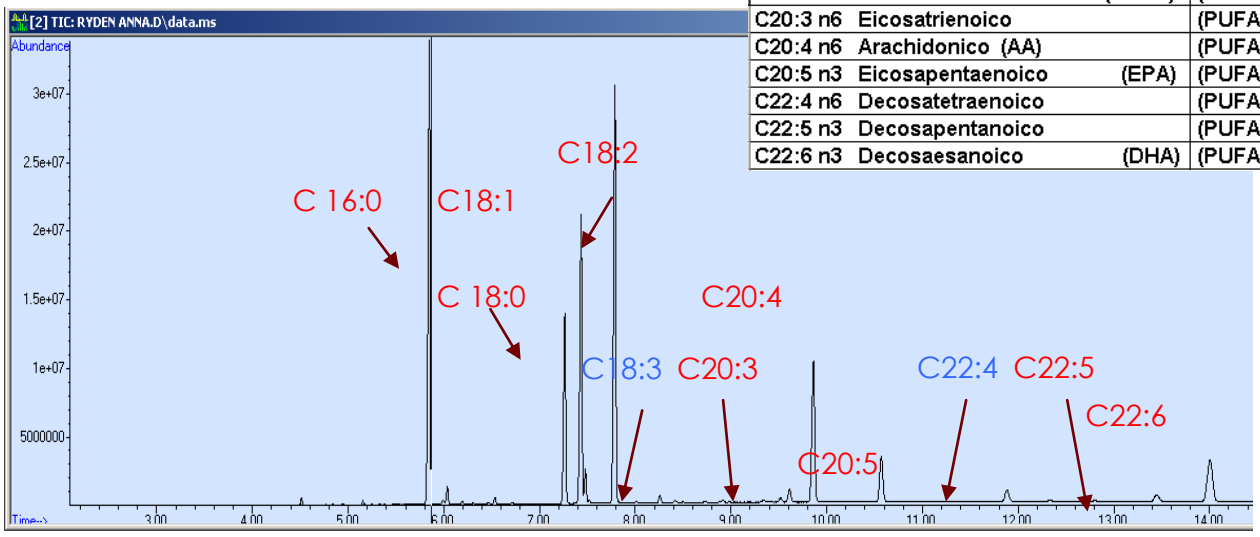
LA TECNICA DI ANALISI: Le tecniche di laboratorio disponibili per identificare e quantificare un lipide (o una classe di lipidi) in un campione biologico prevedono generalmente l'utilizzo di tecniche cromatografiche (in fase gassosa, gas chromatografia, GC, o in fase liquida ad alte prestazioni, high performance liquid chromatography, HPLC) accoppiate a metodi di rivelazione (spettrometria di massa, spettrofotometria, fluorimetria, potenziometria, ecc), mediante i quali è possibile risalire, con uno standard noto, all'identità dell'analita di interesse e, in definitiva, precisarne non solo la natura ma anche la concentrazione relativa. (figura 7)

Da sottolineare che nel plasma, tradizionale materiale biologico di partenza per lo studio del metabolismo dei lipidi, solo una piccola parte degli acidi grassi (8-10%) circola come tale: si tratta degli acidi grassi liberi (Free Fatty acids, FFA, ovvero Non Esterified Fatty Acids, NEFA), veicolati per lo più dall'albumina. La rimanente quota, molto più consistente,

è presente in forma esterificata nelle 3 principali classi di lipidi plasmatici: i trigliceridi, il colesterolo (esterificato) ed i fosfolipidi. Questi ultimi si aggregano tra loro in vario modo per generare le varie classi e sottoclassi di lipoproteine (principalmente HDL e LDL). Nelle membrane delle cellule ematiche, principalmente globuli rossi e piastrine, invece, gli acidi grassi sono parte integrante dei fosfolipidi di membrana. L'analisi viene eseguita mediante cromatografia (vedi box e figura 7)

Fig 7: esempio di cromatogramma (ottenuto con GC-MS), con indicazione dei picchi e dei corrispondenti acidi grassi

C16:0	Palmitico		(SFA)
C18:0	Stearico		(SFA)
C18:1	Oleico		(MFA)
C18:2	Linoleico	(LA)	(PUFA)
C18:3 n6	Gamma Linolenico	(DHLA)	(PUFA)
C20:3 n6	Eicosatrienoico		(PUFA)
C20:4 n6	Arachidonico (AA)		(PUFA)
C20:5 n3	Eicosapentaenoico	(EPA)	(PUFA)
C22:4 n6	Decosatetraenoico		(PUFA)
C22:5 n3	Decosapentanoico		(PUFA)
C22:6 n3	Decosaesanoico	(DHA)	(PUFA)



Il referto del profilo degli acidi grassi e sua interpretazione clinica

Il referto riporta al medico i valori di una serie di acidi grassi e dei rapporti fra alcuni di questi (indici di squilibrio), spesso in riferimento ai dati del paziente, rilevati grazie ad un questionario dedicato. Generalmente il referto riporta un elenco o una tabella con i valori e le percentuali degli acidi grassi riscontrati, a confronto con l'intervallo di valori di normalità . Vengono riportati anche alcuni indici di squilibrio, come il rapporto tra acidi grassi saturi e monoinsaturi (SFA/MUFA) e il rapporto tra acidi grassi polinsaturi omega- 6 ed omega-3 (omega 6/omega 3), utili per inquadrare la situazione di bilancio lipidico tra alcuni componenti. Alcuni laboratori riportano, sul referto lipidomico di membrana, anche i lipidi TRANS (marcatori di stress radicalico) (vedi paragrafo seguente) e l'indice di Squilibrio della Membrana (MUI) eritrocitaria, sotto forma di grafico, con una scala a colori ed un indice (MUI – Membrane Unbalance Index) che rappresenta, in modo semplice ed immediato, la globale condizione di squilibrio della membrana cellulare (tabella 1).

Denominazione sintetica	Nome IUPAC	Nome comune	Sigla	Classe
16:1	9-esadecenoico	Palmitoleico	-	**-**
18:1	9-ottadecenoico	Oleico	-	**ω-9**
18:1	*trans*-9-ottadecenoico	Elaidico	-	**-**
18:1	*trans*-11-ottadecenoico	Vaccenico	-	**ω-7**
[18:3; *9, 12, 15*]	9,12,15-ottadecatrienoico	□-linolenico	ALA	**ω-3**
[18:4; *6, 9, 12, 15*]	6, 9,12,15-ottadecatetraenoico	Stearidonico	-	**ω-3**
[20:4; *8, 11, 14, 17*]	8, 11, 14, 17-eicosatetraenoico	-	-	**ω-3**
[20:5; *5, 8, 11, 14, 17*]	5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoico	Eicosapentaenoico	EPA	**ω-3**
[22:5; *7, 10, 13, 16, 19*]	7, 10, 13, 16, 19-docosopentaenoico	-	-	**ω-3**
[24:5; *9, 12, 15, 18, 21*]	9, 12, 15, 18, 21-tetracosopentaenoico	-	-	**ω-3**
[24:6; *6, 9, 12, 15, 18, 21*]	6, 9, 12, 15, 18, 21-tetracosoesaenoico	-	-	**ω-3**
[22:6; *4, 7, 10, 13, 16, 19*]	4, 7, 10, 13, 16, 19-docosoesanoico	Docosoesanoico	DHA	**ω-3**
[18:2; *9, 12*]	9,12-ottadecadienoico	Linoleico	LA	**ω-6**
[18:3; *6, 9, 12*]	6, 9, 12-ottadecatrienoico	gamma-linolenico	GLA	**ω-6**
[20:3; *8, 11, 14*]	8, 11, 14-eicosatrienoico	Diomo-gamma-linolenico	DGLA	**ω-6**
[20:4; *5, 8, 11, 14*]	**5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico**	**Arachidonico**	**AA**	**ω-6**

Tabella 1 . Principali acidi grassi con corrispondente nome IUPAC, nome comune, sigla e classe di appartenenza. Per ragioni di spazio è omessa la dicitura “acido” e il tipo di isomeria (da intendersi cis per tutte le specie elencate, ove altrimenti non specificato, elaidico e vaccenico).

Acidi grassi "trans"

La presenza di un doppio legame, sia esso nella molecola dei MUFA o dei PUFA, genera una condizione di isomeria "*cis-trans*" e, quindi, di due varianti per ogni "punto di *insaturazione*". In condizioni normali, comunque, negli organismi viventi, come l'Uomo, è presente abitualmente solo una delle due varianti, ossia quella *cis*. Questa particolarità assume rilevante importanza in patologia. Tra l'altro, qualsiasi doppio legame costituisce un potenziale punto di attacco da parte di specie chimiche ossidanti, quali i radicali liberi, con possibile esito nella generazione di perossidi e/o nella conversione *cis*→*trans*. La presenza di acidi grassi nella forma *trans* risulta pertanto pericolosa per lo stato di salute

Rapporti fra gli acidi grassi

Dato che i vari acidi grassi sono in un determinato rapporto tra di loro, che è cruciale per lo svolgimento delle funzioni di membrana, è importante considerare tali rapporti per una più immediata interpretazione dello stato lipidico. Il mantenimento dei rapporti negli intervalli di riferimento è importante in quanto le diverse classi di acidi grassi hanno funzioni biologiche diverse e, talvolta, opposte .

Valori di normalità

I valori di riferimento o "normalità" rappresentano un punto critico e in continua ridefinizione. E' ovvio, infatti, che molto dipende dalla dieta della popolazione di riferimento e, quindi, dalla regione geografica: ad esempio, laddove venga osservata una dieta ricca di pesce (ω-3) il rapporto AA/EPA è intorno a 4. Come già detto in precedenza, nei Paesi Occidentali tale rapporto è intorno a 16,7 (sbilanciato verso gli omega-6), probabilmente in seguito ad una somma di fattori quali il maggiore apporto calorico, la ridotta assunzione di ω-3 e di carboidrati a basso indice glicemico (fibre e cereali integrali), la ridotta assunzione di frutta e verdura e, soprattutto, la ridotta assunzione di pesce.

Aspetti clinici

Premesso cha da parte del medico è sempre fondamentale valutare le caratteristiche individuali del paziente in esame (abitudini alimentari, stile di vita, patologie), dal referto di lipidomica possono essere tratti utili suggerimenti nutrizionali.

Nel profilo lipidomico possono comparire alcuni acidi grassi "fuori" dall'intervallo di normalità, che quindi devono essere adeguatamente integrati o corretti, oppure emerge la necessità di riportare ad un bilanciamento ottimale specifici acidi grassi per ristabilire le naturali funzioni sia dal punto di vista strutturale che biologico.

Gli acidi grassi possono essere assunti come tali dall'esterno, attraverso l'alimentazione, oppure, entro certi limiti, essere sintetizzati *ex-novo*, allo scopo di rispondere in maniera

ottimale, per lunghezza e grado di insaturazione, ai requisiti morfo-funzionali richiesti (es. entrare nella compagine dei fosfolipidi).

In base ai risultati è possibile, quindi, trarre utili informazioni che si traducono in suggerimenti a livello nutrizionale. Un aumento, ad esempio, di acidi grassi saturi (satured fatty acids, SFA), quali l'acido palmitico e l'acido stearico, che sono diffusi prevalentemente negli alimenti di origine animale, suggeriscono una diminuzione di tali alimenti nella dieta, mentre di fronte ad una carenza di acidi grassi insaturi, si potrà consigliare di introdurre nell'alimentazione una maggiore quantità di cibi di origine vegetale.

D'altra parte, elevate concentrazioni degli acidi grassi della serie ω-6, assunte soprattutto sotto forma di acido linoleico ed arachidonico, suggeriranno una diminuzione del consumo di oli di semi e oli vegetali in genere, come pure di carni ed uova (tuorlo).

Gli effetti dell'adozione del regime correttivo possono essere monitorati ripetendo l'analisi dopo circa 4 mesi. Il ripristino di un corretto rapporto porta ad effetti benefici sulla salute sia a breve termine (miglioramento di funzioni intestinale, immunitaria, efficienza psicofisica) che a lungo termine (prevenzione di patologie sistemiche e organo-specifiche).

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

1. Balestrieri C, D'Amora M, Giordano A, Napoli C, Pavan A. (2010) Diagnostica molecolare nella medicina di laboratorio. Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio, Volume IX, Cap. 19, Piccin Editore,

2. German JB, Roberts MA, Watkins SM. (2003).*Genomics and metabolomics as markers for the interaction of diet and health: lessons from lipids*. J. Nutr. 133: 2078S–2083S

3. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. (2006). *Lipids and lipidomics in brain injury and diseases*. AAPS Journal. 8 (2): E314-E321.

4. Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK, Merrill AH Jr, Murphy RC, Raetz CR, Russell DW, Seyama Y, Shaw W, Shimizu T, Spener F, van Meer G, VanNieuwenhze MS, White SH, Witztum JL, Dennis EA (2005).. *A comprehensive classification system for lipids*. *J Lipid Res*. 46: 839–862.

5. van Meer G. (2005).*Cellular lipidomics*. EMBO Journal. 24: 3159–3165.

6. Caramia G. *The essential fatty acids omega-6 and omega-3: from their discovery to their use in therapy*. (2008).Minerva Pediatr. 60(2): 219–233.

7. Huyghebaert C. (2007)*Omega-3 fatty acids*. (J Pharm Belg. 62 (4): 102–114. Riezman H. *The long and short of fatty acid synthesis*. Cell.. 130 (4): 587–588.

8. Nakamura MT, Nara TY. (2007)*Structure, function, and dietary regulation of delta-6, delta-5, and delta-9 desaturases*. Annu Rev Nutr. 2004. 24: 345–376.

9. Serhan CN, Yacoubian S, Yang R. (2008) *Anti-inflammatory and proresolving lipid mediators*. Annu Rev Pathol.. 3: 279– 312.

10. Peterson BL, Cummings BS. (2006) *A review of chromatographic methods for the assessment of phospholipids in biological samples*. Biomed Chromatogr.. 20: 227–243.

11. Wenk MR. *The emerging field of lipidomics*. (2005) Nat Rev Drug Discov.. 4: 594–610

12. Puri P, Baillie RA, Wiest MM, Mirshahi F, Choudhury J, Cheung O, Sargeant C, Contos MJ, Sanyal AJ. (2007) *A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology.. 46 (4): 1081–1090.

13. Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, Moussignac RL. (2002) *Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals*. J Exp Med. 196 (8): 1025–1037.

14. Leaf A. (2001) *Plasma nonesterified fatty acid concentration as a risk factor for sudden cardiac death. The Paris prospective study*. Circulation.. 104: 744–745.

15. Barre E. (2003) *A more detailed fatty acid composition of human lipoprotein(a) — a comparison with low density lipoprotein*. Chem Phys Lipids.. 123: 99–105.

16. Theret N, Bard JM, Nuttens MC, Lecerf JM, Delbart C, Romon M, Salomez JL, Fruchart JC. (1993)*The relationship between the phospholipid fatty acid composition of red blood cells, plasma lipids and apolipoproteins*. Metabolism.. 42: 562–568.

17. Marangoni F, Angeli MT, Colli S, Eligini S, Tremoli E, Sirtori CR, Galli C. (1993) *Changes of n-3 and n-6 fatty acids in plasma and circulating cells of normal subjects, after prolonged administration of 20:5 (EPA) and 22:6 (DHA) ethyl esters and prolonged washout*. Biochim Biophys Acta.. 12: 55–62.

18. Risè P, Eligini S, Ghezzi S, Colli S, Galli C. (2007) *Fatty acid composition of plasma, blood cells and whole blood: relevance for the assessment of the fatty acid status in humans*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.. 76: 363–369.

19. Hu FB, Willet WC. (2002).*Optimal diets for prevention of coronary heart disease*. J Am Med Assoc. 288: 2569–2588.

20. Shaikh SR, Edidin M. (2008). *Polyunsaturated fatty acids and membrane organization: elucidating mechanisms to balance immunotherapy and susceptibility to infection*. Chem Phys Lipids. 153(1): 24–33.

21. Ferreri C, Panagiotaki M, Chatgilialoglu C. (2007). *Trans fatty acids in membranes: the free radical path*. Mol Biotechnol. 37(1): 19–25.

22. Skeaff CM, Gowans S. (2006)*Home use of margarine is an important determinant of plasma trans fatty acid status: a biomarker study*. Br J Nutr.. 96(2): 377–383.

23. Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. (2007) *Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility*. Am J Clin Nutr. Jan;85(1):231-7

24. Puca AA, Andrew P, Novelli V, Anselmi CV, Somalvico F, Cirillo NA, Chatgilialoglu C, Ferreri C. (2008) *Fatty acid profile of erythrocyte membranes as possible biomarker of longevity*. Rejuvenation Res.. 11(1): 63–72.

25. Marangoni F, Colombo C, Galli C. (2004).*Method for the direct evaluation of the fatty acid status in a drop of blood from a fingertip in humans: applicability to nutritional and epidemiological studies*. Analytical Biochemistry. 326: 267–272.

26. Marangoni F, Colombo C, Martiello A, Negri E, Galli C. (2007)*The fatty acid profiles in a drop of blood from a fingertip correlate with physiological, dietary and lifestyle parameters in volunteers*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.. 76(2): 87–92.

27. Agostoni C, Galli C, Riva E, Colombo C, Giovannini M, Marangoni F. (2005).*Reduced docosahexaenoic acid synthesis may contribute to growth restriction in infants born to mothers who smoke*. J Pediatr. 147: 854–856.

28. Agostoni C, Riva E, Giovannini M, Pinto F, Colombo C, Risé P, Galli C, Marangoni F. (2008) *Maternal smoking habits are associated with fatty acids in whole blood: a case-control study differences in infants' long-chain polyunsaturated*. Arch. Dis. Child.. 93: 414–418.

29. Galli G, Marangoni F. (2006) *N-3 fatty acids in the Mediterranean diet*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.. 75: 129–133.

30. Marangoni F, Martiello A, Galli C. (2007) *Dietary fat intake of European countries in the Mediterranean area: an update*. World Rev Nutr Diet.. 97: 67–84.

31. Protocollo dello studio GISSI_Prevenzione G Ital Cardiol 1993 ; 23 : 1053-61

32. Jump DB ; Clarke SD. (1999). *Regulation of gene expression by dietary fats*. Annu Rev Nutr; 63-90

33. Simopoulos AP. (2002)*The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids*. Biomed Pharmacother ; 56 (8) : 365-79

34. Sugano M ; Hirara F (2000). *Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan.* Am J Clin Nutr ; 71 Suppl. 189S-196S

35. Fontani G, Corradeschi F ; Felici A ; Alfatti F ; Bugarini R ; Fiaschi AI ; Cerretani D ; Montorfano G ; Rizzo AM, Berra B. (2005) *Blood profiles, body fat and mood state in healthy subjetcts on different diets supplemented with Omega-3 polyunsaturated fatty acid*s. Eur J Clin Invest ; 35 (8): 499-507

36. Sublette ME, Ellis SP, Geant AL, Mann JJ.(2011). Meta-analysis of the effects of eicosapentaenoic acid (EPA) in clinical trials in depression. J Clin Psychiatry. Dec;72(12):1577-84. Epub 2011 Sep 6.

37. Chiu CC, Frangou S, Chang CJ, Chiu WC, Liu HC, Sun IW, Liu SI, Lu ML, Chen CH, Huang SY, Dewey ME, Stewart R (2012) Associations between n-3 PUFA concentrations and cognitive function after recovery from late-life depression. Am J Clin Nutr. 2 Feb;95(2):420-7. Epub 2012 Jan 4.

Testi consultati : Ferrei C, Chtgilialoglu C. (2011) : Membrana cellulare e lipidomica.. Istituto per la Sintesi Organica e la Fotoreattività. Consiglio Nazionale per le Ricerche (Bologna)

Siti consigliati per approfondimenti:

www.lipidlibrary.co.uk http://en.wikipedia.org/wiki/Essential_fatty_acid

http://www.cfsan.fda.gov/~dms/qatrans2.html http://www.eufic.org