

I meccanismi di azione dei Corticosteroidi

di Giorgio Bartolozzi

Indirizzo per corrispondenza: bartolozzi@unifi.it

L'inflammation è una conseguenza dell'infezione: gli agenti infettivi che superano le barriere epiteliali della cute e delle mucose attivano direttamente i recettori del complemento e i recettori toll-like, i due componenti principali del sistema immune innato. Il sistema immune innato, insieme al sistema immune adattivo, costituisce un elemento essenziale della difesa dell'individuo nei confronti dell'infezione: esso rappresenta l'unico sistema di difesa nella prima settimana dopo l'inizio dell'aggressione batterica, in attesa che l'immunità adattiva (anticorpi e immunità cellulare specifica) completi la sua formazione. L'attivazione della cascata del complemento e dei recettori toll-like porta alla sintesi e alla liberazione dei mediatori dell'inflammation che hanno un'azione immediata sui capillari e sugli altri piccoli vasi: la vasodilazione localizzata, l'aumentata permeabilità cellulare, la fuoriuscita dai vasi delle proteine plasmatiche e la migrazione dei leucociti nel tessuto colpito dall'infezione, determinano i segni classici dell'inflammation: calor, dolor, rubor, tumor e functio laesa. Inizia così la produzione di nuove citochine infiammatorie che attivano i leucociti, accorsi nel tessuto interessato dall'infezione. I meccanismi omeostatici anti-infiammatori contrastano con questi processi, contemporaneamente all'eliminazione dell'agente infettivo da parte dell'immunità innata e adattiva. L'asse ipotalamo-ipofisi surrene e in particolare i glicocorticoidi sono essenziali nel limitare e annullare il processo infiammatorio (**Rhen T, Cidlowski JA. Anti-inflammatory action of glucocorticoids - New mechanisms for old drugs. N.Engl J Med 2005, 353:1711-23**). I glicocorticoidi, insieme ai mineralocorticoidi, fanno parte dei corticosteroidi: essi costituiscono le due classi di steroidi che vengono sintetizzate fisiologicamente dalla corteccia surrenale. Di norma il corticosurrene sintetizza ogni giorno 10 mg di idrocortisone (cortisolo), di cui la maggior parte nelle ore del mattino o la parte minore nel pomeriggio. Il cortisone, così diffuso in terapia umana, non è sintetizzato dal corticosurrene, cioè esso è un ormone, preparato in periferia a partire dall'idrocortisone. Nei meccanismi fisiologici del nostro organismo i glicocorticoidi occupano un posto di rilievo in quanto si dimostrano essenziali per controbilanciare gli effetti pro-infiammatori di citochine, chemochine e altri, formati in risposta a un attacco infettivo o di altra natura; la loro azione regolatrice viene quindi ad essere analoga a quella di molti altri sistemi, attivanti e inibenti, presenti negli umani: fattori favorevoli la coagulazione e fattori trombolitici, fattori adatti alla digestione endocellulare delle proteine (tripsine) e fattori

antitripsina e così via. Mentre l'inflammation localizzata è per lo più benefica, l'inflammation eccessiva o persistente può portare alla distruzione di tessuto e alla malattia. Insieme ad altri disordini, come l'asma e altre malattie allergiche, le malattie autoimmunitarie e le sepsi, essa è una causa importante di malattia e di morte. I glicocorticoidi sono indicati per la maggior parte di queste affezioni; la loro efficacia nel curare i disordini infiammatori deriva dall'effetto pleiotropico del recettore dei glicocorticoidi su una molteplicità di vie metaboliche. Ma questo effetto molteplice dei glicocorticoidi può determinare, oltre agli effetti favorevoli, anche degli effetti contrari, come il ritardo di crescita nei bambini, l'immunosoppressione, l'ipertensione, l'inibizione della guarigione delle ferite, l'osteoporosi e le alterazioni metaboliche. Tutte queste attività possono alla lunga divenire pericolose per l'organismo, per cui esse complessivamente controindicano l'uso prolungato dei glicocorticoidi. Di seguito verranno presi in considerazione i meccanismi, con i quali i glicocorticoidi inibiscono l'inflammation e insieme la limitazione di questi ormoni in terapia.

AZIONI BASILARI DEI GLICOCORTICOIDI ENDOGENI

L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene gioca un ruolo centrale nel regolare i segnali sui recettori dei glicocorticoidi, presenti praticamente su tutte le cellule. In breve, segnali nervosi, endocrini e citochimici convergono a livello del nucleo periventricolare dell'ipotalamo per controllare la secrezione dell'ormone liberante la corticotropina (ACTH) nel sistema portale ipofisario. Ne consegue che la liberazione dell'ormone liberante la corticotropina porta alla liberazione di ACTH da parte dell'ipofisi anteriore. L'ACTH induce a sua volta la sintesi e la secrezione di idrocortisone (cortisolo) da parte della corteccia surrenale. La maggior parte del cortisolo secreto (circa il 90%) è legato alle globuline, leganti i corticosteroidi, nel sangue circolante. Il cortisolo libero è la parte biologicamente attiva dell'ormone ed è convertito a cortisone dalla 11-β-idrossisteroide-deidrogenasi, tipo 2. Al contrario il tipo 1 di 11-β-idrossisteroide-deidrogenasi converte il cortisone in idrocortisone. Il recettore dei glicocorticoidi è un membro della famiglia delle proteine che legano gli ormoni steroidei. Esso si lega fortemente all'idrocortisone e promuove il distacco dai recettori degli "chaperon" molecolari, incluse le proteine heat-shock.

All'interno della cellula l'idrocortisone agisce in tre modi:

- il complesso recettore-cortisolo muove verso il nucleo, dove si lega, come un omodimero (un complesso di due proteine identiche, legate da un ponte non covalente), alle sequenze del DNA, chiamate elementi glucocorticoidi-rispondenti. Il risultante complesso agisce come attivato-

re o repressore di proteine che iniziano la trascrizione di alcuni geni da parte della RNA polimerasi II.

- la stimolazione di altri geni riguarda l'interazione fra il complesso recettore-cortisolo e altri fattori di trascrizione, come il fattore-kB. Questa ultima azione avviene a bassi livelli di cortisolo.
- il terzo meccanismo interessa i recettori, presenti sulla membrana cellulare e un secondo messaggero, chiamato "via non genomica", perché agisce attraverso la stimolazione di parti, non corrispondenti a componenti nucleari.

I glicocorticoidi quindi inibiscono l'infiammazione attraverso questi 3 meccanismi, di cui due legati a effetti diretti e indiretti su alcuni geni, presenti nel nucleo della cellula, e uno dovuto a un effetto non legato ai geni (non genomico) (vedi figura 1 e figura 2).

STRUTTURA DEL RECETTORE DEI GLICOCORTICOIDI

Il gene del recettore umano dei glicocorticoidi (GR) è un locus del cromosoma 5q31-32 (figura 3). Le variazioni nella struttura e nella espressione di questo gene portano a modificazioni nel segnale dei glicocorticoidi, per cui modificazioni nei diversi componenti di questo gene portano a dirette conseguenze sull'attività dei glicocorticoidi.

REGOLAZIONE NEUROENDOCRINA DELL'INFIAMMAZIONE

L'interazione fra sistema nervoso, asse ipotalamo-ipofisi-surrene e componenti del sistema immune innato e adattivo, gioca un ruolo chiave nella regolazione dell'infiammazione e

della immunità. Per esempio le citochine e i mediatori dell'infiammazione attivano i recettori periferici del dolore, i cui assoni attraverso le corna dorsali del midollo e le sinapsi con il tratto lemniscale, portano il segnale del dolore al talamo e alla corteccia somato-sensitiva. L'attivazione di questa via nocicettiva stimola infine l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. I glicocorticoidi, che vengono così sintetizzati, inibiscono a loro volta la sintesi di citochine e di mediatori dell'infiammazione, venendo così a formare un'ansa feedback negativa. Le citochine possono agire anche sul cervello, attivando direttamente l'asse diencefalo-ipofisi-surrene. Una cattiva regolazione di questa ansa neuroendocrina determina modificazioni generali nell'infiammazione e nell'immunità. L'iperattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in assenza d'infiammazione, come avviene nella sindrome di Cushing, determina immunosoppressione e aumenta quindi la suscettibilità alle infezioni. Il dolore fisico, il trauma emotivo e la restrizione calorica attivano l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e causano immunosoppressione. Anche la diminuzione dell'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e bassi livelli di glicocorticoidi aumentano la suscettibilità alle infezioni e la gravità stessa dell'infiammazione. I pazienti con malattia di Addison, per esempio, necessitano della somministrazione di glicocorticoidi durante le infezioni e l'infiammazione per prevenire l'effetto dannoso delle citochine. La cattiva regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene da parte dell'infiammazione si associa a una cattiva prognosi in pazienti con sindrome da difficoltà respiratoria acuta. Analogamente la resistenza acquisita ai corticosteroidi è un evento comune nei pazienti con artrite reumatoide cronica per una diminuita espressione del recettore α dei glicocorticoidi, per un'aumentata espressione del recettore α o per inattivazione della chinasi proteica attivata dai fitogeni (MAPK), che fosforilizza il recettore dei glicocorticoidi e inibisce quindi la capacità segnalante di questi ormoni.

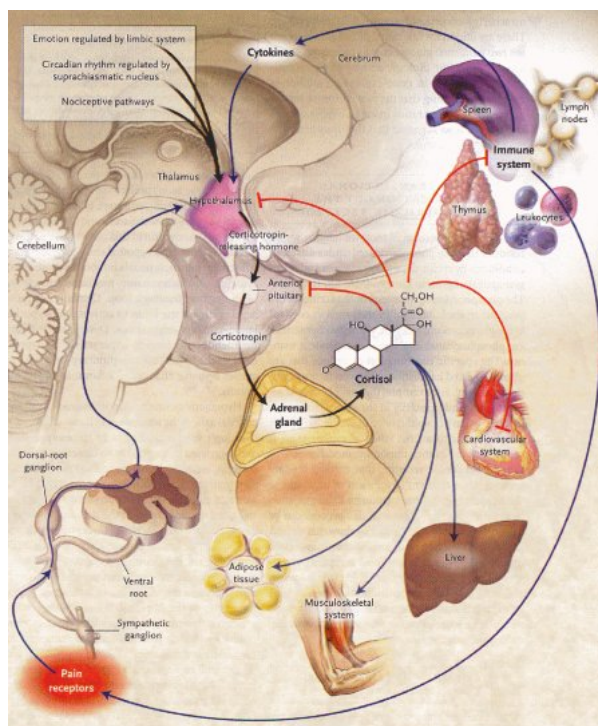


Figura 1 – Vie di comunicazione fra il sistema nervoso, l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e altri tessuti, influenzati dai segnali dei corticosteroidi. (fonte: Rhen T, Cidlowski JA. N.Engl J Med 2005, 353:1711-23)

Le frecce rosse dimostrano inibizione e le frecce blu o nere indicano attivazione.

MECCANISMI ANTIINFIAMMATORI DI SEGNALAZIONE

I glicocorticoidi e i loro recettori sono situati all'apice di una rete regolatoria che blocca molte vie infiammatorie (ve-

di figura 4). Per esempio i glicocorticoidi possono inibire la produzione di prostaglandine attraverso tre meccanismi indipendenti:

- induzione e attivazione dell'annexina 1
- induzione della fosfatasi 1 MAPK
- repressione della trascrizione della cicloossigenasi 2.

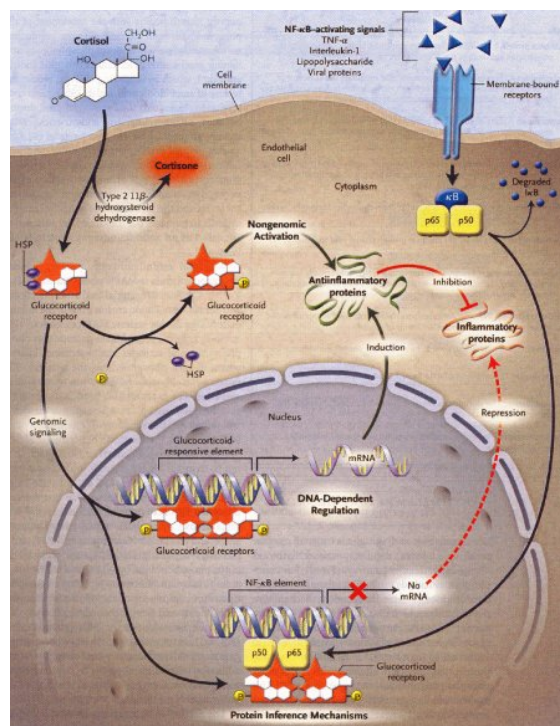


Figura 2 – I tre principali meccanismi di azione dei glicocorticoidi e dei suoi recettori nell'inibizione dell'infiammazione. (fonte: Rhen T, Cidlowski JA. N.Engl J Med 2005, 353:1711-23)

TNF- α = tumor necrosis factor α HSP = heat-shock protein
mRNA = RNA messaggero P = fosfati Le frecce nere indicano attivazione, le frecce rosse invece inibizione, il segno X in-

dica mancanza di produzione (blocco), cioè non produzione di mRNA.

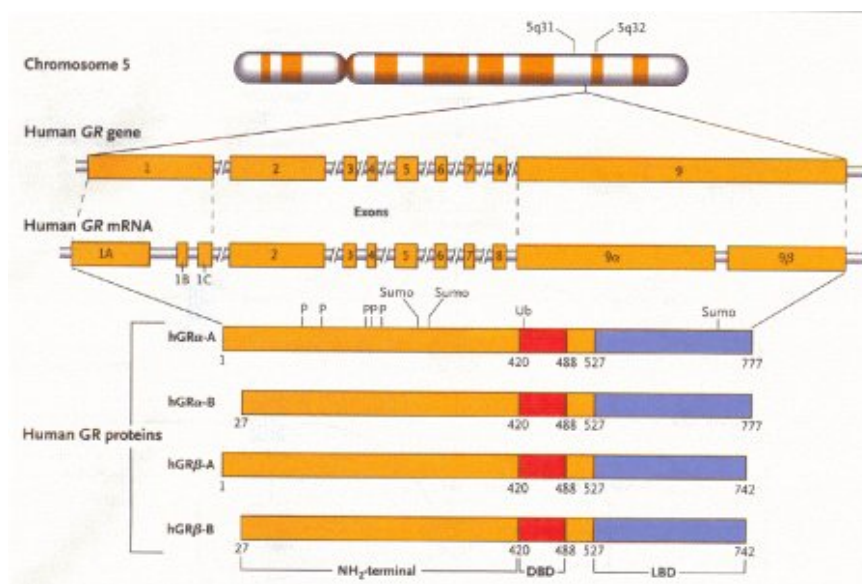


Figura 3 – Localizzazione del gene e organizzazione del recettore umano per i glicocorticoidi (GR). (fonte: Rhen T, Cidlowski JA. N.Engl J Med 2005, 353:1711-23)

La diversità nella espressione e nella funzione dei recettori dei glicocorticoidi risulta dalla sede alternativa della trascrizione. DBP = indica il dominio legante il DNA LBD = indica il dominio legante il ligando hGR = recettore umano dei glicocorticoidi

L' annessina 1 (chiamata anche lipocortina-1) è una protei-

na anti-infiammatoria che fisicamente interagisce e inibisce una fosfolipasi citosolica A₂ (cPLA₂). Questa proteina legante il calcio richiede elevati livelli di calcio e l'azione di fosforilazione da parte della proteinchinasi MAPK. Il calcio/calmodulina dipendente e la chinasi MAPK sono infatti necessari perché essa eserciti la sua attività enzimatica. L'at-

tivazione della cPLA₂ α da parte dello stimolo infiammatorio inizia al momento della fosforilazione da parte del citosol sulla membrana perinucleare, dove esso idrolizza i fosfolipidi contenenti acido arachidonico. I glicocorticoidi inducono e attivano l'annessina 1, che, inibendo la cPLA₂ α , blocca la liberazione di acido arachidonico e la sua successiva conversione in acido eicosanoide (cioè prostaglandine, tromboxani, prostraciline e leucotrieni). I topi, mancanti di annessina 1 hanno elevati livelli di cPLA₂ α , un'esagerata risposta infiammatoria e una resistenza parziale all'azione anti-infiammatoria dei glicocorticoidi. Esiste una forte correlazione fra livelli di cortisolo basali, stimolati da parte dell'ACTH da un lato e l'espressione dell'annessina 1 sui neutrofili uma-

ni dall'altro; è sconosciuta l'importanza clinica dell'annessina 1 come proteina anti-infiammatoria. Una seconda proteina anti-infiammatoria, indotta dai glicocorticoidi è la fosfatasi 1 MAPK. Le citochine, le infezioni batteriche e virali e la luce ultravioletta sono alcuni segnali infiammatori che attivano la cascata MAPK. La fosfatasi MAPK defosforila e inattiva tutti i membri della famiglia delle proteine MAPK, inclusa la chinasi Jun N-terminale, le chinasi 1 e 2, dei segnali extracellulari, e la chinasi p38. Di conseguenza la fosfatasi 1 MAPK può inibire anche l'attività cPLA₂ α bloccando la fosforilazione da parte della chinasi MAPK e MAPK interagente. Inoltre i glicocorticoidi e il loro recettore interferiscono direttamente con la trascrizione c-Jun mediata.

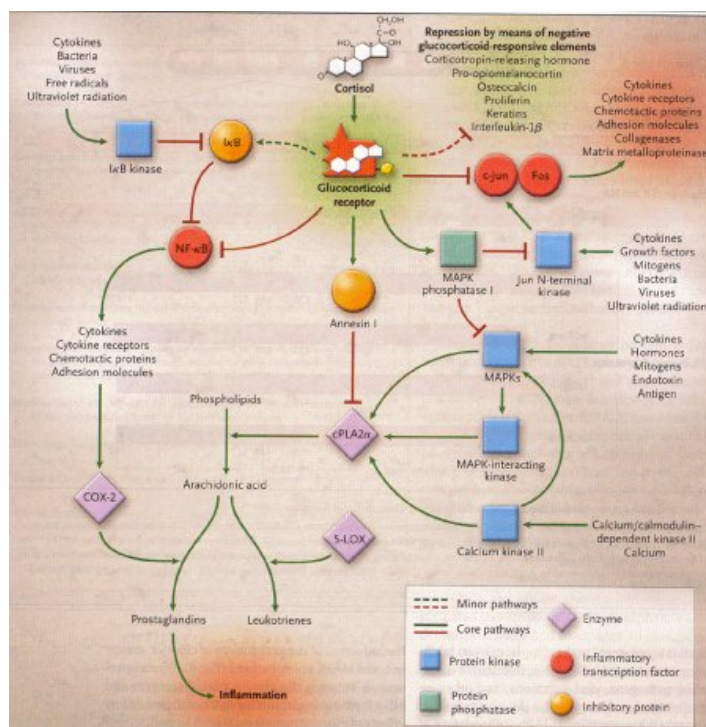


Figura 4 –Architettura molecolare parziale riguardante l'antagonismo dei glicocorticoidi con l'infiammazione (fonte: Rhen T, Cidlowski JA. *N.Engl J Med* 2005, 353:1711-23)

Le vie infiammatorie sono caratterizzate da anse feedback positive. I recettori dei glicocorticoidi inibiscono queste vie in diversi punti sia bloccando la trascrizione delle proteine infiammatorie da parte dell'NF- κ B e proteina 1 attivatrice, sia inducendo l'espressione di proteine anti-infiammatorie, come β 1, annessina 1 e fosfatasi 1 MAPK. 5-LOX = 5-lipodssigenasi; COX-2 = cicloossigenasi 2. Le linee rosse significano inibizione e le frecce rosse attivazione.

Il complesso del recettore del cortisolo interagisce anche fisicamente con il NF- κ B per bloccare la sua attività trascrizionale. Nel suo stato inattivo NF- κ B è sequestrato nel citoplasma da una proteina inibitoria, chiamata I κ B. Il tumor necrosis factor α , l'interleuchina 1, gli agenti microbici, le infezioni virali e altri stimoli infiammatori attivano la cascata che attiva le chinasi I κ B. La fosforilazione dell'I κ B porta alla sua degradazione da parte del proteasoma e alla liberazione dell'NF- κ B. Nel nucleo, l'NF- κ B si lega alle sequenze del DNA, chiamate elementi NF- κ B e stimola la trascrizione

delle citochine, delle chemochine, delle molecole di adesione cellulare, dei fattori del complemento e dei recettori di queste molecole. L'NF- κ B induce inoltre la trascrizione della ciclossigenasi 2, un enzima essenziale per la produzione di prostaglandine. Così l'antagonismo del NF- κ B, indotto dai glicocorticoidi, e la repressione della ciclossigenasi 2 rappresentano un ulteriore meccanismo d'inibizione della sintesi delle prostaglandine, dopo l'induzione degli antagonisti del cPLA₂ α , da parte dell'annessina 1 e della fosfatasi 1 MAPK (vedi figura 4). L'interazione diretta fra recettore dei glicocorticoidi e NF- κ B probabilmente riguarda la maggior parte degli effetti inibitori dei glicocorticoidi sull'azione segnalante del NF- κ B. I glicocorticoidi e i recettori dei glicocorticoidi modulano anche l'attività di altri fattori di trascrizione. Recenti pubblicazioni suggeriscono che i glicocorticoidi possono avere un rapido effetto sull'infiammazione, anche senza determinare cambiamenti nell'espressione dei geni. Il meccanismo non genomico, meglio descritto, interessa l'attiva-

zione della sintesi dell'ossido nitrico endoteliale (eNOS). I glicocorticoidi stimolano l'attività della fosfatidilinositol-3-idrossichinasi (PI3K) in un recettore corticoido-dipendente, ma non trascrizione-indipendente, presente sulle cellule endoteliali umane. L'attivazione del PI3K porta alla fosforilazione dell'Akt. L'Akt fosforilato fosforilizza e attiva eNOS, con la conseguente produzione di ossido nitrico. Questo reperto è sorprendente perché la produzione di ossido nitrico è generalmente associata a vasodilatazione e infiammazione. Molte ricerche saranno necessarie per chiarire il ruolo dei

meccanismi non-transcrizionali nell'inibizione della vasodilatazione, della permeabilità vascolare e della migrazione dei leucociti attraverso l'endotelio. Risulta evidente da tutto questo che i glicocorticoidi agiscono a diversi livelli mediante meccanismi multipli per controllare l'infiammazione.

LIMITAZIONI DELLA TERAPIA CON GLICOCORTICOIDI

Tessuto	Effetti collaterali
Surrene	Atrofia surrenalica. Sindrome di Cushing
Sistema cardio-vascolare	Dislipidemia, ipertensione, trombosi, vasculite
Sistema nervoso centrale	Modificazioni del comportamento, dell'apprendimento, della memoria e dell'umore (cioè psicosi), atrofia cerebrale
Apparato gastro-intestinale	Sanguinamento gastro-intestinale, pancreatite, ulcera peptica
Sistema immunitario	Ampia immunosoppressione, attivazione di virus latenti,
Cute	Atrofia, guarigione ritardata delle ferite, eritema, ipertrofici, dermatite periorale, petecchie, acne indotta dai glicocorticoidi, strie rubre, teleangectasie
Sistema muscolo-scheletrico	Necrosi ossea, atrofia muscolare, osteoporosi, ritardo di crescita longitudinale delle ossa
Occhi	Cataratta, glaucoma
Rene	Aumentata ritenzione di sodio e aumentata escrezione di potassio
Sistema riproduttivo	Pubertà ritardata, ritardo di crescita fetale, ipogonadismo

Il trattamento prolungato con glicocorticoidi può causare ipertensione attraverso due meccanismi:

- la ritenzione renale di sodio e quindi l'aumento del volume ematico
- il potenziamento delle risposte vasopressorie all'angiotensina II e alle catecolamine.

L'aumentata risposta all'angiotensina II è dovuta all'induzione dei suoi recettori da parte dei glicocorticoidi. D'altra parte i glicocorticoidi non modificano il numero o l'affinità dei recettori α_1 -adrenergici, mentre invece potenziano i segnali α_1 -adrenergici.

Sebbene la resistenza vascolare sistemica, indotta dai glicocorticoidi, sia dannosa, modificazioni localizzate nella vasoreattività possono portare a effetti benefici con il trattamento combinato, glicocorticoidi + α_2 -agonisti, nei pazienti con asma. Un corso di due settimane di glicocorticoidi inalati infatti diminuisce la perfusione basale della mucosa polmonare e ristabilisce la risposta vascolare ai α_2 -agonisti in pazienti con asma.

La crescita longitudinale nei bambini è il risultato della proliferazione e differenziazione dei condrociti e la successiva ossificazione della matrice extracellulare nelle placche di crescita delle ossa lunghe. Le cellule staminali risiedono all'estremo epifisario del piatto delle ossa lunghe e danno luogo alla proliferazione dei condrociti. Quanto più si allontanano dall'osso metafisario e quanto più i condrociti rallentano la loro velocità di proliferazione, iniziano a ipertrofizzarsi e producono le proteine della matrice extracellulare e le metalloproteinasi della matrice. Mentre i condrociti preparano que-

sta impalcatura, essi assorbono calcio e secernono fosfato e idrossiapatite. Infine essi vanno incontro ad apoptosi lasciando dietro di loro l'osso mineralizzato. I glicocorticoidi rallentano la crescita longitudinale riducendo la proliferazione dei condrociti e determinando l'apoptosi di queste cellule. L'inibizione del fattore 1 di crescita, insulino-simile, è uno dei meccanismi attraverso i quali si manifesta la riduzione dei condrociti. Il fattore 1 di crescita insulino-simile aumenta la fosforilazione dell'AKT e agisce come un fattore di sopravvivenza dei condrociti trattati con glicocorticoidi. Sebbene vi possa essere una ripresa della crescita quando il trattamento corticosteroidico viene sospeso, trattamenti prolungati durante l'infanzia e la fanciullezza spesso si associano a diminuzione della statura dell'adulto. I glicocorticoidi hanno un effetto deleterio anche sull'osso dell'adulto. Osteoporosi e aumentato rischio di fratture sono i principali effetti collaterali del trattamento con glicocorticoidi. L'osteoporosi in risposta ai glicocorticoidi è dovuta in parte all'inibizione della trascrizione della osteocalcina negli osteoblasti; l'osteocalcina è un'importante proteina della matrice extracellulare, che promuove la mineralizzazione delle ossa. Riassumendo i glicocorticoidi aggravano l'osteoporosi inducendo l'apoptosi degli osteoblasti e aumentando l'attività degli osteoclasti. I glicocorticoidi inibiscono anche la guarigione delle lesioni asettiche. Per esempio le fratture inducono l'infiammazione, mentre la produzione di citochine si ritiene sia essenziale per la guarigione e il rimodellamento dell'osso. Oltre a bloccare la sintesi delle citochine, i glicocorticoidi inibiscono la sintesi delle metalloproteinasi e del collagene della matrice, fattori importanti per la guarigione delle ferite. Inoltre i glicocorticoidi promuovono

vono la gliconeogenesi nel fegato, la degradazione delle proteine in aminoacidi nel muscolo (atrofia) e la lipolisi. Non ci sono al momento mezzi per migliorare gli effetti collaterali della terapia prolungata con corticosteroidi, sia a livello dei recettori che degli elementi steroidi.-responsivi. Spesso viene usato un trattamento con insulina per un diabete indotto dai glicocorticoidi o con bifosfonati per l'osteoporosi. L'esistenza di questi problemi ha indotto i ricercatori a identificare glicocorticoidi potenzialmente selettivi.

GLICORTICOIDI SELETTIVI E TERAPIE DEL FUTURO.

E' ormai chiaro che gli effetti anti-infiammatori dei glicocorticoidi sono principalmente mediati dall'inibizione dell'NF- κ B e della proteina 1 attivatrice, mentre i loro effetti collaterali derivano dall'attivazione della trascrizione. Uno studio recente (Schacke H et al, Proc Nat Acad Sci USA 2004, 101:227-32) ha descritto un nuovo cortisonico (ZK216348) con un quadro di repressione e attivazione della trascrizione, che è risultato drasticamente differente da quello dei vecchi glicocorticoidi. Il livello di glicocorticoide richiesto per reprimere l'interleuchina 8 nei monociti è da 8 a 12 volte superiore, quello richiesto per indurre la tiroxina.-aminotransferasi nelle cellule epatiche. Esiste quindi la possibilità di sviluppare selettivi glicocorticoidi dotati di un migliore profilo terapeutico.

CONCLUSIONI

Gli effetti anti-infiammatori e immunosoppressivi dei glicocorticoidi utilizzano molti meccanismi molecolari, che sono stati chiariti grazie alla ricerca di base. Come abbiamo visto tre meccanismi principali riguardano gli effetti dei corticosteroidi:

- il legame dei corticosteroidi ai recettori, localizzati sugli elementi glicocorticoidi-responsivi (come l'induzione dell'annexina 1 e della MAPK fosfatasi 1),
- gli effetti indiretti sull'espressione dei geni, attraverso l'interazione dei recettori dei glicocorticoidi su altri fattori di trascrizione (cioè NF- κ B e attivatore della proteina 1)
- e gli effetti (non-genomici) mediati dai recettori dei glicocorticoidi sulla cascata del secondo messaggero (cioè la via PI3K-Akt-eNOS).

Sfortunatamente poiché alcuni di questi meccanismi sono interessati anche ai segnali fisiologici, oltre che ai segnali anti-infiammatori, gli effetti terapeutici dei glicocorticoidi sull'infiammazione si accompagnano spesso a significativi effetti collaterali.

E' augurabile che si arrivi alla preparazione di glicocorticoidi provvisti di effetti benefici, senza presentare gli effetti sfavorevoli (Buttgereit et al. Lancet 2005, 365:801-3).