

Alcune piccole novità editoriali

Flavia Franconi

Per prima cosa desidero informarvi che sul sito web della SIF sono disponibili gli indici di tutti gli articoli pubblicati sui Quaderni e l'elenco degli autori che hanno collaborato. Inoltre, per facilitare la lettura e la diffusione, saranno disponibili, solo in formato elettronico, i PDF dei singoli articoli. Troverete tutto sul sito web (www.sifweb.org). Dopo queste comunicazioni, passiamo ora a riassumere, come al solito, il primo numero del 2010 che si avvale di un articolo del Vicepresidente di Confindustria, Presidente di EXPO 2015, la Dott.ssa Diana Bracco, che ci parla, in maniera puntuale e prospettica, delle potenzialità del settore della nutraceutica che viene anche visto come un'opportunità per l'industria

e la ricerca farmaceutica, perché la validazione scientifica, secondo la Dott.ssa Bracco, è un passo indispensabile per costruire cibi funzionali, integratori. Segue poi l'articolo del Prof. Lucio Annunziato e collaboratori che ci porta nel mondo della ricerca preclinica di alto livello, dove si parla dei modelli di ischemia cerebrale, una patologia che colpisce 15 milioni di persone l'anno, basati sull'uso di animali transgenici. Dall'ischemia cerebrale alla depressione, una patologia di grande rilevanza clinica: in questo articolo magistralmente scritto dal Prof. Flavio Moroni si discute del ruolo del sistema glutaminergico. Infine, la lettera che il Prof. Dianzani mi ha gentilmente inviato per ricordarmi che le sue "previsioni"

sull'influenza H1N1, pubblicate sul numero di settembre di Quaderni, si sono puntualmente avverate. Si prosegue poi con un articolo sulle malattie cardiovascolari nelle donne che evidenzia l'importanza di considerare il genere per arrivare alla appropriatezza della diagnosi e della cura scritto dal Prof. Antonello Garau e dai suoi collaboratori. Infine, alcune notizie sull'Unità di Farmacologia Clinica pubblica della Regione Lombardia nell'articolo scritto dal Prof. Alberto Scanni. ■

Le prospettive dell'EXPO 2015

Diana Bracco

Vicepresidente di Confindustria, Presidente di EXPO 2015

Desidero anzitutto ringraziare il Prof. Cesare Sirtori, Presidente della SINUT, per avermi offerto l'occasione di parlare a una platea così prestigiosa e qualificata delle grandi opportunità offerte dall'Expo 2015 di Milano. Anche per la comunità scientifica internazionale, l'Esposizione Universale di Milano potrà essere un'occasione per dare vita a importanti momenti di discussione su alimentazione e sviluppo sostenibile.

Il tema al centro dell'Esposizione, "Nutrire il pianeta, energia per la vita", affronta infatti una questione cruciale per tutti i Paesi del mondo con una doppia valenza: da un lato cercare di garantire cibo a sufficienza a chi vive in condizioni di denutrizione e, dall'altro, quella di riuscire a prevenire le nuove grandi malattie sociali legate alle sbagliate abitudini della nostra epoca, dall'obesità alle patologie cardiovascolari, valorizzando le

Alcune piccole novità editoriali (F. Franconi)	1
Le prospettive dell'EXPO 2015 (D. Bracco)	1
Modelli di ischemia cerebrale in topi transgenici per validare nuovi bersagli farmacologici e sviluppare nuovi interventi terapeutici (L. Annunziato, P. Molinaro, A. Secondo, A. Pannaccione, A. Scorziello, G. Pignataro, O. Cuomo, R. Sirabella, F. Boscia, A. Spinali, G. Di Renzo)	3
Un nuovo ed inaspettato ruolo per gli antagonisti dei recettori NMDA nella depressione grave (F. Moroni)	9
Il virus H1N1 e l'astrologo (F. Dianzani)	12
Donne e malattie cardiovascolari (S. Denti, P. S. Saba, A. Ganau)	13
Unità di farmacologia clinica (Farmacocinetica, Farmacogenetica, Farmacovigilanza e Fase 1), Ospedale "Sacco" Milano (A. Scanni)	18

I Congresso Nazionale della Società Italiana di Nutraceutica

Milano 11-13 febbraio 2010

Nei giorni 11-13 febbraio si è svolto a Milano, presso l'Aula Magna dell'Università degli Studi, il Congresso Nazionale della Società Italiana di Nutraceutica, della quale sono stato nominato Presidente. Il congresso ha registrato circa 400 presenze, fra cui parecchi Farmacologi e numerosi espositori, a testimonianza dell'interesse nel settore. La Dott.ssa Diana Bracco, Presidente di EXPO 2015, è stata invitata ad intervenire su: "LE PROSPETTIVE DELL'EXPO 2015". Gentilmente la Dott.ssa Bracco ha reso disponibile il testo del suo intervento.

Cesare Sirtori

Dipartimento di Scienze Farmacologiche
Università degli Studi di Milano

innovazioni e le pratiche che rendono più sana la vita.

La nutrizione, tra l'altro, è un tema su cui l'Italia ha molte carte da giocare in quanto:

- è fortemente rappresentativo della tradizione produttiva e di innovazione italiana;
- non limita al solo comparto agro-alimentare le opportunità espositive, ma le estende a tutta una serie di settori quali, ad esempio la Ricerca scientifica applicata, le bio-tecnologie, la farmaceutica, la dietologia e la Nutraceutica;
- valorizza la presenza in Italia di importanti Organizzazioni internazionali (FAO e Programma Mondiale dell'alimentazione a Roma; Agenzia Europea per la sicurezza alimentare a Parma, ecc.).

Ricerca e Innovazione sono temi fortemente legati all'Expo e su cui Confindustria e io personalmente siamo molto impegnati. Proprio ieri a Torino in occasione della celebrazione del centenario della nascita di Confindustria, la Presidente Emma Marcegaglia lo ha ribadito con forza.

Anche nel settore alimentare sono numerose le aziende molto attente ai temi dell'innovazione di prodotto e di processo, e che hanno da tempo avviato un dialogo costruttivo con l'Università e il mondo della ricerca. Dialogo che si è concretizzato nello sviluppo e

nel potenziamento della Piattaforma tecnologica nazionale "Italian Food for Life", importante strumento di programmazione economica della ricerca nel settore alimentare, per coordinare progetti nazionali ed europei.

In questo contesto l'Expo è un'opportunità unica per convogliare energie, progetti e idee, per identificare soluzioni concrete, mettendo in rete le istituzioni, il mondo scientifico, le università e, naturalmente, le imprese di tutti i settori compreso quello agricolo.

Quasi nessuno sa, ad esempio, e per questo mi piace ricordarlo, che la Lombardia è addirittura la seconda Regione agricola d'Europa e vanta un primato sotto il profilo dell'efficienza e dell'efficacia della produzione.

In Italia, poi, il comparto delle industrie alimentari rappresenta una vera eccellenza e si colloca in Europa al 3° posto, dopo Francia e Germania, per giro d'affari e ai primi posti per addetti occupati nel settore.

Un'industria che primeggia soprattutto sul piano della qualità, della sicurezza alimentare, delle innovazioni nella filiera e nella ricerca, della varietà delle produzioni tipiche e regionali. Un'industria che tutela le produzioni e le culture secolari nella migliore tradizione Italiana che fa del cibo un elemento culturale, aggregante e socializzante.

L'eccellenza del settore alimen-

tare italiano, riconosciuta ormai in tutto il mondo, si basa sempre di più sul binomio qualità e sicurezza da un lato e salute e benessere dall'altro.

La sicurezza è il vero "pre-requisito" strategico alla base del successo dell'Industria alimentare italiana. Un comparto che, impegna in attività di analisi e di controllo circa 60.000 addetti, il 15 % del totale, con un investimento di oltre 2 miliardi di euro l'anno. Ogni giorno nelle circa 6.500 aziende alimentari italiane vengono effettuati 2 milioni e 770 mila analisi e controlli: una media di oltre 400 analisi giornaliere ad azienda.

Sul tema della salute e degli stili di vita, dunque, l'Industria alimentare italiana sta facendo la sua parte, sia collaborando con le Istituzioni e le organizzazioni non governative attive su questi temi, sia assumendo volontariamente impegni concreti e stringenti riguardo al miglioramento dei prodotti alimentari, all'informazione nutrizionale in etichetta, alla diffusione ed applicazione dei codici di autoregolamentazione.

La rappresentazione in sede Expo di tutto ciò che da tempo viene fatto a riguardo e poi dell'intero settore della nutraceutica presenta enormi potenzialità. La funzione divulgativa che tradizionalmente è svolta dalle Expo Universali ben si presta a far conoscere al largo pubblico le nuove scoperte del settore, spesso non ancora sufficientemente note.

La nutraceutica è d'altra parte anche una grande opportunità per l'Industria Farmaceutica. Ci si può aspettare infatti che, grazie all'esperienza nel settore farmacologico, estremamente regolamentato, l'intervento dell'industria farmaceutica in questo ambito possa garantire al massimo la validazione scientifica dei prodotti funzionali, siano essi novel foods o integratori alimentari.

Ma penso anche a tutti gli studi e ricerche tesi a mappare il microbioma intestinale, che si stanno affermando. Come ha detto recen-

temente il direttore del National Institute of Health -NIH Elias A. Zerhouni "Il microbioma umano è in gran parte inesplorato ed è essenziale che capiamo come i microorganismi interagiscono con il corpo umano per interessare la salute e la malattia". Ad esempio, il progetto dello "human microbiome", iniziato un paio di anni fa negli USA ha assegnato complessivamente 115 milioni di dollari ai ricercatori nel corso di cinque anni per mappare il genoma di oltre 1000 specie batteriche.

Ormai è notorio che una dieta alimentare non equilibrata espone a un maggior rischio di malattie e che alcuni principi alimentari pos-

sono favorire l'insorgenza di forme tumorali. Altri alimenti invece costituiscono addirittura eccellenti strumenti di auto-difesa.

È proprio in questo ambito che la "nutri genomica", può aiutare ad accertare quali cibi siano più sani per ogni singolo individuo, nonché quelli da evitare, tenendo conto del profilo genetico di ciascuno.

L'Expo 2015 dovrebbe incoraggiare la presentazione dei risultati di tali studi.

L'Esposizione di Milano potrà svolgere anche un importante ruolo formativo, permettendo un raccordo concreto tra i visitatori più giovani e le scuole con il mondo della ricerca scientifica.

Attraverso, ad esempio, l'inserimento nell'offerta di percorsi educativi sulla nutrizione e sulle opportunità offerte dai pasti scolastici. A tale proposito, vanno valorizzate e ampliate le prime significative esperienze pilota lanciate dal MIUR.

L'Expo 2015, dunque, oltre a essere un driver anticiclico di crescita economica e occupazionale e un'occasione unica di sviluppo e di business, potrà svolgere anche l'importante funzione di contribuire alla lotta contro tante malattie correlate alla nutrizione, e alla diffusione di una maggiore consapevolezza nelle scelte alimentari di noi tutti. ■

L'impiego di modelli di ischemia cerebrale in topi transgenici per validare nuovi bersagli farmacologici e sviluppare nuovi interventi terapeutici

Francesca Boscia, Ornella Cuomo, Pasquale Molinaro, Agnese Secondo, Anna Pannaccione, Antonella Scorziello, Giuseppe Pignataro, Rossana Sirabella, Alessandra Spinali, Gianfranco Di Renzo, Lucio Annunziato

Dipartimento di Neuroscienze, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Nuove prospettive terapeutiche nell'ischemia cerebrale

L'ischemia cerebrale copre il 9-10% di tutte le cause di morte nel mondo e rappresenta la terza causa di morte più diffusa nei paesi industrializzati dopo le malattie cardiovascolari e le neoplasie. Ogni 45 secondi un individuo è colpito da ischemia cerebrale, mentre ogni 3-4 minuti una persona muore a causa di un ictus. Ogni anno 15 milioni di persone vengono colpite da ischemia cerebrale nel mondo. Si calcola che tra di esse 5 milioni di persone muoiono, mentre altri 5 milioni subiscono una invalidità permanente (Tabel-

la 1). Ciò comporta conseguenze economiche gravi, sia per i lunghi periodi di degenza correlati con la riabilitazione, sia per la sottrazione di popolazione lavorativa attiva (Annunziato, 2009a). I fattori di rischio dell'ictus cerebrale possono essere distinti in: fattori demografici (età, sesso); caratteristiche fisiologiche (ipertensione, ipercolesterolemia, iperglicemia); abitudini comportamentali (fumo di sigaretta, abuso di alcool, dieta, sedentarietà e scarsa attività fisica). Il rischio di ictus aumenta in proporzione all'avanzare dell'età media della popolazione analizzata e, dal momento che le aspettative di vita sono in aumento nei paesi industrializzati, si prevede anche

un parallelo aumento del numero di persone a rischio di ictus.

L'ictus cerebrale è caratterizzato dall'interruzione del flusso ematico in una zona più o meno estesa del cervello, che provoca una caduta dei livelli di glucosio e di ossigeno necessari allo svolgimento delle normali funzioni cellulari. Più raramente è causato dall'assenza di flusso ematico nell'intero cervello seguente ad arresto cardiaco. Il Sistema Nervoso Centrale (SNC) è più vulnerabile agli eventi ischemici di ogni altro organo. Questa estrema vulnerabilità è da attribuire all'alto tasso metabolico del cervello umano, che è responsabile del 25% del metabolismo basale, ed al fatto che i neuroni

Patologia	Pazienti Affetti dalla Patologia	Età Insorgenza	Anni di Vita dopo la Diagnosi	Costi Diretti e Indiretti in Millardi di €
Malattia Alzheimer	4.000.000	60	15	150
Ictus	15.000.000	55	15	200
Morbo Parkinson	6.000.000	55	11	100
Sclerosi Multipla	2.500.000	20-25	Fisiologica	125
Sclerosi Laterale Amiotrofica	480.000	40-60	3-5	150
Epilessia	50.000.000	Ogni Età	Fisiologica	5000

Tabella 1. Rilevanza sanitaria e sociale delle principali patologie neurodegenerative

utilizzano come substrato energetico quasi esclusivamente glucosio, le cui riserve cerebrali sono limitate.

Il danno cerebrale ischemico deriva da una serie complessa di eventi fisiopatologici che culminano in una degenerazione neuronale ed includono: distruzione della barriera emato-encefalica, perdita delle riserve energetiche cellulari, alterazioni dell'omeostasi ionica, acidosi, aumento delle concentrazioni intracellulari di calcio, eccitotossicità, depolarizzazione peri-infartuale, attivazione di cellule gliali ed infiammazione (Lipton, 1999). Il mancato apporto di sangue a livello del tessuto cerebrale provoca la formazione di un'area necrotica, denominata core, circondata da una regione di penombra (Weinstein et al., 2004). Le cellule all'interno della regione del core vanno incontro a morte necrotica ed il processo è irreversibile. Le cellule all'interno della regione di penombra sono ipoperfuse ma ancora vitali. Con il passare delle ore, in assenza di trattamento, però, anche le cellule della regione di penombra possono degenerare.

A tutt'oggi non esistono efficaci protocolli terapeutici in grado di migliorare il recupero da ictus e limitare il danno cerebrale ischemico. La sola terapia approvata per

il trattamento dell'ictus cerebrale è la terapia trombolitica. Tale terapia si prefigge sia di ripristinare, entro poche ore dall'insorgenza dei sintomi, il mancato apporto di ossigeno e glucosio al tessuto cerebrale interessato attraverso una trombolisi, sia di ridurre l'aumento della pressione intracranica che si verifica quando il danneggiamento della barriera emato-encefalica determina la formazione di un edema vasogenico. Questa strategia terapeutica è tuttavia limitata da una ristretta finestra terapeutica e dall'insorgenza di effetti collaterali importanti che ne limitano il dosaggio.

Per ridurre sia la morbilità che la mortalità causata dall'ictus, attualmente il principale obiettivo della ricerca biomedica è identificare nuovi bersagli molecolari la cui modulazione possa essere in grado di ridurre il danno neuronale ed esercitare, dunque, potenti effetti neuroprotettivi in grado di preservare il tessuto cerebrale che sopravvive.

La teoria eccitotossica, secondo la quale l'aumentato rilascio di amminoacidi eccitatori, con conseguente attivazione dei recettori ionotropici glutammatergici e successivo aumento dei livelli intracellulari di Ca^{2+} , sia responsabile della neurodegenerazione che si verifica durante un evento ischemico, ha

indirizzato la ricerca farmacologica degli ultimi decenni verso lo sviluppo di farmaci antagonisti dei recettori del glutammato (Cheng et al., 2004). Più recentemente, il fallimento di numerosi trials clinici in pazienti colpiti da ischemia cerebrale e trattati con farmaci antagonisti dei recettori del glutammato ha indirizzato la ricerca biomedica verso l'individuazione di nuovi e più promettenti bersagli terapeutici.

Studi condotti nei nostri laboratori di ricerca in modelli di animali transgenici suggeriscono che la modulazione farmacologica di specifici trasportatori di membrana, implicati nel controllo dell'omeostasi ionica del Na^+ , Ca^{2+} e K^+ , possa rappresentare una promettente strategia terapeutica per limitare non solo l'entità del danno, ma contrastare anche la neurodegenerazione promossa dall'insulto ischemico nel cervello (Annunziato et al., 2007).

Inoltre, recenti ricerche precliniche indicano che l'antitrombina (AT), nota per il suo ruolo fondamentale nell'inibizione del processo coagulativo, ma dotata anche di un meccanismo d'azione extravasale, possiede una potente azione neuroprotettiva in una ampia finestra temporale in modelli in vivo di ischemia cerebrale focale.

La famiglia degli scambiatori Na^+/Ca^{2+} potassio-indipendenti come potenziali bersagli terapeutici nell'ischemia cerebrale

La superfamiglia degli scambiatori Na^+/Ca^{2+} include due principali sottofamiglie: la famiglia degli scambiatori Na^+/Ca^{2+} potassio-indipendenti (NCX) e la famiglia degli scambiatori Na^+/Ca^{2+} potassio-dipendenti (NCKX) (Cai and Lytton, 2004, Annunziato et al., 2004, Annunziato, 2009b). Lo scambiatore Na^+/Ca^{2+} è un trasportatore bidirezionale presente a livello della membrana plasmatica la cui funzione fondamentale è quella di

regolare l'omeostasi degli ioni Ca^{2+} e Na^+ , attraverso una modalità operativa definita forward che media l'estrusione del Ca^{2+} e l'influsso del Na^+ nella cellula, o attraverso una modalità operativa definita reverse che determina l'influsso del Ca^{2+} e l'estrusione del Na^+ . Gli scambiatori NCX mediano il trasporto di 3 ioni Na^+ contro 1 ione Ca^{2+} (Annunziato et al., 2004), laddove gli scambiatori NCKX trasportano 4 ioni Na^+ contro 1 ione K^+ e 1 ione Ca^{2+} (Dong et al., 2002).

Nei mammiferi sono stati identificati tre geni diversi che codificano per tre distinte isoforme dello scambiatore $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ potassio-indipendente: NCX1, NCX2 e NCX3. NCX1 è ubiquitariamente espresso in tutto l'organismo, mentre NCX2 ed NCX3 sono espressi selettivamente nel SNC e nella muscolatura scheletrica. Nell'ambito della famiglia NCKX sono stati individuati sei diversi prodotti genici, NCKX1-6, di cui le isoforme NCKX2, NCKX3 e NCKX4 sono abbondantemente espresse nel cervello, con distinti pattern di distribuzione (Lytton et al., 2002).

Lo scambiatore $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, regolando l'omeostasi del Na^+ e del Ca^{2+} , gioca un ruolo chiave nell'evoluzione del danno neuronale ischemico. Numerosi studi hanno

dimostrato che, in corso di ipossia in vitro e di ischemia in vivo, lo scambiatore $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ contribuisce a modulare l'entità del danno neuronale. In particolare, risultati precedentemente ottenuti nel nostro laboratorio suggeriscono che il blocco dell'attività di NCX con il farmaco CB-DMB (Secondo et al., 2009) ha come conseguenza un peggioramento del danno cellulare indotto dall'ischemia in vivo (Tortiglione et al., 2002). Il fatto che NCX sia effettivamente coinvolto nella progressione del danno ischemico è stato, inoltre, confermato da esperimenti effettuati su tessuto cerebrale di ratti ischemici che evidenziano una variazione dell'espressione delle tre isoforme di NCX a diversi intervalli di tempo dall'induzione dell'ischemia cerebrale (Pignataro et al., 2004; Boscia et al., 2006). È stato dimostrato che tra le tre isoforme di NCX solo NCX1 ed NCX3 sono effettivamente implicate nelle progressioni del danno ischemico. Infatti, il knocking-down delle isoforme NCX1 e NCX3 mediante somministrazione di oligonucleotidi antisense selettivi per ciascuna isoforma determina un significativo peggioramento del danno ischemico in un modello in vivo di ischemia cerebrale focale

(Pignataro et al., 2004). Studi più recenti hanno dimostrato che la delezione del gene NCX3 in topi *ncx3*^{-/-} determina un drammatico peggioramento della lesione ischemica. Inoltre, neuroni corticali ottenuti da topi *ncx3*^{-/-} risultano più vulnerabili ad un evento ipossico e mostrano livelli basali di calcio intracellulare maggiori rispetto ai neuroni ottenuti da topi wild type (Molinari et al., 2008). Studi condotti dal nostro gruppo di ricerca hanno individuato alcuni fattori trascrizionali implicati nel controllo della regolazione genica delle isoforme di NCX durante un evento ischemico (Figura 1). In particolare, il fattore trascrizionale NF- κ B è responsabile dell'incremento dell'espressione di NCX1 durante la deprivazione di ossigeno e glucosio in colture di neuroni primari e determina una riduzione dell'espressione di NCX3 a livello post-trascrizionale. L'azione di NF- κ B su NCX1 durante l'ischemia cerebrale sembrerebbe svolgere un ruolo fondamentale nel refilling del Ca^{2+} all'interno del reticolo endoplasmatico, prevenendo lo stress del reticolo endoplasmatico neuronale (Sirabella et al., 2009). Anche i fattori trascrizionali a valle del pathway di AKT1 sono in grado di modulare l'espressione di NCX1 e NCX3 durante l'ipossia. In particolare, CREB induce un aumento dell'espressione di NCX1, laddove altri fattori non ancora identificati sono in grado di prevenire parzialmente la degradazione proteosomale di NCX3. Tali modulazioni partecipano al noto effetto pro-survival di AKT (Formisano et al., 2008). NCX3 è regolato anche da fattori trascrizionali la cui funzione dipende dalle concentrazioni citosoliche di calcio, come DREAM (Gomez-Villafuertes et al., 2005).

Il gene di NCX2 invece non è stato ancora descritto dettagliatamente; è stato dimostrato, tuttavia, che la depolarizzazione neuronale può causarne un decremento dell'espressione per un meccanismo calcineurina-dipendente. Infatti, la propagazione delle scariche di

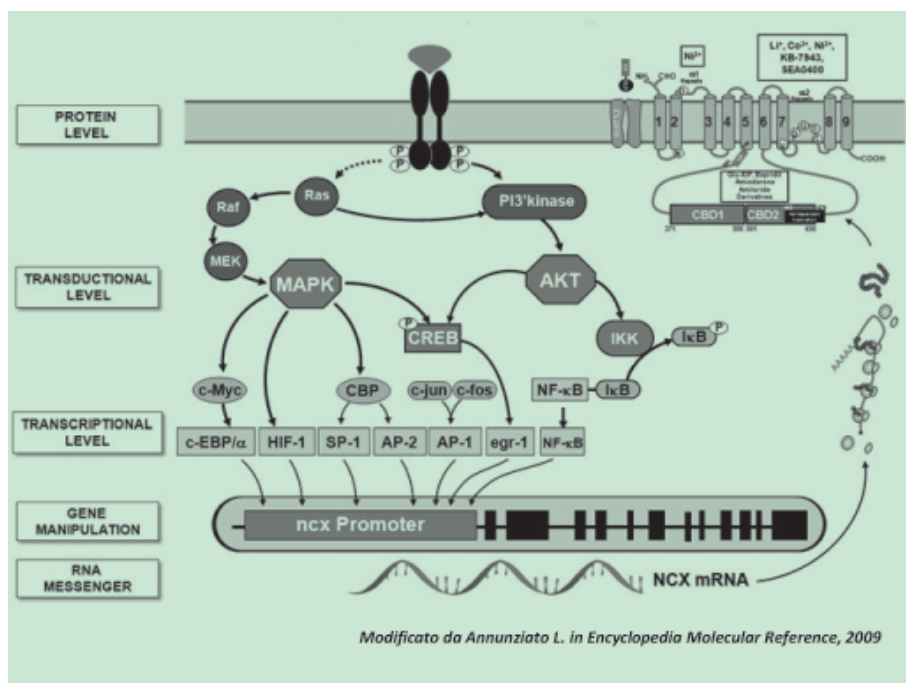


Figura 1. Modulazione farmacologica dell'espressione e dell'attività delle isoforme NCX

depolarizzazione che si irradia dal core ischemico determina una riduzione dell'espressione di NCX2 in tutto il cervello (Boscia et al., 2006).

Le tre isoforme proteiche di NCX presentano inoltre una diversa sensibilità a fattori intracellulari come l'ATP. Infatti, mentre NCX1 e NCX2 richiedono la presenza di ATP per funzionare, sebbene non siano delle pompe, l'isoforma NCX3 può funzionare anche in assenza di questa molecola (Secondo et al., 2007). Questa diversa sensibilità di ciascuna isoforma ai cambiamenti dei livelli di ATP nei neuroni può avere rilevanti conseguenze in corso di ischemia cerebrale.

L'espressione proteica e l'attività funzionale di NCX1 aumentano nelle cellule microgliali che invadono il core ischemico

Le cellule microgliali rappresentano una delle prime popolazioni non neuronali che rispondono al danno ischemico, le cui numerose funzioni, che includono variazioni morfologiche, proliferazione, migrazione, aumento dell'espressione e del rilascio di fattori neurotrofici o citotossici, fagocitosi, sono calcio-dipendenti (Hanisch and Kettenmann, 2007). Recenti studi condotti nei nostri laboratori di ricerca hanno dimostrato che l'espressione proteica e l'attività funzionale di NCX1 risultano up-regolate nelle cellule microgliali in risposta al danno ischemico (Boscia et al., 2009). L'espressione proteica di NCX1 è stata valutata in vivo, nel cervello di animali sottoposti ad un modello di ischemia cerebrale, mediante esperimenti di analisi immunostochimica, sia nelle regioni periischemiche che nel core 1, 3 e 7 giorni dopo l'induzione del danno ischemico. I risultati di questo studio hanno rilevato un progressivo aumento del segnale di NCX1 nelle cellule microgliali identificate che invadono il core ischemico. Nell'am-

bito delle diverse popolazioni microgliali l'espressione proteica di NCX1 è risultata essere limitata al fenotipo tondeggianti "fagocitario", caratteristico della microglia all'ultimo stadio di attivazione (Hanisch and Kettenmann, 2007).

Esperimenti di microfluorimetria ed elettrofisiologia, condotti sia in cellule microgliali isolate ex vivo dal core sia in vitro su colture di cellule microgliali BV2 esposte a privazione di ossigeno e glucosio, hanno dimostrato che l'aumento dell'espressione proteica di NCX1 nelle cellule microgliali è accompagnato da un aumento della sua attività funzionale, in particolare nella modalità operativa reverse. In queste stesse condizioni sperimentali l'espressione proteica delle altre due isoforme dello scambiatore NCX2 ed NCX3 risultava, al contrario di NCX1, down-regolata. Infine, studi di silenziamento genico hanno dimostrato che la sola isoforma NCX1 gioca un ruolo importante nelle cellule microgliali attivate durante un insulto ipossico. La presenza di NCX1 nelle cellule microgliali che invadono il core suggerisce che questo scambiatore potrebbe svolgere un ruolo importante nel regolare le diverse attività microgliali nel cervello post-ischemico. Infatti, tali cellule agiscono come "cellule spazzino" nel cervello danneggiato. L'eliminazione fagocitica di strutture che hanno perso la loro funzione come la mielina, i dendriti e frammenti di cellule necrotiche, è considerata un effetto benefico e rappresenta un requisito indispensabile per i tentativi di riparo che si attivano in seguito al danno ischemico. I risultati dei nostri studi suggeriscono, dunque, che la modulazione farmacologica dello scambiatore NCX1 durante l'ischemia cerebrale potrebbe rappresentare una utile strategia non solo per ridurre il danno ischemico, ma anche per stimolare importanti attività microgliali indispensabili per l'attivazione di processi riparativi nel cervello post-ischemico.

Modelli di topi transgenici per validare NCX1 come bersaglio farmacologico per lo sviluppo di nuovi interventi terapeutici

Per caratterizzare il ruolo dell'isoforma NCX1 nell'ischemia cerebrale, nel nostro laboratorio sono stati generati due nuovi ceppi di topi transgenici inducibili nei quali l'espressione di questa isoforma nelle cellule neuronali può essere ridotta o incrementata mediante l'iniezione del farmaco tamoxifene. Ciascun ceppo transgenico generato, knock-in e knock-out, possiede nel proprio genoma un gene chimerico costituito dal cDNA della Cre recombinasi fuso con il cDNA del recettore degli estrogeni mutato per legare specificamente il tamoxifene (ERT). Questo gene chimerico è trascritto mediante il promotore della Calmodulina chinasi II (CaMKIIalpha) che permette di esprimere la Cre ricombinasi solo nei neuroni. La funzione di questa ricombinasi, attivata dal tamoxifene, è quella di riconoscere ed escindere delle sequenze LoxP poste in punti strategici del genoma.

Nel genoma dei topi knock-out condizionali per NCX1 le sequenze LoxP sono poste ai lati dell'esone 11 del gene endogeno di *ncx1*. Quando il tamoxifene lega ed attiva la Cre ricombinasi, quest'ultima escinde dal DNA genomico l'esone del gene *ncx1* che codifica per una regione funzionalmente importante per la proteina.

Nel genoma dei topi knock-in condizionali per NCX1.4, la più abbondante forma di splicing neuronale di NCX1, le sequenze LoxP sono poste ai lati di una tripla sequenza di poliadenilazione che impedisce l'espressione di un cDNA codificante per NCX1.4. In questo caso quando il tamoxifene lega ed attiva la Cre ricombinasi, quest'ultima rende possibile la trascrizione del gene esogeno NCX1.4, causando un aumento dell'espressione nei neuroni.

I risultati ottenuti in modelli ani-

mali di ischemia cerebrale focale hanno dimostrato il ruolo neuroprotettivo di questa proteina. Nei topi in cui l'espressione neuronale di NCX1 è notevolmente ridotta è stato osservato un significativo peggioramento del danno ischemico cerebrale rispetto ai wild-type, mentre nei topi in cui NCX1 è iperespresso nei neuroni è stata osservata una notevole riduzione del volume infartuato.

La famiglia degli scambiatori $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ potassio-dipendenti come potenziali bersagli terapeutici nell'ischemia cerebrale

Gli scambiatori NCKXs differiscono da NCXs nella loro dipendenza assoluta dagli ioni K^+ e nella loro minore velocità di trasporto degli ioni Ca^{2+} (Schwarz e Benzer, 1997; Blaustein e Lederer, 1999). Quando il gradiente di sodio è ridotto, NCKX, sfruttando il gradiente di ioni potassio è in grado di estrarre il calcio in modo più efficiente rispetto a NCX (Lee et al., 2002). Sebbene sia nota l'importanza di NCKX2 nel controllo dell'omeostasi del Na^+ e del Ca^{2+} (Visser et al., 2007) e sebbene NCKX2 sia l'isoforma maggiormente espressa nei neuroni, in quelle regioni che sono direttamente coinvolte nell'insulto ischemico, dove svolge importanti funzioni fisiologiche, il suo ruolo in tale condizione patologica non era mai stato investigato. I dati ottenuti nei nostri laboratori di ricerca dimostrano che NCKX2 è coinvolto nello sviluppo della lesione ischemica e che la sua espressione è significativamente modulata in corso di ischemia. Inoltre, sia il silenziamento con oligonucleotidi antisense che la delezione genica di NCKX2 in topi knock-out determina un significativo peggioramento del danno ischemico. A conferma dei dati ottenuti in vivo, studi in vitro hanno evidenziato una maggiore vulnerabilità ed un maggiore incremento della concentrazione di

calcio intracellulare in condizioni di ipossia in neuroni corticali ottenuti da topi $\text{nckx2}^{-/-}$ rispetto ai neuroni ottenuti da topi wild type (Cuomo et al., 2008).

Alla luce di tali risultati, NCX1, NCX3 e NCKX2 emergono come nuovi bersagli da analizzare nello studio dei meccanismi molecolari coinvolti nell'ischemia cerebrale. Il disegno di molecole in grado di attivare tali proteine potrebbe rappresentare un nuovo approccio terapeutico per il trattamento dell'ictus cerebrale.

Antitrombina (AT) come nuovo approccio terapeutico nel trattamento dell'ischemia cerebrale

La trombina, una serina-proteasi generata dal taglio proteolitico della protrombina, oltre a svolgere un ruolo cruciale nel processo di formazione della fibrina, svolge anche un'azione extravasale mediante l'attivazione dei recettori PAR a livello cerebrale (Macfarlane et al., 2001), recettori accoppiati a proteina G attivati dal taglio proteolitico mediato dalla trombina. È stato dimostrato che topi KO per il recettore PAR1 mostrano una riduzione del volume ischemico di 3 volte rispetto agli animali wild type (Junge et al., 2003). Recenti evidenze hanno dimostrato che l'infusione intracerebrale dell'inibitore della trombina, irudina, riduce il volume ischemico e migliora i deficit neurologici (Karabiyikoglu et al., 2004), ma solo se somministrato 75 minuti dopo l'inizio dell'occlusione e 15 minuti prima della riperfusione. Inoltre, è stato anche dimostrato che i livelli di AT, una glicoproteina appartenente alla famiglia delle serpine in grado di bloccare la formazione e l'attività della trombina, si riducono in pazienti in cui si è manifestato un episodio di ischemia cerebrale (Haapaniemi et al., 2002). Questi dati hanno rappresentato le premesse per proporre l'utilizzo dell'AT nel trattamento farmacologico dei pazienti che manifestano

un episodio di ischemia cerebrale. La validità di tale ipotesi è stata dimostrata nei nostri laboratori mediante esperimenti in vivo utilizzando topi e ratti sottoposti rispettivamente ad occlusione transitoria o permanente dell'arteria cerebrale media. I risultati preclinici da noi ottenuti dimostrano che la somministrazione di AT in un intervallo di tempo compreso tra 3 e 6 ore dall'inizio dell'evento ischemico determina una significativa riduzione del volume ischemico e un sensibile miglioramento dei deficit neurologici generali e focali in due diversi modelli di ischemia cerebrale in vivo (Cuomo et al., 2007). Il meccanismo dell'effetto neuroprotettivo non dipende dall'azione anticoagulante dell'AT, dal momento che i risultati di questo studio non evidenziano una modifica del flusso ematico cerebrale negli animali trattati. Inoltre, considerato che l'AT inizia ad essere somministrata dopo 3 ore dall'induzione dell'evento ischemico, eventuali trombi formati sarebbero già organizzati in tale intervallo di tempo, quindi l'inibizione dell'azione della trombina non risulterebbe in un effetto neuroprotettivo. Pertanto, è verosimile ipotizzare che l'azione farmacologica dell'AT nell'ischemia cerebrale possa dipendere dall'inattivazione di altri meccanismi extravasali trombina-dipendenti, quali l'attivazione dei recettori PAR a livello cerebrale. I risultati ottenuti impiegando l'AT suggeriscono numerosi vantaggi derivanti dalla somministrazione di tale molecola per il trattamento dei danni cerebrali secondari all'ischemia cerebrale. Tra questi la possibilità di impiegare il farmaco in una finestra temporale sufficientemente ampia e la disponibilità di una via di somministrazione particolarmente agevole, quale la via intraperitoneale, costituiscono i requisiti fondamentali per concepire l'applicazione clinica di tale molecola nel trattamento farmacologico dell'ischemia cerebrale.

BIBLIOGRAFIA

1. Annunziato, L., Pignataro, G., Di Renzo, G.F. Pharmacology of brain Na⁺/Ca²⁺ exchanger: from molecular biology to therapeutic perspectives. *Pharmacol Rev*, 2004. 56: p. 633-654.
2. Annunziato, L., Castaldi, M., Pignataro, G., Secondo, A., Molinaro, P. Glutamate-independent calcium toxicity: introduction. *Stroke*, 2007. 38: p. 661-664
3. Annunziato, L., Molinaro, P., Secondo, A., Pannaccione, A., Scorziello, A., Pignataro, G., Cuomo, O., Sirabella, R., Boscia, F., Spinali, A., Di Renzo, G.F. The Na⁺/Ca²⁺ Exchanger: A Target for Therapeutic Intervention in Cerebral Ischemia. In *New Strategies in Stroke Intervention*, Annunziato ed., Springer, 2009a. p. 65-87.
4. Annunziato, L. Na⁺/Ca²⁺ Exchangers. In *Encyclopedia of Molecular Pharmacology*, Offermanns, S. and Rosenthal, W. eds., Springer, 2009b. p. 801-808.
5. Blaustein, M.P., Lederer, W.J. Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev*, 1999. 79: p. 763-854.
6. Boscia, F., Gala, R., Pannaccione, A., Secondo, A., Scorziello, A., Di Renzo, G., Annunziato, L. NCX1 expression and functional activity increase in microglia invading the infarct core. *Stroke*, 2009. 40: p. 3608-3617.
7. Boscia, F., Gala, R., Pignataro, G., de Bartolomeis, A., Cicale, M., Ambesi-Impiombato, A., Di Renzo, G., Annunziato, L. Permanent focal brain ischemia induces isoform-dependent changes in the pattern of Na⁺/Ca²⁺ exchanger gene expression in the ischemic core, peri-infarct area, and intact brain regions. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006. 26: p. 502-517.
8. Cai, X. and Lytton, J. The cation/Ca(2⁺) exchanger superfamily: phylogenetic analysis and structural implications. *Mol Biol Evol*, 2004. 21: p. 1692-1703.
9. Cheng, Y.D., Al-Khoury, L., Zivin, J.A. Neuroprotection for ischemic stroke: two decades of success and failure. *Neuro Rx*, 2004. 1: p. 36-45.
10. Cuomo, O., Gala, R., Pignataro, G., Boscia, F., Secondo, A., Scorziello, A., Pannaccione, A., Viggiano, D., Adornetto, A., Molinaro, P., Li, X-F., Lytton, J., Di Renzo, G., Annunziato, L. A critical role for the potassium-dependent sodium-calcium exchanger NCKX2 in protection against focal ischemic brain damage. *J Neurosci*, 2008. 28: p. 2053-2063.
11. Cuomo, O., Pignataro, G., Gala, R., Scorziello, A., Gravino, E., Piazza, O., Tufano, R., Di Renzo, G., Annunziato, L. Antithrombin reduces ischemic volume, ameliorates neurologic deficits, and prolongs animal survival in both transient and permanent focal ischemia. *Stroke*, 2007. 38: p. 3272-3279.
12. Dong, H., Dunn, J., Lytton, J. Stoichiometry of the Cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchanger NCX1.1 measured in transfected HEK cells. *Biophys J*, 2002. 82: p. 1943-1952.
13. Formisano, L., Saggese, M., Secondo, A., Sirabella, R., Vito, P., Valsecchi, V., Molinaro, P., Di Renzo, G., Annunziato, L. The two isoforms of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX1 and NCX3, constitute novel additional targets for the pro-survival action of Akt/protein kinase B pathway. *Mol Pharmacol*, 2008. 73: p. 727-737.
14. Gomez-Villafuertes, R., Torres, B., Barrio, J., Savignac, M., Gabellini, N., Rizzato, F., Pintado, B., Gutierrez-Adan, A., Mellström, B., Carafoli, E., Naranjo, J.R. Downstream regulatory element antagonist modulator regulates Ca²⁺ homeostasis and viability in cerebellar neurons. *J Neurosci*, 2005, 25: p. 10822-10830.
15. Haapaniemi, E., Tatlisumak, T., Soenne, L., Syrjälä, M., Kaste, M. Natural anticoagulants (antithrombin III, protein C, and protein S) in patients with mild to moderate ischemic stroke. *Acta Neurol Scand*, 2002. 105: p. 107-114.
16. Hanisch, U.K., Kettenmann, H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci*, 2007.10: p. 1387-1394.
17. Junge, C.E., Sugawara, T., Mannaioni, G., Alagarsamy, S., Conn, P.J., Brat, D.J., Chan, P.H., Traynelis, S.F. The contribution of protease-activated receptor 1 to neuronal damage caused by transient focal cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003. 100: p. 13019-13024.
18. Karabiyikoglu, M., Hua, Y., Keep, R.F., Ennis, S.R., Xi, G. Intracerebral hirudin injection attenuates ischemic damage and neurologic deficits without altering local cerebral blood flow. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004. 24: p. 59-66.
19. Lee, S.H., Kim, M.H., Park, K.H., Earm, Y.E., Ho, W.K. K⁺-dependent Na⁺/Ca²⁺ exchange is a major Ca²⁺ clearance mechanism in axon terminals of rat neurohypophysis. *J Neurosci*, 2002. 22.
20. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev*, 1999.79: p.1431-568.
21. Lytton, J., Li, X.F., Dong H., Kraev, A. K⁺-dependent Na⁺/Ca²⁺ exchangers in the brain. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 976: p. 382-393.
22. Macfarlane, S.R., Seatter, M.J., Kanke, T., Hunter, G.D., Plevin, R. Proteinase-activated receptors. *Pharmacol Rev*, 2001. 53: p. 245-282.
23. Molinaro, P., Cuomo, O., Pignataro, G., Boscia, F., Sirabella, R., Pannaccione, A., Secondo, A., Scorziello, A., Adornetto, A., Gala, R., Viggiano, D., Sokolow, S., Herchuelz, A., Schurmans, S., Di Renzo, G., Annunziato, L. Targeted disruption of Na⁺/Ca²⁺ exchanger 3 (NCX3) gene leads to a worsening of ischemic brain damage, *J Neurosci*, 2008. 28: p. 1179-1184.
24. Pignataro, G., Gala, R., Cuomo, O., Tortiglione, A., Giaccio, L., Castaldo, P., Sirabella, R., Matrone, C., Canitano, A., Amoroso, S., Di Renzo, G., Annunziato, L. Two sodium/calcium exchanger gene products, NCX1 and NCX3, play a major role in the development of permanent focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2004. 35: p. 2566-2570.
25. Schwarz, E.M. and Benzer, S. Calx, a Na-Ca exchanger gene of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. 94: p. 10249-10254.
26. Secondo, A., Staiano, R.I., Scorziello, A., Sirabella, R., Boscia, F., Adornetto, A., Valsecchi, V., Molinaro, P., Canzoniero, L.M., Di Renzo, G., Annunziato, L. BHK cells transfected with NCX3 are more resistant to hypoxia followed by reoxygenation than those transfected with NCX1 and NCX2: Possible relationship with mitochondrial membrane potential. *Cell Calcium*, 2007. 42: p. 521-535.
27. Secondo, A., Pannaccione, A., Molinaro, P., Ambrosino, P., Lippiello, P., Esposito, A., Cantile, M., Khatri, P.R., Melisi, D., Di Renzo, G., Annunziato, L. Molecular pharmacology of the amiloride analog 3-amino-6-chloro-5-((4-chloro-benzyl)amino)-n-(((2,4-dimethylbenzyl)amino)iminomethyl)pyrazinecarboxamide (CB-DMB) as a paninhibitor of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger isoforms NCX1, NCX2 and NCX3 in stably transfected cells., *J Pharmacol Exp Ther*, 2009. 331: p. 521-535.
28. Sirabella, R., Secondo, A., Pannaccione, A., Scorziello, A., Valsecchi, V., Adornetto, A., Bilo, L., Di Renzo, G., Annunziato, L. Anoxia-induced NF-κB-dependent upregulation of NCX1 contributes to Ca²⁺ refilling into endoplasmic reticulum in cortical neurons. *Stroke*, 2009. 40: p. 922-929.
29. Tortiglione, A., Pignataro, G., Minale, M., Secondo, A., Scorziello, A., Di Renzo, G.F., Amoroso, S., Caliendo, G., Santagada, V., Annunziato, L. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 976: p. 408-12.
30. Visser, F., Valsecchi, V., Annunziato, L., Lytton, J. Exchangers NCKX2, NCKX3, and NCKX4: Identification of Thr-551 as a key residue in defining the apparent K⁺ affinity of NCKX2. *J Biol Chem*, 2007. 282 : p. 4453-4462.
31. Weinstein, P.R., Hong, S., Sharp, F.R. Molecular identification of the ischemic penumbra. *Stroke*, 2004. 35: p. 2666-2670.

Un nuovo ed inaspettato ruolo per gli antagonisti dei recettori NMDA nella depressione grave

Flavio Moroni

Dipartimento di Farmacologia Preclinica e Clinica, Università degli Studi di Firenze

I meccanismi molecolari della trasmissione eccitatoria sono stati in gran parte chiariti nel corso degli anni '80 e '90 dello scorso secolo, grazie all'attività dei numerosi gruppi di ricerca sia accademici che dell'industria farmaceutica, che in quegli anni accettarono definitivamente l'idea che il glutammato poteva essere il principale neurotrasmettitore eccitatorio usato dalla gran parte dei neuroni dei mammiferi. Furono ottenute informazioni significative sulle numerose proteine che formano i recettori glutamatergici sia di tipo ionotropo che metabotropo, furono identificati un numero impressionante di agonisti, antagonisti o modulatori dei recettori e fu ben dimostrato che molte funzioni proprie del cervello (dalla percezione ordinata delle sensazioni e del dolore, all'apprendimento, alla memoria, alla sopravvivenza dei neuroni, al controllo della funzione motoria) avvengono grazie alla liberazione di glutammato a livello sinaptico ed alla sua interazione con i diversi tipi di recettore.

Dato che molte osservazioni sperimentali suggerivano che un'alterazione della neurotrasmissione glutamatergica era alla base di patologie importanti quali le convulsioni, la morte neuronale ischemica od ipoglicemica, la demenza ed altre malattie neurodegenerative l'industria farmaceutica riteneva possibile ottenere farmaci innovativi per la terapia dell'epilessia, dell'ictus, dell'arresto cardiaco, delle malat-

tie neurodegenerative (Alzheimer, Parkinson, Huntington, SLA etc), del dolore neuropatico, delle malattie dell'apprendimento e dello sviluppo etc. da molecole attive sui differenti recettori al glutammato. Purtroppo i risultati clinici ottenuti non sono stati pari alle speranze che la ricerca di base aveva generato e gli unici farmaci in commercio che agiscono prevalentemente sulla sinapsi glutamatergica sono un anestetico generale (la ketamina) ed una molecola capace di ritardare l'insorgere di alcune forme demenziali (la nemantina).

Negli ultimi due/tre anni, tuttavia, l'interesse scientifico ed industriale per le molecole attive sui recettori del glutammato è stato risvegliato dai risultati ottenuti nel corso di alcune sperimentazioni cliniche apparentemente ben eseguite che hanno dimostrato che gli antagonisti dei recettori NMDA sono estremamente attivi nel ridurre rapidamente la sintomatologia della depressione.

In realtà, a ben pensarci, questa informazione non dovrebbe essere considerata così rivoluzionaria e dovrebbe apparire persino ovvia (quasi come la caduta della mela di Newton): non è necessario essere dei farmacologi per sapere che è possibile combattere i sintomi della depressione semplicemente bevendo dosi generose di alcool (molti alcolisti sono dei depressi). Tutti i farmacologi poi sanno bene che l'etanolo (a concentrazioni relativamente alte) inibisce i recettori

NMDA. Pertanto dovrebbe essere ragionevole ipotizzare che l'inibizione dei recettori NMDA potrebbe ridurre la sintomatologia della depressione. Sarebbe incredibile constatare che nessun farmacologo clinico (e fra questi include il sottoscritto, che dal giorno della laurea vede alcolisti e depressi quasi ogni giorno e che da almeno 30 anni si occupa di recettori NMDA) abbia mai tentato di organizzare uno studio clinico volto a migliorare il tono dell'umore utilizzando degli antagonisti dei recettori NMDA (che ovviamente mimano alcuni degli effetti dell'etanolo).

Recettori NMDA

L'NMDA attiva un particolare tipo di recettori-canali dotati di cinetiche elettrofisiologiche piuttosto lente (dell'ordine delle centinaia di millesecundi) e di elevata permeabilità agli ioni Ca^{2+} . Il complesso recettore NMDA-canale al Ca^{2+} è formato da più sub-unità proteiche NR1 e da almeno una delle sub-unità NR2A, NR2B, NR2C, NR2D ed in molti casi anche da NR3A o NR3B. Per attivare questo complesso è necessaria la presenza sia di glutammato, che interagisce con le sub-unità NR2, che della glicina o della D-serina, che interagiscono invece con la sub-unità NR1. È necessaria inoltre una sufficiente depolarizzazione della membrana post-sinaptica in modo da rimuovere il blocco che lo ione Mg^{2+} esercita a livello

del canale ionico. Il canale è finemente modulato dalla presenza di alcune poliamine, dall'acido chinurenico, dalla concentrazione extracellulare di protoni, dallo stato di ossido-riduzione dei gruppi -SH presenti nelle proteine del complesso recettoriale e dall'attivazione o meno dei recettori metabotropi mGluR1 o mGluR5. L'influsso di Ca^{2+} mediato dall'attivazione del recettore per l'NMDA è finemente regolato in quanto può mediare importanti effetti biologici. Per esempio può avere azioni trofiche specie durante la formazione dei contatti sinaptici, può regolare l'efficienza della trasmissione sinaptica (ad esempio contribuisce al potenziamento ed alla depressione sinaptica, LTP o LTD) ed infine può anche attivare processi che sfociano nella morte neuronale eccito-tossica.

Il recettore NMDA si distingue quindi da tutti gli altri recettori-canale per il fatto di essere permeabile agli ioni solo in condizioni di depolarizzazione (blocco da Mg^{2+}) e di richiedere due neurotrasmettitori (glicina e glutammato) per essere attivato.

Recettore NMDA e depressione

Come sopra accennato, nel corso degli ultimi venti anni dello scorso secolo la maggior parte dei numerosi ricercatori che si sono occupati del ruolo dei recettori NMDA nella funzione cerebrale hanno studiato i processi di apprendimento e della memoria, la trasmissione delle sensazioni dolorose ed il dolore neuropatico (qualche volta interpretato come una forma di memoria) e soprattutto i meccanismi della "eccitazione abnorme" (leggi epilessia) fino all'"eccitotossicità". Tutti eravamo convinti che molecole capaci di ridurre la trasmissione mediata dall'attivazione di questi recettori sarebbero state utili per trattare l'epilessia, il dolore neuropatico, il danno ischemico cerebrale (quindi ictus, trauma cranico ed arresto cardiaco) e, soprattutto, avrebbero

potuto ritardare o ridurre la devastante progressione delle malattie neurodegenerative (Alzheimer, Parkinson, Huntington, SLA, atassie cerebellari etc). Purtroppo, i primi studi clinici dimostrarono che gli antagonisti dei recettori NMDA, a dosi terapeutiche, potevano causare una sintomatologia dispercettiva con franche allucinazioni e queste osservazioni portarono ad un generale ripensamento sull'opportunità di sviluppare questo tipo di molecole ed all'abbandono di ambiziosi programmi di ricerca che in qualche caso erano stati generosamente finanziati sia dalle Università che dall'industria farmaceutica.

In quegli anni (1980-1999), era stato anche notato che molecole capaci di antagonizzare i recettori NMDA potevano essere attive in modelli animali capaci di predire un'attività antidepressiva (Porsolt test, learned helplessness, footshock-induced aggression). Era stato anche dimostrato che il trattamento cronico con gli antidepressivi usati clinicamente (triciclici o SSRI) portava a diminuire la risposta dei recettori NMDA nella corteccia di roditori. Dato che gli antagonisti NMDA avevano attività psicomimetiche, queste osservazioni non avevano suscitato particolare interesse né nella comunità scientifica né nell'industria farmaceutica. Anche un primo studio clinico pubblicato nel 2000 (Berman et al., 2000) ed eseguito su 7 pazienti con depressione maggiore nei quali veniva somministrata ketamina endovena (0.5 mg/kg, una dose sub anestetica) e veniva rilevato un significativo miglioramento della sintomatologia depressiva, veniva considerato più come una dimostrazione teorica del coinvolgimento dei recettori NMDA nelle malattie mentali che non un'osservazione importante per lo sviluppo di terapie innovative nella depressione. A distanza di sei anni da quel primo lavoro clinico, una più impegnativa ricerca viene pubblicata da Zarate e collaboratori (2006) ed evidenzia

l'effetto della ketamina somministrata a 18 pazienti depressi e che non rispondevano al trattamento con vari tipi di farmaci antidepressivi. Lo studio è stato condotto in doppio cieco ed ha dimostrato che dopo una singola dose del farmaco, il 70 per cento dei pazienti ha manifestato miglioramenti apprezzabili dopo appena due ore e il 30 per cento addirittura l'azzeramento dei sintomi entro un giorno dall'iniezione. I benefici del trattamento si sono osservati anche nei sette giorni successivi al trattamento. Ad entusiasmo, i ricercatori è sia la velocità d'azione della ketamina, poiché gli antidepressivi classici hanno bisogno in media di un periodo da tre a sei settimane di trattamento perché si possano apprezzare dei risultati, sia l'entità del miglioramento (i sintomi della depressione sono di fatto eliminati in una buona percentuale di soggetti). Le implicazioni che derivano dal riuscire a trattare rapidamente la depressione maggiore in pazienti che non rispondono alla terapia tradizionale sono ovviamente significative.

Purtroppo, la ketamina (come il suo analogo strutturale fenciclidina) è non solo un farmaco utilizzato come anestetico generale, ma anche una sostanza d'abuso che causa allucinazioni e sedazione e che induce dipendenza. Si tratta di una cosiddetta "club drug" abusata spesso anche in ambito sanitario. È difficile pertanto pensare ad un suo uso su larga scala. Nei casi disperati perché non rispondono alla terapia, tuttavia, con particolare precauzioni, i medici forse potrebbero prendere in considerazione il rapporto rischio/beneficio ed usare questa molecola in popolazioni molto ben studiate di depressi.

Le informazioni accumulate sulla struttura dei recettori NMDA e sulla possibilità di modificarne la funzione hanno portato a riattivare programmi di ricerca che sembravano del tutto abbandonati. In particolare sono state "ripescate"

molecole che avevano una certa selettività d'azione su sottotipi di recettore NMDA quali i recettori formati dall'assemblaggio di NR1 ed NR2B, con la speranza che la loro attività psicomimetica sia significativamente inferiore a quella della ketamina. Osservazioni cliniche preliminari hanno infatti dimostrato che alcuni antagonisti selettivi della subunità NR2B dei recettori NMDA (ad esempio CP-101,606 o Traxoprodil) (Preskorn et al., 2008), ove somministrati endovena a pazienti depressi che non rispondono al trattamento con SSRI, riducono drasticamente i sintomi della depressione il giorno successivo all'infusione e questa risposta viene mantenuta per almeno 5 giorni. Purtroppo, anche Taxoprodil, come la ketamina, ove somministrato endovena, ha presentato effetti psicomimetici in maniera dose-dipendente. Sono in corso studi clinici con antagonisti selettivi delle subunità NR2B dei recettori NMDA somministrati per os. I risultati che emergeranno da questi studi dovrebbero permettere di valutare i rischi ed i benefici dell'uso degli antagonisti NMDA nei numerosi pazienti che non rispondono al trattamento antidepressivo con dosi appropriate dei comuni farmaci della depressione. In particolare dovranno chiarire se è possibile avere una risposta antidepressiva per dosi che non hanno effetti psicomimetici. Non c'è dubbio infatti che molti pazienti rimangono depressi nonostante appropriati cicli terapeutici con i farmaci o le procedure finora utilizzate per il trattamento della depressione (triciclici, SSRI, SNRI, inibitori delle MAO, ed anche elettroshock). Questo significa che farmaci innovativi per questa comune patologia sono assolutamente necessari. Ovviamente è probabile che gli antagonisti dei recettori NMDA abbiano una serie di effetti collaterali che non ne permettono l'uso in particolari pazienti. È facile prevedere che questi farmaci possono essere estremamente dannosi nelle fasi

di accrescimento, facilitare episodi allucinatori, ridurre le capacità di apprendimento e causare una grave forma di dipendenza. Nel ratto gli antagonisti dei recettori NMDA causano vacuolizzazione in alcune aree della corteccia cingolata e questo dovrà essere attentamente valutato nell'uomo. Nell'uso cronico, poi, questi farmaci dovranno superare i test di carcinogenicità e di genotossicità e, come per ogni altro farmaco attivo sul sistema nervoso, il medico dovrà accuratamente valutare, caso per caso, i benefici ed i rischi della loro somministrazione.

Come agiscono gli antagonisti dei recettori NMDA nella depressione? Perché una molecola come la ketamina che ha un'emivita di circa 2 ore riesce a ridurre la sintomatologia depressiva per almeno 7 giorni?

La risposta a queste domande dovrà essere ottenuta sperimentalmente prima che gli antagonisti dei recettori NMDA siano utilizzati su vasta scala (Skolnick et al., 2009, Machado-Vieira et al., 2009). Esistono tuttavia dati sui roditori che dimostrano che un pre-trattamento con AMPA antagonisti può prevenire l'effetto antidepressivo della ketamina. Altri dati preclinici suggeriscono che molecole capaci di potenziare la trasmissione mediata dai recettori AMPA hanno anch'esse attività antidepressiva in modelli animali. I comuni farmaci antidepressivi (SSRI), ove somministrati cronicamente al ratto, aumentano l'espressione dei recettori AMPA in varie zone del cervello. Sembrerebbe cioè che modificando il rapporto fra attività NMDA ed attività AMPA all'interno della sinapsi eccitatoria sia possibile ottenere un effetto antidepressivo. Queste osservazioni suggeriscono l'esistenza di molti altri "targets" per farmaci in grado di modificare il rapporto fra eccitazione sinaptica mediata dai recettori AMPA e quella mediata dai recettori NMDA. Tali targets possono essere ora esplorati in modelli di depressione maggiore. Alcuni ricercatori

sostengono che l'aumento relativo dell'attività AMPA faciliterebbe una serie di eventi che portano ad un'esaltata espressione di alcuni fattori di crescita che includono BDNF. Proprio l'aumento dell'espressione di BDNF nel cervello di pazienti trattati con ketamina potrebbe essere responsabile dell'attività antidepressiva di questo farmaco. Mentre questa ipotesi è stata confermata sperimentalmente sul ratto, non esistono dati in merito sull'uomo.

Anche se per i pazienti affetti da depressione maggiore resistente al trattamento, forse il meccanismo d'azione della ketamina è meno importante del fatto che la molecola potrebbe ridurre le loro sofferenze, ritengo che accelerare l'uso clinico di queste molecole, prima di averne chiarito sia il meccanismo d'azione che la probabile tossicità, sia da non prendere in considerazione. Gli antagonisti NMDA sono comunque un'opportunità terapeutica per i depressi che sarebbe assurdo sottovalutare specie quando il rischio di suicidio è estremamente elevato.

BIBLIOGRAFIA

1. Berman RM et al (2000) Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry* 47: 351-354.
2. Machado-Vieira R et al (2009) Targeting glutamatergic signaling for the development of novel therapeutics for mood disorders. *Curr Pharm Des* 15: 1595-1611.
3. Preskorn SH et al (2008) An innovative design to establish proof of concept of the antidepressant effects of the NR2B subunit selective N-methyl-D-aspartate antagonist, CP-101,606, in patients with treatment-refractory major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol* 28: 631-637.
4. Skolnick P et al (2009) Glutamate-based antidepressants: 20 years on. *Trends Pharmacol Sci* 30: 563-569.
5. Zarate CA Jr et al (2006) A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* 63: 856-864.

Il virus H1N1 e l'astrologo

Ferdinando Dianzani

Università di Roma "La Sapienza"

Cara Flavia,
ti ringrazio per il tuo interesse al mio stato di salute e sono lieto di comunicarti che, nonostante i voti di qualche catastrofista di mestiere o di vocazione, l'astrologo, cioè io, non solo non è crepato, ma gode di ottima salute. Naturalmente in rapporto all'età che, se con l'esperienza di tanti anni alle prese con i virus, e specialmente con quelli nuovi, mi consente di azzeccare con una certa attendibilità i pronostici, qualche fastidietto me lo procura. Ma veniamo al nostro H1N1 e al mio articolo scritto nel giugno scorso per "Quaderni" e pubblicato nel numero di settembre. Come tutti abbiamo visto, la temuta bufera è passata come un mite venticello; non senza causare qualche doloroso decesso, ma in misura anche minore rispetto a quella che io avevo "ottimisticamente" preventivato. Una prova? L'ultimo comunicato del Ministero della Salute (17 gennaio) fissa a 216 il numero di vittime "correlate alla nuova influenza" che, rapportato al numero stimato dei casi (4.197.000), corrisponde ad una letalità dello 0,005%, quasi cento volte inferiore rispetto a quella media della passata influenza da H3N2. A voler essere pignoli anche questo dato è certamente da ritoccare in basso, dal momento che è stato calcolato su un numero di casi che risulta dalle diagnosi praticate sui loro pazienti da una rete di medici, detti "sentinella", e che pertanto non tiene conto di quanti, e certamente non sono pochi, hanno avuto forme così lievi da non richiedere l'intervento del proprio medico. Sottostime di incidenza anche maggiori erano state propagate anche dai CDC di Atlanta (i cani

da guardia delle malattie infettive USA) che si basavano all'inizio solo sui casi confermati con una diagnosi eziologica e che hanno recentemente corretto il tiro ammettendo che negli USA dall'aprile al settembre 2009 vi siano stati circa 22.000.000 di casi, una sottostima di circa 75 volte; è però probabile che anche queste stime siano in difetto, dato che si basano su un modello matematico (non ne ho mai visto funzionare uno!) che parte dai ricoveri ospedalieri, sia pure con vari fattori di correzione.

Su questa Caporetto delle stime ufficiali tenta di gettare acqua, con ben celato ma comprensibile imbarazzo, anche l'OMS, che in un comunicato del 22 Dicembre sostiene che anche il numero dei decessi potrebbe essere sottostimato per difetto di diagnosi della causa di morte: ipotesi non contestabile, ma sul cui significato numerico e statistico è bene stendere un velo pietoso, anche perché si basa su una affermazione non molto coerente col presupposto e cioè che, poiché i deceduti avevano per la maggior parte altre gravi condizioni patologiche, è possibile che la causa di morte non sia stata attribuita all'H1N1; il che, forzando la sintesi, starebbe a significare che forse i poveretti sarebbero morti lo stesso! E ciò trova conferma in uno studio recentemente pubblicato da vari centri statunitensi in cui si dimostra che nel 91% dei casi autoptici esaminati erano presenti altre gravissime situazioni patologiche o sovrastanti infezioni batteriche (Arch. Pathol. Lab. Med.2010,134, February).

Per concludere, è vero che i morti vanno pianti e compianti, ma se

si vogliono confrontare i 216 morti del nostro Paese con gli oltre 7000 decessi per malattie infettive, i circa 500 per tubercolosi, i 964 per AIDS, i 1650 per epatite virale e i circa 300 per influenza, cui vanno aggiunti una buona parte dei 6750 morti per polmonite riportati dall'ISTAT nel 2006, ci sembra di poter concludere che i danni prodotti dall'H1N1 non hanno avuto un impatto significativo sulle cause di morte per malattie da infezione nel nostro Paese.

E cerchiamo di capire perché: è vero quanto ho già scritto nell'articolo precedente e cioè che i virus, che hanno bisogno del loro ospite per diffondersi, tendono sempre più alla attenuazione che alla virulenza perché più l'ospite è in buona salute, maggiori sono le loro possibilità di diffusione.

Si tratta però di un processo evolutivo che seleziona la progenie virale più "accomodante" rispetto a quella più aggressiva che, per sua natura, finisce sotto terra insieme alle sue vittime.

Questa attenuazione non può avvenire a scapito della attività replicativa, che ne comprometterebbe la trasmissibilità, ma si sviluppa attraverso la acquisizione di una maggiore sensibilità ai meccanismi difensivi aspecifici dell'ospite che, agendo come le sbarre di grafite nella pila atomica di Fermi, non impediscono il flusso di energia ma prevengono la esplosione. Si tratta però di un processo che può richiedere tempo, ed è ciò che si osserva quando un virus che convive pacificamente con il suo abituale ospite animale si trova nelle condizioni adatte per infettarne un altro, ad esempio l'uomo.

Quando ciò accade, i primi casi

sono colpiti duramente, ma i destini della nuova infezione sono solo due: la attenuazione del virus o la sua scomparsa, come è avvenuto ad esempio per la SARS, durata pochi mesi, per le varie epidemie di Ebola, ancora più fugaci, e per le infezioni da virus influenzale aviario H5N1, dotate di elevatissima letalità ma praticamente incapaci di trasmissione interumana.

E allora perché l'H1N1 si è comportato fino dall'inizio come un ospite rispettoso delle regole cercando quindi di causare il minor disagio possibile?

Le cause cominciano a chiarirsi. È stato infatti recentemente dimostrato che il virus, come tutti i virus influenzali di probabile origine aviaria, era adattato da almeno un decennio in un mammifero, il maiale appunto, sviluppando una elevatissima affinità per i recettori dei mammiferi, costituiti da acido sialico con galattoso 2,6 e perdendo quasi totalmente quella per l'acido sialico degli uccelli, con galattoso 2,3 (Emerg.Infect. Dis.Febr.2010). Ciò può avere due conseguenze importanti per la pa-

tologia umana; dato che nell'uomo l'acido sialico con galattoso 2,6 si trova sia nel muco, sia sulla membrana citoplasmatica degli epitelii che tappezzano le alte e medie vie respiratorie, mentre quello con galattoso 2,3 è presente nelle vie più profonde, è logico che la infezione da H1N1 tenda a circoscriversi nel tratto tracheo-bronchiale con scarsa attitudine ad approfondirsi. Inoltre, la grande quantità di muco respiratorio, ricchissimo di acido sialico, può intrappolare il virus come la pania con gli uccelli, un ostacolo che il virus può superare attivando la neuraminidasi, ma è certo che questo impedimento alla diffusione può concedere tempo al sistema immunitario per sviluppare le proprie difese specifiche.

Un'altra osservazione interessante, effettuata in vitro ma che trova conforto nei reperti autoptici, si riferisce al fatto che l'H1N1 è, a differenza dell'H5N1, un debole induttore di citochine pro infiammatorie e ciò potrebbe spiegare come mai lo stress citochinico a livello polmonare, che tanta parte

sembra avere nella patologia respiratoria profonda nella SARS e nelle infezioni umane da virus aviario H5N1, non si osserva con il virus pandemico (JID 2010, 201, 346). Siamo solo agli inizi della ricerca in tal senso, ma mi sembra che le premesse per spiegare il buon carattere dell'H1N1 ci siano tutte.

E quindi che il buon Dio ce la mandi buona! Lo farà? Purtroppo ho qualche dubbio.

È un dato di fatto che le nuove pandemie influenzali si sviluppano quando il virus dominante comincia ad incontrare difficoltà a trovare ospiti sensibili; e vero che si difende con il drift antigenico, di cui ho già parlato, ma esiste comunque il rischio che il nuovo venuto H1N1, ad elevatissima diffusibilità ma un po' troppo buono, possa essere presto scacciato da un altro ospite più prepotente. Ma in questo caso speriamo che crepi l'astrologo, possibilmente non di influenza e prima che ciò si verifichi (altri quaranta anni?).

Un caro saluto a te ed ai lettori.

Donne e malattie cardiovascolari

Silvia Denti, Pier Sergio Saba, Antonello Ganau

Azienda Ospedaliero Universitaria di Sassari

Che nel campo delle malattie cardiovascolari (ma non solo) vi sia una problematica di genere sino ad oggi sottovalutata è un fatto ormai certo e vi è sempre più attenzione verso il "cuore delle donne". Ne danno ampia evidenza due recenti pubblicazioni.

La prima è un supplemento pubblicato dal Canadian Medical Association Journal¹, che ha analizzato 480 pubblicazioni per fare il punto sulle differenze di genere nel campo delle malattie cardiovascolari e avviare una riflessione sulle possibili linee futu-

re di ricerca. Analisi retrospettive suggeriscono infatti che ci siano rilevanti differenze cliniche tra donne e uomini in termini di prevalenza, comparsa, gestione ed esito della malattia, ma in realtà non sono ancora ben note le cause di tali differenze.

La seconda pubblicazione proviene dall'autorevole American Heart Association², che ha declinato al femminile le linee guida sulla prevenzione cardiovascolare.

Tuttavia è ancora "senso comune", persino tra i medici, ritenere

le malattie cardiovascolari un problema sostanzialmente maschile. Non è pertanto superfluo riassumere gli elementi che consentono di affermare che questo luogo comune va sfatato e abbandonato al più presto.

Epidemiologia delle malattie cardiovascolari nelle donne

Le malattie cardiovascolari (MCV) costituiscono la prima causa di ospedalizzazione e morte per la donna in molti paesi³. In particolare, negli Stati Uniti le MCV

sono responsabili di quasi il 39% dei decessi nella popolazione femminile, con percentuali più elevate per la minoranza etnica afro-americana⁴. In Europa le MCV, includendo ictus ischemico e patologie coronariche, rappresentano la principale causa di morte nelle donne e i decessi per MCV sono percentualmente superiori nelle donne rispetto agli uomini⁵.

Anche in Italia la principale causa di morte per le donne è costituita dalle MCV, che sono responsabili del 46.8% di tutti i decessi (130.788 su un totale di 279.352, dato del 2002). Tale percentuale è significativamente superiore a quella dovuta ai tumori, che è pari al 24.8%. Negli uomini, le MCV rappresentano il 37.5% delle cause di morte (104.704 su un totale di 276.315 decessi, nel 2002), mentre i tumori causano il 24.8% dei decessi.

Nelle donne di età inferiore a 75 anni, le malattie ischemiche del cuore costituiscono la percentuale maggiore (31.3%), seguite dalle malattie cerebrovascolari (27.2%). Nelle donne di età superiore a 75 anni le malattie cerebrovascolari sono al primo posto (35.7%) e il numero totale di decessi per MCV è quasi doppio rispetto agli uomini⁶.

Il trend della mortalità per cardiopatia ischemica dal 1970 al 2002 nelle donne ha mostrato una ascesa fino alla metà degli anni '70, seguita da un plateau fra il 1976 e il 1978 per poi iniziare una lenta e graduale discesa.

È interessante notare che i tassi di mortalità più elevati si sono registrati nell'Italia Settentrionale e quelli più bassi nell'Italia Centrale e Meridionale con una differenza molto elevata all'inizio degli anni '70.

Tale differenza si è ridotta gradualmente fino a diventare molto contenuta negli ultimi anni.

I dati del Registro Nazionale degli Eventi Coronarici e Cerebrovascolari⁷ mostrano che il tasso

di eventi coronarici totali (fatali e non) risulta superiore negli uomini rispetto alle donne. Ciò è riscontrato in qualsiasi fascia di età compresa fra i 35 e i 74 anni, coerentemente con quanto riportato in altri paesi, dove il genere femminile risulta avere un "vantaggio" in termini di incidenza inferiore di eventi coronarici, specie in età pre-menopausale, con un "ritardo" di circa 10 anni rispetto all'incidenza maschile. Tale vantaggio pare annullarsi dopo i 75 anni. Tuttavia, la letalità per eventi coronarici risulta superiore nelle donne rispetto agli uomini in tutte le fasce di età.

I fattori di rischio cardiovascolare nelle donne

Per quanto riguarda i fattori di rischio cardiovascolare, diversi studi hanno riportato che il diabete, pur rappresentando un fattore di rischio in entrambi i sessi, è associato ad una mortalità cardiovascolare significativamente maggiore nelle donne rispetto agli uomini. Il diabete sembra pertanto annullare il "vantaggio" delle donne, specialmente di quelle giovani, in termini di prevalenza di malattia cardiovascolare^{8,9}.

L'ipertensione arteriosa costituisce un noto e importante fattore di rischio cardiovascolare per entrambi i sessi. In Italia l'ipertensione arteriosa riguarda in media il 49% delle donne in menopausa. La prevalenza delle donne ipertese è del 45% nel Nord-Ovest, del 48% nel Nord-Est, del 47% al Centro e del 54% nel Sud e Isole. Il valore più alto nelle donne del Sud spiega, almeno in parte, la più elevata mortalità per accidenti cerebrovascolari, di cui la pressione arteriosa costituisce il principale fattore di rischio, in queste regioni.

Per quanto riguarda il profilo lipidico, gli studi riportano differenze qualitative legate al sesso; queste differenze riguardano so-

prattutto la colesterolemia HDL¹⁰, che sembra essere inversamente associata al rischio di cardiopatia ischemica nelle donne piuttosto che negli uomini. Inoltre i trigliceridi aumentano il rischio relativo di cardiopatia ischemica in modo superiore nelle donne rispetto agli uomini, soprattutto in quelle anziane¹¹.

Anche la lipoproteina(a) e l'apolipoproteina(a) sono associate ad un maggiore rischio di cardiopatia ischemica nelle donne¹².

L'obesità è particolarmente presente nelle popolazioni femminili occidentali ed è un fenomeno in aumento, specie nelle donne in postmenopausa.

Fondamentale in questo contesto è il ruolo dell'esercizio fisico, tuttavia dagli studi internazionali sembra che, a parità di quantità di esercizio fisico, le donne abbiano meno benefici in termini di riduzione di peso e aumento di HDL rispetto agli uomini^{13,14}.

Menopausa, disfunzione endoteliale e aterosclerosi

Studiando la relazione tra genere e disfunzione endoteliale, si è osservato che nel sesso maschile l'invecchiamento si accompagna in modo costante e omogeneo all'insorgenza di disfunzione endoteliale, mentre nel sesso femminile la funzione endoteliale si deteriora rapidamente con l'insorgenza della menopausa.

Nell'età fertile gli estrogeni proteggono l'endotelio, mentre in menopausa il deficit di estrogeni aumenta l'espressione del recettore AT1 vascolare, che media la vasocostrizione indotta dall'angiotensina II.

Il quadro ormonale influenza anche i fattori di rischio coronarici. Gli estrogeni favoriscono un profilo lipidico che non predispone alla formazione della placca aterosclerotica.

Il calo estrogenico menopausale, oltre a produrre disfunzione

endoteliale, induce aumento del colesterolo totale e LDL, diminuzione delle HDL e riduzione della sensibilità all'insulina, che favorisce la comparsa del diabete mellito. Lo stato ormonale postmenopausale si associa inoltre ad aumento della pressione arteriosa e del peso corporeo. Rispetto all'età fertile, il pannicolo adiposo si ridistribuisce secondo il modello androide, con aumento del rapporto vita/fianchi, e ciò aumenta la resistenza insulinica e favorisce gli eventi cardiovascolari.

Studi anatomico-patologici dimostrano che nei maschi la formazione della placca aterosclerotica inizia a rendersi evidente verso i 30 anni circa e a partire da questa età compaiono placche coronariche, in fase di avanzata maturazione.

Nella donna la protezione data dall'"ombrello estrogenico" ritarda la formazione delle placche, che compaiono dopo la menopausa. Considerando che la placca impiega dai 15 ai 25 anni per creare nell'arteria un restringimento emodinamicamente significativo, questo spiega perché nel sesso maschile le sindromi coronariche acute insorgano in media dopo i 50 anni, mentre nelle donne questo avviene mediamente 20 anni più tardi, intorno ai 70 anni. Anche l'evoluzione della placca sembra differente.

Negli infarti acuti di donne giovani vengono spesso osservate lesioni coronariche erosive e dissecanti, piuttosto che la classica lesione con rottura della capsula fibrosa e trombo ostruttivo.

Su questa base anatomico-patologica è comprensibile che la terapia trombolitica risulti inefficace in alcune donne, data l'assenza di trombo.

Cardiopatia ischemica e differenze di genere

Il dolore toracico rimane un

sintomo cruciale della cardiopatia ischemica sia nel sesso maschile che nel sesso femminile. La valutazione del dolore toracico costituisce un momento fondamentale nella diagnosi e cura della cardiopatia ischemica nella donna.

La valutazione della cosiddetta "tipicità" del dolore anginoso è ancora oggi un momento cruciale nel processo diagnostico dell'angina e dell'infarto, sia nell'uomo che nella donna, mancando di fatto un test in grado di discriminare, nel momento in cui compare, se quello in corso è un dolore ischemico cardiaco o meno.

I vari mezzi diagnostici (ECG, ecocardiogramma, esami ematochimici) possono essere negativi, sebbene ciò non escluda la diagnosi di cardiopatia ischemica. Molto spesso donne con angina presentano un quadro angiografico non caratterizzato da placche criticamente occludenti il lume vasale e, anzi, nelle donne il dolore della sindrome coronarica acuta ha caratteristiche differenti per sede e tipologia (più spesso localizzato nel dorso e al collo, oppure nel precordio, ma non nella regione retrosternale).

Inoltre, gli altri sintomi che accompagnano la patologia coronarica possono essere differenti, con una maggiore presenza di sintomi non specifici e spesso ignorati o atipici (assenza di sudorazione e presenza più spesso di dispnea, insonnia, agitazione, nausea e vomito), scarsamente presenti nel sesso maschile. È stata descritta una diversità anche per gli stimoli in grado di scatenare il dolore: nell'uomo tipicamente l'esercizio fisico, nella donna l'esercizio mentale o gli eventi ad impronta emotiva importante. Inoltre, nelle donne sono più frequenti gli infarti "silenti", non accompagnati, cioè, da alcuna sintomatologia clinica. Importante ricordare che gli studi volti a determinare la cosiddetta "tipicità" dell'angina

sono stati effettuati in popolazioni a prevalente componente maschile.

Ciò ha certamente contribuito a cattive interpretazioni di tale fondamentale fenomeno clinico. Infine, la distribuzione dell'aterosclerosi nei vasi epicardici potrebbe differire nei due generi¹⁵: negli uomini sarebbe prevalente la presenza di lesioni singole ostruttive/stenosanti, segmentarie, mentre nelle donne sarebbero più frequenti le lesioni multiple o diffuse, con riduzione del calibro del vaso continua, piuttosto che segmentaria.

Farmaci cardiovascolari: si possono usare e si usano allo stesso modo negli uomini e nelle donne?

Vi sono aspetti di farmacocinetica legati al genere femminile, potenzialmente in grado di influenzare una diversa risposta terapeutica rispetto agli uomini.

La minore massa corporea, la più elevata percentuale di tessuto adiposo, il diverso profilo ormonale, che influenza il metabolismo epatico e il legame proteico dei farmaci, e la minore velocità di filtrazione glomerulare, sono tutti elementi potenzialmente in grado di differenziare la risposta terapeutica nella donna rispetto all'uomo. Inoltre le diversità del profilo di rischio cardiovascolare, della diagnosi, dell'eziopatogenesi della cardiopatia ischemica, potrebbero indirettamente influenzare la diversa risposta terapeutica nelle donne.

Riguardo alle evidenze sull'efficacia nelle donne dei farmaci usati per il trattamento e la prevenzione delle malattie cardiovascolari, bisogna tenere presente alcuni importanti limiti degli studi su cui si sono basate le prove di efficacia e sicurezza. Il limite principale è che nella maggior parte dei trials terapeutici il genere maschile è di gran lunga quello più

rappresentato*. Di conseguenza, alcune indicazioni terapeutiche o preventive riguardanti le donne sono state ottenute mediante analisi di sottogruppo, piuttosto che attraverso studi condotti su una popolazione interamente femminile. Inoltre nessuno dei trials è stato condotto in popolazioni mediterranee.

Alcuni studi hanno inoltre evidenziato differenze di alcune strategie terapeutiche o di prevenzione applicate alle malattie cardiovascolari nelle donne, rispetto alla controparte maschile, anche quando tali differenze non siano supportate da studi clinici controllati.

Ad esempio, nel trattamento dell'ipertensione arteriosa, Klungel et al.¹⁶ hanno riportato una disomogeneità di trattamento tra uomini e donne, fra il 1987 e il 1995, in pazienti ipertesi di età compresa fra i 20 e i 59 anni.

In particolare i diuretici erano significativamente più usati nelle donne rispetto ad altre classi di farmaci quali calcio-antagonisti, ACE-inibitori o beta-bloccanti, che invece erano più usati negli uomini. Tale atteggiamento terapeutico non aveva un rationale basato su evidenze che raccomandasse classi di farmaci antipertensivi diverse negli uomini e nelle donne.

Un risultato simile è stato evidenziato anche dallo studio Brisighella, condotto in Italia tra il 1992 e il 1996, sull'uso di farmaci antipertensivi usati in monoterapia.

Tale studio ha mostrato che, nell'arco dei 4 anni studiati, negli uomini l'impiego dei diuretici decresceva, mentre aumentava significativamente l'impiego di calcio-antagonisti e ACE-inibitori.

Questo trend non era presente nella popolazione femminile, dove l'uso dei diuretici era pressoché costante, mentre i calcio-antago-

nisti e gli ACE-inibitori subivano un incremento inferiore rispetto alla popolazione maschile¹⁷.

Un'altra segnalazione sul differente impiego di farmaci cardiovascolari nelle donne, al di fuori dei trials clinici, è stato evidenziato dall'Euro Heart Survey of Stable Angina¹⁸, che ha riportato in donne con angina stabile un uso significativamente minore di aspirina, antiaggreganti, ipolipemizzanti e statine rispetto agli uomini.

Prevenzione cardiovascolare per le donne

L'American Heart Association ha recentemente aggiornato le Linee Guida per la prevenzione del rischio cardiovascolare nella donna, introducendo modifiche sostanziali al testo del 2004 e sottolineando l'importanza di implementare gli studi di genere, a dimostrazione di una maggiore attenzione alla salute cardiovascolare nella donna.

Un importante cambiamento, rispetto alla precedente versione, riguarda la classificazione del rischio cardiovascolare.

Nella versione del 2004 le donne venivano classificate in quattro classi, definite a rischio alto, intermedio, basso, ottimale.

L'aggiornamento raccomanda invece di classificare le donne in sole tre categorie: a rischio ottimale, a rischio, ad alto rischio. L'introduzione della categoria di "rischio ottimale", che corrisponde all'assenza di fattori di rischio, serve a motivare le donne ad adottare o mantenere gli stili di vita più salutari, capaci di minimizzare il rischio modificabile.

La categoria di donne "a rischio" sostituisce le due precedenti categorie di rischio intermedio e

basso, che venivano distinte in base alla probabilità di eventi coronarici predetta dal punteggio di rischio Framingham.

Il rationale per abbandonare questa classificazione deriva dalla considerazione che lo score Framingham, che calcola il rischio coronarico a 10 anni, sottostima il rischio a lungo termine delle donne esposte a uno o più fattori di rischio, in quanto la durata media di vita della donna è assai lunga e la sua aspettativa di vita va bene al di là dei 10 anni considerati nel Framingham.

Ne deriva una sottovalutazione del rischio e conseguentemente della prevenzione. Pertanto si considerano "a rischio", dunque meritevoli di adottare misure preventive, donne con uno o più fattori di rischio per malattia cardiovascolare, o con evidenza di malattia cardiaca o vascolare subclinica con o senza fattori di rischio, oppure sedentarie o che seguono uno stile di vita non salutare. Nelle nuove linee guida si utilizza lo score Framingham solo per identificare la donna ad alto rischio (score risk > 20%). Anche la presenza di calcificazioni coronariche o di placche/ispessimento medio-intimale della carotide identifica donne a rischio elevato.

In Italia l'Istituto Superiore di Sanità - Progetto Cuore - ha elaborato le carte del rischio cardiovascolare, tratte da una popolazione italiana. Le carte italiane sono distinte per genere e sono uno strumento utile, che consente ad ogni donna di conoscere facilmente il proprio rischio cardiovascolare. Tuttavia anche queste carte risentono dello stesso limite delle Linee guida americane del 2004, poiché stimano il rischio a 10 anni.

* In alcuni casi la ragione della minore percentuale di donne arruolate nei grandi trials terapeutici dipende dal fatto che, quando si testa un nuovo farmaco di cui non sono noti i potenziali effetti teratogeni, il protocollo esclude l'arruolamento di donne in età fertile, o richiede l'assoluta certezza che la donna non sia esposta al rischio di gravidanza per tutto il periodo dello studio.

Ne consegue che le carte italiane attribuiscono alle donne un basso rischio anche in presenza di più fattori di rischio cardiovascolari maggiori. Per fare un esempio, una donna di 55 anni con ipercolesterolemia (colesterolo totale di 270 mg/dl) e ipertensione arteriosa (170 mmHg di pressione arteriosa sistolica) risulta avere una probabilità di eventi cardiovascolari a 10 anni inferiore al 5%, cioè si trova nella fascia di rischio più bassa, che le linee guida dell'American Heart Association definiscono "rischio ottimale".

Ma secondo le linee guida americane questo livello di rischio ideale non è compatibile con la presenza di uno o più fattori di rischio. Sarebbe auspicabile che si arrivi anche in Italia a una riflessione su questi aspetti e a produrre specifiche linee guida per la prevenzione cardiovascolare nelle donne italiane, ai fini di una più attenta ed energica prevenzione.

Le linee guida dell'AHA sulla prevenzione nelle donne indicano gli interventi sullo stile di vita e sui maggiori fattori di rischio, gli interventi farmacologici ad azione preventiva e segnalano anche gli interventi da evitare in quanto non efficaci o addirittura dannosi.

Per quanto riguarda gli stili di vita, le donne dovrebbero bandire totalmente il fumo, fare attività fisica anche moderata, avere una dieta ricca di frutta, verdura e fibre, cercare di mantenere un peso costante evitando di ingrassare e dimagrire continuamente.

Tra i maggiori fattori di rischio su cui intervenire vi è la pressione sanguigna, che dovrebbe essere mantenuta intorno a 80/120 mmHg. Importante è anche controllare i livelli di colesterolo e trigliceridi (che devono essere rispettivamente inferiori a 100 mg/dl e 150 mg /dl). Le linee-guida dedicano anche un ampio spazio

a sottolineare con forza l'importanza di continuare a condurre gli studi di genere.

Sesso debole a metà

Dal punto di vista cardiovascolare, si può certamente dire che la donna in età fertile rappresenta il vero sesso forte. È la menopausa a renderla molto più vulnerabile, ad alto rischio di eventi cardiovascolari. Per lungo tempo la medicina clinica ha trascurato di indagare le differenze biologiche di genere e ha continuato a curare le donne come fossero uomini.

Oggi sappiamo che sono necessari studi specifici per comprendere meglio le specificità delle malattie cardiovascolari nelle donne. Servono anche politiche sanitarie mirate a promuovere trattamenti più aggressivi dei fattori di rischio femminili, affinché una attenta opera di prevenzione controbilanci gli effetti negativi della menopausa e attenui il carico di eventi fatali e disabilità che minaccia le donne in età avanzata.

Dato che l'Italia è tra i primi paesi al mondo per età media di vita delle donne e per percentuale di donne anziane sul totale della popolazione (le donne oltre i 65 anni sono il 16%, gli uomini l'11,4%), è indispensabile e urgente che il cuore delle donne venga messo al centro dei programmi nazionali di ricerca biomedica e di prevenzione cardiovascolare.

BIBLIOGRAFIA

1. Pilote L et al. A comprehensive view of sex-specific issues related to cardiovascular disease. *CMAJ* 2007; 176-82.
2. Mosca L et al. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women. *Circulation* 2007; 115: 1481-501.
3. American Heart Association. 2002 Heart and stroke statistical update. Dallas, TX: American Heart Association, 2001.
4. Wenger NK. Coronary heart disease: the female heart is vulnerable. *Prog Cardiovasc Dis* 2003; 46: 199-229.

5. Rodríguez-Artalejo F et al. The association between mortality from ischaemic heart disease and mortality from leading chronic diseases. *Eur Heart J* 2000; 21: 1841-52.
6. www.iss.it/site/mortalità
7. Gruppo di Ricerca del Progetto Registro per gli Eventi Coronarici e Cerebrovascolari. Registro nazionale italiano degli eventi coronarici maggiori: tassi di attacco e letalità nelle diverse aree del paese. *Ital Heart J* 2005; 6 (Suppl 10): 667-73.
8. Lee WL et al. Impact of diabetes on coronary artery disease in women and men: a metaanalysis of prospective studies. *Diabetes Care* 2000; 23: 962-8.
9. Abbott RD et al. . The impact of diabetes on survival following myocardial infarction in men vs women: the Framingham Study. *JAMA* 1998; 260: 3456-60.
10. Manolio TA et al. Cholesterol and heart disease in older persons and women. Review of an NHLBI workshop. *Ann Epidemiol* 1992; 2: 161-76.
11. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3: 213-9.
12. Craig WY et al Lipoprotein(a) as a risk factor for ischemic heart disease: metaanalysis of prospective studies. *Clin Chem* 1998; 44: 2301-6.
13. Kushi LH et al. Physical activity and mortality in postmenopausal women. *JAMA* 1997; 277: 1287-92.
14. Manson JE et al. A prospective study of walking as compared with vigorous exercise in the prevention of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1999; 341: 650-8.
15. Gould KL. Coronary artery stenosis and reversing atherosclerosis. 2nd edition. London: Arnold and Oxford University Press, 1999.
16. Klungel OH et al. Sex differences in antihypertensive drug use: determinants of the choice of medication for hypertension. *J Hypertens* 1998; 16: 1545-53.
17. Borghi C et al Trends in blood pressure control and antihypertensive treatment in clinical practice: the Brisighella Heart Study. *J Hypertens* 2004; 22: 1707-16.
18. Daly C et al. for the Euro Heart Survey Investigators. Gender differences in the management and clinical outcome of stable angina. *Circulation* 2006; 113: 490-8.

Unità di farmacologia clinica (Farmacocinetica, Farmacogenetica, Farmacovigilanza e Fase I), Ospedale “Sacco” Milano

Alberto Scanni

Direttore Generale Azienda Ospedaliera L. Sacco

I recenti sviluppi scientifici pongono come necessità rilevante la costituzione in Italia di Unità operative di Farmacologia clinica, inserite in strutture ospedaliere e che sappiano rispondere a tutte le esigenze della moderna terapia medica.

L'aumento drammatico di risposte imprevedibili ai farmaci, dovute all'effetto combinato di aspetti di variabilità individuale associati alla introduzione di terapie complesse, è un problema infatti sempre più rilevante.

La questione è stata finora affrontata con un approccio essenzialmente empirico, con significativo peggioramento dei rapporti rischio/beneficio e costo/beneficio della terapia, e gravosi oneri a carico del Servizio Sanitario.

I noti fenomeni di immigrazione di persone con background genetico diverso da quello italiano hanno contribuito ad acuire la complessità della situazione.

Le Unità di Farmacologia clinica oggi devono dunque essere in grado di coniugare tutti gli aspetti di analisi e di valutazione del farmaco non soltanto quando somministrato al paziente, ma anche - e prioritariamente - dall'inizio della sua storia. In altre parole, svolgere studi di Fase I su volontario sano. Un aspetto decisivo sia per lo studio dei nuovi farmaci che per la valutazione della bioequivalenza dei farmaci generici e biosimilari ai farmaci

di marca già noti.

Il contesto attuale si presenta particolarmente favorevole a questa sfida; la direttiva europea 2001/20/CE sta provando ad armonizzare le modalità di ricerca sul farmaco in tutti i Paesi europei e coinvolge anche le procedure per la valutazione dei farmaci in Fase I. L'Italia, in passato un po' alla finestra da questo punto di vista, si sta ora muovendo bene a livello governativo per il recepimento di questa normativa, sia grazie ai decreti attuativi recentemente pubblicati, sia grazie alla costituzione dell'Osservatorio nazionale sulla sperimentazione clinica dei medicinali e agli accordi di programma recentemente stipulati da AIFA con le aziende farmaceutiche, grazie ai quali più di 50 progetti di investimento nel farmaco hanno ricevuto un contributo economico statale. Inoltre, un accordo tra AIFA, ISS e Assobiotec promuoverà ulteriormente l'avvio di sperimentazioni di Fase I.

L'ISS grazie al lavoro della Commissione di Fase I ha inoltre significativamente migliorato procedure e tempistiche per la valutazione dei protocolli clinici rendendo l'Italia di nuovo competitiva a livello europeo.

Queste strategie hanno certamente migliorato l'immagine dell'Italia presso le aziende multinazionali e la maggior fiducia

degli sponsor si è già tradotta in un aumento delle richieste di autorizzazione a studi di Fase I sul nostro territorio che sono passate dalle 10 del 2003 alle 43 del 2008. È dunque arrivato il momento di raccogliere appieno la sfida per far risorgere l'Italia ai livelli di eccellenza farmacologica che le sono propri.

L'Azienda Ospedaliera L. Sacco, in collaborazione con l'Università di Milano e in accordo e con il sostegno della Regione Lombardia, ha deciso di contribuire attivamente a questa sfida, costituendo la prima Unità operativa di Farmacologia clinica pubblica in Lombardia. La forza di questa Unità risiede nel fatto che integra in una struttura unica ed in modo coordinato farmacocinetica, farmacogenetica, farmacovigilanza e struttura di Fase I sia per studi su volontari sani che su pazienti oncologici o affetti da AIDS.

La struttura è oggi operativa e si avvale di personale altamente qualificato e di grande esperienza in ogni specifica branca della farmacologia medica.

La dotazione tecnologica è all'avanguardia grazie a un significativo investimento da parte dell'Ospedale per rispondere a requisiti di qualità ed efficienza che lo rendano competitivo in Italia ed in Europa.

I primi passi di questa unità sono positivi e ci attendiamo

dunque che possa contribuire in modo importante al miglioramento della salute pubblica, alla razionalizzazione dei suoi costi e alla ricerca farmacologica sia spontanea che sponsorizzata.

L'Unità per la sua natura di struttura pubblica ha come mission servire l'interesse pubblico in ogni suo aspetto, quindi anche attraverso la messa a disposizione di know-how farmacologico raffinato, ma a costi fortemente competitivi, alle aziende farmaceutiche italiane, alle start up e spin-off biotecnologiche e alle aziende multinazionali che intendano investire in ricerca in Italia accelerando lo sviluppo di lead compounds.

L'Unità potrà cogliere opportunità di ricerca innovativa soprattutto per la sua localizzazione all'interno di un Polo integrato di ricerca che comprende Università, Azienda Ospedaliera e in futuro, quando nascerà la Città della Salute, IRCCS Besta e Istituto Nazionale dei Tumori.

L'organizzazione della struttura

La Unità di Fase I sarà ospitata in un'area dedicata e separata dell'ospedale, in una struttura già accreditata e molto confortevole che accoglie 4 letti monitorati per volontari sani, espandibili a 6, sala ricreazione, studio medici e strutture per la manipolazione del farmaco e lo stoccaggio di campioni biologici.

L'Unità, coordinata da un responsabile medico e dal farmacologo clinico, è dotata di personale medico ed infermieristico specializzato e con lunga consuetudine agli studi clinici.

Il fatto che l'Unità si collochi all'interno di un Ospedale come il Sacco garantisce inoltre la presenza di specialisti in diverse aree terapeutiche che sono in grado di supportare l'Unità con le loro competenze specifiche. Un plus è costituito dalla presenza in staff di

un esperto di materia di metodologia della ricerca clinica e di biostatistica con esperienza ventennale nell'industria farmaceutica. La Unità di Fase I agirà in sinergia con le strutture di laboratorio di farmacocinetica, farmacogenetica e biochimica clinica. Sarà in grado di offrire studi completi di fase 0 e I, studi "proof of concept", di bioequivalenza e biodisponibilità, sicurezza cardiaca, sicurezza e dose massima tollerabile, relazione struttura-attività, interazioni farmacologiche, farmacocinetica e metabolismo.

Il laboratorio di Farmacocinetica è gestito da un farmacista specialista in farmacologia clinica coadiuvato da due tecnici di cui uno specializzato in spettrometria di massa.

Esso è dotato di due HPLC, una associata ad UV e una configurata come LC-MS/MS, al fine di permettere lo studio del profilo farmacocinetico completo (assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione) ed il monitoraggio terapeutico sia a livello ematico/plasmatico, sia intracellulare per più analiti (farmaci, metaboliti, peptidi) contemporaneamente, a tempi ridotti e ad alta sensibilità analitica.

Il laboratorio di Farmacogenetica è gestito da un biologo specialista in biologia molecolare e genetica coadiuvato da un tecnico biotecnologo. È dotato di una piattaforma tecnologica per lo studio dei polimorfismi a singolo nucleotide, basata sulla tecnologia del pirosequenziamento, e l'analisi in Real Time PCR molto affidabili. Questa configurazione permetterà lo studio di associazioni tra variabilità della risposta ai farmaci e substrato genetico permettendo di identificare trattamenti farmacologici che possano essere particolarmente utili, o viceversa sconsigliati, in certi sottogruppi di individui, ottimizzando la risposta terapeutica e minimizzando gli effetti avversi.

Il servizio di Farmacovigilanza,

dotato delle principali banche dati e gestito da un biologo specialista del settore ed un farmacista, si occupa non solo della farmacovigilanza all'interno dell'Ospedale Sacco in collaborazione con la farmacia ospedaliera, ma gestisce in stretto coordinamento con la Regione alcuni progetti rilevanti al monitoraggio analisi e comprensione delle reazioni avverse. Un aspetto prioritario è costituito dal paziente pediatrico, paziente a rischio perché di fatto incluso solo raramente nei trials clinici dei farmaci, e quindi virtualmente trattato con terapie "off-label". La competenza in farmacovigilanza dell'Unità fornirà un supporto culturale fondamentale alla attività della struttura di Fase I.

L'Unità si giova infine di un laboratorio di farmacobiologia traslazionale, gestito da professionisti di lunga esperienza nel campo delle scienze di base e dotato di strumenti all'avanguardia, soprattutto nel campo del metabolismo cellulare e in quello della bioenergetica. Questo laboratorio contribuirà al disegno di marcatori farmacodinamici raffinati e permetterà una verifica costante del dato farmacologico a livello cellulare e molecolare, e nel modello animale, facilitando quindi una sua più corretta comprensione.

Il rispetto dei requisiti di qualità ed eticità è, infine, presupposto essenziale per ottenere risultati credibili nell'ambito clinico-scientifico.

A questo scopo sono state sviluppate procedure operative che garantiscono il rispetto delle condizioni di lavoro in GLP e GCP con controlli di qualità programmati nel tempo. Per quanto riguarda gli aspetti di eticità, l'Unità si avvale del CE dell'Ospedale Sacco che ha avviato iniziative specificamente indirizzate a ridurre i tempi autorizzativi dei protocolli contribuendo a rendere il sistema altamente competitivo.

3° FORUM NAZIONALE PHARMA

Ricerca Innovazione in Farmacologia

26-28 maggio 2010

Chia Laguna Resort - Domus De Maria, Località Chia, Cagliari

Anche quest'anno la Società Italiana di Farmacologia, insieme alla Società di Scienze Farmacologiche Applicate ed alla Società Italiana di Scienze Farmaceutiche, organizza il 3° Forum Nazionale Pharma Ricerca Innovazione in Farmacologia che si terrà il 26, 27 e 28 maggio 2010 al Chia Laguna Resort, Domus De Maria, Località Chia (CA). Verranno affrontati 4 temi di grande rilevanza ed attualità: Biomarker e sperimentazione clinica, HTA e innovazione terapeutica, Omogeneità dell'accesso terapeutico, Regioni e LEA, Farmaci e Anziani. La lettura magistrale sarà tenuta da Enrico Garaci, Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità. Il programma dettagliato è disponibile sul sito web della SIF (www.sifweb.org).

SOCIETÀ ITALIANA DI FARMACOLOGIA

Viale Abruzzi, 32 - 20131 Milano
e-mail: franconi@uniss.it
e-mail: sifcese@comm2000.it
Web site: www.sifweb.org

CONSIGLIO DIRETTIVO

Presidente:

Carlo Riccardi

Presidente-eletto:

Pier Luigi Canonico

Segretario:

Liberato Berrino

Past President:

Achille Patrizio Caputi

Consiglieri:

Paola Castellani, Elisabetta Cerbai,
Alessandra Concas, Patrizia Hrelia,
Pierluigi Navarra, Marcello Tonini

Quaderni della SIF

Comitato di Redazione:

Giovanni Biggio, Sandra
Brunelleschi, Pierluigi Canonico,
Ida Ceserani, Diana Conte
Camerino, Carlo Riccardi,
Francesco Rossi

Direttore Responsabile:

Flavia Franconi

Pubblicazione iscritta nel
Registro Stampa
Tribunale di Milano in data
11 marzo 2005 - N° 528

Stampa: MediaPrint s.r.l.

Via G. Gozzano, 7 - 57121 Livorno
0586 tel. 403023 - fax 409414
e-mail: mediaprintli@tin.it

Tariffa Associazioni Senza Fini di
Lucro:

“Poste Italiane s.p.a. - Spedizione
in abb.post. D.L. 353/2003
(conv. in L. 27/02/2004 n. 46)
art. 1, comma 2, DCB Prato”

La rivista è pubblicata con grant educazionale di:

ratiofarm