

Meccanismi di cortico-resistenza nelle patologie respiratorie croniche ostruttive

Maria Ferraro¹
Alessia Verduri²
Elisabetta Pace¹

I corticosteroidi sono i farmaci anti-infiammatori più efficaci e ampiamente utilizzati per il trattamento di molteplici malattie infiammatorie croniche, tra queste l'asma e la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). Entrambe le patologie sono caratterizzate da un'inflammatione cronica delle vie aeree associata al reclutamento e coinvolgimento di numerose cellule e mediatori infiammatori. La maggior parte dei pazienti con BPCO e circa il 10% dei pazienti asmatici viene definito cortico-resistente: in questa sottoclasse di pazienti elevate dosi di corticosteroidi risultano inefficaci e ciò rappresenta un notevole problema per la gestione clinico-terapeutica del paziente. La conoscenza dei meccanismi molecolari alla base del fenomeno della cortico-resistenza può offrire nuove ipotesi di approccio farmacologico al fine di ottimizzare l'utilizzo dei corticosteroidi e potenziarne la loro efficacia anti-infiammatoria.

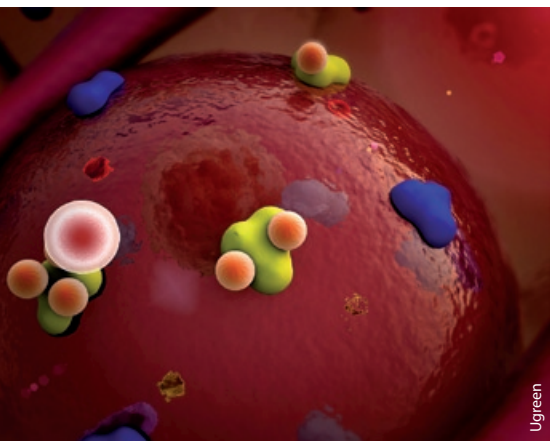
Sia l'asma grave che la BPCO, inoltre, sono caratterizzate da un elevato grado di stress ossidativo. Lo stress ossidativo viene generato da una massiva produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e da una ridotta capacità dell'organismo di bilanciare tale produzione con l'intervento di sostanze ad attività antiossidanti. Ci sono due possibili origini degli ossidanti: esogena o endogena. Fonti esogene di ossidanti sono gli inquinanti ambientali, il fumo di sigaretta, le infezioni (virali, batteriche, fungine, protozoarie). Fonti endogene di ossidanti sono le reazioni metaboliche o infiammatorie¹. Numerosi studi hanno messo in evidenza che lo stress ossidativo ha un ruolo molto importante nell'attivazione di alcuni meccanismi responsabili della cortico-resistenza.

Meccanismo d'azione dei corticosteroidi

I corticosteroidi agiscono legando nel citoplasma il loro recettore (GR). Esistono due isoforme di GR: α e β . L'azione dei corticosteroidi viene mediata da GR α mentre GR β lega il DNA ma non i corticosteroidi, agendo da inibitore dell'azione dei cortico-

¹ Istituto di Biomedicina e Immunologia Molecolare (IBIM), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Palermo

² Policlinico di Modena, Università di Modena e Reggio Emilia, alessia.verduri@unimore.it



Ugreen

steroidi. A seguito del legame col corticosteroide il recettore cambia conformazione, si distacca da una *heat shock protein* 90 e tramite le importine raggiunge il nucleo. Nel nucleo, il complesso corticosteroide-GR lega a livello del promotore una regione GRE (*glucocorticoid response elements*) e attiva o reprime la trascrizione genica. L'attivazione della trascrizione genica avviene tramite il reclutamento di complessi coattivatori CBP (*Creb binding protein*) che hanno un'intrinseca attività acetiltrasferasica, la quale consente di avviare la trascrizione di geni che codificano per proteine ad attività anti-infiammatoria. La principale attività dei corticosteroidi è tuttavia associata alla repressione della trascrizione di geni ad attività pro-infiammatoria che codificano per esempio per citochine, chemochine, molecole d'adesione.

Meccanismi molecolari di cortico-resistenza

Sono diversi i meccanismi identificati associati alla cortico-resistenza, per lo più correlati alla traslocazione del GR o al processo di rimodellamento della cromatina.

Ridotta traslocazione del GR

La presenza di un ambiente infiamma-

torio ricco di citochine, nei pazienti asmatici gravi o BPCO, determina l'attivazione di enzimi chiamati chinasi responsabili della fosforilazione del GR. Tali fosforilazioni possono alterare e impedire la traslocazione nucleare del GR, il suo legame al DNA e quindi la sua attività. Tra le chinasi attivate sono da ricordare: la p38MAPK, la c-Jun kinase ed ERK.

Aumento espressione GR β

Nei pazienti asmatici cortico-resistenti è stato osservato un incremento dell'espressione GR β che agendo come competitore negativo del GR α al legame col GRE impedisce allo steroide di agire tramite il GR α . Esperimenti condotti sui macrofagi alveolari in un gruppo di pazienti asmatici cortico-resistenti, in grado di ridurre l'espressione del GR β , hanno mostrato che tale riduzione è associata a incrementata localizzazione nucleare del GR α e a ripristino della risposta agli steroidi².

Riduzione delle istone deacetilasi (HDAC)

Il processo di rimodellamento della cromatina prevede una serie di modificazioni degli istoni, proteine attorno a cui si avvolge il DNA, formando i cromosomi. Tale processo svolge un ruolo critico nella regolazione dell'espressione genica.

L'acetilazione degli istoni a opera delle proteine HAT (istone acetil trasferasi) è associato all'apertura della cromatina, che diviene più accessibile all'RNA polimerasi e ai TF (fattori di trascrizione), che possono quindi attivare la trascrizione genica.

Dall'altro lato a opera delle HDAC si ha una rimozione dei residui acetili sugli istoni che comporta un ricompattamento della cromatina e repressione della trascrizione genica.

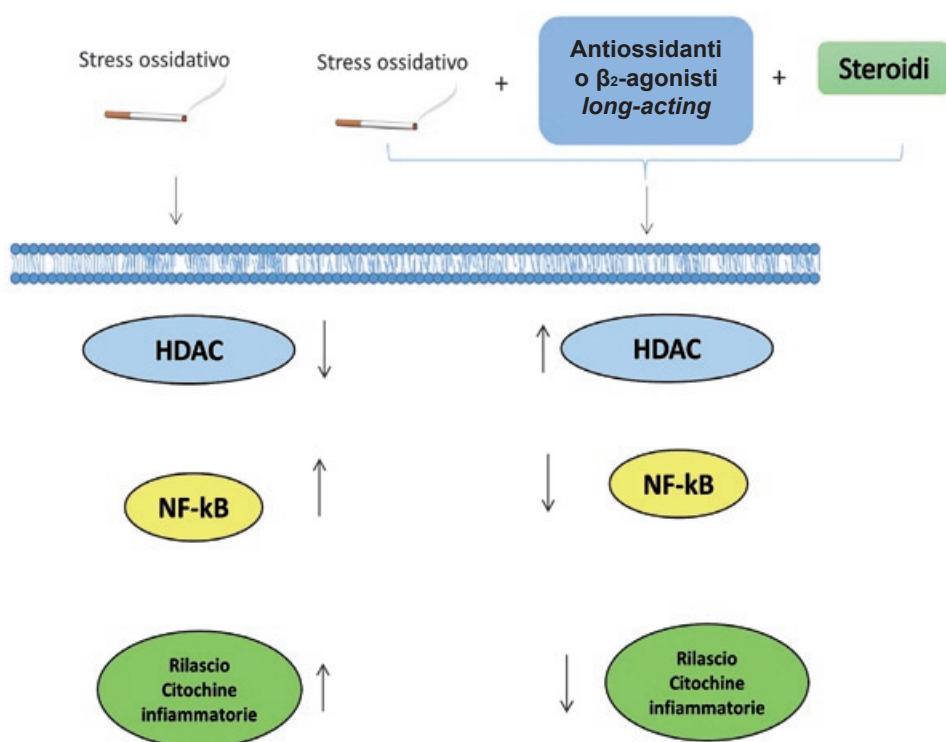


Figura 1. Effetti molecolari dello stress ossidativo e nuove strategie di intervento mediante l'utilizzo di antiossidanti o β_2 -agonisti nelle terapie corticosteroidi.

Uno dei principali meccanismi di repressione degli steroidi prevede il reclutamento di HDAC2 in corrispondenza dei geni ad attività pro-infiammatoria, impedendo così a fattori di trascrizione quali NF-kB di attivare la trascrizione dei geni che codificano per proteine ad azione pro-infiammatoria (Figura 1).

Nei pazienti che rispondono debolmente agli steroidi si ha una riduzione dei livelli di HDAC2 e lo stress ossidativo svolge un ruolo primario nel determinare tale riduzione. A opera dello stress ossidativo si ha l'attivazione della fosoinositide 3-chinasi (PI3K): tale chinasi fosforila HDAC2 e ne avvia la degradazione tramite il proteasoma. Anche lo stress nitrosativo è in grado di determinare delle modifiche, attraverso l'ubi-

quitinazione e inattivazione di HDAC2.

Meccanismi immunitari

È stato osservato nei pazienti asmatici gravi e nei BPCO un incremento del numero delle cellule T helper 17 (Th17), produttrici di interleuchina 17 (IL17), citochina che incrementa l'espressione del $\text{GR}\beta$ nelle cellule epiteliali delle vie aeree, determinando così una più debole risposta agli steroidi.

Nuove strategie terapeutiche

Il futuro del trattamento delle forme cortico-resistenti di asma e BPCO prevede lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche che hanno come obiettivo quello di contrastare i *pathway* correlati alla cortico-resistenza, in modo da ripristinarne la corretta risposta.

Farmaci in grado d'incrementare l'espressione di HDAC2 potrebbero essere nuove potenziali terapie in grado di contrastare alcuni meccanismi associati alla cortico-resistenza indotta dallo stress ossidativo. Diversi studi hanno mostrato l'efficacia nell'utilizzo di molecole come la teofillina, che essendo in grado d'inibire la PI3K può ripristinare l'attività di HDAC2. Altri studi hanno messo in evidenza che l'utilizzo di inibitori specifici verso le chinasi p38MAPK e c-Jun kinase è in grado d'incrementare la sensibilità agli steroidi.

L'aggiunta di β_2 -agonisti inalatori a lunga durata d'azione alla terapia steroidea inalatoria è un altro approccio terapeutico in grado di aumentare l'efficacia dei corticosteroidi. Uno studio recente, condotto su un modello di cellule epiteliali bronchiali sottoposte a stress ossidativo indotto da esposizione a fumo di sigaretta, ha dimostrato che il formoterolo (β_2 -agonista a lunga durata d'azione) è in grado di ridurre lo stress mitocondriale grazie alla sua azione anti-ossidante ed è capace di bloccare alcuni meccanismi associati alla cortico-resistenza, potenziando gli effetti del fluticasone propionato³. La nanomedicina fornisce nuovi potenziali approcci terapeutici per i farmaci inalatori, massimizzandone la loro efficacia d'azione a livello locale, riducendo gli effetti sistemici e la frequenza delle somministrazioni. In uno studio è stato dimostrato che, coniugando il fluticasone propionato con un nuovo sistema nanoparticellare di natura lipidica, si ottiene una formulazione dello steroide più efficace in grado di controllare la risposta allo stress ossidativo, favorendo la risposta antiossidante e limitando la risposta immunitaria innata⁴. La combinazione dello steroide con una molecola antiossidante rappresenta un'altra possibile strategia per

migliorare l'attività dello steroide stesso in presenza di stress ossidativo. Uno studio ha dimostrato che l'utilizzo della carbocisteina combinata allo steroide è efficace nel controllare l'infiammazione e lo stress ossidativo, poiché tale molecola riesce a migliorare la risposta antiossidante e a incrementare i livelli di HDAC2, inibendo alcuni meccanismi associati alla cortico-resistenza⁵.

Conclusioni

I corticosteroidi rimangono i farmaci più efficaci nel controllare l'infiammazione delle vie aeree, ma alcuni pazienti, proprio per l'elevato grado d'infiammazione e stress ossidativo, rispondono poco e male agli steroidi. Da qui l'importanza di approfondire la conoscenza e gli studi relativi ai meccanismi molecolari che determinano la cortico-resistenza, in modo da sviluppare nuovi approcci terapeutici che siano in grado di migliorare l'efficacia di azione dei corticosteroidi, tramite lo sviluppo di nuovi sistemi di *drug delivery* o tramite associazione degli steroidi con β_2 -agonisti o con molecole antiossidanti.

Bibliografia

- 1) AGGARWAL T, WADHWA R, THAPLIYAL N, ET AL. *Oxidative, inflammatory, genetic, and epigenetic biomarkers associated with chronic obstructive pulmonary disorder*. J Cell Physiol 2018. doi: 10.1002/jcp.27181.
- 2) BARNES PJ. *Glucocorticosteroids*. Handb Exp Pharmacol 2017; 237: 93-115.
- 3) FERRARO M, GJOMARKAY M, SIENA L, ET AL. *Formoterol and fluticasone propionate combination improves histone deacetylation and anti-inflammatory activities in bronchial epithelial cells exposed to cigarette smoke*. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2017; 1863: 1718-27.
- 4) BONDI ML, FERRARO M, DI VINCENZO S, ET AL. *Effects in cigarette smoke stimulated bronchial epithelial cells of a corticosteroid entrapped into nanostructured lipid carriers*. J Nanobiotechnology 2014; 12:46.
- 5) PACE E, FERRARO M, DI VINCENZO S, ET AL. *Comparative cytoprotective effects of carbocysteine and fluticasone propionate in cigarette smoke extract-stimulated bronchial epithelial cells*. Cell Stress Chaperones 2013; 18: 733-43.