

IPOSTESI FARMACOCINETICHE

Dati della letteratura indicano una diminuzione dell'emivita, una riduzione del volume di distribuzione ed un aumento della clearance renale del metadone in seguito alla riduzione del pH urinario a valori intorno a 5,2

Questa sembra l'ipotesi più attendibile per spiegare l'interazione metadone-celecoxib, anche se rimane da valutare l'effettiva influenza svolta da celecoxib e dai suoi metaboliti sul pH dell'organismo.

INIBITORI NON SELETTIVI DELLA COX:

Nuovi Bersagli molecolari

- Fattori di trascrizione: NF- κ B, AP-1, STAT1
- MAP chinasi: Erk-1 e 2, p38, JNK
- Chinasi ciclina-dipendenti (Cdk)
- Inibitori delle Cdk: p21, p27
- Recettori nucleari: PPAR γ

Rischio trombotico

A) Diclofenac 150 mg/die ha un profilo di rischio trombotico simile a quello di Etoricoxib

B) Naprossene 1000 mg/die ha un più basso rischio trombotico rispetto ad Etoricoxib, ed in generale i dati epidemiologici non hanno suggerito un aumentato rischio di infarto miocardico;

C) Per l'Ibuprofene ad alte dosi (es. 2400 mg/die) ci può essere un piccolo rischio trombotico, ma a più basse dosi (es. 1200 mg/die o inferiori) i dati epidemiologici non hanno mostrato un aumentato rischio di infarto miocardico

(Commission on Human Medicines, 2006)

Rischio gastrointestinale

Alto rischio con Piroxicam, Ketoprofene e Ketorolac

Tra i FANS tradizionali, l'Ibuprofene a basso dosaggio offre il rischio più basso

*I coxib sono associati a ridotto rischio gastrointestinale, rispetto alla maggior parte dei FANS a dosaggi equivalenti.
(Per Etoricoxib c'è debole evidenza).*

Gli inibitori della pompa protonica riducono il rischio gastrointestinale associato ai FANS, e possono ridurre i rischi ad un livello simile a quello di un coxib usato da solo

(Commission on Human Medicines, 2006)

✓ *Tarassaco. Interazioni farmacologiche*

Il tarassaco (Taraxacum officinale), noto anche come Dente di leone o Soffione, è una pianta erbacea perenne, utilizzata per il trattamento di disturbi epatici quali litiasi biliare (azione preventiva), colecistopatia ed insufficienza epatica

Le parti utilizzate sono le radici il cui uso prevede il trattamento di reumatismi, gotta, eczema cronico (come depurativo), obesità, ipoacidità gastrica, inappetenza e turbe digestive in genere.

Il Tarassaco è ritenuto infine un blando lassativo (favorisce l'evacuazione delle feci) e un lenitivo delle infiammazioni emorroidali.

I principali componenti responsabili degli effetti farmacologici del tarassaco, comprendono: principi amari (tarassacina, tarassestrolo ed altri triterpeni pentaciclici), steroli (sitosterolo, stigmasterolo), caroteni (xantofille) flavonoidi (apigenina 7-glucoside), acido caffeico, zuccheri, inulina, ezimi e potassio

Il tarassaco può avere un effetto inibitorio sull'aggregazione piastrinica e può teoricamente potenziare l'effetto farmacologico dei farmaci trombolitici, anticoagulanti e antiaggreganti piastrinici

Le foglie e le radici della pianta contengono elevate quantità di potassio, pertanto l'assunzione concomitante di supplementi di potassio e di tarassaco può determinare iperkaliemia. Tale associazione dovrebbe quindi essere evitata

Per la sua capacità di aumentare la secrezione clorido-peptica dello stomaco, il tarassaco può incrementare il potere gastrolesivo dei FANS.

Infine, a causa dell'effetto diuretico, il tarassaco può aumentare la deplezione di sodio e aumentare di conseguenza la tossicità del litio

Ipriflavone. Interazioni con farmaci

L'ipriflavone è un derivato semisintetico dell'isoflavone di soia usato per trattare l'osteoporosi

L'ipriflavone può aumentare i livelli serici degli altri farmaci o degli altri prodotti naturali che vengono metabolizzati dal CYP1A2, inclusa la caffeina ed i prodotti naturali che la contengono, la clozapina, la ciclobenzaprina, l'alooperidolo, l'olanzapina, la tacrina ed altri farmaci

Visto che molti di questi farmaci vengono usati da persone anziane e l'ipriflavone soprattutto nelle donne in menopausa, bisogna attentamente monitorare questo tipo di interazioni

In base ai risultati del laboratorio, l'ipriflavone inibisce competitivamente anche il CYP2C9

L'ipriflavone può aumentare i livelli serici e prolungare l'emivita plasmatica di farmaci come il celecoxib e molti altri FANS, fenitoina, warfarina, zafirlukast, ma non esistono studi clinici o case report che confermino tale ipotesi

Partenio. Interazioni farmacologiche.

Il partenio è stato tradizionalmente utilizzato come rimedio erboristico per il trattamento di patologie infiammatorie, psoriasi, mal di denti, punture d'insetto, reumatismi, asma e mal di stomaco. Durante le ultime decadi è stato osservato un crescente utilizzo per la profilassi dell'emicrania. Tali effetti sono da ascrivere ai partenolidi, lattoni sesquiterpenici presenti negli estratti della pianta (1).

Teoricamente il partenio può favorire gli effetti farmacologici di farmaci antiaggreganti piastrinici, anticoagulanti ed antitrombotici attraverso l'inibizione dell'aggregazione piastrinica o mediante un effetto antitrombotico (2-4).

Il partenio inoltre, inibisce la sintesi di alcune sostanze rilasciate dalle piastrine (acido arachidonico e serotonina). In tal senso, anche se interazioni farmacologiche non sono state finora osservate, l'uso del partenio dovrebbe essere evitato in pazienti sottoposti alla somministrazione di tali farmaci (5).

Per la stessa ragione, dovrebbe essere evitato l'uso del partenio in associazione ad altre erbe dotate di proprietà antiaggreganti piastriniche come salvia miltiorrhiza, angelica, aglio, ginger, ginkgo biloba, ginseng, tè verde ed ippocastano.

Il partenio non dovrebbe essere somministrato nei pazienti in trattamento con farmaci antiemicranici (per esempio alcolidi dell'ergot) a causa del simile meccanismo d'azione (inibizione del rilascio di serotonina da parte delle piastrine, riduzione della sintesi di prostaglandine) (6).

Inoltre, dal momento che il partenio inibisce la sintesi di prostaglandine (7-9), è sconsigliabile associare gli estratti della pianta ai FANS onde evitare un possibile incremento del rischio di disturbi a carico dello stomaco.

Bromelina

La bromelina è uno dei principi attivi cui è probabilmente attribuibile l'azione antiinfiammatoria degli enzimi estratti dall'ananas; essa inibisce la trombassano sintetasi, enzima che converte le PG H2 in prostaglandine proinfiammatorie e trombassani.

La bromelina per le sua proprietà anticoagulanti può, quando somministrata in pazienti trattati con pentossifillina, aumentare il rischio di eccessivo sanguinamento. Per gli stessi motivi, può essere pericolosa quando somministrata con eparina e warfarina (1).

La bromelina può inoltre aumentare l'assorbimento di tetracicline ed amoxicillina. In uno studio in doppio cieco effettuato su 127 pazienti, la bromelina ha significativamente aumentato i livelli serici di amoxicillina rispetto al gruppo di controllo trattato con amoxicillina e placebo (2). Inoltre, nel gruppo a bromelina si riscontrarono livelli tissutali di amoxicillina significativamente aumentati. Risultati simili si sono avuti sia per l'amoxicillina che per le tetracicline in un altro studio controllato con placebo effettuato su 54 pazienti cui era somministrata bromelina (3).

Trattamento in associazione di un Cox-2 inibitore ed un inibitore di pompa protonica per la prevenzione del sanguinamento ricorrente delle ulcere in pazienti ad alto rischio. Dati di safety da un trial randomizzato, in doppio cieco

Secondo le linee guida sul trattamento dell'osteoartrosi dell' American College of Rheumatology in tali pazienti è consigliato l'utilizzo di Cox-2 inibitori o l'associazione di FANS ed Inibitori di Pompa Protonica (PPI).

Tuttavia, nuove evidenze scientifiche evidenziano come queste raccomandazioni non forniscano un'adeguata protezione ai pazienti ad elevato rischio gastrointestinale. Alla luce di ciò, lo scopo di tale studio è stato quello di testare l'ipotesi che il trattamento con celecoxib ed esomeprazolo possa essere più efficace rispetto al celecoxib in monoterapia per la prevenzione del sanguinamento ricorrente delle ulcere in pazienti con precedente sanguinamento da FANS che necessitano di un trattamento antinfiammatorio

Per questo studio, sono stati arruolati 273 pazienti tra i 441 ricoverati per sanguinamento gastrointestinale ed in terapia con FANS, dopo la risoluzione dell'evento emorragico. Tutti i pazienti dello studio ricevevano 200 mg di celecoxib due volte al dì, ed in associazione, 137 ricevevano anche 20 mg di esomeprazolo 2 volte al dì (gruppo con trattamento combinato) e 136 il placebo (gruppo di controllo) per un periodo di 12 mesi.

Veniva valutato come esito il sanguinamento ricorrente delle ulcere durante il trattamento o entro un mese dall'interruzione.

Risultati

Il trattamento combinato era più efficace del celecoxib in monoterapia per la prevenzione delle recidive nei pazienti ad alto rischio. Dopo 13 mesi, l'incidenza cumulativa di sanguinamento era pari a 8.9% (12 eventi) nel gruppo di controllo, mentre nessun evento si verificava nel gruppo in trattamento combinato (IC 95%: 4,1-13,7; $p=0.0004$). Il follow-up mediano era di 13 mesi (range 0,4-13,0). Il tasso di interruzione del trattamento era simile nei due gruppi di trattamento.

Eventi Avversi

L'incidenza di reazioni avverse era simile nei due gruppi di trattamento. Un paziente in trattamento combinato era deceduto a causa di una polmonite, mentre, nel gruppo di controllo, due pazienti erano deceduti a causa di trauma cerebrale e di cuore polmonare, rispettivamente.

Anice. Interazioni farmacologiche.

I frutti dell'anice verde vengono tradizionalmente utilizzati dall'industria alimentare e liquoristica per la presenza di un olio essenziale particolarmente ricco di trans-anetolo e di estragolo oltre che di flavonoidi e cumarine (1,2).

Nell'ambito della medicina popolare la pianta è stata utilizzata per aumentare la secrezione del latte materno ed è stata considerata un rimedio per aumentare l'appetito, per il trattamento delle malattie delle vie respiratorie, per le colecistopatie, per le epatopatie (3).

Viene oggi utilizzata come espettorante (3) e, grazie alla sua attività spasmolitica, per il trattamento dei dolori addominali di origine dispeptica accompagnati da meteorismo e flatulenza (4,5).

L'anice contiene derivati cumarinici le cui proprietà antiaggreganti piastriniche sono state dimostrate in vitro (6). Sulla base di tale osservazione, l'uso della pianta può teoricamente aumentare il rischio di emorragie associate alla somministrazione di eparine a basso peso molecolare, di farmaci antiaggreganti piastrinici o di anticoagulanti (7,8,9). Per lo stesso motivo, l'anice può potenzialmente aumentare la gastrolesività dei FANS (1). Nei pazienti in trattamento con tali farmaci, i prodotti a base di anice dovrebbero essere utilizzati con cautela.

A causa dell'attività estrogenica dell'anetolo, l'anice può interagire con eventuali terapie ormonali (1). Infine, per la presenza di furocumarine, può verificarsi una possibile sommazione degli effetti associando l'anice a farmaci fotosensibilizzanti (10).

Arancio amaro. Interazioni farmacologiche

Dalla scorza (pericarpo) dell'arancio amaro (Citrus aurantium var. amara) si estraggono due gruppi di principi attivi: quelli volatili, che costituiscono l'olio essenziale contenente monoterpeni (principalmente limonene, ma anche mircene e pinene) e quelli fissi, comprendenti flavonoidi (esperidina e neoesperidina), furanocumarine (auraptene e umbelliferone), principi amari e vitamine (A, B, C) (1).

Il pericarpo del frutto, per il caratteristico sapore amaro ed aromatico, trova impiego come amaro-tonico, stomachico e carminativo e come tale viene utilizzato per stimolare l'appetito e favorire l'aumento ponderale (2). L'essenza possiede attività antibatterica e antifungina e può essere utilizzata per la cura e la prevenzione di numerose malattie dermatologiche e dell'apparato uro-genitale. L'essenza di neroli invece, ottenuta per distillazione dei fiori, ha una buona attività antimicrobica, mentre gli estratti secchi ottenuti dalla scorza del frutto immaturo contengono ammine simpatico-mimetiche (sinefrina) e hanno trovato impiego come prodotti dimagranti (3).

In vitro l'arancio amaro, per la presenza di furanocumarine, è in grado di inibire l'isoforma CYP3A4 del citocromo P-450 e può pertanto interagire con numerosi farmaci metabolizzati da tale sistema (4).

Interazioni farmacologiche sono state osservate in particolare con midazolam e sesquinarvir (5). Inoltre, studi sugli animali hanno dimostrato che il succo d'arancia amara può inibire il metabolismo della ciclosporina (6). Inoltre, in uno studio condotto su volontari sani, gli estratti di arancio amaro hanno dimostrato di poter incrementare la biodisponibilità del calcio-antagonista felodipina (5).

Gli estratti di scorza del frutto maturo possono aumentare la gastrolesività dei FANS in quanto incrementano la secrezione clorido-peptica dello stomaco (2).

Ancora, l'associazione tra sinefrina e inibitori delle MAO può causare l'insorgenza di una grave ipertensione. Infine, associando la sinefrina a fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina o pseudoefedrina, si può verificare un incremento degli effetti simpaticomimetici indotti da tali sostanze.

Arpagofito. Interazioni farmacologiche.

L'arpagofito (*Harpagophytum procumbens*) possiede proprietà antinfiammatorie, antireumatiche, analgesiche, sedative e diuretiche. Tradizionalmente è stato utilizzato per i suoi effetti analgesici ed antipiretici (1), mentre l'uso moderno prevede il trattamento di patologie artritiche, reumatiche e della lombalgia (2,3).

I principali costituenti chimici presenti nella radice della pianta e responsabili della sua attività terapeutica sono gli iridoidi: arpagoside, arpagide e procumbide (4,5).

L'arpagofito non dovrebbe essere utilizzato in soggetti già sottoposti a terapie con farmaci anticoagulanti. La somministrazione concomitante di arpagofito e warfarin infatti può comportare un incremento del rischio di sanguinamento con possibile insorgenza di porpora (6,7,8).

Poichè l'arpagofito possiede proprietà anti-aritmiche (9) dovrebbe esserne sconsigliato l'uso in associazione con farmaci anti-aritmici (inclusi beta-bloccanti e digossina).

La somministrazione di arpagofito può inoltre indurre un incremento della secrezione cloridropetica dello stomaco, aumentando la gastrolesività associata all'uso di FANS (10) e riducendo l'efficacia di farmaci anti-H2 (11).

Infine, una possibile sommazione degli effetti può aversi associando gli estratti di tale pianta a farmaci ipotensivi e ad ipoglicemizzanti orali (10).

Risk of peptic ulcer hospitalizations in users of NSAIDs with gastroprotective cotherapy versus coxibs.

[Ray WA](#), [Chung CP](#), [Stein CM](#), [Smalley WE](#), [Hall K](#), [Arbogast PG](#), [Griffin MR](#).

BACKGROUND & AIMS: The primary strategies to reduce the risk of serious gastropathy caused by traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are use of a coxib or concurrent use of a proton pump inhibitor or double-dose histamine-2 receptor antagonist. However, the relative clinical effectiveness of these therapeutic alternatives is understudied.

METHODS: We studied peptic ulcer hospitalizations in a cohort of Tennessee Medicaid enrollees between 1996 and 2004. To decrease potential "channeling" bias, the study included only new episodes of prescribed NSAID or coxib use and controlled for multiple baseline risk factors for upper gastrointestinal disease. There were 234,010 and 48,710 new episodes of NSAID and coxib use, respectively, with 363,037 person-years of follow-up and 1223 peptic ulcer hospitalizations.

RESULTS: Current users of NSAIDs with no gastroprotective cotherapy had an adjusted incidence of peptic ulcer hospitalizations of 5.65 per 1000 person-years, 2.76 (95% confidence interval, 2.35-3.23) times greater than that for persons not currently using either NSAIDs or coxibs. This risk was reduced by 39% (16%-56%, 95% CI) for current users of NSAIDs with gastroprotective cotherapy and 40% (23%-54%) for current users of coxibs without such cotherapy. Concurrent users of NSAIDs and proton pump inhibitors had a 54% (27%-72%) risk reduction, very similar to the 50% (27%-66%) reduction for concurrent users of proton pump inhibitors and coxibs.

CONCLUSIONS: These findings suggest that coprescribing a proton pump inhibitor with an NSAID is as effective as use of a coxib for reducing the risk of NSAID-induced gastropathy.

Gastroenterology. 2007 Sep;133(3):790-8.

Onset of acute myocardial infarction after use of non-steroidal anti-inflammatory drugs.

Hammad TA, Graham DJ, Staffa JA, Kornegay CJ, Dal Pan GJ.

Office of Surveillance and Epidemiology, Food and Drug Administration, Silver Spring, MD 20993-0002, USA. tarek.hammad@fda.hhs.gov

PURPOSE: To examine the association between cyclooxygenase-2 (COX-2) selective and traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and incident acute myocardial infarction (AMI), and to address unanswered questions regarding the contour of risk over time. **METHODS:** A cohort of new NSAID users aged 40-84 years was followed for the occurrence of first AMI. Data were collected within the General Practice Research Database (GPRD) from 1 January 1997 to 31 December 2004. **RESULTS:** The study population included 1185 AMI events (889 probable and 296 possible) from a cohort of 283 136 patients. After adjustment for demographic and cardiovascular risk factors, the hazard ratio (HR) for AMI was significantly increased for both coxib (2.11, 95% confidence interval (CI) 1.04-4.26) and non-coxib (2.24, 95%CI 1.13-4.42) COX-2 selective NSAIDs when compared to remote exposure to NSAIDs, but was not increased for traditional NSAIDs. Stratifying exposure into the first month of use versus use beyond 1 month, the risk of AMI was increased during the first month of COX-2 selective NSAIDs use, but not later (3.43, 95%CI 1.66-7.07 and 1.88, 95%CI 0.82-4.31, respectively p-value for interaction = 0.6). **CONCLUSIONS:** The results suggest that the use of coxib and non-coxib COX-2 selective NSAIDs was associated with an elevated risk of AMI within the first month of exposure. Recent past exposure to NSAID was not associated with a similar increase in risk.

- **1: Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2008 Apr;17(4):315-21.**

Onset of acute myocardial infarction after use of non-steroidal anti-inflammatory drugs.

[Hammad TA](#), [Graham DJ](#), [Staffa JA](#), [Kornegay CJ](#), [Dal Pan GJ](#).

Office of Surveillance and Epidemiology, Food and Drug Administration, Silver Spring, MD 20993-0002, USA. tarek.hammad@fda.hhs.gov

PURPRischio di infarto miocardico acuto e di morte cardiaca improvvisa in pazienti trattati con farmaci antinfiammatori non steroidei selettivi e non selettivi per la cicloossigenasi 2: uno studio caso-controllo annidato

di *David J Graham, David Campen, Rita Hui, Michele Spence, Craig Cheetham, Gerald Levy, Stanford Shoor, Wayne A Ray*

Premesse

Non è ancora stato chiarito se il rischio di eventi coronarici gravi sia aumentato dalla somministrazione di rofecoxib ad alte dosi oppure sia ridotto dal trattamento con naprossene. In questo studio abbiamo cercato di stabilire se tale rischio sia aumentato dalla somministrazione di rofecoxib a dosi elevate oppure convenzionali rispetto all'impiego pregresso di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) oppure di celecoxib, che rappresenta la più frequente alternativa al rofecoxib.

Metodi

Allo scopo di selezionare una coorte di pazienti di età compresa tra 18 e 84 anni trattati con un FANS tra il 1° gennaio 1999 e il 31 dicembre 2001, sulla quale condurre uno studio caso-controllo annidato, abbiamo utilizzato i dati della Kaiser Permanente in California. Casi di pazienti affetti da un evento coronarico acuto grave (infarto miocardico acuto e morte cardiaca improvvisa) sono stati appaiati in base al loro profilo di rischio a 4 soggetti di controllo confrontabili per età, sesso e regione sanitaria di provenienza (ossia tipo di copertura sanitaria). È stata confrontata l'esposizione attuale a FANS selettivi e non selettivi per la cicloossigenasi 2 rispetto all'esposizione pregressa a qualunque tipo di FANS, mentre l'impiego di rofecoxib è stato confrontato con quello di celecoxib.

Risultati

Nel corso di un follow-up di 2.302.029 anni-paziente, sono stati osservati complessivamente 8143 eventi coronarici gravi, 2210 (27,1%) dei quali sono risultati fatali. Gli odds ratio multivariati aggiustati rispetto a celecoxib sono risultati rispettivamente pari a: rofecoxib (tutte le dosi) 1,59 (IC al 95% 1,10 - 2,32, p = 0,015); rofecoxib ≤ 25 mg/die 1,47 (0,99 - 2,17, p = 0,054) rofecoxib > 25 mg/die: 3,58 (1,27 - 10,11, p = 0,016).

Per quanto riguarda il confronto tra naprossene e impiego pregresso di FANS, l'odds ratio aggiustato è risultato pari a 1,14 (1,00 - 1,30, p = 0,05).

Interpretazione

Rispetto al celecoxib, l'impiego del rofecoxib risulta associato a un aumento del rischio di eventi coronarici gravi. L'uso di naprossene non protegge dal rischio di eventi coronarici gravi. **OSE:** To examine the association between cyclooxygenase-2 (COX-2) selective and traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and incident acute myocardial infarction (AMI), and to address unanswered questions regarding the contour of risk over time. **METHODS:** A cohort of new NSAID users aged 40-84 years was followed for the occurrence of first AMI. Data were collected within the General Practice Research Database (GPRD) from 1 January 1997 to 31 December 2004. **RESULTS:** The study population included 1185 AMI events (889 probable and 296 possible) from a cohort of 283 136 patients. After adjustment for demographic and cardiovascular risk factors, the hazard ratio (HR) for AMI was significantly increased for both coxib (2.11, 95% confidence interval (CI) 1.04-4.26) and non-coxib (2.24, 95%CI 1.13-4.42) COX-2 selective NSAIDs when compared to remote exposure to NSAIDs, but was not increased for traditional NSAIDs. Stratifying exposure into the first month of use versus use beyond 1 month, the risk of AMI was increased during the first month of COX-2 selective NSAIDs use, but not later (3.43, 95%CI 1.66-7.07 and 1.88, 95%CI 0.82-4.31, respectively p-value for interaction = 0.6). **CONCLUSIONS:** The results suggest that the use of coxib and non-coxib COX-2 selective NSAIDs was associated with an elevated risk of AMI within the first month of exposure. Recent past exposure to NSAID was not associated with a similar increase in risk.

Science 1996 Nov 22;274(5291):1383-5

Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kappaB activation.

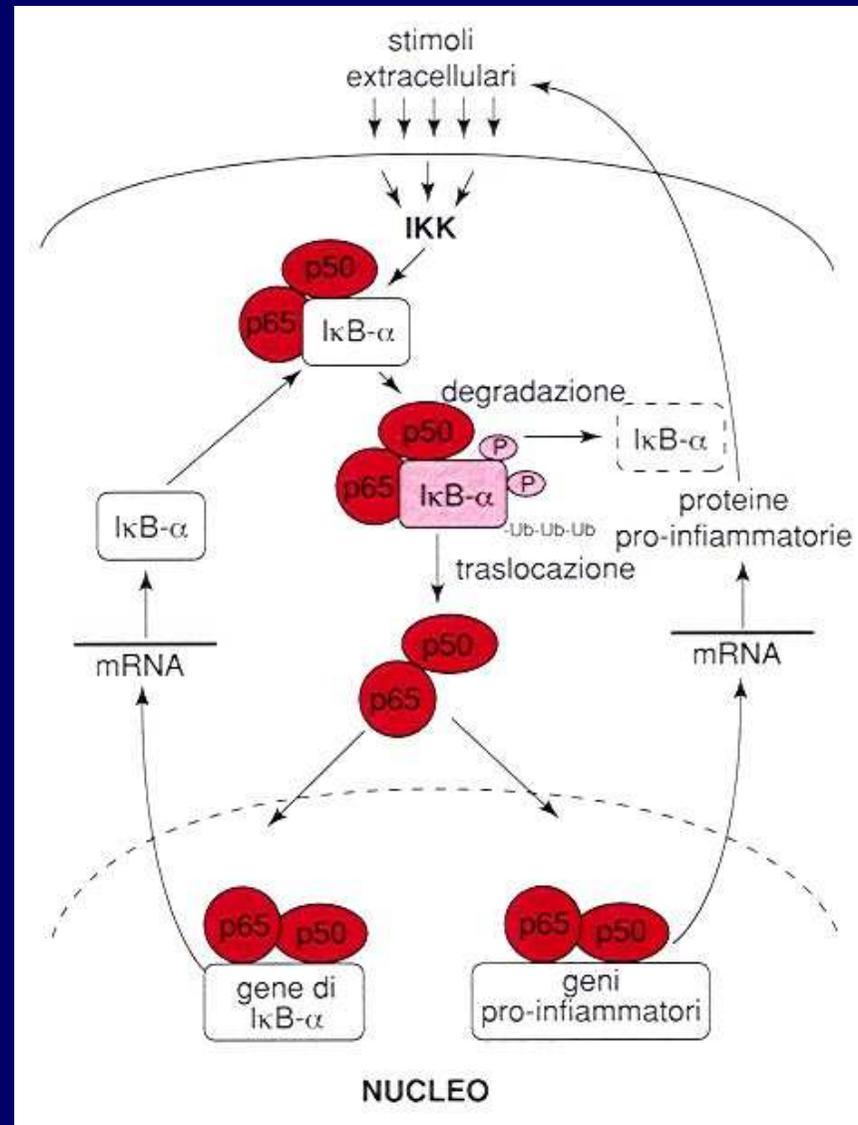
Grilli M, Pizzi M, Memo M, Spano P.

Aspirina → inibizione attivazione NF-kB → inibizione attivazione trascrizionale geni codificanti proteine coinvolte nell'infiammazione

Stimoli

extracellulari:

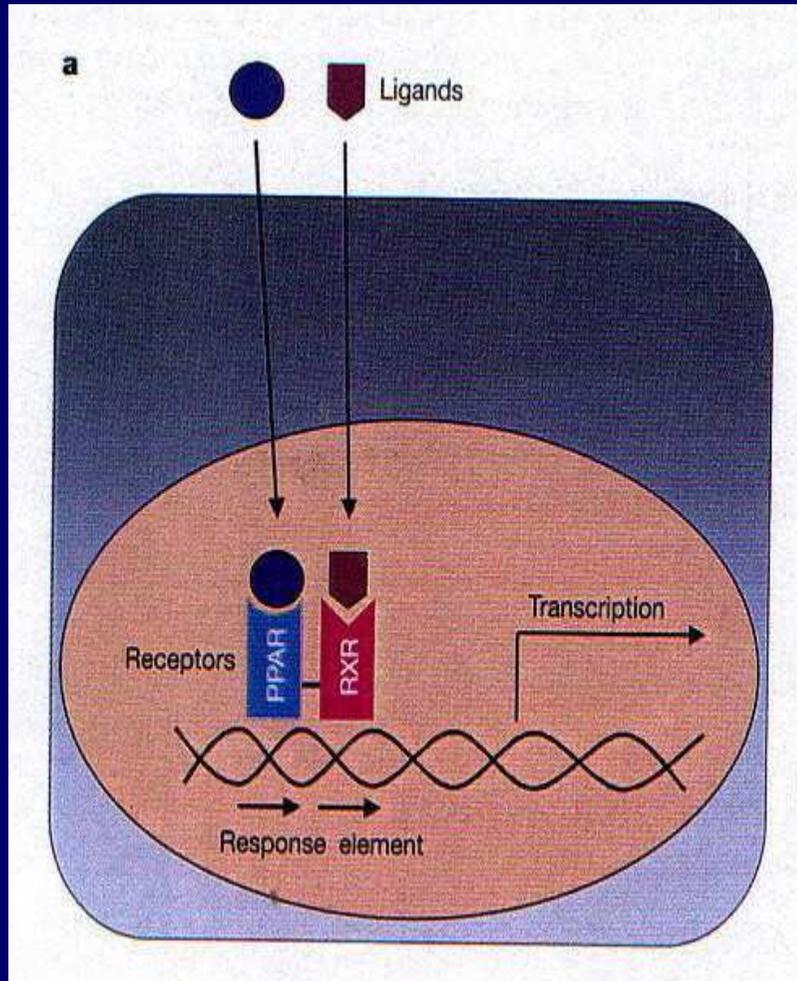
- radiazioni U.V.
- H_2O_2
- Virus
- stimolazione recettori citochine (TNF- α , IL-1)



Geni codificanti per:

- Citochine (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-11)
- Chemochine (IL-8, RANTES)
- Enzimi (iNOS, COX-2, cPLA $_2$, 5-LO)
- Proteine di adesione (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina)

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor



❧ PPARs are members of the steroid hormone receptor superfamily.

❧ PPAR + RXR → heterodimer
Bind to PPARE to regulate the gene expression.

❧ Peroxisome proliferator (PP) :
compounds that activate PPARs,
includes fatty acids and
prostaglandins, and anti-diabetic
drugs

❧ PPARs' subtype : α , $\beta(\delta)$, γ

COX-2 suppresses tissue factor expression via endocannabinoid-directed PPAR δ activation

Mallika Ghosh,¹ Haibin Wang,^{2,3,4} Youxi Ai,¹ Elisa Romeo,⁵
James P. Luyendyk,⁵ Jeffrey M. Peters,^{6,7} Nigel Mackman,⁵
Sudhansu K. Dey,^{2,3,4} and Timothy Hla¹

¹Center for Vascular Biology, Department of Cell Biology, University of Connecticut Health Center, Farmington, CT 06030

²Departments of Pediatrics, ³Cell and Developmental Biology, and ⁴Pharmacology, Division of Reproductive and Developmental Biology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN 37232

⁵Department of Immunology, Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037

⁶Department of Veterinary Science and ⁷Center for Molecular Toxicology and Carcinogenesis, Pennsylvania State University, University Park, PA 16802

Although cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors (coxibs) are effective in controlling inflammation, pain, and tumorigenesis, their use is limited by the recent revelation of increased adverse cardiovascular events. The mechanistic basis of this side effect is not well understood. We show that the metabolism of endocannabinoids by the endothelial cell COX-2 coupled to the prostacyclin (PGI₂) synthase (PGIS) activates the nuclear receptor peroxisomal proliferator-activated receptor (PPAR) δ , which negatively regulates the expression of tissue factor (TF), the primary initiator of blood coagulation. Coxibs suppress PPAR δ activity and induce TF expression in vascular endothelium and elevate circulating TF activity in vivo. Importantly, PPAR δ agonists suppress coxib-induced TF expression and decrease circulating TF activity. We provide evidence that COX-2-dependent attenuation of TF expression is abrogated by coxibs, which may explain the prothrombotic side-effects for this class of drugs. Furthermore, PPAR δ agonists may be used therapeutically to suppress coxib-induced cardiovascular side effects.

Piroxicam and NS-398 induce activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in neurones and phosphorylation of heavy molecular weight neurofilaments, cytoskeletal substrates of ERK and protect neurones against hypoxia /reperfusion (Vartiainen et al., 2001)

p38 MAPK



NF- κ B, AP-1



iNOS, TNF- α , IL-1



ischemic neuronal death

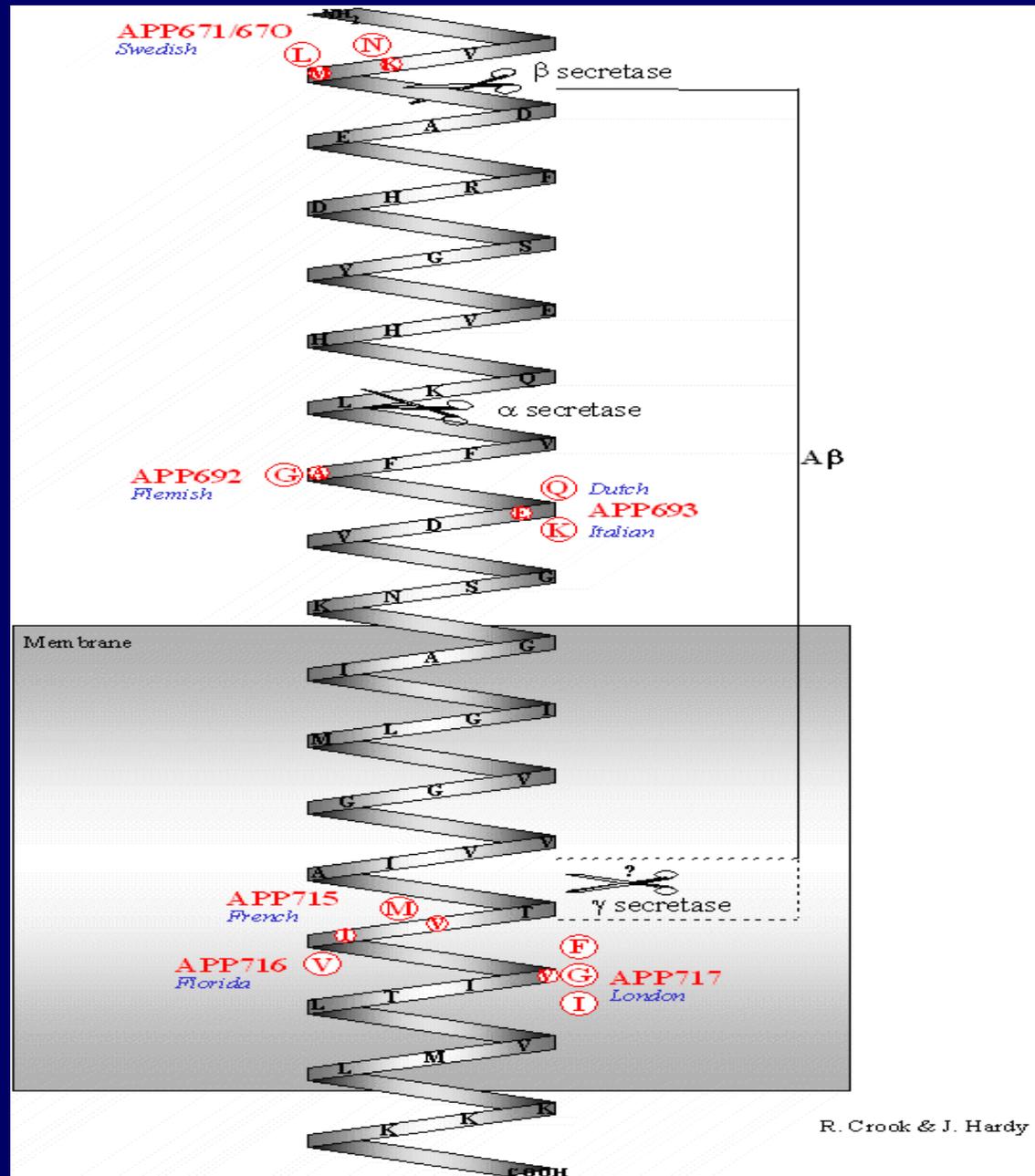
NSAIDs decrease Abeta42 by altering gamma secretase activity independently of COX activity
(*Weggen, 2001*)

Ibuprofen significantly reduced quinolinic acid-induced lipid peroxidation and cyanide-induced superoxide production. (Lambat *et al.*, 2000)

Journal of
Neurochemistry,
2002, 82, 329-335

Aspirin provides cyclin-dependent kinase 5-dependent
protection against subsequent hypoxia/reoxygenation
damage in culture

Nina Vartiainen,* Velta Keksa-Goldsteine,* Gundars
Goldstems* and Jari Koistinaho*^f
1996).



R. Crook & J. Hardy

Stroke 2002 Jan;33(1):261-7

Inhibition of glutamate release via recovery of ATP levels accounts for a neuroprotective effect of aspirin in rat cortical neurons exposed to oxygen-glucose deprivation.

De Cristobal J, Cardenas A, Lizasoain I, Leza JC, Fernandez-Tome P, Lorenzo P, Moro MA.

J Neurotrauma 2002 May;19(5):627-38

Cyclooxygenase-2 inhibition protects cultured cerebellar granule neurons from glutamate-mediated cell death.

Strauss KI, Marini AM.

Exp Neurol 2002 May;175(1):152-60

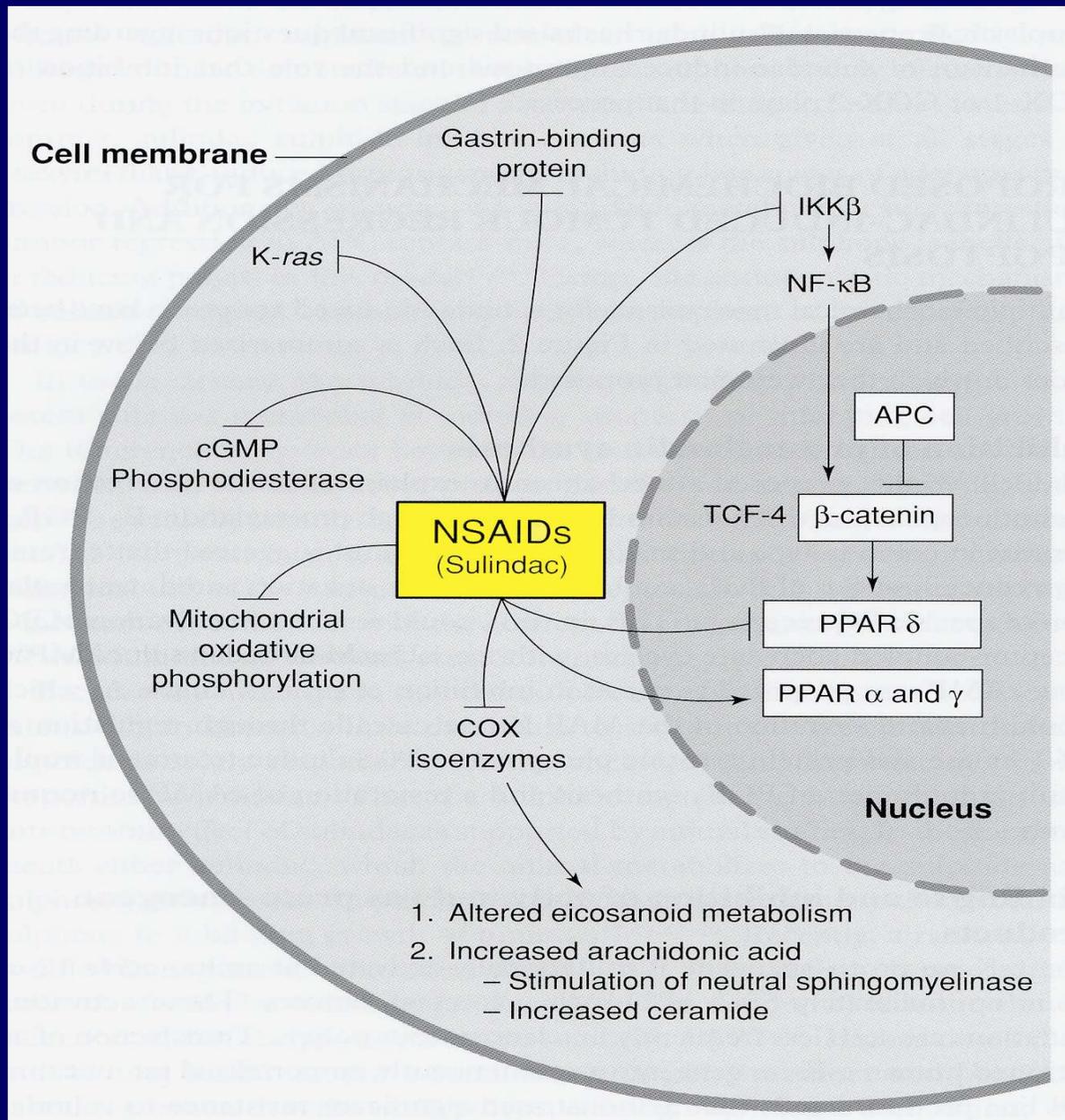
Cyclooxygenase-2 and caspase 3 expression in trimethyltin-induced apoptosis in the mouse hippocampus.

Geloso MC, Vercelli A, Corvino V, Repici M, Boca M, Haglid K, Zelano G, Michetti F.

J Pain Symptom Manage 2002 Apr;23(4 Suppl):S35-40

Evaluation of selective COX-2 inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease.

Aisen PS.



Da Warner T.D. et al., in "Therapeutic roles of selective COX-2 inhibitors",
Ed. by Vane and Botting, 2001, pp: 76-94

COX-2 E PROCESSI DI RIPARAZIONE TISSUTALE

- Risultati ottenuti in modelli sperimentali di lesioni della mucosa gastrica e di colite suggeriscono un ruolo protettivo dell'induzione della COX-2
- Ruolo protettivo della COX-2 la cui espressione è indotta in cellule endoteliali in presenza di danno vascolare

COX-2 e cancro colonrettale (CRC)

- Correlazione fra uso cronico di FANS e ridotta incidenza di CRC
- Significativa riduzione del n° e della grandezza dei polipi in pazienti affetti da poliposi adenomatosa familiare (FAP) trattati con sulindac (1993)
- Espressione di COX-2 in tessuto neoplastico di pazienti CRC ma non in adiacente tessuto intestinale normale (1994)

**Meccanismi COX-2 e PG-dipendenti
influenzano sia i processi di trasformazione
neoplastica che la crescita tumorale**

**Mutazione del gene oncosoppressore
APC:**

- **Induzione COX-2**
- **Ridotta apoptosi delle cellule epiteliali**

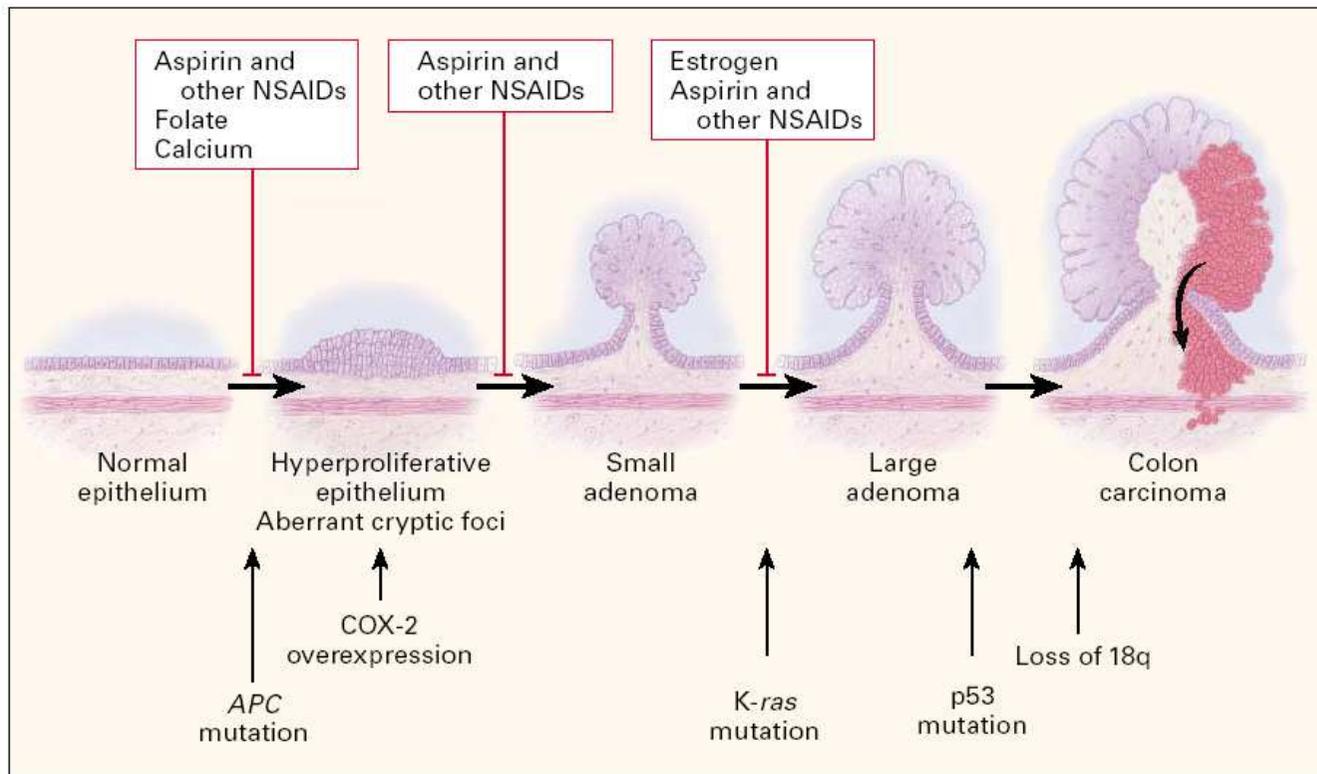


Figure 1. Colon Carcinogenesis and the Effects of Chemopreventive Agents.

Colon cancers result from a series of pathologic changes that transform normal colonic epithelium into invasive carcinoma. Specific genetic events, shown by vertical arrows, accompany this multistep process.⁸ The various chemopreventive agents exert their effects at different steps in this pathway, and this is depicted on the basis of the available epidemiologic evidence, the results of studies in animals, and the known mechanisms of action of the agents. NSAIDs denotes nonsteroidal antiinflammatory drugs, COX-2 cyclooxygenase-2, and APC the adenomatous polyposis coli gene.

TABLE 2. RANDOMIZED, PLACEBO-CONTROLLED TRIALS OF CHEMOPREVENTION OF COLON CANCER IN PATIENTS WITH FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS.

STUDY	NO. OF PATIENTS	AGENT	DOSE*	DURATION OF TREATMENT (MO)	EFFECT
Labayle et al. ³³	9	Sulindac	100 mg 3 times daily	4	Decrease in number of polyps†
Nugent et al. ³⁴	14	Sulindac	200 mg twice daily	6	Decrease in number of polyps‡
Giardiello et al. ³⁵	22	Sulindac	150 mg twice daily	9	Decrease in number of polyps by 56% from base line§
Steinbach et al. ³⁶	77	Celecoxib	100 mg twice daily	6	Decrease in number of polyps by 12% from base line¶
		Celecoxib	400 mg twice daily	6	Decrease in number of polyps by 28% from base line

*All doses were oral.

†The actual number of polyps was not available; the difference was significant ($P < 0.01$).

‡The actual number of polyps was not available; the difference was significant ($P = 0.01$).

§The difference was significant ($P = 0.01$).

¶The difference was not significant ($P = 0.3$).

||The difference was significant ($P = 0.003$).

FANS e APOPTOSI

- In vitro, FANS non selettivi e Coxib stimolano apoptosi in cellule APC^{-/-}
- Il sulindac stimola l'apoptosi in pazienti affetti da FAP ed in topini Apc^{Min}
- FANS non selettivi e Coxib inducono apoptosi in cellule di cancro del colon mantenute in vitro

FANS ed Apoptosi:

Meccanismi dipendenti dall'inibizione della COX

- **Riduzione sintesi PG**
e/o
- **Aumento disponibilità acido arachidonico**

PGE2:

- *E' in grado di modulare l'apoptosi e l'espressione di Bcl-2 in cellule di carcinoma di colon umano*
- ***Aumenta la proliferazione e l'invasività di cellule di carcinoma coloretta***

FANS e cancro colorettaie

Meccanismi chemoprotettivi

- Capacità di ripristinare l'apoptosi in cellule APC^{-/-}
- Capacità di inibire l'angiogenesi

FANS, COX-2 ed ANGIOGENESI

- L'espressione della COX-2 è indotta nei vasi neoformati di polipi adenomatosi coloretali
- Inibitori selettivi della COX-2 inibiscono:
 - la crescita di capillari in ratti trattati con BFGF
 - la crescita di vari tumori umani trapiantati nel topo
 - la liberazione di fattori di crescita ad azione angiogenica da parte di cellule di cancro coloretale co-coltivate con cellule endoteliali

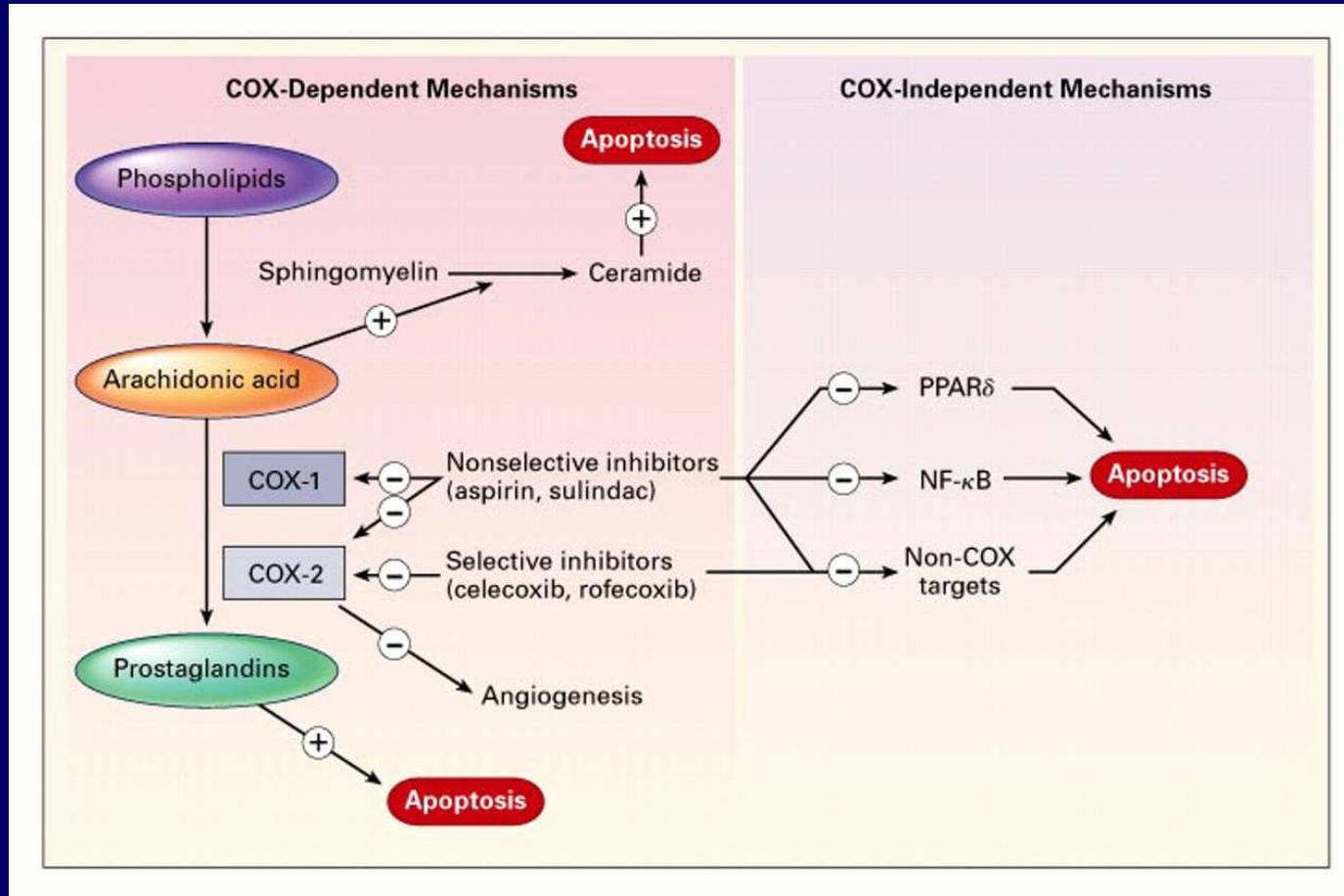
FANS ed APOPTOSI

Hanno un ruolo anche meccanismi indipendenti dall'inibizione COX ?

Suggeriti da varie evidenze:

- NS-398 stimola l'apoptosi in cellule di carcinoma di colon S/KS che non esprimono la COX-2
- Il sulindac solfone che non inibisce la COX è comunque in grado di stimolare l'apoptosi in ratti esposti a cancerogeni chimici ed in cellule di carcinoma umano in coltura

Mechanisms of Action of Aspirin, Other Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, and Selective Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitors



Janne, P. A. et al. N Engl J Med 2000;342:1960-1968

Brain inflammation may be associated with neuronal injury and AD (*Pasinetti, 2001*).

Dal Baltimore Longitudinal Study of Aging, con 1686 partecipanti, è emerso che il rischio di sviluppare AD è ridotto nei pazienti che utilizzavano FANS, specialmente nei pazienti che avevano preso i farmaci per 2 anni o più (Stewart et al., *Neurology*, 1997; 48: 626-32).

Nell'AD sono state riscontrate numerose alterazioni che rivelano l'attivazione di meccanismi infiammatori:

- abnorme deposito di componenti del complemento
- di reattivi della fase acuta e di varie citochine
- upregolazione della ciclossigenasi-2
- attivazione della microglia

- Nel 1989 venne riportato per la prima volta che tra i soggetti affetti da artrite reumatoide si riscontrava un tasso abnormemente basso di casi di AD (Jenkinson *et al.*, 1989).
- Allo stesso modo è stato osservato che l'AD è rara nei soggetti affetti da lebbra e, in particolare, che il deposito di amiloide nel cervello di questi pazienti è diminuito (McGeer *et al.*, 1992; Chui *et al.*, 1994).

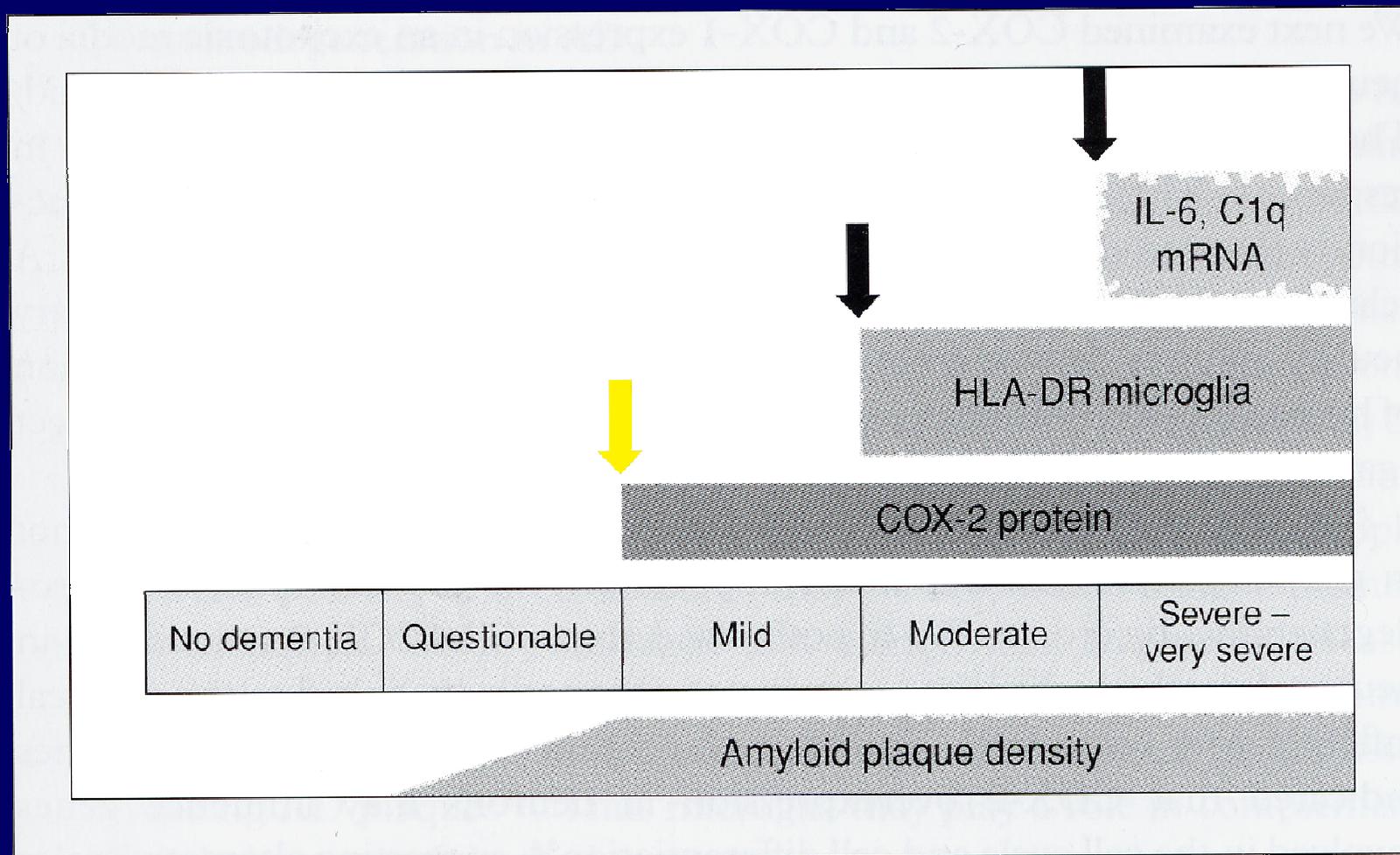
In entrambi i casi è stato ipotizzato che il trattamento cronico con antinfiammatori non steroidei (FANS) in queste condizioni abbia un effetto protettivo verso lo sviluppo dell'AD.

In un modello sperimentale di malattia di Alzheimer l'ibuprofene ha ridotto il numero di placche amiloidi

Il meccanismo postulato è quello di ridurre nel cervello il contenuto del peptide solubile A β che s'aggrega a formare le placche amiloidi (Lim et al., *J. Neurochem.*, 2000; 20: 5709-14)

L'espressione di COX-2 nell'ippocampo, una regione cerebrale a rischio per la neurodegenerazione della AD, può essere predittivo della progressione iniziale della malattia prima che avvenga la neurodegenerazione (Ho *et al.*, *Arch. Neurol.*, 2001).

Figure 1 Inflammatory markers and clinical progression of Alzheimer's disease dementia.



Da Pasinetti G.M. in "Therapeutic roles of selective COX-2 inhibitors",
Ed. by Vane and Botting, 2001, pp: 191-205

- L'induzione di COX-2, ma non di COX-1, è aumentata durante la risposta che porta alla morte neuronale per apoptosi (Ho *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1998; 89: 142-9).

- La tossicità da glutammato è potenziata in colture primarie di neuroni provenienti da topi transgenici con neuronale sovraespressione della COX-2 umana (Kelley *et al.*, *Am J Pathol*, 1999, 155: 995-1004).

- Inibitori selettivi della COX-2 proteggono dalla neurotossicità indotta da glutammato (Hewett *et al.*, *J Pharmacol Exp Ther*, 2000; 293:417-25).

- Nel SNC COX-2 è espressa nei neuroni e non nella glia (Yamagata *et al.*, *Neuron*, 1993; 11: 371-86.; Adams *et al.*, *J Neurochem*, 1996; 66: 6-13; Tocco *et al.*, *Exp. Neurol.*, 1997; 144: 339-49).

- La sovraespressione della COX-2 nei neuroni può influenzare geni coinvolti nel ciclo cellulare e nella differenziazione cellulare (Mirjani *et al.*, *Soc Neurosci Abstr*, 2001).

Roles in neuronal injury

Acute stage :

COX inhibition reduces the size of the infarcts following reperfusion (*Cole et al., 1993*)

Delayed phase :

Glutamate-dependent neurotoxicity → COX-2 induction

COX-2 inhibition reduces the extent of neuronal injury

(*Nogawa, 1997; Nakayama, 1997, Iadecola, 2001a*)

COX-2 deficient mice : ischemic and NMDA-induced neurotoxicity ↓ (*Iadecola, 2001a*)

COX-1 deficient mice : susceptible to ischemic brain injury (*Iadecola 2001b*)

Parkinson's disease

COX can catalyze the dopamine to reactive dopamine quinone (*Hastings., 1995; Mattammal., 1995*)

Inhibition of COX-1,2 → neuroprotection in the MPT-mouse model (*Teismann, 2001*)

Up-regulation of COX-2 in Parkinson's patients (*Knott, 2000*)



L'apparente effetto protettivo dei FANS suggerisce che la COX potrebbe essere coinvolta nei meccanismi di neurodegenerazione (Pasinetti, *J. Neurosci Res*, 1998; 54: 1-6).

Neurodegeneration

Nervous
degeneration

Acute

Subsequent to an insult to the brain

Stroke

Head trauma

Progressive

Not age-related

Multiple sclerosis

ALS

Age-related

Parkinson's disease

Alzheimer's disease

Intracellular Ca^{2+} -overload

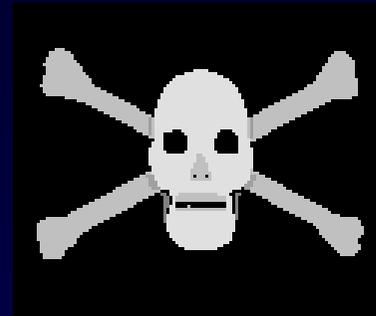
$[\text{Ca}^{2+}]_i \uparrow$



Ca^{2+} -activated

- Proteases
(*cytoskeleton breakdown*)
- Phospholipases
(*release of arachidonic acid*)
- NO synthases
- Endonucleases
(*DNA breakdown*)

Free
radical
production



- Nel cervello di ratto COX-2 è espressa prevalentemente nelle strutture limbiche ed è regolata durante l'accrescimento (Ho *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1998; 89: 142-9).

- In un modello di eccitotossicità in cui apoptosi è indotta dalla somministrazione sistemica di ac. kainico COX-2, ma non COX-1, è indotta in risposta all'ac. kainico (Tocco *et al.*, *Exp. Neurol.*, 1997; 144: 339-49).

- L'induzione di COX-2, ma non di COX-1, è aumentata durante la risposta che porta alla morte neuronale per apoptosi (Ho *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 1998; 89: 142-9).

- La tossicità da glutammato è potenziata in colture primarie di neuroni provenienti da topi transgenici con neuronale sovraespressione della COX-2 umana (Kelley *et al.*, *Am J Pathol*, 1999, 155: 995-1004).

- Inibitori selettivi della COX-2 proteggono dalla neurotossicità indotta da glutammato (Hewett *et al.*, *J Pharmacol Exp Ther*, 2000; 293:417-25).

In un modello sperimentale di malattia di Alzheimer l'ibuprofene ha ridotto il numero di placche amiloidi

Il meccanismo postulato è quello di ridurre nel cervello il contenuto del peptide solubile A β che s'aggrega a formare le placche amiloidi (Lim et al., *J. Neurochem.*, 2000; 20: 5709-14)

- Nel SNC COX-2 è espressa nei neuroni e non nella glia (Yamagata *et al.*, *Neuron*, 1993; 11: 371-86.; Adams *et al.*, *J Neurochem*, 1996; 66: 6-13; Tocco *et al.*, *Exp. Neurol.*, 1997; 144: 339-49).

- La sovraespressione della COX-2 nei neuroni può influenzare geni coinvolti nel ciclo cellulare e nella differenziazione cellulare (Mirjani *et al.*, *Soc Neurosci Abstr*, 2001).

Roles in neuronal injury

Acute stage :

COX inhibition reduces the size of the infarcts following reperfusion (*Cole et al., 1993*)

Delayed phase :

Glutamate-dependent neurotoxicity → COX-2 induction

COX-2 inhibition reduces the extent of neuronal injury

(*Nogawa, 1997; Nakayama, 1997, Iadecola, 2001a*)

COX-2 deficient mice : ischemic and NMDA-induced neurotoxicity ↓ (*Iadecola, 2001a*)

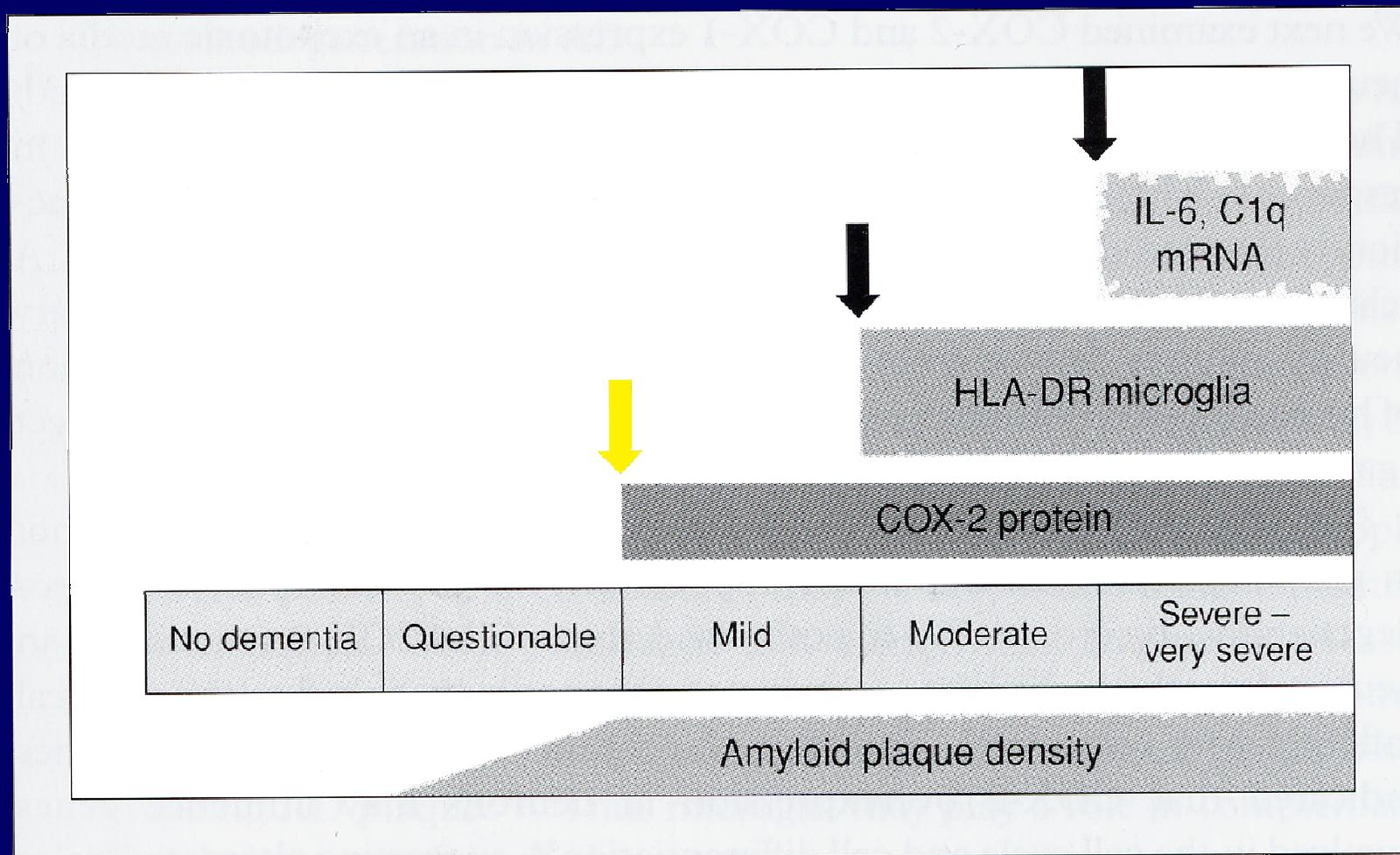
COX-1 deficient mice : susceptible to ischemic brain injury (*Iadecola 2001b*)

Drugs with Anti-inflammatory Properties Being Studied in AD

- COX-1 and COX-2 Inhibitors: Ibuprofen, Naproxen (Phase III)
- COX-2 Inhibitors: Celecoxib (may not be effective), Rofecoxib (Phase II)
- Rofecoxib 25 mg being compared to Naproxen 200 mg bid in NIA study
- Recruiting for 2 year NIMH sponsored “Anti-inflammatory Treatment for Age-Associated Memory Impairment”- ibuprofen

L'espressione di COX-2 nell'ippocampo, una regione cerebrale a rischio per la neurodegenerazione della AD, può essere predittivo della progressione iniziale della malattia prima che avvenga la neurodegenerazione (Ho *et al.*, *Arch. Neurol.*, 2001).

Figure 1 Inflammatory markers and clinical progression of Alzheimer's disease dementia.



Da Pasinetti G.M. in "Therapeutic roles of selective COX-2 inhibitors",
Ed. by Vane and Botting, 2001, pp: 191-205

Parkinson's disease

COX can catalyze the dopamine to reactive dopamine quinone (*Hastings., 1995; Mattammal., 1995*)

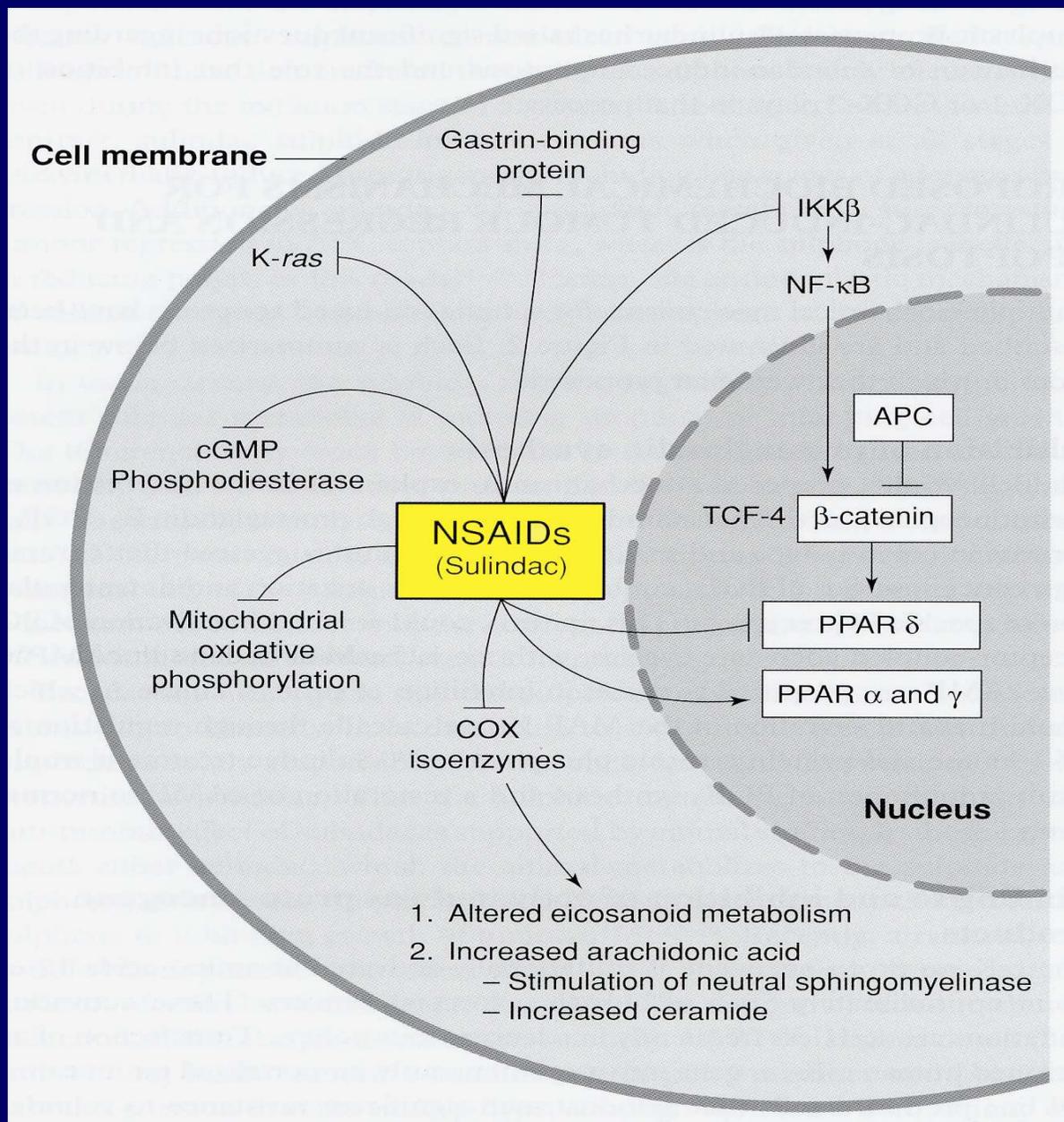
Inhibition of COX-1,2 → neuroprotection in the MPT-mouse model (*Teismann, 2001*)

Up-regulation of COX-2 in Parkinson's patients (*Knott, 2000*)

ASA displays various potentially beneficial effects:

Inhibition of a proinflammatory enzyme, inducible nitric oxide synthase (iNOS) (Amin et al. 1995)

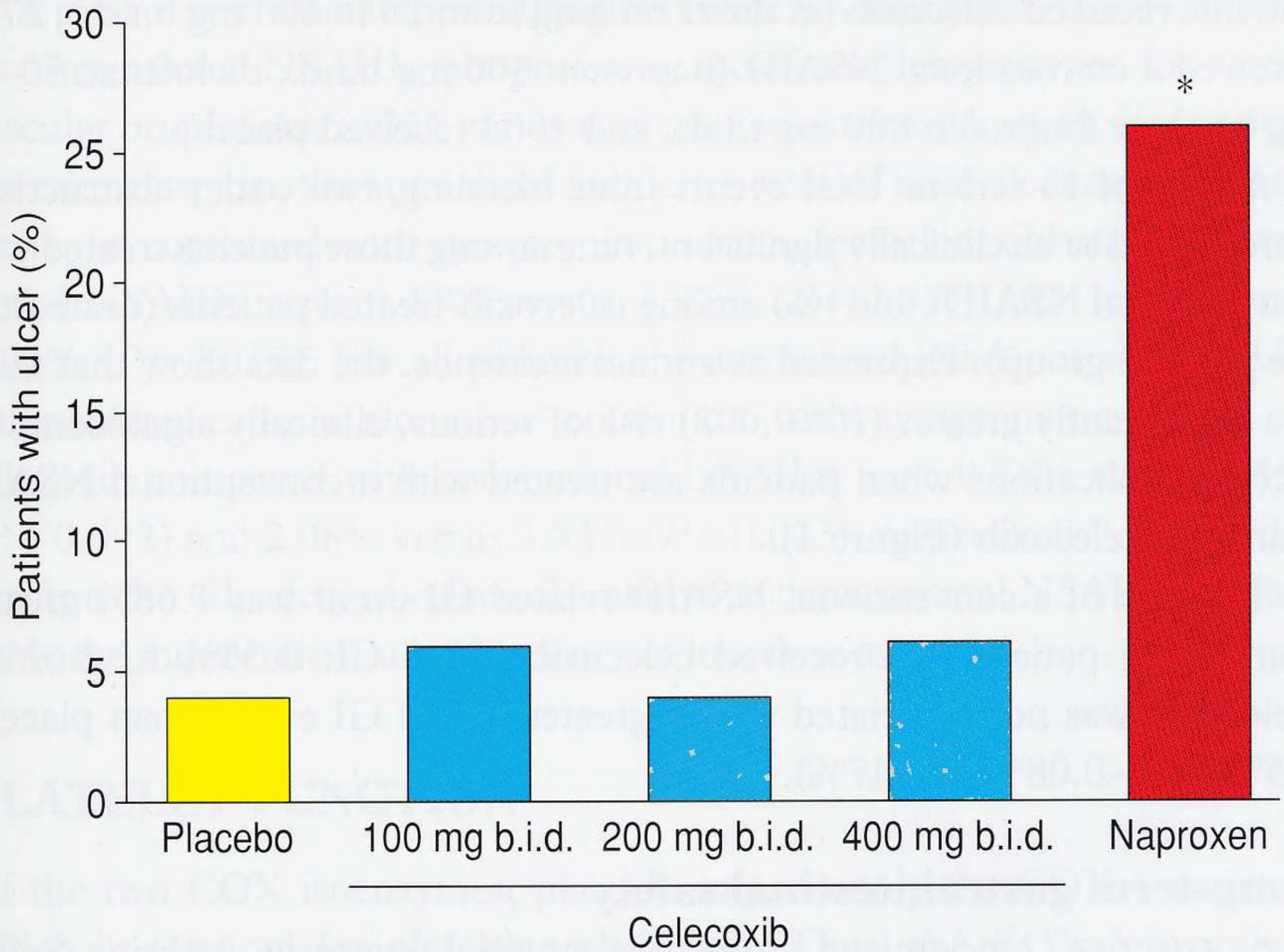
- Preventing nuclear translocation of the reactive oxygen species-sensitive transcription factor NF- κ B (Yin et al. 1998).
- Moreover, salicylates have been shown to inhibit the activity of extracellular-signal regulated kinases (ERKs) in neutrophils (Pillinger et al. 1998).



Da Warner T.D. et al., in "Therapeutic roles of selective COX-2 inhibitors",
 Ed. by Vane and Botting, 2001, pp: 76-94

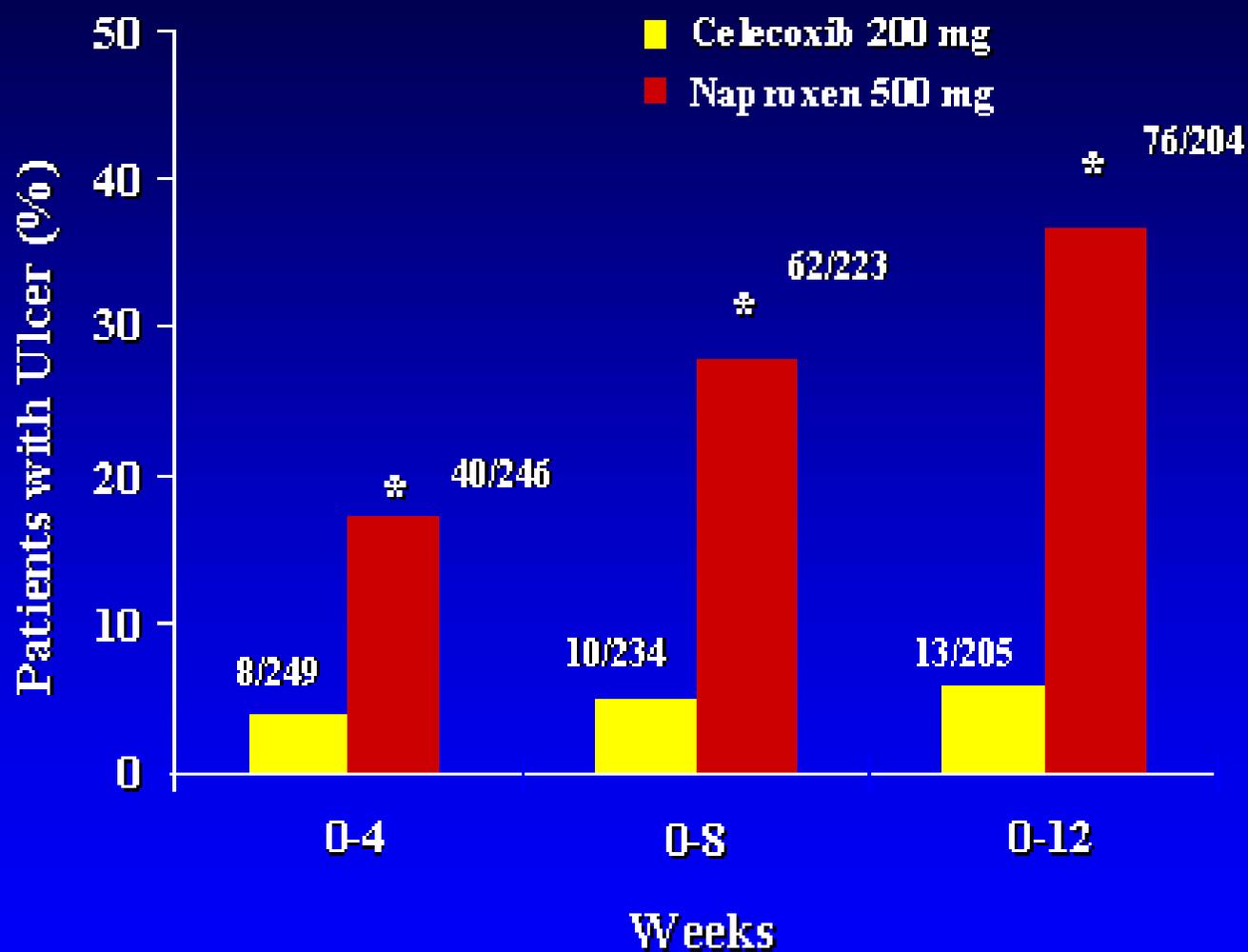
COX-2 Inhibitors

- Original hypothesis:
 - COX-1: GOOD
 - COX-2: BAD
- Based on initial evidence; COX system still not completely understood
- New information is challenging the original model



* $p < 0.01$ vs celecoxib or placebo

Cumulative Incidence of Gastric Ulcers



* Significantly different from celecoxib; $P < 0.001$

Data on File : Searle Study 062

CLASS (Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study)

(Silverstein et al., JAMA 2000, 284:1247-55)



A 6 mesi incidenza più di bassa di complicazioni ulcerose e di ulcere sintomatiche rispetto ad ibuprofene e diclofenac

FDA



“i dati valutati per la durata complessiva dello studio (12-16 mesi) evidenziavano che buona parte dei vantaggi clinici del celecoxib si era notevolmente ridotta e che non appariva esistere alcun vantaggio significativo per il Celecoxib (Scrip World Pharm News 2001; 2616:19)

CLASS (Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study)

(Silverstein *et al.*, *JAMA*, 2000, 284:1247-55)

Nessuna differenza significativa relativamente all'incidenza di eventi cardiovascolari tra celecoxib, diclofenac o ibuprofene

VIGOR (Vioxx™ Gastrointestinal Outcomes Research Study)

(Mukherjee *et al.*, *N Engl J Med*, 2000; 343:1520-8)

Maggiore incidenza di episodi trombotici cardiovascolari con rofecoxib rispetto al naprossene

Science 2002 Apr 19;296(5567):474-5

Biomedicine. Back to an aspirin a day?

Vane JR.

COX-2 ed APOPTOSI

- Cellule epiteliali intestinali di ratto modificate a sovraesprimere la COX-2 diventano resistenti all'apoptosi
- La sovraespressione di COX-2 induce:
 - Aumentata produzione di PGE₂
 - Aumentata adesione alla matrice extracellulare
 - Aumentata espressione di Bcl-2
 - Ridotta espressione del recettore per TGFβ₂
 - Assenza di E-caderina
- Il trattamento con sulindac solfuro ripristina l'apoptosi

FANS e APOPTOSI

- In vitro, FANS non selettivi e Coxib stimolano apoptosi in cellule APC^{-/-}
- Il sulindac stimola l'apoptosi in pazienti affetti da FAP ed in topini Apc^{Min}
- FANS non selettivi e Coxib inducono apoptosi in cellule di cancro del colon mantenute in vitro

FANS ed Apoptosi:

Meccanismi dipendenti dall'inibizione della COX

- **Riduzione sintesi PG**
e/o
- **Aumento disponibilità acido arachidonico**

PGE2:

- *E' in grado di modulare l'apoptosi e l'espressione di Bcl-2 in cellule di carcinoma di colon umano*
- ***Aumenta la proliferazione e l'invasività di cellule di carcinoma coloretta***

FANS ed APOPTOSI

Hanno un ruolo anche meccanismi indipendenti dall'inibizione COX ?

Suggeriti da varie evidenze:

- NS-398 stimola l'apoptosi in cellule di carcinoma di colon S/KS che non esprimono la COX-2
- Il sulindac solfone che non inibisce la COX è comunque in grado di stimolare l'apoptosi in ratti esposti a cancerogeni chimici ed in cellule di carcinoma umano in coltura

FANS ed APOPTOSI

Meccanismi COX-indipendenti

Possibili bersagli:

- C-myc
- NF-kB
- p38
- Recettore nucleare PPAR

Sfingomieline $\xrightarrow{+}$ **ceramide** \rightarrow **APOPTOSI**

Acido arachidonico $\xrightarrow{+}$ **Release di cit c dai mitocondri** \rightarrow **APOPTOSI**

COX-1 $\xleftarrow{-}$ **FANS non selettivi**

COX-2 $\xleftarrow{-}$ **FANS non selettivi**

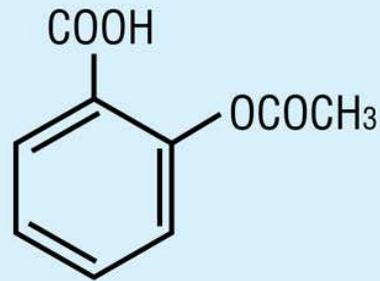
Coxibs $\xleftarrow{-}$ **COX-2**

PGs

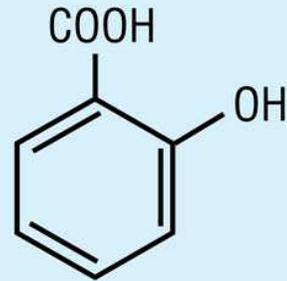
Influenzano proliferazione ed invasività

Meccanismo di azione dell'aspirina: Cambiamento attività catalitica COX-2

C



Acido acetilsalicilico



Acido salicilico

Ser 529 – OH
COX-1

Ser 529 – OCOCH₃
COX-1 (inattiva)

Acido acetilsalicilico

Acido salicilico

Ser 516 – OH
COX-2

Ser 516 – OCOCH₃
COX-2

Acido arachidonico

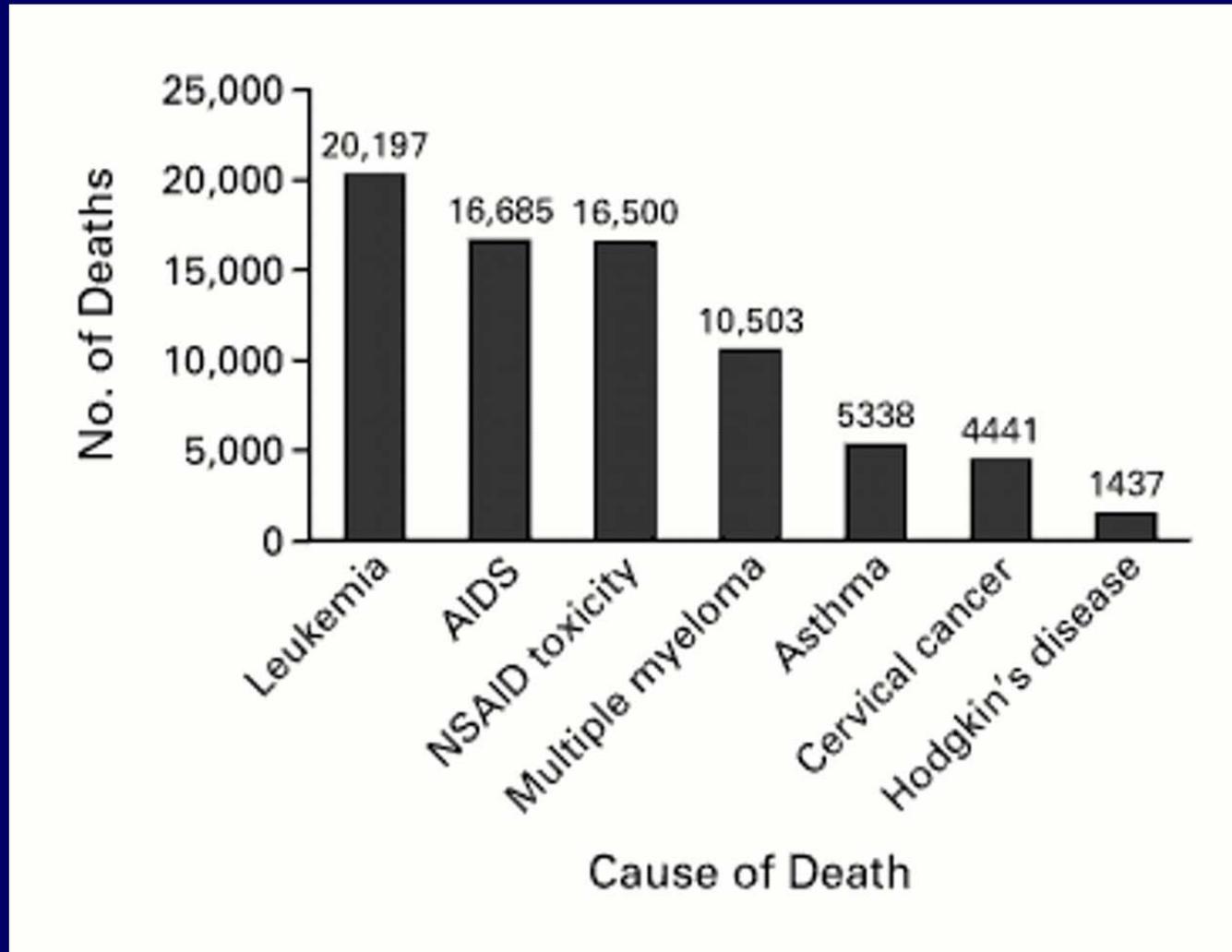
PGG₂

Acido arachidonico

PGG₂

15R-HETE

U.S. Mortality Data for Seven Selected Disorders in 1997



Wolfe, M. M. et al. N Engl J Med 1999;340:1888-1899