

IMMUNOFARMACOLOGIA

Prof. Bova

Programma del corso

- immunofarmacologia
- farmaci antistaminici
- farmaci antiemetici
- farmaci dell'apparato respiratorio.

ANTISTAMINICI

Generalità

I farmaci antistaminici comprendono tutti quei farmaci che antagonizzano l'istamina, in realtà però ci si riferisce solamente ai farmaci che bloccano i recettori H1. L'istamina è un importante mediatore dell'infiammazione. Si tratta di una molecola semplice, ma con funzioni molto importanti. È una molecola idrofila che viene prodotta per il 99% dall'organismo stesso. L'istamina della dieta viene degradata a livello dell'intestino dai batteri e quindi non è utilizzabile. L'istamina si forma dall'istidina ad opera dell'istidina decarbossilasi, enzima ubiquitario nelle cellule. Quindi ad opera dell'istidina metil-trasferasi e DAO viene metabolizzata in ac. n-metil-imidazol-acetico e quindi escreto con l'urina. Sono metaboliti quindi che si trovano nell'urina.

Funzioni dell'istamina

Ci sono 5 tipi di recettori: H1, H2, H3, H4, H_{1C} (intracellulari). Questi recettori hanno funzioni diverse:

- H1 e H2: sono implicati nelle reazioni allergiche infiammatorie. Gli H2 inoltre sono coinvolti nella secrezione acida gastrica
- H3: si trovano esclusivamente confinati nel SNC dove hanno funzione di regolazione della sintesi dell'istamina stessa e la loro stimolazione inibisce la secrezione istamina nei neuroni.
- H4: hanno funzione nell'infiammazione, si trovano principalmente espressi negli eosinofili e la loro stimolazione oltre ad attivare gli eosinofili aumenta anche l'espressione delle proteine di adesione per legarsi all'endotelio.

Parleremo dei farmaci dei recettori H1, accenneremo quelli per gli H2. Per H3 e H4 non ci sono composti che si usano in clinica.

L'istamina è anche implicata in alcune funzioni a livello del snc come il mantenimento della vigilanza, appetito, vomito e regolazione nella temperatura, assunzione liquidi, secrezione epinefrina.

Localizzazione dell'istamina

Ci sono due tipi di cellule:

- cellule a turnover lento
- cellule a turnover rapido

Sono molto differenti. Quelle lente hanno l'istamina immagazzinata sottoforma di granuli i quali contengono istamina e vengono liberati all'esterno della cellula in seguito all'attivazione della cellula che le contiene. Si chiama turnover lento in quanto una volta avvenuta la liberazione c'è bisogno di un periodo lungo di 1-2sette. Le cellule lente sono i mastociti e i basofili. I mastociti sono contenuti principalmente in alcuni tessuti più precisamente quelli a diretto contatto con esterno come il tessuto cutaneo, intestino e mucosa respiratoria. I basofili sono invece cellule circolanti. L'istamina in queste cellule è coinvolta nelle reazioni infiammatorie.

Le cellule a turnover rapido non hanno istamina contenuta in granuli, ma questa viene continuamente prodotta e secreta a seconda delle necessità della cellula (come i neurotrasmettitori). Questo tipo di istamina è impiegata nella regolazione delle funzioni del snc.

Istamina e reazioni allergiche

Le cellule implicate nelle reazioni allergiche sono i mastociti e basofili. Durante la reazione allergica dopo una serie di stimoli abbiamo liberazione di istamina che va ad agire a livello tissutale.

Ci sono diversi stimoli che favoriscono degranolazione:

- reazioni Ag-Ab (IgE dip)
- reazioni IgE indip: sono in grado di agire sul mastocita o sul basofilo inducendo liberazione diretta sulla membrana cellulare, non mediata dalla reazione Ag-Ab. Questi stimoli possono essere dati da farmaci, veleni (pungiglione di insetti), ma anche dal freddo, raggi solari, scratching della cute in alcuni soggetti.

Nel momento in cui avvengono stimoli IgE dipendenti abbiamo legame sulla membrana dei mastociti, il legame Ag con IgE abbiamo l'attivazione della cascata della fosfolipasi C quindi abbiamo due cose:

- formazione IP₃ che agisce su recettori specifici nel reticolo sarcoplasmico e si aprono dei canali al Ca⁺⁺ con aumento del Ca⁺⁺ intracellulare.
- attivazione fosfolipasi C che fosforila alcuni canali per il Ca⁺⁺ sulla membrana cellula e in tal modo abbiamo ingresso di Ca nella cellula.

I granuli non contengono solo istamina ma anche altre sostanze, come l'eparina, ormoni come adrenalina, EGF. È una cellula sulla quale si sa poco (mastocita). Si liberano quindi istamina e altre sostanze.

L'aumento del Ca intracellulare che consegue quindi l'attivazione della fosfolipasi C e quando aumenta il Ca⁺⁺ si attiva la fosfolipasi A₂ che comporta anche attivazione dell'ac. arachidonico dalla quale si formano una serie di mediatori che sono i leucotrieni, prostaglandine, fattore attivante le piastrine. È importanti e questo in quanto durante la reazione allergica il responsabile non è soltanto l'istamina, ma anche i fattori descritti prima.

Gli effetti tissutali dell'istamina comprendono:

- a livello delle mucose nasali abbiamo stimolazione gh. esocrine con produzione di muco
- rinorrea
- broncospasmo
- aumento secrezione acida gastrica
- stimola la muscolatura liscia intestinale
- apparato cardiovascolare: effetti vascolari cioè determina una vasodilatazione dei vasi periferici anche se stimola vasi di grande calibro come l'aorta. A livello del cuore stimola la inotropismo che cronotropismo con tachicardia e palpitazione;
- cute e mucose: arrossamento, prurito e formazione di edema sottoforma di pomfi (angioedema).

Meccanismi coinvolti

- Vasodilatazione ⇒ Calore, arrossamento, ipotensione, cefalea (H₁, H₂)
- Aumento permeabilità capillare ⇒ Angioedema (H₁)
- Stimolazione terminazioni nervose periferiche ⇒ Prurito (H₁)
- Stimolazione secrezione acida gastrica ⇒ Ipersecrezione acida (H₂)
- Contrazione muscolatura liscia bronchiale (H₁) ⇒ Broncospasmo
- Contrazione muscolatura liscia intestinale ⇒ Crampi intestinali, diarrea (H₁)
- Stimolazione produzione muco ⇒ Rinorrea (H₁)
- Stimolazione contrattilità e frequenza cardiaca ⇒ Tachicardia, palpitazioni (H₁, H₂)

Sintomatologia da liberazione di istamina

La sintomatologia è variabile, cutaneo se lieve oppure sintomatologia più generale più o meno gravi e combinarsi in vario modo a seconda dell'istamina che viene liberata e del fatto che l'istamina raggiunga il circolo in quantità importanti. Si passa da quadri locali a generalizzati gravi come lo shock anafilattico.

Quando si forma l'istamina il primo sintomo è il prurito, molto marcato nelle mani e volto; a questo effetto fa seguito sensazione di intenso calore, vasodilatazione, e successivamente si estende a tutto il tronco. Abbiamo calo della pressione sanguigna, compare cefalea e dopo pochi min la pressione tende a tornare normale (non nello shock anafilattico) e si ha la comparsa di pomfi cutanei e quindi di angioedema soprattutto parti superiori dell'apparato respiratorio, come l'edema della glottide che è potenzialmente letale. Poi dolori addominali, ipersecrezione acida, moderato broncospasmo. Nell'uomo l'istamina non è importante mediatore del broncospasmo. Ci sono i leucotrieni che sono più attivi come bronco costrittori rispetto all'istamina.

Effetti vasodilatatori dell'istamina

La vasodilatazione indotta dall'istamina è data sia alla stimolazione dei recettori H1 che H2:

- ogni qual volta che l'istamina stimola i recettori H1 abbiamo attivazione della via fosfolipasi C e quindi aumento del Ca^{++} intracellulare;
- ogni qualvolta vengono stimolati i recettori H2 si ha attivazione di un'altra via cioè la adenilato ciclasi e attraverso questa via si ha la formazione di cAMP dall'ATP e cAMP ha funzione diversa a seconda del tipo cellula dove viene prodotto.

I recettori H1 a livello dell'endotelio delle arteriole (regolazione pressione sanguigna), qui aumenta il Ca^{++} intracellulare e questo aumento determina una iperproduzione di NO che diffonde facilmente attraverso la cellula endoteliale e va ad attivare la guanilato ciclasi (enzima che produce cGMP), il cGMP diminuisce la quantità di Ca^{++} intracellulare e quindi determina decontrazione muscolare e quindi vasodilatazione.

L'istamina ha anche effetto diretto sui miociti per stimolazione recettori H2 che attivano la adenilato ciclasi. Quando un soggetto che ha vasodilatatore si dà istamina se usiamo di farmaci che bloccano H1, rimane la quota che lega H2 e la stimolazione permane e non si controbilanciano gli effetti vasodilatatori.

Per quanto concerne il meccanismo di aumento della permeabilità vascolare, i vasi interessati sono le venule post capillari. Il mastocita molto spesso si trova vicino ai vasi.

Quando il mastocita lega la sua IgE i granuli dell'istamina si liberano, si stimolano recettori H1, si attiva fosfolipasi C, aumenta il Ca^{++} , si ha apertura dei canali, le cellule si contraggono e in questo modo le giunzioni si allargano e si ha passaggio di sostanze e quindi formazione di edema. L'aumento di permeabilità vascolare è legato alla stimolazione dei recettori H1. Abbiamo poi stimolazione sulle terminazioni nervose periferiche, l'aumento del Ca^{++} ha effetto di stimolazione e a seconda del tipo di terminazioni nervose possiamo avere prurito e dolore (se terminazioni sono localizzate nel derma) e prurito nel sottocute. La stimolazione di alcuni tipi di fibre periferiche determina stimolazione di fibre assoniche con potenziamento della vasodilatazione o liberazione della ACh con potenziamento della broncocostrizione.

L'istamina porta alla broncocostrizione per attivazione dei recettori H1.

Come detto prima l'istamina determina anche iperacidità gastrica: l'istamina è responsabile infatti della secrezione gastrica, controllo che viene effettuato dalle cellule enterocromaffini. A livello gastrico abbiamo anche mastociti che liberano il loro contenuto di istamina che agendo a livello dei recettori H2 attiva l'adenilato ciclasi e si forma cAMP e si ha stimolazione di un trasportatore H-K, che porta istamina all'interno e esterno della cellula in scambio con K^+ e aumenta quindi la secrezione acido gastrica ad opera dell'istamina.

Altro effetto dell'istamina è a livello cardiaco, sebbene anche recettori H1 siano coinvolti in effetti cronotropi e inotropi positivi, la parte preponderante è dato dagli H1 e quindi $> cAMP$ che a livello del cuore determina effetto di contrazione e quindi isotropo positivo. A livello delle cellule del nodo del seno abbiamo stimolazione del pacemaker e quindi l'effetto sui recettori cardiaci è quello di stimolare l'attività cardiaca.

FARMACI ANTISTAMINICI

Esistono diverse classi di farmaci antistaminici.

- farmaci che bloccano il recettore H1 (varie classi)
- farmaci che bloccano il recettore H2 (per ulcera gastrica: cimetidina, ranitidina ecc)
- farmaci che bloccano il recettore H3 sono sperimentali (tioperamide)
- farmaci che bloccano il recettore H4 sono anti infiammatori.

1. Farmaci bloccanti recettori H1

Si classificano in due modi. Alcuni considerano:

- anti H1 di I generazione
- II gen
- II gen

secondo altri ci sono farmaci solamente di I e di II generazione. Per migliorare gli effetti indesiderati di I generazione sono stati sintetizzati quelli di II generazione che hanno migliore tollerabilità alcuni di questi farmaci ad un certo punto sono stati liquidati dal commercio in quanto davano effetti cardiaci gravi (aritmia grave come la torsione di punta). Alcuni farmaci di seconda generazione sono stati mantenuti però sono stati sintetizzati dei nuovi farmaci, cioè di III generazione. In realtà parecchi di questi farmaci di III generazione sono metaboliti attivi dei farmaci di II generazione privi dell'effetto cardiaco aritmico. Quelli di prima generazione hanno diverse classi.

Torsione di punta (tachicardia ventricolare polimorfa)

Si tratta di una tachicardia ventricolare polimorfa data da allungamento del segmento T per blocco dei canali del K. Questo causa una tachicardia ventricolare polimorfa ed è un'aritmia che può trasformarsi a fibrillazione ventricolare e quindi morte.

Si caratterizza per un blocco dei canali al K, importanti per la ripolarizzazione della cellula miocardica. Se si chiudono questi canali, l'ipotensione si allinea e si traduce in allungamenti del QT e cioè si ha allungamento della fase di ripolarizzazione ventricolare. Il problema è che non tutti i miociti sono uguali: esistono miociti subendocardici, subepicardici e le cellule M (?). Queste cellule non si comportano in modo uguale tra di loro, hanno un periodo refrattario più lungo per garantire corretto sincronismo delle cellule. Se blocchiamo i canali del K l'effetto non è uguale ma maggiore nelle cellule subendocardiche e si ha sfasatura con aumento del periodo refrattario a seconda delle cellule e questo determina asincronia che si traduce inizialmente di un allungamento del segmento QT e successivamente in una tachicardia ventricolare polimorfa. Si chiama torsione di punta in quanto abbiamo un movimento simile al ballo del twist, cioè abbiamo delle punte alte e altre basse cioè di ampiezza diverse e anche durate diverse. Si chiama polimorfa perché ogni onda è diversa dall'altra a differenza della tachicardia sinusale monomorfa.

Tutti i farmaci che allungano il segmento QT possono dare potenzialmente questo tipo di aritmie.

Farmaci/condizioni che possono indurre TdP:

- ipokaliemia
- ipomagnesemia
- F. antiaritmici (chinidina, sotalolo)
- Fenotiazine
- Antidepressivi inibitori delle MAO.

Ci sono poi soggetti predisposti in quanto hanno allungamento QT congenito, idiopatico.

Differenze tra farmaci di I e II generazione

Ci sono 2 differenze: farmacocinetiche e dinamiche:

- a livello farmacodinamico gli anti H1 non sono selettivi per H1 in quanto bloccano altri tipi di recettori come colinergici, muscarinici, alcuni recettori per la serotonina e alcuni adrenergici di tipo α . Quelli di prima generazione sono quindi antiserotoninergici, anticolinergici, antistaminici ecc.
- altra differenza che esiste tra i farmaci di I e II generazione è su base farmacocinetica: quelli di I passano facilmente la BBB e vanno a bloccare dei recettori colinergici di tipo H1. I farmaci di II generazione invece non passano la BBB generalmente, quindi vengono a mancare gli effetti a livello centrale.

Effetti farmacologici degli anti H1 di prima generazione

1) Legato al blocco dei recettori H₁ periferici

- riduzione edema da istamina
- riduzione arrossamento cutaneo (molto efficaci)
- riduzione prurito (molto efficaci)
- riduzione ipotensione (poco efficaci)
- riduzione del broncospasmo (poco efficaci)

2) Legato all'interazione con recettori H₁ colinergici, muscarinici, α -adrenergici e serotoninergici a livello del snc:

- inibizione snc
- riduzione dello stato di vigilanza (pz tende a dormire, abbiamo allungamento tempi di reazione)
- sonnolenza
- effetto antiemetico (sfruttati anche dal punto di vista terapeutico come anche la sonnolenza).

Sono possibili anche effetti stimolatori del snc e quindi nervosismo, insonnia e irrequietezza (rari a dosaggi terapeutici e di regola in caso di intossicazione). Altri

3) Effetti indesiderati legati all'interazione con recettori colinergici muscarinici.

Effetti farmacologici degli anti H₁ di II e III generazione

- riduzione edema (molto efficaci)
- riduzione arrossamento cutaneo (molto efficaci)
- riduzione prurito (molto efficaci)
- riduzione ipotensione e riduzione broncospasmo (poco efficaci)

Da tenere presente che sono selettivi per i recettori H₁ e sono privi di effetti indesiderati in quanto non passano la BBB.

Caratteristiche farmacocinetiche degli antistaminici (anti H₁) di I generazione

a) Vie di somministrazione

- os
- parenterale
- topica
- rettale

b) Distribuzione: è ubiquitaria, vengono bene assorbiti (compreso il SNC). Possono dare accumulo in alcuni tessuti.

c) Durata dell'effetto: può essere breve o lunga: dalle 4-6h oppure fino alle 24h. C'è discrepanza tra durata effetto farmacocinetico e le [F], cioè anche con concentrazioni basse continuiamo ad avere ... (??), in quanto si accumulano in alcuni tessuti e in seguito il F viene rimesso in circolo. L'altro motivo è che i tessuti in cui si accumulano sono dati dalla cute cioè l'organo principe delle reazioni allergiche e questo ci spiega la discrepanza.

d) Metabolismo&eliminazione: avviene nel fegato ad opera del CYP3A4. L'eliminazione è renale, sotto forma di metaboliti.

Caratteristiche farmacocinetiche degli antistaminici (anti H₁) di II e III generazione

Quelli di II generazione hanno alcune caratteristiche sovrapponibili. Si trovano sia per via os che topica, non penetrano nel SNC (fatto che può dipendere da diversi fattori). I farmaci non passano nel SNC in quanto sono sostrato della glicoproteina P che sono molto espressi nei capillari cerebrali e questa glicoproteina riporta sempre fuori il farmaco. Anche per questi esiste azione lunga e c'è discrepanza tra effetto farmacologico e concentrazioni. Il metabolismo avviene sempre per via del CYP3A4 epatico. L'eliminazione renale avviene sotto forma di metaboliti oppure immodificati.

Effetti collaterali degli antistaminici (anti H₁) di I generazione

- sedazione e sonnolenza (per effetto anticolinergico di questi farmaci)
- visione offuscata
- tremori
- vertigini
- affaticamento ed inappetenza

Questi effetti possono esser utili in alcuni pz come gli anziani, ma è un problema per altri pz che hanno attività lavorativa normale.

Altri effetti:

- dolori epigastrici
- nausea e vomito (alcuni vengono usati però come antiemetici)
- diarrea
- eruzioni cutanee
- fotosensibilità (tutti i farmaci che si accumulano a livello cutaneo potenzialmente danno questo effetto)
- effetti teratogeni (alcuni farmaci) e quindi da evitare in gravidanza (esperienza su animali). Questi farmaci vengono eliminati anche attraverso il latte.
- ritenzione urinaria: è un effetto anticolinergico dovuto ad una vescia piena.

Nessuno di questi effetti è presente in quelli di II generazione. Perché si usano ancora quelli di I? In parte perchè hanno anche altri effetti e il motivo più importante è che costano molto meno, quindi è un problema di mercato.

Effetti indesiderati dei F anti-istaminici

Effetti collaterali dei farmaci di I generazione

I sintomi da intossicazione acuta sono dati da:

- allucinazioni
- atassia
- incoordinazione motoria
- midriasi
- tachicardia sinusale
- ritenzione urinaria
- coma profondo
- collasso cardiorespiratorio

- morte entro 2-12 ore se non si interviene

Quelli di II generazione non hanno effetti indesiderati.

Uso terapeutici degli antistaminici

Le principali indicazioni comprendono:

- manifestazioni allergiche non gravi IgE mediate (orticaria, rinite stagionaria)
- trattamento di cinetosi (dimendrinato, ciclazona, meclizina). Non sono farmaci selettivi ma agiscono anche su altri recettori.
- Trattamento del vomito da antitumorali (prometazina)
- Sindrome di Meniere (dimendrinato e meclizina)
- trattamento delle lievi forme di insonnia (difeniidramina). Per l'insonnia però sono migliori le benzodiazepine.

Da tenere presente che non sono attivi nella rinite da comune raffreddore. Nella rinite allergica stagionale invece c'è di mezzo l'istamina, che agisce sulla mucosa nasale e sulle terminazioni nervose della mucosa nasale da dove partono bene gli stimoli che terminano su terminazioni colinergiche e partono stimoli efferenti che finiscono nella metà controlaterale cioè mucosa nasale e qui danno origine alla classica sintomatologie della rinite allergica e anche effetto di vasodilatazione a livello di arteriole e venule con aumento della permeabilità vascolare e congestione. Effetto simile si ha a livello oculare. Sono attivi solo nelle riniti in quanto bloccano recettori H1 cioè agiscono a monte di questo processo e nel raffreddore comune questi recettori non sono coinvolti e quindi il loro uso non ha senso.

Cinetosi

Sindrome con manifestazioni prevalentemente vegetative provocata da ripetuti spostamenti dell'organismo in rapporto ai movimenti di varia direzione, ampiezza e periodicità subiti da un veicolo (marittimo, aereo spaziale o terrestre) a causa di fattori meteorologici e/o del percorso. Sono quindi malattie da movimento e provocano una serie di sintomi che si sintetizzano come:

- malessere generale
- astenia
- ripugnanza per odori
- alimenti e fumo
- sbadigli

- cefalea
- nei casi più gravi vomito grave

Gli stimoli agiscono a livello dell'apparato vestibolare, abbiamo scarico nella zona chemocettrice a scatto e da questa abbiamo un collegamento al centro del vomito. I nuclei vestibolari sono collegate anche a strutture cefaliche che sono responsabili di sintomatologia colinergica con sudorazione intensa e stimolazione del sistema colinergico. La BBB ha una funzione di protezione. Nell'area postrema non esiste la barriera e quindi la zona è relativamente permeabile e questo ha significato di difesa. L'area postrema a livello ipotalamico si trova al di sotto dell'area chemocettrice a scatto e che è formata da chemocettori; le sostanze quindi passano attraverso l'area postrema, abbiamo scarico sul centro del vomito e innesto di tutti i meccanismi elencati sopra. L'organismo tende ad eliminare in questo modo i farmaci o le tossine non gradite. L'Ach con recettori colinergici e muscarinici si trovano in diverse vie e i farmaci possono avere effetto antiemetico. L'Ach è un importante mediatore del vomito. Il farmaco di prima scelta per le cinetosi è la **Scopolamina**. In alternativa alla scopolamina si usano altri farmaci in quanto in alcuni pz la scopolamina dà effetti indesiderati e in questo caso si possono usare anti-istaminici.

Sindrome di Meniere

Caratterizzata da vertigini, ipoacusia, nausea, vomito, sudorazione. È dovuta ad un aumento della pressione nel canale linfatico con espansione del canale e azione sulle cellule deputate all'udito. La sintomatologia può essere anche grave con allettamento del pz. Si usano per questa patologia gli antagonisti dei recettori H1.

FARMACI ANTIASMATICI

Malattia asmatica

L'asma è una malattia infiammatoria cronica dei bronchioli con predisposizione ai bronchioli a contrarsi in seguito ad esposizione a stimoli che in soggetti non asmatici non provocano alcun effetto. Si tratta quindi di una iper-reattività bronchiale che si manifesta come attacchi di costrizione che possono essere più o meno gravi e che sono caratterizzati da dispnea respiratoria. Il pz ha molta più facilità ad introdurre l'aria rispetto alla espirazione. La flogosi cronica delle vie aeree provoca una notevole variabilità di ostruzione al flusso aereo reversibile spontaneamente o in seguito a terapia.

La definizione di asma è quindi una malattia infiammatoria cronica delle vie aeree associata ad aumento della reattività bronchiale.

Sull'eziopatogenesi dell'asma non si sa molto, questo perché manca un modello animale sovrapponibile all'uomo. L'altro motivo è che tutto sommato disponiamo di farmaci che ci permettono senza inconvenienti di trattare l'asma in maniera efficace.

Epidemiologia dell'asma

L'asma è una delle malattie croniche più diffuse. Si stima che circa 150 milioni di persone nel mondo siano affette da asma. L'incidenza è tra il 4-7%. È una tipica malattia a maggiore sviluppo sociale (alimentazione conservata ecc). C'è un'altra teoria: i nostri meccanismi immunitari una volta venivano stimolati da epidemie, guerre. Oggi l'organismo ha cominciando a risentire di sostanze che prima non causavano problemi. Da tenere presente che ogni medico generico ha 40 soggetti asmatici su 1500 del totale.

L'asma è però sottostimata e il pz non va dal medico e la malattia è considerata come patologia lieve. I ricoveri rappresentano il 63% dei costi e i farmaci solamente il 14%. Spostando di 2-3 punti la spesa farmaceutica e riducendo la spesa dei ricoveri sarebbe un vantaggio per tutti. Trattare bene un pz è un vantaggio e i costi si abbasserebbero.

Patogenesi dell'asma

Il primo movens è l'infiammazione. Questo perché il pz ha caratteristiche genetiche con fattori favorevoli e sicuramente agli allergeni, ma solo il 50% dei pz ha asma allergico. Altri fattori d'infiammazione sono l'inquinamento, sostanze chimiche ecc. Fatto centrale è la iper-reattività dei bronchi. Quindi l'insieme della flogosi, iperreattività porta all'ostruzione bronchiale che porta ai sintomi. Se la flogosi è cronica è sempre presente e aumenta nelle riacutizzazioni portando a modificazioni strutturali. Se l'ostruzione è parzialmente reversibile o non reversibile, nell'asmatico se curiamo il bronco si apre quindi è completamente reversibile, ma se abbiamo rimodellamento la questione non è reversibile.

Una delle caratteristiche dei bronchi è di avere nell'asmatico una muscolatura molto efficiente a comprimersi e chiudere il lume bronchiale. L'asmatico quindi ha ipertrofia della muscolatura, ispessimento della membrana basale, e moltissime cellule infiammatorie. Ma se spruzziamo un farmaco broncodilatatore, questo avrà bisogno di tempi lunghi è chiaro che è meglio lavorare nell'immediato sul muscolo, sulla flogosi e quindi si ricorre alla terapia anti-infiammatoria di fondo.

L'ostruzione bronchiale quindi è dovuta a:

- broncocostrizione acuta
- edema della parete dei bronchi
- cronica formazione di tappi di muco
- rimodellamento della parete delle vie aeree (processo infiammatorio).

Per quanto concerne la tipologia di flogosi, questa nell'asmatico è di tipo di flogosi bronchitica eosinofila, che costituisce una specie di marker dell'infiammazione degli asmatici. È di tipo eosinofilo in quanto è dipendente da una iperpresenza di Th2 che producono una serie di citochine tra cui IL-4 responsabile dell'effetto chemiotattico e cioè mantenimento eosinofili nel tessuto infiammato. Altre cellule importanti sono i basofili, i mastociti, con produzione di citochine, chemochine, e produzione di altri mediatori dell'infiammazione come leucotrieni, prostaglandine, purine, istamina, proteasi, PAF. Questi provocano distruzione dell'epitelio, fibrosi sub-epiteliale, produzione di tappi di muco che ostruiscono i bronchi, vasodilatazione, angiogenesi e a livello della mucosa bronchiale abbiamo una bronco-costrizione della quale è responsabile la iper-reattività bronchiale. In alcuni casi c'è una attivazione delle terminazioni nervose colinergiche con liberazione di acetilcolina che ha effetto broncocostrittore mentre l'adrenalina dilata. Alla base della iper-reattività bronchiale c'è una risposta a stimoli che normalmente in un soggetto asmatico non danno problemi mentre qui abbiamo bronco-costrizione oppure sostanze bronco-costrittrici; negli asmatici bastano anche piccole quantità per dare broncocostrizione.

Esistono quindi farmaci anti-infiammatori e farmaci broncodilatatori.

La broncocostrizione aggrava l'infiammazione e si viene a creare quindi un circolo vizioso per cui si crea nel tempo un circolo vizioso che comporta aggravamento progressivo della patologia e questo comporta rimodellamento della parete bronchiale, fatto che aggrava le condizioni del pz. Durante l'attacco di broncocostrizione una delle cellule chiave implicate nell'attacco di broncocostrizione è il mastocita.

Ci sono numerosi fattori favorevoli all'asma, stimoli di vario tipo, stimoli chimici, fisici, allergeni, sostanze chimiche, inquinamento atmosferico, infezioni virali. Questi stimoli nell'asmatico anche a basse concentrazioni scatenano l'attacco asmatico. Nel momento in cui i mastociti vengono stimolati da queste sostanze succedono 3 cose:

- un primo evento avviene nel giro di pochi secondi e consiste nella liberazione da parte del mastocita di sostanze preformate cioè istamina, proteasi, eparina ma anche altre sostanze come i mediatori dell'infiammazione. Siamo quindi nel bronco infiammato e l'istamina è anche un broncocostrittore ma nell'uomo è poco implicato. Dopo qualche minuto succede un'altra cosa, cioè si attiva un altro enzima che è la fosfolipasi A2: aumenta il Ca^{++} , questo Ca^{++} , attraverso due enzimi che sono la ciclo ossigenasi e la lipoossigenasi forma dei mediatori come PgE le leucotrieni che sono broncocostrittori così come anche PgE, PAF. I leucotrieni più importanti sono le cistein-leucotrieni.

- altro evento è la stimolazione della sintesi proteica i cui effetti non li vediamo subito ma a distanza di tempo (distanza di ore). Vengono prodotte IL, TNF, stimolazione della chemiotassi, arrivo nel tessuto bronchiale e attivazione a distanza di ore alla attivazione dei mastociti e questo comporta ulteriore liberazione di mediatori dell'infiammazione che aggravano la situazione infiammatoria dei bronchi e comportano la liberazione di ulteriori fattori dell'infiammazione che aggravano e inducono un episodio di broncocostrizione e in più gli eosinofili attraverso la liberazione di una particolare sostanza inducono un danno all'epitelio dei bronchioli che aggrava l'infiammazione e quindi la bronco-costrizione. In una percentuale abbastanza importante di asmatici l'attacco di broncocostrizione è un attacco bifasico: una prima fase subito dopo l'esposizione cioè dopo pochi min o sec. Questo attacco se non lo curiamo si autorisolve e a distanza di qualche ora compare un secondo attacco che è quello più pericoloso con liberazione di una quantità maggiore di neurotrasmettitori.

Da tenere a mente che non esiste un mediatore responsabile della broncocostrizione ma i mediatori sono tanti. L'istamina gioca un ruolo di secondo piano: sono importanti i leucotrieni, Ach soprattutto in alcuni soggetti, ma anche PgE, trombossano, PAF, adenosina, endotelina ecc..

Abbiamo quindi tanti stimoli che agiscono con lo stesso meccanismo e il loro meccanismo molecolare d'azione è uguale per tutti e indipendentemente al tipo di stimolo l'interazione di questi mediatori con il proprio recettore attiva la via della fosfolipasi C e quindi rilascio di Ca dal reticolo sarcoplasmatico, aumento Ca intracellulare e quindi la contrazione bronchiale.

Classificazione dell'asma

- **asma estrinseco**: se c'è un agente che scatena l'asma (come gli allergeni). Nei soggetti ipereattivi il riso costituisce di per sé uno stimolo asmogeno. Altri stimolo sono dati per esempio dagli inquinanti atmosferici ecc. Se si estrapola un allergene si parla di asma estrinseco. Se pz allergico stiamo attenti perché collega tutte le problematiche all'allergia. Questo soggetto può andare incontro all'asma al di là del contatto con allergene. Ha una situazione di fondo, vedi flogosi. Facendo una corsa, l'asma da sforzo colpisce il soggetto imperlabile quando il soggetto inizia l'attività fisica senza riscaldamento, respirando a bocca aperta si respira aria fredda e secca: la mucosa nasale ha due azioni, scaldare l'aria e umidificarla al punto giusto: respirando a bocca

aperta l'aria secca e fredda scatena l'asma impattando sui recettori vagali, e quindi provocando broncospasmo. Nell'asmatico soprattutto, bisogna cominciare con una corsetta.

- **asma intrinseco**: in molti asmatici (soprattutto i quelli sopra i 35 anni) non si riesce a riconoscere una causa allergica ("asma intrinseco") in questi pazienti giocano ruoli importanti fattori predisponenti quali la poliposi nasale. Si tratta dunque di persone anziane che hanno crisi asmatiche che si manifestano senza un riconoscimento di tipo allergico.

L'asma si può classificare inoltre a seconda della gravità in 4 livelli:

- livello 1 (intermittente): < 1 volta alla settimana, pz asintomatici e PEF normale fra le crisi e sintomi notturni meno di 2 a mese.
- livello 2 (lieve persistente): > 1 volta alla settimana ma < 1 volta al giorno e sintomi notturni frequenti maggiori di 2 al mese
- livello 3 (persistente di media gravità): giornalieri, crisi che possono limitare le attività e sintomi notturni maggiori di 1 alla settimana
- livello 4 (grave persistente): continui limitazioni delle attività fisiche e sintomi notturni frequenti.

L'asma può essere classificata anche come

- asma su base allergica IgE mediata
- asma emozionale, scatenata da freddo, pollini, esercizio fisico, fattori occupazionali.
- asma ad eziologia mista.

Sintomi

- crisi dispnoiche
- tosse
- sibili
- costrizione toracica
- scarsa percezione della gravità se l'asma è di lunga durata.

Circostanze

- anamnesi familiare (se due genitori allergici la possibilità di un soggetto allergico è alta)
- attività fisica
- durante il sonno
- a riposo

- al lavoro (vedi parrucchieri che usano sostanze asmogene)
- variabilità stagionale
- alimentazione
- inizio sintomi.

Non tutti i fischi riconducono all'asma, molte volte c'è solo tosse secca.

Iter diagnostico

La diagnosi di asma in fase sintomatica non viene esclusa da una obiettività toracica negativa. Quindi se il pz si trova fuori crisi non è detto che sentiamo fischi. Quindi si rivolgono al pz alcune domande:

- hai qualche volta sibili
- crisi dispnoiche
- crisi di sibili di note
- crisi di tosse
- crisi dispnoiche durante l giornata.

Si può fare uso anche di prove allergiche come la spirometria con la curva flusso volume con fase espiratoria della curva ed inspiratoria. In espirazione abbiamo una gobba, cioè il bronco è chiuso. Per capire se asmatico o bronchitico faccio un broncodilatatore cioè salbutamolo aspettiamo 20 min e poi ripeto la curva. Dopo 20 min la gobba va su e allora il VEMS è aumentato del 20% oppure di 200-400ml il soggetto ha ostruzione reversibile e quindi asmatico. Do una sostanza colinergica a dosaggi crescenti e se soggetto asmatico stimolato dalla sostanza colinergica non chiude i bronchi, non è asmatico mentre l'asmatico ha una funzionalità che si riduce del 20%. Poi si fanno le prove allergiche.

L'asma colpisce prevalentemente i giovani nell'età scolari, e si caratterizza per dispnea, tosse, sibili, allergia. La spirometria è normale e/o con segni di ostruzione bronchiale. Il FEV1 aumenta del 12% dopo broncodilatatore. Nel test con metacolina abbiamo notevole iper-reattività bronchiale.

Quindi l'asma può essere diagnosticata in base ai sintomi. Essenziali per la diagnosi sono:

- le prove di funzionalità respiratoria
- test di reversibilità
- test di broncostimolazione aspecifica.

Diagramma di Venn

Il diagramma di Venn mette in evidenza il fatto che tra BPCO, enfisema ed asma ci sono zone di confondimento. Tra la BPCO e l'asma c'è una area grigia di 10% cioè bronchite cronica asmatiforme.

Il bronchitico è vecchio, l'asmatico giovane, il bronchitico fuma, nel BPCO non c'è atopia, il sibilo nel BPCO non c'è quasi ma nell'asmatico c'è sempre.

La spirometria nel BPCO è sempre alterata al contrario dell'asmatico. Nella BPCO il pz respira più in alto cioè a volumi maggiori.

Nel BPCO sono coinvolti i CD8 (macrofagi e neutrofili) mentre nell'asma sono coinvolti i CD4 e gli eosinofili. Nella terapia c'è una differenza sostanziale. Quelli che stanno in mezzo si trattano più come asmatici che come BPCO, con corticosteroidi e broncodilatatore.

FARMACI BRONCODILATATORI E ANTIINFIAMMATORI

I farmaci disponibili sono numerosi:

1) Farmaci broncodilatatori

- farmaci stimolanti β 2 adrenergici
- teofillina o suo derivato (metilxantine)
- farmaci che bloccano recettori M colinergici
- farmaci bloccanti i recettori per leucotrieni che sono importanti nella broncocostrizione.

2) Farmaci antiinfiammatori

- glucocorticoidi
- cromoni
- anticorpi anti-IgE

1. Farmaci β 2 adrenergico stimolanti

I recettori β 2 sono molto presenti nella mucosa bronchiale. La natura ha creato questi recettori in quanto in certe situazioni è necessaria la broncodilatazione. Questi farmaci agiscono a livello di questi recettori e li classifichiamo in 2 sottogruppi e cioè:

- a breve durata d'azione (salbutamolo)
- a lunga durata d'azione (salmeterolo)

Il prototipo dei farmaci a breve durata d'azione è il **Salbutamolo** (anche terbutalina, perbuterolo). Quelli a lunga durata d'azione comprendono il **Salmeterolo**, ma anche il formoterolo.

Effetti farmacologici

Questi farmaci inducono:

- bronco dilatazione
- inibizione del rilascio di mediatori dalle mastcellule e da altre cellule dell'infiammazione
- stimolazione della funzione muco ciliare broncoalveolare. Questi effetti sono mediati dalla stimolazione della mucosa muco-ciliare. L'effetto broncodilatatore non dura molto in quanto i recettori $\beta 2$ se vengono stimolati per lunghi periodi di tempo vanno incontro down regulation.

Meccanismo d'azione

Abbiamo internalizzazione dei recettori che vengono internalizzati e l'effetto clinico è una tachifilassi. È un effetto utile ma che vediamo solamente nelle fasi iniziali. L'effetto più importante che ci interessa è l'effetto broncodilatante. Sono i farmaci di gran lunga più usati per il loro meccanismo d'azione: sono antagonisti fisiologici, cioè agonisti recettoriali, ma antagonisti fisiologici che stimolano i recettori $\beta 2$ con attivazione adenilato ciclasi con formazione di cAMP che ha una serie complessa di effetti e quindi fosforilazione di una serie di proteine responsabili che culminano nella decontrazione. Questo è un meccanismo coinvolto cioè l'attivazione dei canali del K che è maggiormente concentrato all'interno della cellula e quando si apre il canale abbiamo fuoriuscita del K dalla cellula e iperpolarizzazione con aumento del potenziale di membrana e chiusura di un sottotipo del canale del Ca, maggior responsabile dell'ingresso di Ca nelle cellule.

Indipendentemente dal tipo di stimolo che ha indotto broncostrizione questi farmaci sono sempre attivi.

Vie di somministrazione

a) Salbutamolo

- via inalatoria
- via ev
- os
- im

b) Salmeterolo

- via inalatoria

Il tempo di latenza e la durata dell'effetto (va inalatoria) sono di 1-5 min per la latenza e 3-5h di durata per il salbutamolo, e 30 min e 12h per il salmeterolo. C'è il vantaggio che il pz può portare con se il medicamento e inoltre i farmaci per via inalatoria sono privi di effetti indesiderati che sono mediati per via sistemica. Questi sono i farmaci di gran lunga utilizzati come broncodilatatori.

Per poter essere inalatori i farmaci devono avere una nebulizzazione cioè una parcellizzazione non al di sotto dei 5micron, altrimenti finiscono negli alveoli e non devono essere al di sopra dei 5 micron se no vanno a finire in parti dell'apparato respiratorio che non ci interessano. Quindi tutto il farmaco nebulizzato deve avere dimensioni intorno ai 5 micron. Altro problema è che con attuali dispositivi come gli spray, si ha il problema che precipitano nella bocca oppure si ha deglutizione e quindi con pericolo che vada a finire nell'intestino e se ha buona biodisponibilità può dare effetti sistemici. Ci sono varie strategie. Si istruisce intanto il pz su come si usa l'inalatore e quindi che si sciacqui la bocca e inoltre si deve usare un distanziatore tra l'erogatore e la bocca in modo tale che il pz inali dal tubo e questa faccia si che la grossa parte precipiti a livello del distanziatore, fatto che limita la quantità di farmaco deglutito. La differenza tra aerosol e spray sta nel fatto che la maschera va bene in pz poco collaboranti. Altro vantaggio dell'aerosol è che la somministrazione del farmaco è continua.

La differenza tra salbutamolo e salmeterolo (identiche dal punto di vista clinico):

- $t_{1/2} = 1-5\text{min}; 3.5\text{h}$ (salbutamolo)
- $t_{1/2} = 30\text{ min}; 12\text{h}$ (salmeterolo).

Quelli a lunga durata d'azione si usano per coprire il pz. Il metabolismo di questi farmaci è di tipo epatico e l'eliminazione è renale. Il diverso comportamento è una questione chimica. Quelli a lunga durata d'azione sono farmaci lipofili e questo comporta che la durata d'azione più lunga è che il farmaco essendo lipofilo si incastra nella membrana e più difficilmente si stacca e rimane anche in zone prive di recettori.

Se il farmaco non viene somministrato per via non inalatoria si usa la ev in caso per esempio di attacco asmatico molto grave con bronchi molto ostruiti con farmaco stesso che ha difficoltà ad arrivare ai bronchioli. Questi farmaci possono determinare un ulteriore aggravamento degli effetti in quanto se c'è vasodilatazione polmonare si ha stasi polmonare momentanea, con rallentamento circolo polmonare. Poi però la situazione migliora.

Vantaggi dei farmaci β -2 adrenergici

- rapidità d'azione
- autosomministrabilità per via inalatoria
- scarsi effetti collaterali (se somministrati per inalazione)

Effetti indesiderati

1) Somministrazione per via inalatoria

- tremori
- tolleranza
- secchezza, irritazione oro faringea, alterazioni del senso del gusto

2) Somministrazione per via orale o sistemica

- tremori muscolari
- tachicardia
- vasodilatazione
- iperglicemia
- tolleranza

Non vanno quindi somministrati ai pz cardiopatici.

2. Metilxantine

Sono alcaloidi di origine naturale presenti in piante molto diffuse. L'assunzione di queste sostanze avviene soprattutto per consumo di bevande quali caffè, tè, cioccolato e bevande al gusto di cola. Per molti anni sono stati gli unici ad essere utilizzati.

Principi attivi:

- teofillina
- aminofillina (teofillina + etilendiamina)
- teopramina
- caffeina

Le metilxantine sono sostanze eccitanti del sistema nervoso e del sistema cardiocircolatorio e provocano tremori, scosse muscolari, convulsioni, aritmie cardiache, crisi di ipertensione arteriosa. L'entità del quadro tossico è direttamente proporzionale alla dose ingerita. L'effetto farmacologico più importante è la broncodilatazione e inibizione del rilascio di mediatori delle mastcellule e da altre cellule dell'infiammazione. Questi farmaci stimolano anche il mm diaframma.

Meccanismo d'azione

Il meccanismo d'azione, nonostante siano farmaci che sono stati usati molto in passato, e molto anche nei paesi poveri in quanto uno dei vantaggi è che costano veramente poco, il meccanismo d'azione tutto'ora non è noto. Ci sono varie ipotesi:

- inibizione la fosfodiesterasi (decontrazione miociti bronchiali e inibizione con rilascio mediatori infiammazione)
- inibizione dell'adenosina (decontrazione miociti bronchiali e inibizione rilascio mediatori infiammazione)
- attivazione istone deacetilasi (inibizione dei fattori di trascrizione)

La fosfodiesterasi ha a che fare con l'cAMP e alla fine l'effetto finale è simile ai β 2 adrenergici, ma il meccanismo è diverso: si ha un blocco dell'enzima che metabolizza cAMP che normalmente viene trasformato in AMP e questa trasformazione avviene mediante fosfotrasferasi. Sono farmaci che bloccano la fosfodiesterasi, ma il problema è che il blocco si osserva a concentrazioni che sono molto più elevate di quelle raggiungibili nel vivo. Non è apparentemente compatibile con il meccanismo di questo tipo. Seconda possibilità è il blocco del recettore dell'adenosina che è una sostanza che agisce e viene inattivata nelle strette vicinanza delle cellule che la produce (antracoide) e ha molte funzioni e viene prodotta fisiologicamente ma anche in condizioni patologiche (ischemia miocardia), ha effetto vasodilatatorio, sulla conduzione atrio ventricolare (usata nelle tachicardie sopraventricolari in quanto rallentano il tempo di conduzione AV). L'adenosina è anche un broncocostrittore.

Ci sono alcune sostanze che si comportano come le piantine e non sono attive, come la entropillina, che non blocca i recettori dell'adenosina. Ci sono ancora delle cose non chiare.

Farmacocinetica

Questi farmaci hanno anche un altro grosso problema, non sono somministrabili per via inalatoria, nel caso della teofillina si usa per via os, per la aminofillina le possibilità sono per via ev, os, rettale, intramuscolare.

Nel caso della teofillina per via os la latenza è da 2h a 8-12h. Questi farmaci vengono metabolizzati dai citP450, creando dei problemi di interazione con altri farmaci.

Il metabolismo è epatico e l'eliminazione è biliare.

Vantaggi delle metilxanine

- disponibilità preparati ritardo per via orale
- disponibilità di supposte

Effetti indesiderati

- nervosismo
- cefala
- nausea e vomito
- aritmie cardiache

Il meccanismo delle aritmie è legato al blocco del recettore per l'adenosina. Se blocchiamo gli effetti dell'adenosina abbiamo un effetto di tachicardia. Questi farmaci vanno somministrati per infusione diretta. Da tenere presente che vanno somministrati in maniera estremamente lenta!!

Nella necrosi epatica si da acetilcisteina che lega il composto reattivo che si forma dal paracetamolo. La acetilcisteina è contenuta nei farmaci anti.. (infiammatori ??)

L'intossicazione di questi farmaci può essere letale.

3. Farmaci inibitori del recettore colinergico muscarinico M₃

Il principio attivo è l'**ipratropio bromuro** e viene somministrato per via inalatoria. Ha la funzione di bloccare gli effetti dell'Ach. Si usa questo in quanto dal punto di vista clinico è derivato dell'ammonio quaternario e sono composti che non riescono ad attraversare le membrane biologiche e se la somministriamo per via inalatoria la quota assorbita è molto bassa. Gli effetti farmacologici sono la broncodilatazione nei casi in cui l'Ach rappresenti un mediatore importante. Da un punto di vista clinico solo una piccola percentuale di farmaco risponde. Il meccanismo d'azione consiste nel blocco del recettore colinergico.

Il tempo di latenza è di 60 min, gli effetti sono di 4-6h, la quota assorbita non viene metabolizzata. L'eliminazione è biliare ed urinaria.

Non ha nessun vantaggio rispetto agli altri broncodilatatori. I principali effetti indesiderati sono:

- sensazione bocca cattiva
- secchezza delle fauci
- disturbi dell'accomodazione

4. Inibitori del recettore per i leucotrieni

Sono gli ultimi arrivati, i leucotrieni sono importanti mediatori della broncostrizione. Bloccano la sintesi o gli effetti dei mediatori coinvolti sia nella infiammazione che nella

broncocostrizione. Sono usati in una nicchia di farmaci ben selezionati. I principi attivi comprendono:

- **Zafirlukast**
- **Montelukast**
- **Zileuton** (non si lega sui recettori ma agisce più a monte inibendo la sintesi dei leucotrieni stessi). Questo farmaco inibisce la 5 lipoossigenasi ed impedisce la formazione dei leucotrieni.

Si possono somministrare solamente per vie orale, non vanno di certo bene per un attacco acuto. Hanno un tempo di latenza di 2-12h. Il metabolismo è epatico e l'eliminazione renale. I vantaggi di questi inibitori non sono ancora noti, hanno impiego di nicchia. Sono ben tollerati e i principali effetti indesiderati comprendono la epatotossicità (zileuton).

FARMACI ANTI-INTIAMMATORI

1-GLUCOCORTICOIDI

Generalità

Sono un'altra categoria di farmaci antistaminici. I glucocorticoidi sono degli ormoni, ma anche dei farmaci che mimano gli effetti del glucocorticoide endogeno che è il cortisolo. Nel caso dei glucocorticoidi c'è la possibilità che alcuni farmaci vengano somministrati per inalazione. È una fortuna in quanto questi farmaci quando si somministrano per via non inalatoria provocano effetti collaterali che ne limitano l'uso. In casi gravi può essere necessario somministrarli per via sistemica.

Meccanismo d'azione

I glucocorticoidi hanno effetti complessi sull'infiammazione, sono anche immunosoppressori. Inibiscono l'attività della fosfolipasi A2, inibiscono la sintesi di citochine e anche la chemiotassi attraverso una serie di effetti complessi e non conosciuti. I glucocorticoidi non hanno effetto broncodilatatorio e il tempo di latenza dell'effetto è un tempo di latenza lungo cioè di ore.

Sono somministrati anche per via os, ev, im, il tempo di latenza e durata dell'effetto variano da 4-6h. Il metabolismo è di tipo epatico e l'eliminazione è renale.

Caratteristiche dei glucocorticoidi

Caratteristiche positive

- azione antinfiammatoria
- somministrabilità per varie vie

- assenza di tossicità

Caratteristiche negative

- tempo di latenza dell'effetto relativamente lungo (ore)
- possibilità di gravi effetti indesiderati (terapia cronica).
- Possibilità di resistenza per alcuni pz.

Effetti indesiderati

Per via inalatoria l'unico effetto indesiderato che si osserva è la candidosi della mucosa orale. La candida è saprofita della mucosa orale che in condizioni normali non crea problemi. I glucocorticoidi per essendo immunosoppressori e quindi se la somministrazione non viene eseguita in modo corretto è possibile avere una candidosi per indebolimento del s.i.

CROMOMI

Altra categoria di anti-asmatici. Si tratta di farmaci poco attivi, hanno un meccanismo d'azione sconosciuto. Inibiscono l'attività di cellule coinvolte nella flogosi, quindi mastociti, inibizione fattori chemiotattici, effetti quindi importanti. Si comportano come gli antiinfiammatori. Il limite di questi farmaci è che non sono attivi negli attacchi acuti, in quanto l'attivazione delle cellule è già avvenuta. Si deve agire a livello muscolare. Il fatto è che devono competere con i glucocorticoidi che sono farmaci molto più attivi.

Si somministrano per via inalatoria, hanno un tempo di latenza 60min e una durata dell'effetto di 4h. Il metabolismo è epatico ed eliminazione epatica e renale. Sono comunque farmaci poco usati. I vantaggi dei cromomi sono l'assenza di effetti indesiderati importanti (raramente si osservano reazioni allergiche).

ANTICORPI MONOCLONALI ANTI-IGE (OMALIZUMAB)

Gli Ab anti-IgE sono Ab monoclonali diretti contro IgE e quindi nei pz con asma allergico mediato questi farmaci funzionano in quanto si legano alle IgE e impediscono rilascio di mediatori da parte dei mastociti, basofili, ma anche di altre cellule. Questi Ab agiscono in parte per meccanismi sconosciuti. La IgE si lega sui recettori attraverso un frammento della loro porzione Fc. Da un lato si legano al frammento Fc delle IgE e bloccano parte di questo frammento che si lega alla superficie dei recettori del mastocita. L'altro effetto spiega la lunga durata d'azione di questi farmaci, cioè il fatto che questi farmaci determinano una down regulation di questi recettori in quanto ogni recettore ha il suo turnover. Il ricambio è molto breve quando il recettore non viene stimolato, il recettore quindi non rimane a lungo

sulla superficie, si degrada e si riforma. Se la IgE si lega ai recettori, questi rimangono espressi e quindi l'effetto è quello che scompaiono e si ha una down regulation di questi recettori. Vengono somministrati pertanto ogni 3 settimana sotto cute. Il nome dell'Ab è **Omalizumab** sono Ab di tipo umanizzato cioè si costruiscono in laboratorio e sono molto simili a quelli umani. Un problema con questi composti è che la somministrazione avviene per via sottocutanea ogni 2-4 sett. La biodisponibilità è del 60% e l'eliminazione è del sistema reticolo endoteliali epatico. Il dosaggio deve essere curato: più del 95% di Ig devono legarsi, basta una bassa concentrazione di IgE circolanti per avere effetti.

Tossicità

- reazioni locali a livello del sito di iniezione
- reazioni anafilattiche (1/1000)
- aumento di incidenza delle neoplasie.

Linee guida per il trattamento dell'asma

Scoperto che il soggetto è asmatico bisogna vedere la gravità dell'asma e sulla base della classificazione applico la terapia:

- livello 4 (grave persistente)
- livello 3 (media gravità)
- livello 2 (lieve persistente)
- livelli 1 (intermittente)

La terapia aumenta progressivamente se passa da livello 1-4. Quindi:

- livello 1: nessun trattamento
- livello 2: corticosteroidi inalatori a basso dosaggio (beclometasone, butesomide, flucidasone).
- livello 3: corticosteroidi inalatori giornalieri e β_2 -agonisti a lunga durata d'azione giornalieri
- livello 4: alti dosaggi di corticosteroidi, e qui abbiamo effetti sistemici. Si somministrano corticosteroidi inalatori regolari, β_2 -agonisti a lunga durata d'azione regolari e in più (se occorre) Teofillina-LR, Antileucotrieni, β_2 -agonisti orali a lunga durata d'azione, corticosteroidi orali.

Si segue il soggetto per 3 mesi e se il pz migliora si ritorna nel trattamento dello livello precedente. Quindi si fa 3 mesi ogni giorno per combattere l'infiammazione che si ottiene in

tempi medio lunghi. Nel livello 3 si associano corticosteroidi e β -2 agonisti perché si è visto che c'è azione sinergica.

Effetti collaterali dei corticosteroidi inalatori

a. Effetti locali (dose dipendenti)

- disfonìa (impatta sulle corde vocali e atrofizzano le mm e quindi abbiamo disfonìa, allora bisogna sciacquarsi bene sia prima e dopo)
- candidosi del cavo orale
- tosse e broncocostrizione da eccipienti!

b. Effetti generali

Per dosaggi medio alti (800-1000) abbiamo:

- soppressione asse ipotalamo ipofisario
- aumento turn over osso
- assottigliamento cutaneo con fragilità vascolare
- cataratta post vascolare (?)
- glaucoma (?)

Quindi non sono farmaci a costo zero, possiamo avere crampi, iperglicemia, iperpotassemia.

Bisogna assumere quindi il farmaco in modo corretto in modo da potere ridurre gli effetti collaterali.

I farmaci per il controllo dell'asma quindi comprendono:

- glucocorticoidi
- β -agonisti a lunga durata d'azione
- antagonisti recettoriali dei leucotrieni
- glucocorticosteroidi orali
- metilxantine a lento rilascio
- cromoni

Gli **antileucotrieni** sono una nuova famiglia di farmaci antiinfiammatori specifici per l'infiammazione delle vie respiratorie di tipo allergico. Sono farmaci molto selettivi che hanno il potere di bloccare, a differenza dei cortisonici, solo ed esclusivamente l'infiammazione allergica. Questa proprietà li rende molto maneggevoli e sicuri; inoltre si stanno dimostrando di indubbia efficacia clinica attraverso vari studi già effettuati.

L'antileucotrienico agisce su una delle cadute sulla crisi asmatica, mentre i corticostreoidi hanno azione vasta. L'antileucotrienico agisce sui sintomi nasali e se abbiamo pz asmatico e per il 70% rinitico dobbiamo dare terapia combinata anche per i sintomi nasali. Quindi in caso di asma e rinite si danno anileucotrineici e corticosteroidi.

L'approccio graduale alla terapia dell'asma deve seguire il seguente schema

- step 1. solo al bisogno ventolin
- step 2: basse dosi quotidiana di ICS e al bisogno β -2agonisti inalatori.
- step 3: aumento progressivo delle dosi di ICS e LABA inalatori quotidiani. Farmaco al bisogno come β 2 inalatori.
- step 4: alte dosi di ICS, LABA inalatori, anti leucotrienici + teofilline a lento rilascio, steroidi orali e farmaci al bisogno come β 2 inalatori.

Se continuiamo a fare β -2 agonisti i recettori si addormentano e non rispondono più per la down-regulation dei recettori.

Tipo di asma	Sintomi giorno	Sintomi notte	% indici funzion e respir.	Trattamento per il mantenimento sintomatologia a lungo termine
Lieve intermittente	<2 sett	<2 notti/mese	>80%	Nessun trattamento Se gli episodi di broncospasmo sono gravi è raccomandato un ciclo di terapia con glucocorticoidi per via sistemica
Lieve persistente	>2 sett ma <di 1 al gg	>2 notti/mese	>80%	Basse dosi di glucocorticoidi per inalazione In alternativa: cromoni, antagonisti dei leucotrieni o teofillina a lento rilascio
Moderato persistente	7 gg/sett	>1 notte/setti m.	>60%-<80%	Basse-medie dosi di glucocorticoidi per inalazione + β -2 adrenergici a lunga durata d'azione (+ OMALIZUMAB). In alternativa ai β -2 adrenergici:

				antagonisti dei leucotrieni o teofillina
Severo persistente	Continua	Frequente	<60%	Alte dosi di glucocorticoidi per inalazione + β -2 adrenergici a lunga durata d'azione + (se necessario) glucocorticoidi per via sistemica (+ OMALIZUMAB).
Attacco acuto di broncospasmo (per tutti i pazienti)	B-2 adrenergici a breve durata d'azione (2-4 puffs, secondo necessità)			

IMMUNOFARMACOLOGIA

Generalità

La immunofarmacologia è una branca della farmacologia che studia i farmaci che agiscono sul sistema immunitario inibendo (f. immunosoppressori) o stimolando (f. immunostimolanti) la sua attività.

Il sistema immunitario ha funzione di difesa e in alcuni casi può assumere un ruolo di pericolo, come nei trapianti di organi, autoimmunità e quindi rigetto. Possiamo intervenire sul sistema immunitario tramite immunosoppressione e immunodepressione. L'immunosoppressione può essere selettiva come nel caso dei vaccini oppure non selettiva. L'immunosoppressione è quasi sempre di tipo non selettivo. Quella selettiva ha lo scopo di indurre la tolleranza. Possiamo distinguere allora farmaci immunosoppressori, immunostimolanti e anche immunomodulatori (termine vago che vuol dire tutto o nulla).

a) Farmaci immunosoppressori

- Bloccanti selettivi della proliferazione dei linfociti T (ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, micofenolato mofetil, anticorpi)
- Glucocorticoidi
- Citotossici (metotrexate, azatioprina, ciclofosfamide)

- FTY 720

b) Farmaci tollerogeni

Sono farmaci in fase di sperimentazione molto precoce.

c) Farmaci immunostimolanti

- bacillo Calmette-Guerin
- Ab monoclonali
- citochine (INF, IL-2)
- talidomide (è un po' a se stante, ha una storia tutta sua, è un F che è stat ritirato dal commercio. Oggi viene usato per forme neoplastiche come il mieloma multiplo).

FARMACI IMMUNOSOPPRESSORI

L'Ag stimola una cellula, che lo ingloba (cellula presentati l'Ag che sono di vario tipo). L'Ag una volta processato viene esposto sulla superficie della cellula nell'ambito del contesto maggiore di istocompatibilità I oppure II. La cellula attivata produce IL-1, poi abbiamo interazione con i CD4 cioè helper a riposo. Una volta avvenuta l'interazione abbiamo attivazione. Il linfocita CD4 produce una serie di citochine tra cui IL-2 e nello stesso tempo esprime sulla sua superficie un recettore per la stessa IL-2 a bassa affinità, ma quando viene attivato diventa ad alta attività agendo sullo stesso linfocita che lo ha prodotto. Questa interazione della IL-2 con il suo recettore provoca espansione clonale dei linfociti e quindi il linfocita CD4 attivato a sua volta promuove sia attivazione dei CD8 sia attivazione cloni di Ag specifici di linfociti B che a loro volta producono plasmacellule e quindi Ab specifici. Possiamo agire a vari livelli con questi farmaci.

La prima possibilità è quella di impedire che Ag interagisca con la cellula e questo si può fare utilizzando le Ig e bloccando questa reazione. Questo può avvenire solamente in condizioni particolari, dobbiamo sapere a priori se ci sarà una esposizione a un determinato Ag, come nei trapianti dove so che il pz verrà trapiantato. Scendendo più valle di questa reazione a cascata troviamo i glucocorticoidi che hanno più siti d'azione e possono agire a livello della cellula che presenta l'Ag inibendo produzione IL-1, essenziale per interazione CD3-CD8.

Maggior parte farmaci agisce a livello dei CD4 come la ciclosporina, tacrolimus e micofenolato, Ab anti timociti, poi anche anti CD-3. Poi abbiamo il sirolimus e Anti-CD25 e quindi i glucocorticoidi citotossici che agiscono a vari livelli sia sulla formazione di plasmacellule che delle cellule T citotossiche. Il CD4 ha meccanismo diverso dal resto dei farmaci, soprattutto nella prevenzione de rigetto del trapianto, nell'uso più comune che si fa, proprio perché abbiamo la possibilità di interagire, questi farmaci vengono usati in

associazione, con 2-3 farmaci, sia per potenziare gli effetti sia per ridurre gli effetti indesiderati.

Ciclosporina e Tacrolimus

La ciclosporina ha cambiato la prognosi dei pz in cui è stato trapiantato un organo, è stato il primo farmaco immunosoppressore. La ciclosporina ha una struttura complessa, è una molecola altamente lipofila, fatto che condiziona le sue caratteristiche sia farmacocinetiche sia farmacodinamiche che tossicologiche. È quindi una molecola grossa e molto lipofila.

Il **Tacrolimus** invece è un macrolide, più piccolo della ciclosporina, ha meccanismo d'azione simile alla ciclosporina.

Meccanismo d'azione

La ciclosporina e il tacrolimus sono inibitori della calcineurina. Quando la cellula presenta l'Ag interagisce con un linfocita il MHC-I interagisce con un recettore che si trova sulla superficie dei CD4 producendo IL-1. L'altra condizione necessaria per l'attivazione CD4 è che ci sia interazione tra complesso interazione - CD3. Quando sono soddisfatte queste 3 condizioni abbiamo l'attivazione della fosfolipasi C quindi si ha un aumento del Ca intracellulare che si lega ad un enzima che è la calmodulina e il complesso che si forma va ad interagire con un enzima che si trova espresso nella parte citosolica che è la calcineurina. Nel momento in cui abbiamo interazione abbiamo attivazione dell'enzima, attivazione necessaria affinché questo fattore citoplasmatico cioè FNCTA che normalmente lega un fosfato venga ad opera della calcineurina attivata, venga attivata cioè con distacco del gruppo fosfato e quindi migrazione nel nucleo dove trova una sua controparte nucleare formando un dimero che agisce su particolari sequenze geniche inducendo la sintesi di una serie di proteine importanti per la cascata immunitaria. Queste proteine sono il fattore stimolante la proliferazione dei macrofagi, ma anche IL-3, IL-4 e TNF- α e INF-gamma.

La **ciclosporina** si lega ad una proteina citoplasmatica (passa bene le barriere), penetra nella cellula (granulociti, globuli rossi ecc) e si lega ad una proteina citoplasmatica cioè la **ciclofillina**. Si lega alla calcineurina e inibisce l'attività di questo enzima e non viene più defosforilato e viene bloccata la sintesi delle proteine viste prima. Ha anche altri meccanismi d'azione, non solo questo: ha azione immunosoppressiva in quanto stimola la produzione del TGF- β che in vari modi antagonizza gli effetti dell'IL-2 ed è responsabile degli effetti indesiderati più gravi della ciclosporina stessa.

Il **tacrolimus** agisce allo stesso modo della ciclosporina, l'unica differenza è che si lega non alla ciclofillina ma alla **FKBP** e dopo di che il resto è uguale.

Farmacocinetica e interazioni

La ciclosporina come detto prima è grande e lipofila e quindi passa bene le barriere e dal punto di vista assorbitivo è troppo grande e lipofila e quindi tende ad accumularsi. La tendenza di questo tipo di molecole è di formare macroaggregati e precipitare all'interno dell'intestino. Questo è il primo problema, c'è quindi una scarsa biodisponibilità orale bassa e soprattutto è variabile, anche nello stesso soggetto c'è un'ampia variabilità nelle concentrazioni plasmatiche. L'altro problema con questo tipo di sostanze è legato all'interazione con alcuni cibi, cioè contenenti grassi come latte, formaggi. Inizialmente la ciclosporina si poteva somministrare sia per via e.v che os. Questo causava concentrazioni variabili e questo a livello domiciliare dava problemi. Per questo sono state create le microemulsioni, cioè delle forme nuove che hanno una biodisponibilità migliore, la concentrazione resta costante e si ha migliore gestione domiciliare del pz.

L'interazione con i pasti lipidici è un altro problema. Nel caso della ciclosporina l'interazione è variabile. L'assunzione con un pasto lipidico può diminuire con la biodisponibilità a formare dei complessi che non sono più assorbibili. La biodisponibilità può aumentare quando la ciclosporina viene assunta in seguito ad un pasto ad alto contenuto lipidico che stimola la secrezione dei sali biliari e della bile che sono degli emulsionanti e la ciclosporina viene somministrata a distanza di tempo e abbiamo microemulsioni di ciclosporina e quindi viene aumentata la biodisponibilità del farmaco.

La ciclosporina viene metabolizzata dal CYP3A4 ed è un substrato anche per la glicoproteina P. La ciclosporina viene metabolizzata a livello epatico e i metaboliti della ciclosporina li troviamo a livello renale. Il metabolismo è alla base di interazioni con una serie di farmaci che possono inibire o stimolare il CYP3A4. Abbiamo riduzione della clearance con la eritromicina, ketokonazolo, verapamile, nicordipina, metilprednisone (glucocorticoidi), succo di pompelmo. Le conseguenze sono estremamente gravi sia se si diminuiscono le concentrazioni sia che si aumentano: se si riduce abbiamo rigetto se aumenta avremo tossicità seria.

Effetti collaterali

Sono coinvolti negli effetti indesiderati soprattutto gli antivirali in quanto è facile che i pz con ciclosporina siano trattati da antivirali, fatto da tenere presente. La ciclosporina tramite vari meccanismi può dare ipertensione arteriosa e quindi è possibile che debbano essere trattati con questi farmaci. Il metilprednisone perché la ciclosporina sia associata ai glucocorticoidi e bisogna tenere conto di queste interazioni. Della distribuzione dobbiamo ricordare alcune cose come accumulo nei gl rossi e linfociti: è richiesto pertanto un monitoraggio della concentrazione nel sangue. Il dosaggio quindi di questi farmaci va

effettuato sempre per via os. Inoltre questo farmaco passa con facilità la barriera ematoencefalica dando origine a neurotossicità.

I maggiori effetti indesiderati della ciclosporina comprendono nefrotossicità (70-75%). In un 50% di questi pz abbiamo anche ipertensione arteriosa. In molti pz possiamo avere tutti e due. Questo da problemi per pz trapiantati di rene. I meccanismi attraverso cui la ciclosporina induce nefrotossicità e ipertensione sono vari:

- nefrotossicità acuta: costrizione acuta delle arteriole afferenti renali dovuta a meccanismi noti e sconosciuti. Si presume un effetto diretto sulle arteriole. Oppure la costrizione può essere conseguenza dell'attivazione di una serie di sistemi come il sistema RAS che aumenta l'endotelina 1 (potente vasocostrittore), deficit produzione nitrossido, aumento trombossano, alcune PGE. Da questi stessi meccanismi sono responsabili anche arteriole del circolo sistemico;
- nefrotossicità cronica: è la più importante sul piano clinico ed è mediata in gran parte da aumento del TGF- β che è un Growth Factor cioè un fattore di crescita e avviene per azione di TGF β e si ha una fibrosi interstiziale che sono attribuibili all'aumento del TGF- β .

La ciclosporina si può usare anche nel trapiantato di rene tenendo presente che negli altri trapianti viene usata subito prima e subito dopo in maniera continuativa e nel trapianto renale si usano in altro modo: in stretta vicinanza altri immunosoppressori e dopo il trapianto con funzione regolare del rene possiamo cominciare a trattare il pz con la ciclosporina. Altri effetti indesiderati della ciclosporina sono:

- epatotossicità
- neurotossicità
- irsutismo
- iperlipidemia (importante in quanto ci sono altri farmaci immunosoppressori nei quali la ciclosporina viene associata dando lo stesso tipo di problema con sommazione degli effetti dando quadro di diabete da post farmaci).
- iperglicemia
- iperuricemia
- tossicità GI
- predisposizione a infezioni e neoplasie
- iperplasia gengivale (di per se non è un effetto indesiderato importante, può essere fastidiosa per il pz). L'iperplasia è un indice di compliance (cioè che il pz sta assumendo il farmaco). La presenza di iperplasia gengivale dice che i dosaggi sono adeguati. È utile anche una biopsia renale.

Usi terapeutici della ciclosporina

La ciclosporina sul piano ipotetico si usa con associazione con altri farmaci. Un gruppo di farmaci con il quale viene associata sono i glucocorticoidi con i quali però ci possono essere interazioni, poi si usa ancora l'associazione tra azatioprina, microfenilato oppure mofetil/sirolimus. I glucocorticoidi si associano quasi sempre tranne in casi particolari per due motivi: prima di tutto perché sono antiinfiammatori (i glucocorticoidi) e questo è un effetto importante. L'altro motivo è che tutto questi farmaci agiscono sulla via della IL-2 bloccando la sua produzione, tutte le altre invece vengono prodotte, bloccando la sintesi di molte citochine (sia immunità cellulare che umorale). Il prezzo da pagare è un maggior rischio di infezioni e neoplasie. La ciclosporina può esser usata come farmaco di seconda scelta in altre forme morbose da eccessiva attività di linfociti T: psoriasi, Bechet, dermatite atopica, sindrome nefrosica e artrite reumatoide.

Per la ciclosporina è richiesto uno stretto dosaggio. I motivi per cui per la ciclosporina è necessario un certo dosaggio in quanto la concentrazione tossica è vicina a quella terapeutica e un errore si ha verso l'alto che verso il basso con effetti devastanti. Quindi c'è una elevata variabilità farmacocinetica interindividuale. Altro da tenere presente:

- possibilità interazione farmacologiche
- possibilità diagnosi differenziale tra iniziale rigetto del trapianto e nefrotossicità da ciclosporina
- valutazione aderenza alla terapia
- riduzione dosaggi al minimo nel corso di terapia di mantenimento.

Tacrolimus

Il tacrolimo è un macrolide ad attività immunosoppressiva prodotto dallo *Streptomyces tsukubaensis*. Non è correlato chimicamente alla ciclosporina A, ma il suo meccanismo d'azione è simile come anche le caratteristiche farmacocinetiche e gli effetti indesiderati. Viene utilizzato in alternativa alla ciclosporina (se non tollerata). Inizialmente sembrava migliore della ciclosporina per la possibilità di somministrarlo a basse dosi. Invece una differenza importante tra i due è che le interazioni sono minori. Sia il tacrolimus che la ciclosporina si legano al peptidil-prolil-isomerasi citoplasmatiche che sono abbondanti in tutti i tessuti. Mentre la ciclosporina si lega alla ciclofilina, il tacrolimus si lega all'immunofilina FK-binding protein (FKBP). Entrambi complessi farmaco-proteina inibiscono la calcineurina, che è necessaria per il processo di attivazione del fattore di trascrizione dei linfociti T (NF-AT). Su base ponderale il tacrolimus è 10-100 volte più potente della ciclosporina A nell'inibire la risposta immunitaria. Il tacrolimus è utilizzato per le stesse indicazioni della ciclosporina, in particolare nel trapianto d'organo. È indicata

anche nella prevenzione del rigetto e del trattamento del rigetto acuto (qui si deve far calare i linfociti T e si usano altri farmaci).

Il tacrolimus può essere somministrato sia per os che per via ev (oggi è disponibile anche un preparato topico per le malattie dermatologiche). Possiede un'emivita di 9-12h ed è metabolizzato come anche la ciclosporina, principalmente nel fegato da un enzima P450 e sono pertanto possibili interazioni con altri farmaci. Gli effetti tossici sono simili a quelli della ciclosporina e comprendono nefrotossicità, neurotossicità, iperglicemia, ipertensione, iperpotassemia e disturbi gastrointestinali.

Rapamicina (Sirolimus)

È un altro farmaco immunosoppressore. È un nuovo agente, derivato dallo *Streptomyces*, che come la ciclosporina ed il tacrolimo, lega le immunofiline ed inibisce la calcineurina. Tuttavia ha un meccanismo diverso dalla ciclosporina in quanto non blocca la produzione di IL da parte dei T attivati, ma inibisce invece, la risposta dei linfociti T alle citochine. Interviene più a valle quindi più a valle. La ciclosporina previene l'azione dell'IL-2 agendo su CD4 mentre il sirolimus agisce più a valle sui CD4 attivati. Il recettore dell'IL-2 da bassa diventa alta affinità, abbiamo interazione e va ad agire attivando l'enzima mTOR (Mammalian target of rapamycin) la chinasi attivata stimola il passaggio del ciclo cellulare dalla fase G1 alla fase S. Stimola questo passaggio e abbiamo stimolazione del ciclo cellulare. Il sirolimus si lega alla stessa proteina, cioè FKBP ed inibisce mTOR e il ciclo cellulare rimane in fase G1 con blocco della proliferazione cellulare.

Farmacocinetica

Lo sirolimus possiede scarsa biodisponibilità orale, interazione con cibi ricchi di grassi (sono farmaci con meccanismi intracellulari e devono pertanto essere molto lipofili), distribuzione cellule sanguigne, è lipofilo, dev'essere metabolizzato, eliminato. Ha un $t_{1/2}$ abbastanza lungo (62h).

Tossicità

Di per se non è tossico ma per motivi non chiari si è visto che è in grado di potenziare la tossicità indotta da ciclosporina/tacrolimus. Altra cosa è che aumenta colesterolo e i trigliceridi e per cui potenzia l'effetto tossico da ciclosporina e tacrolimus. Non è un iperglicemizzante, può dare anemia, leucopenia, disturbi GI, febbre, predisposizione e neoplasie.

Usi terapeutici

Si usa in associazione con i glucocorticoidi, ciclosporina e tacrolimus, quindi mai da solo. Si usa anche nel caso di restenosi delle protesi vascolari (stent) e anche nel trattamento delle neoplasie.

L'utilizzo del sirolimus è sotto inchiesta tutt'ora. Si è visto che può dare dei problemi. stiamo parlando di pz cardiopatici, con protesi di materiale plastico. Il problema qui è che dopo un certo periodo di tempo questi stent tendono a riuostrirsi nuovamente e i pz devono essere rioperati. Siccome lo stent e la riuocclusione è dovuta ad una serie di meccanismi come la produzione di citochine, si è pensato di medicare questi stent in modo da impedire il problema. Si è visto che anche per l'azione diretta abbiamo assottigliamento degli stent con rilascio di rottura.

Micofenolato-mofetil

È un derivato semisintetico dell'acido micofenolico isolato dalla muffa di *Penicilium glaucum*. Si tratta di un farmaco che inibisce la replicazione di linfociti T e B con meccanismo diretto. Sul resto della cellula non ha effetti. Il motivo è che questo farmaco va ad inibire la sintesi del DNA esclusivamente dei linfociti T e B in quanto inibisce la sintesi delle basi puriniche di queste 2 cellule (la sua azione quindi sta nell'inibire la sintesi de novo delle purine). I T e B di diverso da altre cellule hanno che la sintesi di purine può avvenire in due modi: via sfruttata dai T e B con glicina, CO₂ e gruppi amminici. Nel resto delle cellule invece la sintesi avviene per recupero del catabolismo del DNA. Un enzima chiave della sintesi de novo è dato dalla inosina monofosfato deidrogenasi e il farmaco agisce inibendo questo enzima. È un profarmaco e si trasforma in acido micofenolico e vengono salvaguardate tutte le altre cellule e vengono colpiti selettivamente i T e i B.

Farmacocinetica

Può essere somministrata sia per via orale che e.v. L'ac micofenilico si forma a livello epatico, dove si forma il principio attivo, può essere coniugato all'ac glucuronico. Una quota dell'ac micofenolico costituisce un circolo enteroepatico creando un circolo che contribuisce al mantenimento delle concentrazioni plasmatiche. Ci sono delle sostanze che possono interferire con questo ricircolo come la antiacidi e colestiramina. L'inibizione del circolo E&E provoca una diminuzione dell'ac micofenolico e calo dell'immunosoppressione.

Indicazioni cliniche

Il mofetil micofenolato è il farmaco usato nel trattamento della sindrome GVH resistente agli steroidi i pz con trapianto di midollo. Più recenti applicazioni comprendono la nefrite lupica, artrite reumatoide ed alcune malattie dermatologiche

Effetti indesiderati

- infezioni, neoplasie
- disturbi GI (nausea, vomito, dolore addominale, diarrea)
- depressione del MO (soprattutto leucopenia)
- infezioni da citomegalovirus

L'uso terapeutico come detto prima comprende associazione con altri farmaci per prevenzione del rigetto.

Altra interazione è con il tacrolimus. Altra possibilità di migrazione, alla luce che questi pz vanno incontro spesso a malattie da CMV. Altra possibilità è che inibiscano il glucoronide dell'ac micofenolico.

ANTICORPI MONOCLONALI

Generalità

La tecnologia degli anticorpi monoclonali si è sviluppata negli anni '70, quando Kohler e Milstein riuscirono a fondere cellule mielomatose immortali con linfociti B produttrici di Ab. Una parte degli ibridi ottenuti risultava essere stabile, con caratteristiche cancerose e capace di produrre Ab. Queste cellule, dette ibridomi, rappresentavano dunque una inesauribile fonte di Ab monospecifici (monoclonali).

Gli Ab monoclonali sono dunque Ab prodotti da un singolo clone, cioè da una popolazione cellulare geneticamente identica perché derivata da un'unica cellula madre. Gli Ab monoclonali sono sintetizzati dai cosiddetti "ibridomi", cioè cellule ottenute dalla fusione di linfociti di topo immunizzati contro un determinato antigene e di cellule di mieloma, un particolare tumore. Gli ibridomi mantengono da un lato la capacità, propria dei linfociti, di produrre anticorpi specifici, dall'altro assumono dal mieloma la proprietà, tipica di tutte le cellule tumorali, di dividersi pressoché infinitamente. Da qui la possibilità di produrre da un unico clone specifico elevate quantità dell'anticorpo. Gli Ab monoclonali, a causa dell'estrema selettività del legame antigene-anticorpo, costituiscono uno strumento molto utilizzato sia in biologia, sia in medicina. Il loro campo d'impiego è attualmente vastissimo: ricerca e misurazione delle concentrazioni ematiche di sostanze normali o patologiche

circolanti nel sangue (compresi i farmaci); analisi di componenti specifici di organi o tessuti; diagnosi di malattie infettive; studio di leucemie e linfomi; identificazione precisa di componenti specifici di tessuti tumorali solidi; studio delle caratteristiche autoimmuni di malattie come diabete, miastenia grave, collagenopatie. Legati a radioisotopi o a farmaci citotossici, gli anticorpi monoclonali sono attualmente oggetto di ricerca come mezzi estremamente selettivi per localizzare tumori non rintracciabili con le comuni metodiche d'indagine, e quindi per eradicare i focolai neoplastici in modo specifico (è il caso del trapianto di midollo osseo), senza danneggiare le cellule normali dell'organismo.

Come già detto, gli Ab monoclonali sono perfettamente uguali uno all'altro. Questo ha grandi vantaggi rispetto ai policlonali: intanto la tolgono la possibilità del rischio di allergie (se somministriamo più proteine diverse c'è più rischio di allergie). Altro vantaggio è dato dal fatto che più Ab somministriamo e minore è la loro durata d'azione. Si formano auto-Ab e in questo modo ne riducono l'emivita. È un sistema per eliminare l'Ab somministrato.

Meccanismo d'azione

- blocco della funzione dell'Ag bersaglio
- lisi della cellula che esprime l'Ag bersaglio (si può sfruttare per le neoplasie)
- trasporto di sostanze attive a cellula che esprimono l'Ag bersaglio

Gli Ab monoclonali possono dare diversi tipi di problemi:

- reazioni allergiche come tutte le proteine.
- soppressione di funzioni fisiologiche legate al legame con l'Ag bersaglio
- attivazione cellula bersaglio

Impiego in terapia

- prevenzione e terapia de rigetto dei trapianti
- malattie AI (artrite reumatoide e morbo di Crohn)
- terapia del Cancro (linfomi non-Hodgkn, K mammella)
- malattie infettive (sepsi, virus respiratori sinciziale).

Come si ottengono gli Ab monoclonali

Gli Ab monoclonali si possono ottenere in 2 modi: quelli più economici e i primi sono stati ottenuti dai topi ma quelli più sicuri si ottengono per sintesi.

Gli Ab monoclonali dai topi prevedono l'iniezione nel topo dell'Ag contro cui vogliamo produrre Ab monoclonale. Iniettato l'Ag il topo comincia a produrre linfociti T che produrranno Ab che non sono monoclonali contro Ag. Dopo che il topo ha sviluppato la

risposta immunitaria (alcune settimane), viene ucciso e se ne asporta la milza (che ospita i linfociti, le cellule che producono gli anticorpi), la si lava e trita, e si agita poi dolcemente per liberare le singole cellule, alcune delle quali saranno cellule B produttrici di anticorpi. Si mescola la sospensione di cellule spleniche con una sospensione di cellule di cellule mielomatose geneticamente prive dell'enzima ipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasi (HGPRT -). La miscela delle sospensioni cellulari viene mescolata con glicole polietilenico al 35% per alcuni minuti e successivamente trasferita a un mezzo di coltura contenente ipoxantina, amminopterina e timidina (mezzo HAT).

Nella miscela esisteranno alla fine cellule mielomatose, cellule spleniche, cellule di fusione mieloma-milza, cellule di fusione mieloma-mieloma e cellule di fusione milza-milza. Il mezzo HAT, invece, permette la crescita delle sole cellule di fusione mieloma-milza, perché nessun'altra è in grado di proliferarvi. Le cellule spleniche e quelle di fusione milza-milza non sono in grado di crescere in alcun mezzo. Le cellule mielomatose e quelle di fusione mieloma-mieloma, del tipo HGPRT - non sono in grado di utilizzare l'ipoxantina come precursore per la biosintesi delle purine guanina e adenina, che sono, naturalmente, essenziali alla sintesi degli acidi nucleici. Esse dispongono però di un percorso alternativo, naturale, per sintetizzare le purine, che si serve dell'enzima diidrofolato-riduttasi. E' per questo che si comprende nel mezzo l'amminopterina, che inibisce appunto l'attività della diidrofolato-riduttasi. In definitiva le cellule HGPRT - mielomatose e di fusione mieloma-mieloma non sono capaci di sintetizzare nel mezzo HAT le purine e, di conseguenza, periscono.

Quanto alle cellule di fusione milza-mieloma, esse sopravvivono nel mezzo HAT perché le cellule di milza contribuiscono con l'HGPRT funzionale, che può utilizzare l'ipoxantina esogena del mezzo anche quando la produzione di purine affidata alla diidrofolato-riduttasi sia bloccata dall'amminopterina, e perché, inoltre, sono attive le funzioni della divisione cellulare delle cellule mielomatose. Si fornisce la timidina per superare il blocco della produzione di pirimidine causato dall'inibizione della diidrofolato-riduttasi ad opera dell'amminopterina. Da 10 a 14 giorni circa dopo il trattamento di fusione nel mezzo HAT saranno sopravvissute solamente, crescendovi, le cellule di fusione milza-mieloma. Tali cellule vengono allora distribuite nei pozzetti delle piastre da microdosaggio e fatte crescere in mezzo di coltura completo senza HAT.

Il compito successivo consiste nell'identificare le cellule ibride che producono anticorpi contro l'antigene immunizzante. Uno dei procedimenti comuni di selezione utilizza il mezzo di coltura, che contiene gli anticorpi secreti. Lo si raccoglie dai pozzetti che contengono cellule in crescita e lo si aggiunge nel pozzetto di un'altra piastra da microdosaggio preliminarmente rivestita con l'Ag bersaglio. Se il mezzo di coltura contiene un anticorpo

(anticorpo primario) che riconosce un epitopo dell'Ag vi si legherà, e i successivi lavaggi non lo allontaneranno. Ai pozzetti della piastra si aggiunge un secondo anticorpo (anticorpo secondario) specifico degli anticorpi murini (di topo): si legherà a qualsiasi anticorpo primario fissato sull'Ag.

Si selezionano quindi cloni di cellule che producano Ab che ci interessano. Questo si fa con una serie di tecniche. Una volta che ho isolato i cloni li faccio espandere con una serie di metodiche e mi trovo con popolazione di plasmacellule che producono Ab monoclonali solo verso Ag che mi interessano.

Il problema è che gli Ab murini sono distanti da quelli umani e pertanto abbiamo grossi problemi per insorgenza di allergie e Ab murino è inoltre diverso e ha emivita molto breve. Per questo si è passato a sintetizzare altri tipi di Ab. Un 3° tipo di problema è legato all'attivazione del complemento.

Per trovare una soluzione la tecnologia del DNA ricombinante ha fornito un alternativo metodo per ridurre l'immunogenicità innata degli anticorpi monoclonali murini. Sono stati clonati i geni di tutti i sottotipi di immunoglobuline umane, e questo ha permesso la produzione di vari anticorpi ibridi ad immunogenicità ridotta. Il primo metodo impiegato per ridurre l'antigenicità di un anticorpo monoclonale murino è consistito nel costruire semplicemente dei geni "chimerici" che codificavano proteine in cui le regioni variabili degli Ab murini erano fuse con le regioni costanti di un anticorpo umano: l'Ab chimerico conservava la specificità di legame ma assomigliava maggiormente a un anticorpo umano naturale.

Il frammento Fc lo si costruisce con varie tecniche, il FAB non dà problemi. Dopodiché l'Fc costruito lo lego al FAB e ottengo un Ab chimerico che avrà emivita più lunga e soprattutto dal punto di vista farmacodinamico li faccio fare quello che voglio. Quando troviamo il suffisso finale XMAB è un Ab chimerico.

Altra possibilità è l'Ab completamente umanizzato e questi sono i migliori di tutti e sono anche quelli più costosi, bisogna farli ogni volta che servono. Il suffisso UMAB vuol dire che sono umanizzati. Quindi i vantaggi di questi Ab umanizzati è la ridotta ..

Gli Ab usati per l'immunosoppressione sono 2, ma ci sono altri:

1) Ab monoclonali anti-CD3 di tipo murino: diretti contro complesso differenziazione di tipo 3. Questo Ab anti CD3 si lega sul complesso CD3 e questo è il meccanismo principale e in questo modo prevede il proseguimento della cascata immunitaria.

Effetti indesiderati degli Ab murini

- sindrome da rilascio di citochine

- reazioni allergiche
- rigetto alla sospensione della terapia
- rischio infezioni e neoplasie
- riduzione efficacia nel tempo.

Usi terapeutici: per le loro caratteristiche vengono usati nel trattamento del rigetto acuto di trapianto renale.

2) Ab monoclonali anti-CD3 umanizzati: nel momento in cui l'Ab si lega al CD3 possono succedere 2 cose: si attiva il complemento e quindi si ha lisi del linfocita al quale l'Ab si è legato. Altra possibilità è che si abbia una internalizzazione del CD3. Il complesso Ag-Ab va nel CD4 e questo determina attivazione del CD4 con rilascio di citochine responsabili di effetti indesiderati anche gravi. Inoltre l'internalizzazione per motivi non noti, determina una redistribuzione dei linfociti che praticamente tentano di lasciare il circolo distribuendosi a livello del polmone. Essendo di tipo murino possono dare luogo ad una reazione Ag-Ab più o meno grave. Infine la lisi cellulare è un effetto indesiderato, è un linfocita che si lisa e rilascia una serie di sostanze.

A differenza di quelli murini, quelli umanizzati sono privi degli effetti indesiderati. L'Ab umanizzato si lega al CD3, ma non c'è internalizzazione, non c'è attivazione e quindi lisi e il grosso degli effetti indesiderati viene eliminato e l'emivita viene allungata rispetto agli Ab di tipo murino. Le reazioni allergiche sono sempre presenti, rimanda il rigetto alla sospensione della terapia e il rischio di infezioni e neoplasie.

Vengono usati nel rigetto acuto di trapianto renale.

3) Ab anti CD25 (chimerici)

Nascono già come chimerici. Sono Ab diretti contro il complesso di differenziazione del CD25 che non è altro che il recettore a bassa affinità di IL-2. Il meccanismo di questi Ab non è chiaro. Dovremmo bloccare interazione con IL-2. Questo non è l'unico meccanismo, c'è ne sono altri. Fatto sta che si ha un blocco di linfociti T e quindi qui avremo blocco della replicazione dei linfociti T. Gli effetti indesiderati sono reazioni di ipersensibilità (minor importanza rispetto ai murini) e gli usi sono la profilassi di rigetto acuto di trapianto e sono usati appunto per questo impiego.

AB ANTIMIOCITI (POLICLONALI)

Sono Ab che si ottengono dai conigli. Si iniettano al coniglio e dopo si ottengono vari tipi di gamma-globuline. Questi Ab si producono su tanti Ag, CD2, CD3, CD4, cioè una serie di Ag sul linfocita e questo da importante effetto citotossico.

Effetti indesiderati sono quelli degli Ab non umanizzati, a parte una ridotta emivita per la formazione di Ab, abbiamo gravi reazioni da ipersensibilità, infezioni e neoplasie oltre al rilascio di citochine ecc. Gli usi terapeutici sono il trattamento di impianti, immunosoppressione. I meccanismi sono sempre gli stessi però cambiano gli effetti indesiderati.

IMMUNOSOPPRESSORI CITOTOSSICI

Azatioprina

È un derivato della mercaptonuria e agiscono indiscriminatamente su tutte le cellule dell'organismo e non distinguono da linfociti e altre cellule (caratteristica dei farmaci anti tumorali). Sono pro farmaci e il metabolismo avviene a livello del fegato oppure nelle cellule neoplastiche o normali, si formano vari metaboliti che vanno a determinare un effetto citotossico. Nel caso della azatioprina inibisce sintesi delle Ig e dall'altro questi metaboliti inibiscono sintesi del'RNA e DNA (e anche inibizione de novo della sintesi delle purine) e quindi l'effetto che si ottiene è quello che le cellule innescano il meccanismo dell'apoptosi e quindi vanno incontro a morte.

Più un tessuto è proliferante e più questi farmaci sono attivi.

Effetti utili

- prevenzione rigetto trapianto
- artrite reumatoide
- dermatomiosite
- anemia emolitica AI
- colite ulcerativa e m. di Crohn

Il prezzo da pagare però è elevato. C'è rischio di epatotossicità anche se ce ne sono più o meno tossici con leucopenia. I più comuni effetti tossici comprendono:

- trombocitopenia
- epatotossicità
- disturbi GI
- alopecia

- pancreatite
- rischio infezioni
- anemia

Interagisce con allopurinolo (anti gottoso).

Ciclofosfanide

È uno dei più efficienti immunosoppressori esistenti. Mediante la produzione di metaboliti attivi determina alchilazione della guanina e quindi depurinazione del DNA, alterazione del codice genetico, legame guanina-guanina e quindi alterazione del DNA con apoptosi. Distrugge quindi le cellule linfatiche in proliferazione. Questo farmaco può essere usato in varie condizioni, nei processi immunitari, nella prevenzione del rigetto da trapianto di midollo, vasculiti, fibrosi polmonare, glomerulo nefriti. Gli effetti tossici comprendono la depressione midollare, rischio di infezioni, alopecia, sterilità, rischio di neoplasie, disturbi gastrointestinali.

Metotressato

Il Metotressato è un antitumorale antimetabolita, svolge la sua azione come falso substrato della diidrofolicolo reductasi umana, che riduce l'acido folico (analogo del metotressato). Questo comporta l'arresto della timidilato sintetasi, enzima che utilizza l'acido folico come cofattore per la sintesi dei nucleotidi purinici e quindi del DNA.

È utilizzato anche come immunosoppressore e viene utilizzato anche per la psoriasi. Sono usati a dosaggi più bassi. Si comporta come altri farmaci, ha un carrier e viene trasportato nelle cellula. Viene somministrato per endovenosa o per via orale, escreto con le urine, non va incontro a metabolismo. A parte gli effetti comuni con altri citotossici il metotressato ha anche effetti suoi specifici in particolare può dare polmonite interstiziale, nefrotossicità, cirrosi epatica (terapia a lungo termine con basse dosi, ed psoriasi). Basse dosi e lunghi periodi di tempo (pericolo di cirrosi epatica).

FTY-720

Farmaco nuovo, meccanismo d'azione diverso dagli altro. Sappiamo che i linfociti T girano nel corpo entrando nei linfonodi, milza, placche del Peyer ecc. C'è un mediatore che è la sfingosina 1-fosfato che ha una serie di importanti effetti dell'organismo e regola una serie di funzioni tra le quali va a legarsi su specifici recettori sulla membrana dei linfociti per cui in presenza di questa sostanza di tipo 1 fa sì che i linfociti nel loro girovagare non rimangano intrappolati negli organi. Se manca sfingosina-1-fosfato o i recettori si bloccano

in assenza del segnale i linfociti si bloccano negli organi linfoidei. Quindi serve questo sistema per far girare i linfociti. FTY è un profarmaco che si trasforma in (S)-FTY720-P e agisce di per se come un agonista-antagonista e determina internalizzazione del recettore stesso (down regulation) per cui la sfingosina monofosfato non trova più il suo recettore e resta bloccato negli organi linfoidei. Se sospendiamo il farmaco i linfociti intrappolati ritornano in circolo. È un farmaco ancora in sperimentazione (farmaco in fase III di sviluppo clinico anche per per il trattamento della sclerosi multipla recidivante-remittente).

IMMUNOSOPPRESSORI (GLUCOCORTICOIDI)

Generalità

I glucocorticoidi sono una classe di ormoni prodotti dalla surrenale e sono i primi ormoni ai quali è stata riconosciuta un'azione linfoide litica. La somministrazione di un glucocorticoide (prednisone, desametasone) determina una riduzione del numero e delle dimensioni delle cellule linfoidee presenti nei linfonodi e nella milza, sebbene sia priva di effetti tossici sulle cellule staminali della serie mieloide o eritrocitaria in proliferazione nel midollo osseo.

I glucocorticoidi, sono dei farmaci affascinanti e misteriosi e nonostante siano usati da molto tempo molti loro aspetti non si conoscono ancora bene e man man che passa il tempo si scoprono cose nuove. La loro particolarità è che sono sostanze endogene come i glucocorticoidi che intervengono negli stati di stress fisico. Questi ormoni mettono in moto una serie di eventi complessi che fanno fronte a questa situazione di pericolo. Tra questi eventi ci sono effetti sul:

- metabolismo
- SNC
- equilibrio idro-elettrolitico
- sistema cardiovascolare
- effetti antiinfiammatori
- effetti immunosoppressivi

I G. hanno quindi effetti antiinfiammatori e immunosoppressori, ma anche altri effetti. Tutti gli effetti sono mediati da un unico recettore e quindi è difficile riuscire ad ottenere un effetto su uno di questi sistemi senza influenzare gli altri e questo nella pratica clinica vuol dire che per ottenere un effetto se ne ottengono anche altri indesiderati importanti. Altra cosa è che disponiamo di G. di sintesi che si comportano come il cortisolo, non ci sono differenze. I G. di sintesi hanno anche effetto di stimolazione dei recettori dell'aldosterone

che comporta ritenzione idrica per aumentato del riassorbimento di Na⁺ e questo effetto può essere sfruttato in terapia. Oppure possiamo somministrare G. che non hanno effetto sul recettore dell'aldosterone. L'effetto sul recettore dell'aldosterone non ci sorprende: il cortisolo ha di per sé azione stimolante sul recettore dell'aldosterone. Il cortisolo ha una concentrazione che è 100 volte più elevata dell'aldosterone. A livello renale vicino recettore dell'aldosterone esiste la 11 β idrossi steroido deidrogenasi converte il cortisolo in cortisone che a differenza del primo non ha capacità di stimolare il recettore dell'aldosterone. L'enzima quindi protegge dagli effetti dell'aldosterone. Farmaci che stimolano il recettore dell'aldosterone provocano ipertensione (agendo sul recettore). L'acido glicirizico della liquirizia inibisce l'enzima e quindi favorisce l'ipertensione.

Effetti farmacologici e meccanismi coinvolti

I principali effetti farmacologici dei G. sono le seguenti:

- **inibizione della fase vascolare dell'infiammazione:** a differenza dei FANS che inibiscono solamente la cicloossigenasi e quindi solamente alcuni aspetti della flogosi e quindi produzione di PGE). I glucocorticoidi invece inibiscono a 360°.
- **inibizione fase cellulare dell'infiammazione**
- **inibizione della risposta immunitaria cellula ed umorale.**

Le cellule bersaglio dei G. sono numerosi

- **macrofagi e monociti:** i G. qui determinano inibizione della PLA2, inibizione sintesi di citochine (IL, TNF), stimolazione sintesi proteine per attivazione fagocitosi dei granulociti. Una volta che è cessato lo stimolo infiammatorio il granulocita attivato va incontro a morte in quanto non serve più. Se l'apoptosi e quindi la necrosi avvenisse nel tessuto infiammato chiaramente l'infiammazione non finirebbe più per la liberazione di sostanze pro infiammatorie. Pertanto i granulociti vanno a morire nei macrofagi e come fanno a sapere che devono esser fagocitati? Avviene tramite espressione di una serie di proteine per cui i granulociti si attaccano ai macrofagi e vengono fagocitati in modo che il tessuto sia protetto.
- **cellule endoteliali:** inibizione diretta o indiretta della produzione delle molecole di adesione (ELAM-1 e ICAM-1) importanti per la fagocitosi. A livello degli eosinofili e linfociti abbiamo un effetto che non si osserva negli altri tipi cellulari. Inoltre abbiamo inibizione sintesi di sostanze anti apoptotiche o stimolazione sostanze proapoptotiche.
- **basofili e monociti:** inibizione della PLA2 e del rilascio di istamina
- **eosinofili:** induzione apoptosi per stimolazione fattori pro apoptotici

- **fibroblasti**: inibizione della PLA2 e inibizione della proliferazione. Questo predispone all'ulcera peptica e rallenta guarigione delle ferite.
- **linfociti**: induzione apoptosi e inibizione sintesi citochine
- **granulociti neutrofili**: inibizione PLA2
- **miociti bronchiali**: inducono aumento dell'espressione recettori di tipo β 2 e questo rappresenta un meccanismo di potenziamento dell'effetto dei farmaci più usati broncodilatatori come β -2 adrenergici. La stimolazione di questi recettori influisce sull'azione dei G.
- **cellule epiteliali bronchiali**: sono forse le cellule più importanti per la patogenesi dell'asma bronchiale. Qui i G. inibiscono IL-8, GM-CSF, PLA2 COX2, ET-1, INOS. Un enzima importante è la iNOS: enzima nitrossido sintetasi. L'NO è un gas che è una sostanza che ha ruolo chiave nella patogenesi dell'asma bronchiale. Il nitrossido viene sintetizzato dall'enzima ubiquitario NO sintasi (NOS). Esso si localizza costitutivamente nelle cellule endoteliali (isoforma eNOS, citosolica e di membrana), piastrine, cellule del sistema nervoso (isoforma nNOS, solo citosolica), ed è inducibile (isoforma iNOS) nei macrofagi, leucociti polimorfonucleati e altre cellule immunocompetenti, essendo la sua espressione stimolata da endotossine e citochine. Le varie isoforme differiscono per quanto riguarda la necessità di cofattori (NADPH, BH4 - tetraidrobiopterina -, FAD FMN) e la modulabilità per mezzo del complesso Ca⁺⁺/calmodulina. Le NO sintasi sono delle emoproteine che fanno parte della famiglia del citocromo P-450. Esse catalizzano l'ossidazione di L-arginina a NO e citrullina in un processo dipendente da NADPH e ossigeno. Sono presenti nell'organismo in tre isoforme strutturalmente correlate, malgrado le differenze nella loro dipendenza dal Ca⁺⁺. iNOS inoltre è stimolato da citochine proinfiammatorie.

L'NO possiede diversi effetti importanti:

- vasodilatazione
- essudazione con formazione di muco
- fa sì che la risposta immunitaria durante la flogosi si sposti verso la proliferazione di Th2, i quali producono IL4-5 i quali sono dei fattori che attivano e richiamano eosinofili nel tessuto infiammato determinando il quadro caratteristico dell'asma bronchiale. nell'iNOS i sta per inducibile. Poi c'è la forma costitutiva che è stabilmente attiva nelle cellule. I G. nella cellula bronchiale inibiscono la produzione di iNOS e quindi la cascata di eventi;
- agisce come un importante messaggero intra- ed inter-cellulare regolando numerosissime funzioni, in primis quella dell'endotelio vascolare;

- a livello del SNC il NO viene considerato un neurotrasmettitore non convenzionale perché essendo un gas non viene raccolto in vescicole e secreto, ma diffonde liberamente in base al gradiente di concentrazione, perciò la sua azione dipende da quanto ne viene prodotto nell'unità di tempo, dallo stato dei recettori e dall'efficienza dei sistemi di degradazione.

Le azioni del NO a vari livelli in numerosi organi e sistemi (vasi, cuore, polmoni, reni, pancreas, intestino, sistema immunitario, SNC) fanno sì che il suo eccesso possa rivelarsi estremamente dannoso. Per questo la regolazione dell'attività delle NOS è molto fine ed avviene ad opera del NO stesso e di numerosi altri fattori.

Meccanismi molecolari d'azione dei glucocorticoidi

Ci sono 3 tipi di meccanismi principali:

- aumento o diminuzione della sintesi proteica (trans-stimolazione)
- inibizione diretta della sintesi proteica (inibizione diretta nel nucleo di geni responsabili di produzione di mRNA)
- inibizione indiretta della sintesi proteica. Indiretta vuol dire che i glucocorticoidi riducono la sintesi di proteine in quanto riducono con una serie di azioni gli effetti di una serie di fattori di trascrizione che attivano a loro volta le proteine (trans-espresse).

a) Meccanismo di stimolazione della sintesi proteica

la maggior parte degli effetti conosciuti dei G è mediata da specifici recettori ampiamente diffusi, che si trovano soprattutto a livello del citoplasma. I recettori si trovano sotto forma di complessi cioè di un trimero, complessati con due "heat shock proteins". Quindi il recettore quando non è stimolato si trova legato a 2 heat shock proteins HSP70 e HSP90. Quando l'ormone in forma libera passa dal plasma e tessuti nella cellula e si lega al recettore, si hanno delle modificazioni conformazionali e il legame substrato-recettore porta alla dissociazione del legame con le Hsp. Il complesso ligando-recettore viene quindi attivamente trasportato nel nucleo, dove interagisce con il DNA e le proteine nucleari. Nello specifico il complesso si lega a livello di specifiche sequenze geniche che prendono il nome di GRE (responsive elements) con la conseguente attivazione di una serie di geni e la produzione di specifici mRNA che a loro volta codificano una serie di proteine. Alcune proteine stimulate in questo modo sono:

- lipocortina
- proteine coinvolte nell'apoptosi dei granulociti

- recettori β adrenergici
- RNAsi (enzimi litici). La produzione di questi enzimi serve per inibire la sintesi indiretta di alcune proteine distruggendo i corrispondenti mRNA formati.

b) Meccanismo di inibizione diretta della sintesi proteica

La prima parte dello schema è lo stesso e si ha stimolazione dei GRE fa in modo che si abbia inibizione della sintesi proteica. Questo meccanismo interessa poche proteine, come la propriomelanocortina che si trova nell'ipofisi e contribuisce alla sintesi di ACTH. I glucocorticoidi quindi bloccano la sintesi di propriomelanocortina e questo spiega il sistema di feedback con inibizione dell'ACTH.

c) Meccanismo indiretto della sintesi proteica

Consiste nell'antagonizzare gli effetti di due proteine:

- AP-1
- NF κ B

Sono importanti durante la flogosi in quanto regolano la sintesi di una serie di citochine che sono responsabili di effetti importanti. Il fattore NF κ B ha azione anti-apoptotica che è deleteria in alcune situazioni (vedi mieloma multiplo dove FKB ha effetto protettivo e blocca l'apoptosi). La sintesi dei fattori di trascrizione è stimolata da alcune citochine pro-infiammatorie (come citochine e iNOS).

L'antagonismo con **AP1** e **NF κ B** avviene in diversi modi. Una prima possibilità è che a AP1 e NF κ B venga impedito di entrare nel nucleo e quindi il loro legame a determinate sequenze. Altra possibilità è che questo antagonismo avvenga a livello del nucleo dove può succedere che in alcune cellule i siti di legame per DNA di AP1 e NF κ B siano vicini a quelli degli steroidi e si crea ingombro sterico con impedimento all'accesso da parte di questi fattori di trascrizione nei loro siti a livello genico. Terza possibilità è che si abbia un effetto a livello di fattori co-regolatori, che sono importanti per l'attivazione dei fenomeni di trascrizione genica.

Il DNA è avvolto intorno agli istoni e fin quando rimane avvolto e spiralizzato non è possibile trascrivere in quanto è negato l'accesso e affinché avvenga la trascrizione è necessario che il DNA sia srotolato, e affinché avvenga questo c'è bisogno di una deacetilazione che avviene ad opera della istone-acetil-transferasi che acetila l'istone e questo determina riduzione della condensazione del DNA in modo tale che possa essere trascritto. I fattori hanno una attività di questo tipo cioè di tipo acetil transferasi. Questa è controbilanciata da un lato dall'enzima che ha effetto opposto. I G. hanno diverso effetto a

seconda che stimolino la sintesi proteica inducendo aumento della istone deacetilasi. Nelle cellula dove inibiscono la sintesi proteica i G. invece deacetilano l'istone.

Riassunto: l'istone è complessato al DNA e affinché il fattore di trascrizione possa funzionare l'istone deve essere separato dal DNA che avviene mediante deacetilazione e questo fa sì che DNA si stacchi dall'istone e in questo modo risulti accessibile ai fattori di trascrizione. C'è un altro enzima cioè deacetilasi che si comporta al contrario della deacetilasi cioè deacetila l'istone e quindi riavvolge il DNA e permette il legame istone-DNA:

- se prevale deacetilazione prevale impossibilità trascrizione
- se prevale acetilazione prevale accesso fattori al sito del DNA.

I G. quindi in alcuni casi quindi stimolano la sintesi delle proteine e in altri casi inibiscono.

Altro fattore di trascrizione importante è il **CREB** il quale viene attivato a livello dei miociti bronchiali nel momento in cui i farmaci broncodilatatori vanno a stimolare l'adenilato ciclasi a formare AMP ciclico ecc. Una conseguenza della stimolazione dei recettori β -2 adrenergici è l'aumento del CREB. Questo è importante e ci spiega l'interazione positiva tra β -2 adrenergici e G. con potenziamento dei β -2 adrenergici e riduzione del fenomeno della tolleranza. Soggetti che abusano di β 2 adrenergici possono portare resistenza ai glucocorticoidi. Quindi se CREB aumenta in maniera importante per lunghi periodi di tempo, avremo resistenza ai glucocorticoidi con conseguenze gravi dal punto di vista clinico e questo comporta che si viene a creare un circolo vizioso e i pz non rispondono più alla terapia. Bisogna stare quindi attenti che i pz non abusino di farmaci β 2 adrenergici.

Farmacocinetica

Esistono diversi tipi di G.

- ad azione mineralcorticoide
- ad azione esclusivamente antinfiammatoria

Possono essere somministrati in tutti i modi, dalle pomate, all'aerosol, ev, ecc.

Molti sono metabolizzati nel fegato, alcuni possono inibire il CYP3A4.

L'azione del glucocorticoide può essere breve, media e lunga. Quelli ad effetto mineralcorticoide non si usano se non si induce ipertensione ma in alcuni casi sono utili come per esempio negli stress fisici con gravi perdite ematiche per ripristinare flusso sanguigno oppure nella terapia sostitutiva in soggetti senza surreni.

I metaboliti principalmente glucuronidi o solfati si ritrovano nelle urine.

Effetti indesiderati

Sono assenti in caso di somministrazione acuta, non c'è tossicità acuta. I problemi grossi compaiono se pz deve essere trattato cronicamente, come nella terapia sistemica di questi farmaci.

Effetti da sospensione brusca della terapia

Frequente ricomparsa della malattia di base ed insufficienza surrenalica acuta (sospensione brusca). I G. sembrano miracolosi (agiscono sulle manifestazioni della malattia tipicamente e non eliminano la noxa patogena che resta dov'è). Se trattiamo questo pz e la malattia scompare ma la noxa rimane, il pz sospende la terapia e questo è un grosso problema. Nel momento in cui si decide di metter il pz in terapia cronica con i glucocorticoidi la prima cosa che si dice al pz che non deve MAI sospendere la terapia senza avvisare il medico in quanto il pz può andare verso l'insufficienza surrenalica acuta. Quando somministriamo glucocorticoidi dall'esterno esso si comporta come il cortisolo e si comporta nello stesso modo sull'ipofisi; dovendo somministrare dosaggi elevati avremo un effetto di inibizione sulla sintesi di ACTH il quale non ha sol funzione di regolare la sintesi del cortisone ma l'ACTH è importante per il mantenimento del trofismo della corticale del surrene e se manca il surrene si va incontro ad ipotrofia o atrofia direttamente proporzionale alla durata del deficit di ACTH. Quindi nella terapia cronica abbiamo ipotrofia del surrene, fatto comunque reversibile ma se il pz smette improvvisamente la terapia va incontro a un grave insufficienza surrenalica potenzialmente letale. Pertanto bisogna sospendere la terapia in modo graduale, a seconda della durata del trattamento ecc.

Effetti in corso di terapia

- ipertensione arteriosa
- disturbi equilibrio idroelettrico
- astenia
- osteoporosi
- disturbi comportamento
- **iperglicemia** (primo effetto descritto dei G. è la iperglicemia in quanto i tessuti periferici come mm, adipe ecc non rispondono all'insulina cioè non sono in grado di usare il glucosio per usarlo a fini energetici. Il G. quindi intervengono in uno stato di stress fisico, come cuore, mm a scapito di tessuti in cui non è essenziale il glucosio, preferendo l'incanalamento verso i mm per esempio, SNC. Il problema è che a questo effetto seguono altri che inducono altri effetti indesiderati: no potendo usare quindi

glucosio si crea uno stato di degradazione proteica per cui le masse muscolari diventano meno importanti);

- **ritardo crescita nei bambini:** devono essere usati con cautela sia per gli affetti sulle ossa e anche per antagonizzano il GH.
- **predisposizione a infezioni e neoplasie:** essendo immunosoppressori e quindi sono controindicati nelle malattie infettive. Ci sono però dei casi in cui questi F vengono usati anche in caso di malattie infettive. Il caso più eclatante è dato dalla somministrazione di glucocorticoidi in pz con polmoniti da pneumocistis (trattata con il bactrim) e AIDS. Il bactrim ha effetto litico sul Pneumocystis Carinii. Una lisi massiva di questi patogeni causa liberazione di sostanze proinfiammatorie e quindi il pz corre il pericolo di insufficienza respiratoria acuta e per evitare questo si somministra il bactrim per evitare gli effetti pro-infiammatori. Altro esempio è dato dalla meningite da Haemophilus Influenzae: quindi in tutti questi casi in cui c'è una componente infiammatoria che induce sequele gravi nel pz e in tutti questi casi i G. per brevi periodi devono essere usati.

I G. sono anche antitumorali come nei linfomi dove sono importanti in quanto a livello dei linfociti inducono apoptosi.

Altri effetti:

- ipertensione arteriosa: dovuta a vari meccanismi. I G. per effetto sui recettori dell'aldosterone con azione Na ritentiva. Anche i G. privi di azione mineralcorticoidi inducono aumento riassorbimento Na e quindi H₂O. forse il meccanismo più importante è la vasocostrizione per potenziamento effetto catecolamine. Un terzo meccanismo è sconosciuto ancora e in via di studio.

Effetto sulla crasi ematica

- calo linfociti
- calo eosinofili
- calo monociti e basofili
- aumento di PMN (distinguere discorso tissutale e circolatorio. Quindi aumentano i granulociti) e globuli rossi (solo apparente)

Un effetto importante si ripercuote sul metabolismo del calcio. Possiamo avere osteoporosi, i meccanismi non sono completamente chiari. Succede che i G. hanno doppio effetto:

- a livello intestinale: riduzione assorbimento del Ca²⁺

- a livello renale aumento escrezione del Ca^{2+}

Abbiamo quindi riduzione della calcemia, con aumento del PTH, aumento attività degli osteoclasti con predisposizione a fratture, soprattutto vertebre. Si può limitare questo effetto somministrando Ca e vit.D. Nei bambini questo problema si esplica sull'allungamento dell'osso.

Altro effetto indesiderato dei glucocorticoidi è la redistribuzione del grasso corporeo con accumulo:

- parte superiore del dorso
- addome
- faces a luna piena
- magrezza degli arti superiori e inferiori

Si riduce negli arti superiori e inferiori. La cute si assottiglia. La redistribuzione si pensa sia dovuta al fatto che in questi soggetti c'è iperglicemia e quindi iperinsulinemia. L'insulina ha effetto di deposito di grasso. In questi pz c'è un potenziamento dell'effetto delle catecolammine (mobilizzazione dei grassi e quindi effetto opposto). Quindi abbiamo due stimoli con insulina e catecolammine e quindi ci sono dei tessuti più sensibili all'insulina e in questi il grasso tende ad accumularsi e poi ci sono tessuti più sensibili alle catecolammine come arti sup e inf.

Altro effetto che può essere particolarmente grave è l'astenia, che si ritrova in circa il 50% dei pz in trattamento con G.. Ha patogenesi complessa e ancora da chiarire. I G. inducono una miopatia steroidea indotta in modo diretto a livello di mm scheletrici. Ci sono poi altri problemi come riduzione del glucosio, ipokaliemia.

Nei casi più gravi si sospende la terapia.

Altri effetti importanti sono a carico del SNC. Possono essere diretti ed indiretti:

- indiretti: variazioni ioniche, iperglicemia,
- diretti: nel SNC si pensa esistano dei recettori di membrana e non più intracellulari ma recettori esterni. Questi recettori risponderebbero a dei particolari G. prodotti localmente a livello del SNC. Questi G. locali a livello del SNC si comportano come neurotrasmettitori. Queste molecole passano la BBB e danno luogo ad effetti diretti cioè effetti di eccitazione del SNC oppure con inibizione. I primi sono più frequenti con pz euforici, giovali, aumento appetito. Altri effetti sono la depressione e psicosi, da tenere presente.

Altri effetti sono il glaucoma, cataratta, osteonecrosi (diverso dall'osteoprosi e colpisce ossa lunghe e consiste in una necrosi asettica delle ossa lunghe).

Principali usi terapeutici

a) Terapia sostitutiva:

- insufficienza surrenalica acuta e cronica

b) Terapia antinfiammatoria e/o su base immunitaria

- malattie reumatiche renali
- allergie, asma bronchiale
- malattie infettive
- trapianti d'organo
- malattie cutanee

c) Neoplasie

- linfoma di Hodgkin
- leucemia linfatica cronica
- riduzione edema dei tumori nel snc, mediastino superiore, midollo spinale

d) Altro: terapia del vomito ad antineopaltici

Resistenza ai glucocorticoidi

Si tratta di un problema importante con questi farmaci è l'insorgenza di resistenza:

- si manifesta in malattie infiammatorie croniche come morbo di Crohn, colite ulcerosa
- riguarda solamente gli effetti antinfiammatorie dei G.
- raramente è assoluta, più spesso relativa, cioè i pz rispondono in misura molto minore rispetto ad un pz sensibile. Un pz è resistente quando dopo terapia cronica per asma non si osserva miglioramento di almeno 15% del suo stato infiammatorio.
- Ha implicazioni cliniche
- Meccanismi non ancora chiari.

Meccanismi di resistenza

Sono 3:

- alterazioni quantitative e qualitative dei recettori
- alterazione del legame tra G. e recettore a livello del nucleo (tipico del Crohn)

- capacità di antagonizzare geni infiammatori.

Le alterazioni quantitative stanno ad indicare che si ha una down regulation dei recettori. In caso di alterazione qualitativa possiamo avere due isoforme: α che è attiva al quale si lega il G. dando gli effetti descritti e poi c'è la isoforma β che è una isoforma inattiva cioè alla quale si può legare lo steroide ma non lo stimola o inibisce l'attività, quindi è del tutto inattiva.

Da tenere presente che nel Crohn abbiamo aumento della TNF- α . Si cura con G. ma anche Ab monoclonali che antagonizzano l'effetto della citochina. Nel Crohn si ha attivazione sia di AP1 che NF κ B. Inoltre le cellule intestinali hanno costituenti analoghi tra i quali hanno la capacità di ridurre l'attività dei recettori per i G. che sembra legato alla attivazione di una MAP chinasi in particolare una proteina di MAP 38 chinasi con effetti sul recettore per i G. Abbiamo quindi un recettore che funziona male, aumento TNF- α che stimola produzione NF κ B e AP1 e quindi una diminuita risposta glucocorticoide.

La resistenza in caso di asma e BPCO è dovuta al fatto che normalmente il soggetto asmatico risponde con i G. che deattivano la acetilasi inibendo effetti del NF κ B che è in grado di stimolare anche la produzione di TNF- α e IL-8. Nei soggetti con asma severo il fumo da sigaretta produce uno stress ossidativo importante che induce alla fine una resistenza ai G. che ha delle conseguenze gravi.

FARMACI IMMUNOSTIMOLANTI

Generalità

Hanno uso specialistico e per molti i meccanismi di azione sono solamente in parte conosciuti. Sono farmaci che ci permettono di stimolare il sistema immunitario nelle situazioni in cui il SI funziona male e poco. Farmaci importanti sono:

- bacillo di Calmette-Guerin
- IL-2
- interferoni
- talidomide
- Levamisolo.

Bacillo di Calmette-Guerin (BCG)

È usato da tanti anni, è un bacillo costituito da un ceppo vitale di Mycobacterium Bovis che è stato utilizzato per l'immunizzazione contro la TBC. È recente il suo uso nella terapia dei tumori, ma un risultato significativo è stato ottenuto solamente nel trattamento dei

tumori vescicali superficiali (non infiltranti). Se sembra che il BCG agisca, almeno in parte, attraverso un'attivazione dei macrofagi, rendendoli più efficienti nell'uccidere le cellule, di concerto con le cellule linfoidi nell'arco efferente della risposta immunitaria. Parecchi pz guariscono, il meccanismo d'azione è ancora poco conosciuto.

IL-2

Può essere usata in diversi modi:

- somministrata così com'è, ma crea effetti indesiderati, cioè produzione di citochine; altro problema è che ha emivita bassa e i suoi effetti sono fugaci. Sono state fatte delle modifiche: è stata glicosilata e questo ha permesso di ottenere composto con emivita più lunga;
- seconda possibilità: prendere linfociti stimolarli e re-iniettarli. Questo metodo non ha funzionato molto bene.
- terzo metodo che ha funzionato bene è di prendere i linfociti da una massa tumorale che si pensa siano sensibilizzati vero Ag tumorali, metterli in vitro, farli proliferare e re-iniettarli nel pz;
- la quarta possibilità che si usa come veicolo per portare tossine nei linfociti (tossina difterica viene legata all'IL-2 internalizzato e va ad inibire la sintesi proteica).