

MeB – Pagine Elettroniche

Volume XI

Febbraio 2008

numero 2

PEDIATRIA PER L'OSPEDALE

I leucotrieni (parte prima)

Giorgio Bartolozzi

Membro della Commissione Nazionale Vaccini

Indirizzo per corrispondenza: bartolozzi@unifi.it

In questi anni si sono approfondite le conoscenze sui leucotrieni, sia per quanto riguarda la loro sintesi, i recettori, il blocco della sintesi e dei recettori che infine l'impiego, dei farmaci antagonisti, in alcune malattie (in particolare l'asma). Un **recente articolo** rivede la letteratura sui leucotrieni e sulle possibili indicazioni dei farmaci antagonisti (Peters-Golden M, Henderson WR. Leukotrieni. *N Engl J Med* 2007;357:1841-54).

La parola leucotrieni deriva da "leuko" (globuli bianchi) e da "trien" (tre doppi legami).

Essi comprendono una famiglia di prodotti lungo la via della 5-lipossigenasi durante il metabolismo dell'acido arachidonico.

I cisteinil leucotrieni C₄, D₄ ed E₄ sono responsabili dell'attività biologica; essi nel passato, venivano indicati con il nome di **sostanze dell'anafilassi reagenti lentamente**: l'efficacia degli antagonisti del recettore del cisteinil leucotriene tipo 1 (CysLT) nell'asma sottolinea l'importanza dei cisteinil leucotrieni e del CysLT in questa malattia.

BLT₁: recettore 1 del leucotriene B, un recettore, unito alla proteina G, che riconosce il leucotriene B₄ ad alta affinità **BLT₂**: recettore 2 del leucotriene B, un recettore, unito alla proteina G, che riconosce il leucotriene B₄ ad alta affinità e una varietà di altri metaboliti dovuti all'azione della lipossigenasi sull'acido arachidonico con bassa affinità **CysLT₁**: recettore 1 del cisteinil leucotriene, un recettore, unito alla proteina G, che riconosce i cisteinil leucotrieni in ordine decrescente di affinità: per primo il leucotriene D₄, per secondo sia il leucotriene C₄ che il leucotriene E₄. E' questo l'obiettivo degli antileucotrieni, come il montelukast, lo zafirlucast e il pranlucast. **CysLT₂**: recettore 2 del cisteinil leucotriene, un recettore, unito alla proteina G, che riconosce i cisteinil leucotrieni in ordine decrescente di affinità: per primo il leucotriene C₄ e il leucotriene D₄, per secondo il leucotriene E₄. **Cisteinil leucotrieni**: questa classe di sostanze comprende il leucotriene C₄, il leucotriene D₄ e il leucotriene E₄: tutti contengono l'aminoacido cisteina coniugato con la struttura principale lipidica **5-lipossigenasi**: l'enzima che inizia la sintesi dei leucotrieni a partire dall'acido arachidonico **FLAP**: proteina attivante la 5-lipossigenasi, una proteina di aiuto per la 5-lipossigenasi, che è deputata a legarsi con l'acido arachidonico e presentarlo alla 5-lipossigenasi per facilitare la sua funzione catalitica **LTA₄**: il leucotriene A₄ è il prodotto

instabile dell'azione della 5-lipossigenasi sul substrato acido arachidonico ed è il precursore del bioattivo leucotriene B₄ e dei cisteinil leucotrieni **LTA₄ idrolasi**: la leucotriene A₄ idrolasi è un enzima che idrolizza il leucotriene A₄ in leucotriene B₄ **LTB₄**: il leucotriene B₄ è il prodotto dell'azione leucotriene A₄ idrolasi sul leucotriene A₄; è un potente chemioattrattivo e attivatore leucocitario **LTC₄**: il leucotriene C₄ è il prodotto dell'azione della leucotriene C₄ sintasi sul leucotriene A₄ e un precursore di altri cisteinil leucotrieni **LTC₄ sintasi**: la LTC₄ sintasi è un enzima che coniuga il glutatione al leucotriene A₄ per formare il leucotriene C₄ **LTD₄**: il leucotriene D₄ è un metabolita del leucotriene C₄ ed è il più potente dei cisteinil leucotrieni nella contrazione dei muscoli lisci delle vie aeree, legandosi al CysLT₂ **LTE₄**: leucotriene E₄ è un metabolita del leucotriene D₄ e il punto finale di tutti i cisteinil leucotrieni, che possono essere misurati nelle urine **Rodopsina**: un fotorecettore retinico costituito dalla lipoproteina G prototipica eptaelica, copulata al recettore, tanto da assomigliare a un recettore dei leucotrieni

SINTESI DEI LEUCOTRIENI

La sintesi dei leucotrieni a partire dall'acido arachidonico (un acido grasso essenziale) è iniziata dalla 5-lipossigenasi, in collaborazione con la proteina attivante la 5-lipossigenasi (FLAP) (Figura 1). FLAP presenta l'acido arachidonico alla 5-lipossigenasi: inizia la sintesi dei leucotrieni. I cisteinil leucotrieni (LTC₄, LTD₄, LTE₄) sono riportati su fondo grigio. Gli antileucotrieni, antagonisti dei cisteinil leucotrieni prevengono l'attivazione dei recettori dei cisteinilleucotrieni.

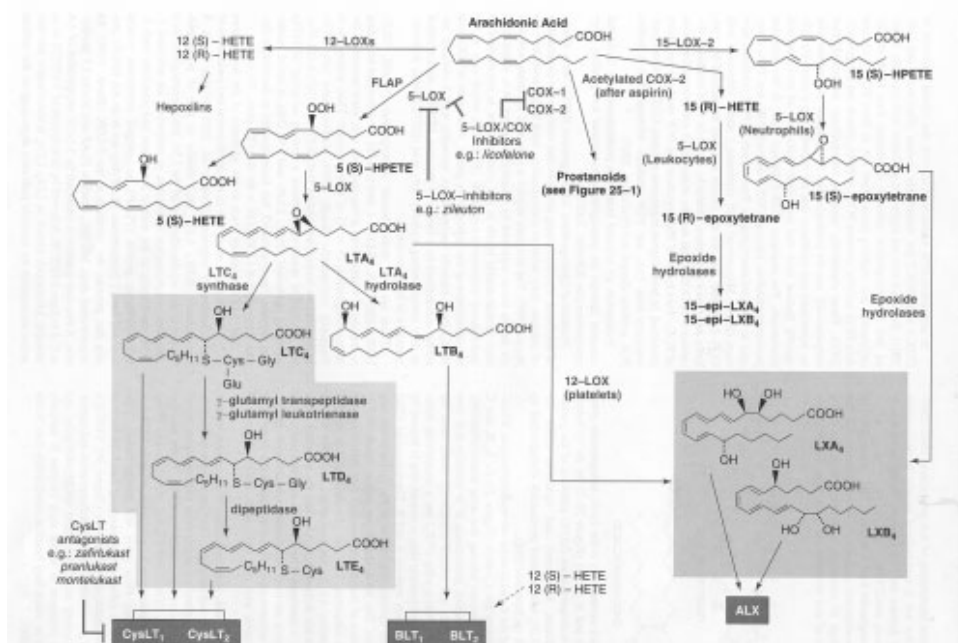


Figura 1. Via della lipogenesasi del metabolismo dell'acido arachidonico (Goodman e Gilman *The pharmacological basis of therapeutics*, 11° ed. 2006, pag. 656).

Sebbene **FLAP** non abbia attività enzimatica, essa aumenta la capacità della 5-ciclossigenasi a interagire con il suo substrato. Il leucotriene A₄ (LTA₄) è convertito dalla leucotriene A₄ idrolasi a leucotriene B₄ (LTB₄) o può essere coniugato con il glutatione ridotto dalla leucotriene C₄ (LTC₄) sintasi a leucotriene C₄. Il leucotriene B₄ e il leucotriene C₄ escono dalla cellula, mediante specifiche proteine di trasporto. Il leucotriene C₄ liberato è convertito in leucotriene D₄ (LTD₄), che a sua volta viene convertito in leucotriene E₄ (LTE₄) dall'idrolisi sequenziale dell'aminoacido (area grigia della *Figura 1*).

La capacità di formare larghe quantità di leucotrieni dall'acido arachidonico è largamente limitata ai leucociti. Tuttavia le quantità di LTB₄ e di cisteinil leucotrieni, che vari tipi di leucociti producono, dipende dagli enzimi finali LTA₄ idrolasi ed LTC₄ sintasi rispettivamente (vedi glossario).

Sebbene cellule non leucocitarie non abbiano sufficiente 5-lipossigenasi e FLAP per sintetizzare apprezzabili quantità di leucotrieni dall'acido arachidonico, esse esprimono gli enzimi metabolizzanti l'LTA₄ finale e possono prendere LTA₄, derivato dai leucociti e metabolizzarlo in leucotrieni bioattivi, un processo che è chiamato biosintesi transcellulare.

Il prodotto della via sintetica dei leucotrieni è regolato dalla quantità di **arachidonato libero**, che la fosfolipasi A₂ libera dai fosfolipidi delle membrane cellulari, dal livello di ognuna delle proteine nella via della 5-lipossigenasi, dall'attività catalitica delle molecole enzimatiche e dalla disponibilità di molecole piccole (per esempio ARTP, ossido nitrico e intermediari dell'ossigeno reattivo), che modulano l'attività della 5-lipossigenasi.

Un'altra variabile che influenza la sintesi dei leucotrieni è la **localizzazione intracellulare della 5-lipossigenasi**. Nei leucociti a riposo questo enzima può risiedere nel citoplasma o nel nucleoplasma. Quando la 5-lipossigenasi è attivata essa si ricolloca all'interno o all'esterno della membrana nucleare. Il movimento della 5-lipossigenasi dal nucleoplasma alla membrana nucleare interna si associa alla massima sintesi di LTB_4 .

Le deficienze ereditabili degli enzimi nella via sintetica dei leucotrieni sono rare, ma sono state riscontrate varianti delle eliche nel codificare e nel promuovere le regioni dei geni della 5-lipossigenasi e di altri componenti. La trascrizione di questi geni può essere regolata dalle citochine, dal fattore beta di crescita di trasformazione, dalla leptina, dalle endorfine, dall'endotelina, dalla vitamina D, dalle endotossine e dai corticosteroidi. L'espressione della LTC₄ sintasi, per esempio, è regolata verso l'alto dall'interleuchina 4 e verso il basso dall'endotossina.

RECETTORI DEI LEUCOTRIENI

I leucotrieni agiscono legandosi a recettori specifici della classe della rodopsina, che sono localizzati sulla membrana plasmatica esterna delle cellule strutturali e infiammatorie. Una volta legati ai leucotrieni, questi recettori interagiscono con le proteine G nel citoplasma, portando ad aumento del calcio intracellulare e a riduzione dell'AMP ciclico intracellulare. La *Tabella 1* mostra i maggiori tipi di cellule che esprimono i recettori per i leucotrieni.

Tipo di cellule	Capacità sintetica relativa		Espressione dei recettori			
	LTB ₄	Cisteinil leucotrieni	BLT ₁	BLT ₂	CysLT ₁	CysLT ₂
Neutrofili	+++	-	+	+	±	±
Macrofagi o monociti	++	++	+	+	+	+
Eosinofili	-	+++	+	+	+	+
Basofili	-	+++	+	-	+	+
Mast cellen	+	+++	+	+	+	+
Linfociti B	-	-	ND	+	+	ND
Linfociti T CD4	-	-	+	+	+	ND
Linfociti T CD8	-	-	+	+	ND	ND
Cellule dendritiche	++	+	+	+	+	ND
Cellule staminali ematopoietiche	-	-	ND	+	+	ND

ATTIVAZIONE DELLA SINTESI DEI LEUCOTRIENI, DEI RECETTORI E DEI SEGNALE

La **sintesi** dei leucotrieni può essere attivata in una cellula (un leucocita per esempio) da una varietà di **stimoli**. Il macchinario enzimatico della fosfolipasi (PLA₂) che catalizza l'idrolisi dell'arachidonato e la sintesi dei leucotrieni, è localizzato principalmente a contatto o vicino alla membrana nucleare, necessitando che il leucotriene B₄ (LTB₄) e il leucotriene C₄ (LTC₄) siano trasportati dalla proteina di trasporto al di fuori della cellula; la proteina trasportatrice dell'LTC₄ è la proteina 1 multifarmaco-resistente. Il trasportatore del LTB₄ è sconosciuto. Nell'**ambiente extracellulare**, il LTC₄ è convertito a leucotriene D₄ (LTD₄) e il leucotriene D₄ (LTD₄) a leucotriene E₄ (LTE₄). Complessivamente queste molecole costituiscono i **cisteinil leucotrieni**.

I leucotrieni agiscono sulle **cellule bersaglio**, che possono essere leucociti, cellule epiteliali, cellule muscolari lisce o cellule endoteliali, interagendo con una o con ambedue le classi dei loro recettori affini. Il recettore 1 del leucotriene B (BLT₁)

è espresso principalmente sui leucociti ed è un recettore ad alta affinità, mentre il recettore 2 del leucotriene B (BLT₂) è espresso più largamente, ha un'affinità più bassa per il leucotriene LTB₄ e può legarsi ad altri lipidi. I due recettori dei cisteinil leucotrieni hanno una larga distribuzione. Tutti i recettori dei leucotrieni attivano la classe Gq delle proteine G con conseguente aumento del calcio intracellulare, la classe Gi, con conseguente aumento deell'AMP ciclico (cAMP) intracellulare, o ambedue. Questi effetti, che attivano verso il basso le protein-chinasi, culminano in una miriade di risposte cellulari e tissutali.

Le **sedi di azione dei farmaci** antileucotrieni (per 5-lipossigenasi lo zileuton e per il CysLT₁ il montelukast, lo zafirlukast e in pranlukast) sono ben visibili nella *Figura 2*. FLAP indica la proteina attivante la 5-lipossigenasi.

Il recettore cisteinil leucotriene tipo 1 (CysLT₁) media la broncocostrizione duratura, la secrezione di muco e l'edema delle vie aeree. Gli antagonisti selettivi del CysLT₁, che sono stati approvati per il trattamento dell'asma, bloccano l'effetto proasmatico del CysLT₁ (vedi *Figura 2*).

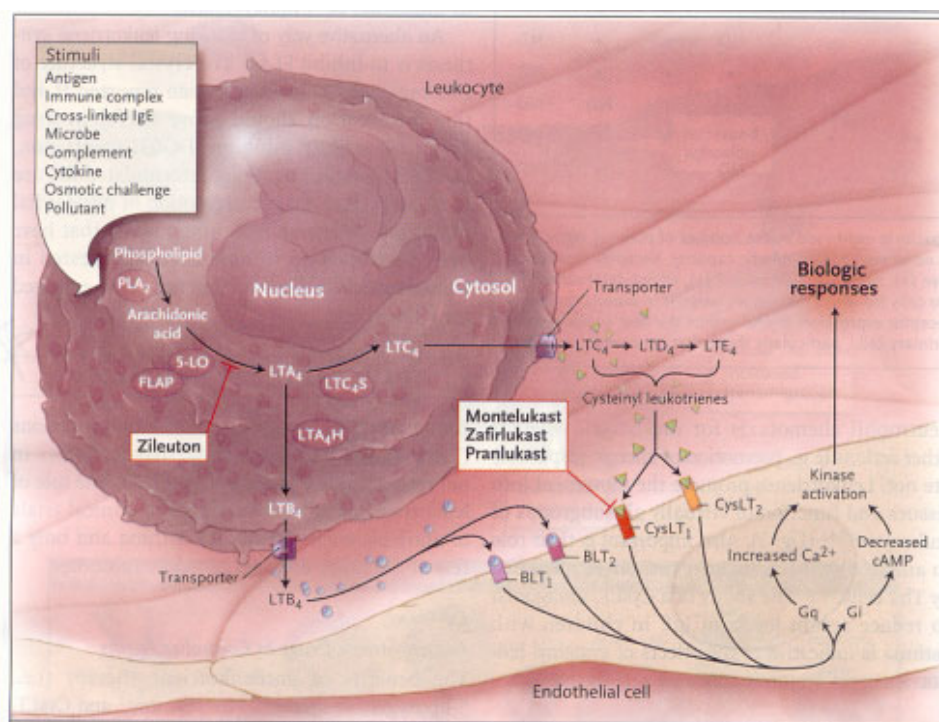


Figura 2.

Esperienze su animali hanno dimostrato che il CysLT₂ non determina la broncocostrizione direttamente, ma contribuisce all'infiammazione, alla permeabilità vascolare e alla fibrosi dei tessuti. Non sono a disposizione antagonisti specifici del CysLT₂. Alcune azioni dei cisteinil leucotrieni non sono in effetti spiegate dal CysLT₁ o dal CysLT₂, sollevando la possibilità della presenza di eterodimeri CysLT₁-CysLT₂ o di recettori ulteriori. Un candidato è il recettore 17, unito alla proteina G (GPR17), un recettore duale uracil-nucleotide-cisteinil leucotriene.

Il **recettore 1** del leucotriene B (BLT₁) è il recettore ad alta affinità per LTB₄, che media la maggior parte, se non tutte, le azioni chemoattraenti e proinfiammatorie. Il **recettore 2** del leucotriene B (BLT₂) è un recettore a bassa affinità per LTB₄, che lega anche altri metaboliti della lipossigenasi. Poco si sa sulla sua funzione fisiologica.

L'espressione del CysLT₁ può essere influenzata a livello trascrizionale dalle citochine delle cellule T tipo 2 hel-

per (Th₂). Questo effetto spiega probabilmente perché il CysLT₁ sia superespresso in pazienti con asma o rinosinusi cronica, che hanno sensibilità all'aspirina e perché i livelli dei recettori tornino al normale dopo la desensibilizzazione dall'aspirina.

Oltre alle azioni sulle vie aeree i cisteinil leucotrieni esercitano altre **azioni biologiche**. Alcune azioni dei cisteinil leucotrieni e dell'LTB₄ sono caratteristiche (come la contrazione dei muscoli lisci per il primo e la chemiotassi dei neutrofili per il secondo), mentre altre azioni (come la promozione delle risposte allergiche) non lo sono. I leucotrieni promuovono il movimento nei tessuti e la funzione di quasi tutti i sottogruppi di leucociti (vedi *Figura 3*).

E' importante il loro ruolo anche nell'amplificare le risposte infiammatorie mediate dalle cellule Th₂. La capacità di un antagonista del CysLT₁ di ridurre i livelli sierici di IgE nei bambini con asma è indicativo degli effetti dei cisteinil leucotrieni sul sistema delle risposte immuni.

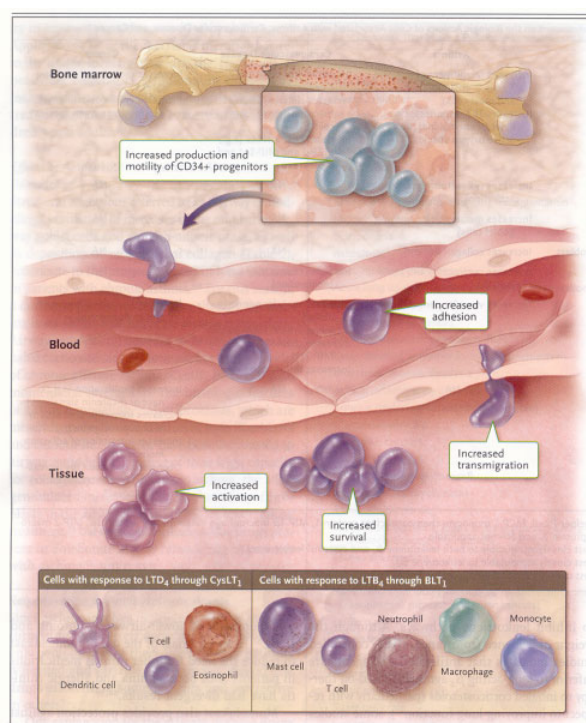


Figura 3. Reclutamento dei leucociti e attivazione da parte dei leucotrieni

Legandosi ai propri recettori specifici, i leucotrieni promuovono la concentrazione e la funzione virtualmente di tutti i sottogruppi di leucociti a livello dell'infiammazione. Tali risposte sono importanti nella genesi delle malattie, inclusa l'asma, le malattie cardiovascolari e il cancro. I leucotrieni agiscono sui leucociti, stimolando la crescita dei progenitori delle cellule staminali ematopoietiche pluripotenti CD34+ e la loro successiva migrazione nel torrente circolatorio. I leucotrieni aumentano anche l'espressione delle proteine di adesione (che aumentano l'adesione dei leucociti alla microvascolatura) e promuovono la motilità cellulare che porta alla loro tras migrazione nei tessuti. Quando i leucociti raggiungono il tessuto infiammato, la loro sopravvivenza e attivazione sono aumentate dai leucotrieni. Attraverso il recettore del

leucotriene B (BLT₁), il leucotriene B₄ (LT B₄) media principalmente il reclutamento delle mast cellen, dei neutrofili, dei monociti o dei macrofagi e delle cellule T. Attraverso il recettore cisteinil leucotriene tipo 1 (CysLT₁), i cisteinil leucotrieni, incluso il leucotriene D₄ (LTD₄) promuovono il reclutamento di eosinofili, di cellule dendritiche e di cellule T.

NB. Nella **seconda parte** verrà trattato del ruolo dei leucotrieni e degli antileucotrieni nell'asma, nelle malattie cardio-vascolari e nel cancro, nonché dell'importanza dei leucotrieni nelle difese antimicrobiche.