

FARMACODINAMICA

La farmacodinamica può essere definita come lo studio degli effetti biochimici e fisiologici dei farmaci e dei loro meccanismi d'azione.

Gli obiettivi dell'analisi dell'azione del farmaco sono quelli di conoscere le interazioni chimiche o fisiche tra farmaco e cellula bersaglio, e di caratterizzare pienamente la sequenza e lo scopo delle azioni di ciascun farmaco.

Un'analisi così dettagliata fornisce le basi sia per un razionale uso terapeutico del farmaco che per il disegno di agenti terapeutici migliori (Fig. 1).

Gli effetti della maggior parte dei farmaci sono il risultato della loro interazione con componenti macromolecolari specifici appartenenti alla cellula, chiamati recettori.

Il recettore è una particolare zona cellulare capace di riconoscere il farmaco e di instaurare con esse un legame reversibile altamente specifico.

Alcuni elementi cellulari possono fungere da recettori, con proprietà specifiche di legame.

E' il caso degli acidi nucleici che costituiscono il DNA, che diventano dei recettori per i farmaci chemioterapici impiegati contro il cancro.

Tuttavia, le classi di recettori più importanti sono costituiti dalle proteine cellulari.

Esse possono essere:

- enzimi,
- proteine trasportatrici di membrana, come le pompe ioniche,
- proteine con ruoli strutturali per la cellula, come per es. la tubulina.
- proteine solubili citoplasmatiche. Questi recettori si legano al DNA che regola la trascrizione di geni specifici, per questo motivo sono definiti anche fattori di trascrizione.
- Infine, proteine associate con le membrane cellulari. Questi recettori sono comunemente chiamati recettori di membrana (Fig. 2).

I recettori di membrana rappresentano un gruppo di recettori di particolare interesse, normalmente deputati a riconoscere i cosiddetti ligandi endogeni, come per es. ormoni, fattori di crescita cellulare, neurotrasmettitori, cioè speciali messaggeri fisiologici che sono in grado di legarsi specificamente a questi recettori, di attivarli e svolgere così nel nostro organismo una funzione regolatoria.

I farmaci, sostanze estranee all'organismo, interagiscono con tali recettori grazie ad un' affinità nella struttura chimica con i ligandi fisiologici.

Alla luce di tutto questo, dunque, è importante considerare il fatto che i farmaci non creano effetti, ma piuttosto determinano una modulazione di funzioni preesistenti.

I recettori di membrana si possono suddividere in tre tipi principali:

- Recettori ionotropici, o recettori-canale
- Recettori metabotropici, accoppiati a proteine G
- Recettori enzimatici o con un'attività chinasi intrinseca

I recettori di membrana sono caratterizzati da:

- una componente estrinseca, detta anche regolatrice, costituita dalla parte del complesso proteico che è risolta al lato esterno della membrana cellulare. Essa è quindi deputata a riconoscere e legare un ligando endogeno o un farmaco specifico.
- una componente intrinseca, costituita dalla parte più interna nello spessore della membrana, che traduce il segnale, innescato dal legame del ligando al recettore, in un evento fisico, come l'apertura di un canale ionico, o in serie di eventi biochimici intracellulari a catena che producono risposte a breve o a lungo termine.

Il recettore è in grado di riconoscere e legare specificamente i ligandi endogeni o i farmaci che hanno una struttura chimica ed una configurazione spaziale perfettamente complementare a quella del recettore. La formazione del complesso farmaco-recettore induce l'attivazione del recettore, ossia una modificazione nella sua configurazione molecolare. Questa attivazione avvia una serie a catena di eventi che esitano nell'effetto farmacologico finale (Fig. 3).

I recettori ionotropici sono macrocomplessi proteici costituiti da più subunità, in generale 4 o 5, che attraversano la membrana cellulare da un lato all'altro ed sono associate fra

loro in modo da formare una struttura cilindrica con un canale centrale selettivo per il passaggio di ioni. Ogni tipo di recettore-canale è specifico per il passaggio di un determinato ione.

Ciascuno di questi recettori trasmette il suo segnale aumentando il passaggio dello ione relativo attraverso la membrana, alterandone quindi il potenziale elettrico.

Tra i membri di questa famiglia di recettori, quello più dettagliatamente studiato è il recettore per il neurotrasmettitore acetilcolina, chiamato recettore nicotinic.

Questo recettore è costituito da 5 subunità di polipeptidi che delimitano un canale specifico per gli ioni sodio. L'acetilcolina rilasciata dalle fibre nervose è il ligando endogeno selettivo e specifico che viene riconosciuto dal sito di legame del recettore, presente nella parte extracellulare del recettore stesso. Questo legame attiva tutto il recettore canale, causandone una modificazione della conformazione, che consiste nella rapida apertura del canale, in pochi msec, e conseguente passaggio degli ioni sodio dal liquido extracellulare all'interno della cellula. La risposta cellulare sarà altrettanto rapida, e la rapidità di questo meccanismo di trasduzione è tipica del funzionamento dei recettori ionotropici ed è di importanza cruciale per il trasferimento di informazioni, momento per momento, attraverso le sinapsi. Infatti, molti neurotrasmettitori, come il glutammato, l'ac.gamma-amino-butirrico, hanno fra i loro vari sottotipi di recettori specifici anche un recettore di tipo ionotropico che garantisce la comunicazione rapida fra i neuroni. I meccanismi di trasduzione posseduti dagli altri recettori possono richiedere secondi, minuti o addirittura anche ore, come nel caso degli ormoni che attivano i fattori di trascrizione genica.

E' di fondamentale importanza il tipo di ione che passa attraverso il canale del recettore ionotropico per determinarne la funzione.

Il recettore nicotinic dell'acetilcolina, è uno dei recettori più potentemente stimolatori. Facendo entrare ioni sodio positivi nella cellula, determina la depolarizzazione della membrana, con un conseguente stato di eccitazione della cellula stessa. Al contrario, il recettore ionotropico del GABA, che è un noto neurotrasmettitore inibitorio, fa entrare nella cellula lo ione cloro negativo, determinando una iperpolarizzazione della membrana e quindi una refrattarietà all'eccitazione della cellula, che risulterà inibita (Fig. 4).

I recettori metabotropici sono costituiti da una catena polipeptidica che attraversa da una parte all'altra la membrana cellulare, per 7 volte.

Quando i ligandi endogeni, neurotrasmettitori, ormoni o altro, si legano a questi recettori comportandosi come primi messaggeri, danno l'avvio ad una cascata di eventi che, iniziando dall'esterno della cellula con l'attivazione del recettore stesso, portano alla formazione di secondi messaggeri. Questi ultimi attivano determinati enzimi responsabili di reazioni che mediano la risposta cellulare.

I recettori metabotropici regolano distinte proteine effettrici, attraverso la mediazione di un gruppo di piccole proteine che legano un molecola di GTP, chiamate proteine G. Esse sono localizzate sul lato più interno, citoplasmatico, della membrana. Sono composte da tre subunità: alfa, beta e gamma. La subunità alfa ha un sito di alta affinità per legare il GTP. Quando il recettore viene attivato dalla sua interazione con il ligando o con il farmaco, la proteina G si attiva e lega il GTP, ed il complesso alfa-GTP diffonde nella membrana ed interagisce con specifiche proteine effettrici, regolandone l'attività. Queste proteine effettrici possono essere canali per il passaggio di ioni o enzimi preposti alla produzione nella cellula di secondi messaggeri. Il tipo di modulazione che la subunità alfa esplica, e quindi di proteine effettrici coinvolte nella risposta cellulare, è strettamente correlata al tipo di proteina alfa.

Inoltre, la selettività della subunità alfa definisce il tipo di proteina G; e per la maggior parte dei recettori metabotropici, ogni tipo di recettore si accoppia specificamente ad un solo determinato tipo di proteina G.

E' ovvio che lo stesso tipo di proteina G può essere accoppiata con recettori diversi.

Le proteine G fungono da interruttori molecolari regolatori, in grado di produrre segnali attraverso gli effetti della subunità alfa. L'interruttore viene acceso dal recettore attivato dal legame con il suo ligando, e si spegne entro pochi secondi, tempo sufficiente perché avvenga una considerevole amplificazione della trasmissione del segnale.

Anche le subunità beta-gamma possono interagire con un effettore e influenzarne l'attività, indipendentemente dagli effetti del complesso subunità alfa-GTP.

Sono state identificate tre principali classi di proteine G, in base alle diverse subunità alfa.

- le proteine G_s, stimolano l'attività dell'enzima adenilato ciclasi, che funge così da loro effettore. L'adenilato ciclasi sintetizza l'AMP ciclico, che funge da secondo messaggero.

- Le proteine Gi, che invece inibiscono l'adenilato ciclasi, determinando una minore produzione di AMP ciclico.
- Le proteine Gq, che hanno come effettore l'enzima fosfolipasi C. L'attivazione della fosfolipasi C determina la produzione di alcune molecole derivate dalla scissione del fosfatidilinositolo, uno dei fosfolipidi che costituiscono la membrana cellulare. Le molecole prodotte sono il Diacil-glicerolo e l'inositolo trifosfato (Fig. 5).

L'adenilato ciclasi è l'effettore delle proteine Gs e Gi.

Questo enzima catalizza la reazione di sintesi dell'AMP ciclico, rendendo ciclica la molecola lineare dell'AMP, che a sua volta deriva dalla scissione dell'ATP.

L'AMP ciclico è il secondo messaggero di un recettore accoppiato alla proteina Gs.

Esso attiva molte proteinchinasi specifiche, enzimi che catalizzano la fosforilazione di numerose proteine, attivandole. Fra esse, la più importante è la proteina chinasi A, la cui attivazione porta ad un aumento della concentrazione di ioni calcio nella cellula.

In questo modo, l'AMP ciclico esplica la sua attività modulatoria su sistemi enzimatici coinvolti nel metabolismo energetico, nella divisione e nella differenziazione cellulare, nel trasporto ionico, nell'attività funzionale dei canali ionici responsabili dell'eccitabilità dei neuroni e della contrattilità delle cellule muscolari (Fig. 6).

La fosfolipasi C è l'effettore delle proteine Gq.

È un enzima che idrolizza un lipide che deriva dal fosfolipide di membrana fosfatidil inositolo, dando luogo alla formazione di inositolo trifosfato e diacilglicerolo.

Essi sono i secondi messaggeri dei recettori accoppiati alle proteine Gq.

L'inositolo trifosfato agisce a livello del reticolo endoplasmatico, che è il sistema di vescicole intracellulari dove gli ioni calcio sono sequestrati ed immagazzinati.

Promuove il rilascio considerevole nel citoplasma degli ioni Ca^{2+} contenuti in queste vescicole intracellulari.

L'aumento degli ioni calcio liberi nel citoplasma provoca l'attivazione di numerosi enzimi endocellulari ed attiva le diverse funzioni di una cellula, come la contrazione per una cellula muscolare, la secrezione di ormoni per una ghiandola endocrina, il rilascio di neurotrasmettitori per un neurone.

L'altro secondo messaggero, il Diacilglicerolo, agisce attivando specificamente l'enzima proteina chinasi C che, attivandosi, migra dal citoplasma verso la membrana dove

fosforilando numerose proteine è in grado di controllare molteplici funzioni cellulari. In particolare, essa determina l'ingresso di ioni calcio dall'esterno della cellula, attraverso specifici canali.

In definitiva, un recettore metabotropico accoppiato alla proteina Gq è sicuramente un recettore di tipo stimolatorio (Fig. 7).

I recettori enzimatici sono anche definiti recettori con un'attività chinasi intrinseca.

Sono recettori proteici con una comune struttura caratterizzata da:

- una regione extracellulare che specificamente riconosce e lega i ligandi endogeni
- ed una regione intracellulare che possiede un'attività enzimatica.

I recettori di questo gruppo più comuni in natura hanno un'attività tirosinchinasi per la presenza dell'enzima tirosina chinasi nella loro componente più interna.

Questi recettori mediano, tra l'altro, le azioni di vari fattori di crescita e di alcuni ormoni come l'insulina.

La via di trasmissione della tirosina chinasi si attiva in seguito al legame del ligando con la regione extracellulare del recettore. La conseguente variazione conformazionale fa sì che una molecola di recettore ne legni un'altra, associando in tal modo anche le regioni intracellulari della tirosina chinasi, che autofosforilandosi diventano enzimaticamente attiva. Questa fosforilazione è una tappa importante poiché permette al recettore fosforilato di attivare a sua volta numerose proteine intracellulari, con molteplici funzioni, in particolare l'induzione della trascrizione dei geni coinvolti nei processi della crescita e della differenziazione cellulare, oppure nella sintesi di enzimi coinvolti nel metabolismo dei carboidrati (Fig. 8).

I fattori di trascrizione sono proteine solubili nel citoplasma che hanno la capacità di legarsi al DNA e regolare la trascrizione di geni specifici.

I ligandi endogeni o i farmaci, per poter interagire con questi recettori, devono necessariamente essere composti altamente lipofili in grado quindi di attraversare facilmente la membrana cellulare.

Tipici esempi di ligandi endogeni sono i glucocorticoidi, i mineralcorticoidi, gli ormoni sessuali, la vit. D e l'ormone tiroideo.

Questo tipo di recettore si trova normalmente in forma inattiva. L'ormone una volta entrato nel citoplasma si lega ed esso, formando un complesso ormone-recettore attivato, che

migra nel nucleo e si lega a regioni ben definite del DNA. Ne consegue la produzione di RNA messaggeri specifici e l'inizio della sintesi di proteine specifiche.

Una caratteristica di tutti i ligandi che attivano questa classe di recettori, è che i loro effetti si instaurano piuttosto lentamente a causa del tempo necessario per la sintesi delle nuove proteine (Fig. 9).

Gli agonisti sono i farmaci che si legano ai recettori fisiologici e mimano gli effetti dei ligandi endogeni, cioè delle sostanze fisiologicamente presenti nel nostro organismo. Quindi, un farmaco verrà definito agonista quando, legandosi a uno specifico recettore lo attiva, determinando una serie di effetti biologici.

L'attività degli agonisti è fondamentalmente legata a due fattori:

L'affinità e l'attività intrinseca.

L'affinità rappresenta la capacità da parte dell'agonista di formare il complesso farmaco-recettore, attraverso molteplici legami chimici, di solito di tipo debole e reversibile.

Essa si basa sulla configurazione spaziale dell'agonista perfettamente complementare a quella del sito recettoriale

L'attività intrinseca rappresenta la capacità di un farmaco legato al recettore, di produrre una risposta biologica attraverso l'attivazione del meccanismo, mediante il quale il legame del farmaco al recettore viene tradotto in risposta farmacologica.

L'attività intrinseca, quindi è una misura dell'attività biologica di un farmaco, ed è indipendente dall'affinità.

Gli agonisti si diversificano per il grado di affinità e di attività intrinseca che possiedono.

Gli agonisti parziali sono quei composti che, pur avendo occupato lo stesso numero di recettori, producono una risposta inferiore rispetto a quella ottenuta dagli agonisti completi.

Gli antagonisti sono i farmaci in grado di legarsi ai recettori, senza mimare gli effetti derivanti dal legame degli agonisti endogeni.

L'antagonista cosiddetto puro possiede un'alta affinità per il recettore, superiore a quella posseduta dall'agonista dello stesso recettore, ma non possiede alcuna attività intrinseca. Pertanto, l'antagonista, legandosi al recettore, è capace di impedire l'attacco al recettore da parte del farmaco agonista e di ostacolarne l'effetto.

L'agonista e l'antagonista, quindi, competono nei confronti dello stesso recettore e possono spiazzarsi a vicenda, se presenti in una concentrazione preponderante l'uno sull'altro. In altre parole, se l'inibizione del recettore da parte di un farmaco antagonista

può essere rimossa aumentando la concentrazione dell'agonista per quel recettore, l'antagonista sarà di tipo competitivo.

Alcuni antagonisti che si legano al recettore in modo praticamente irreversibile, o che producono delle modificazioni chimiche irreversibili del sito attivo, sono definiti antagonisti non competitivi. L'affinità di questi antagonisti per il recettore può essere così alta che il recettore non è più disponibile per legare l'agonista.

A questo punto è importante sottolineare la differenza che c'è fra il concetto di antagonismo farmacologico, che è stato appena descritto, e l'antagonismo fisiologico. Quest'ultimo è il sistema fisiologico di regolazione endogena.

Esso si realizza quando due molecole agoniste interagiscono con recettori diversi situati su una stessa cellula, producendo effetti opposti. Un tipico antagonismo funzionale è quello esercitato, nel sistema nervoso vegetativo, dai neuroni del Simpatico, che rilasciano il neurotrasmettitore noradrenalina, e dai neuroni Parasimpatici, che rilasciano acetilcolina. Questi due sistemi esercitano un controllo funzionale sui vari organi periferici, realizzando un antagonismo di tipo funzionale, come quello esistente per es. sulla muscolatura liscia bronchiale, dove l'acetilcolina, attivando i suoi recettori muscarinici, determina broncocostrizione, e parallelamente ed i recettori beta 2 per la noradrenalina, determinano broncodilatazione (Fig. 10).

Come abbiamo detto, gli agonisti si diversificano per il grado di affinità e di attività intrinseca che possiedono.

L'efficacia massima dipende strettamente dall'attività intrinseca del farmaco.

Essa si riferisce al massimo effetto possibile che può essere prodotto dal farmaco.

La potenza, invece, si riferisce alla concentrazione del farmaco, richiesta per produrre un dato effetto.

In pratica, un farmaco che determina lo stesso effetto massimo di un altro, ma ad una dose notevolmente inferiore, è un farmaco più potente dell'altro.

Per spiegare meglio queste due proprietà di un farmaco, è necessario considerare la correlazione esistente fra la concentrazione nel plasma, o dose somministrata, di un farmaco ed il suo effetto. Questa viene descritta da una curva iperbolica. Normalmente, però, per rendere più agevole il confronto fra curve dose-risposta differenti, si diagramma l'effetto del farmaco, in ordinata, verso il logaritmo della dose, in ascissa. Questa

linearizzazione espande la scala delle dosi, ai valori più bassi, dove l'effetto varia rapidamente, e la comprime alle alte dosi, dove l'effetto varia lentamente.

Dunque, nell'esempio riportato, il farmaco A ha la stessa efficacia massima del farmaco B, entrambi infatti producono il 100% dell'effetto considerato. Parallelemente, il farmaco A mostra una potenza maggiore del farmaco B, poiché è ugualmente efficace ad una dose circa 10 volte minore. Infine, il farmaco C rappresenta un farmaco notevolmente meno efficace del farmaco B, ottenendo, con la stessa dose, una risposta dimezzata (Fig. 11).

La dose efficace 50, comunemente espressa come ED50, è la dose efficace mediana, cioè la dose di un farmaco richiesta per produrre uno specifico effetto nel 50 % della popolazione trattata con quel farmaco.

Nello stesso modo, negli studi preclinici dei farmaci, cioè negli studi condotti su animali da esperimento, si determina anche la dose letale mediana, che è abbreviata in LD50.

Il rapporto fra la LD50 e la ED50 determina l'indice terapeutico, che è un'indicazione del margine di sicurezza di un farmaco, poiché stabilisce quanto è selettivo il farmaco nel produrre gli effetti terapeutici, rispetto agli effetti indesiderati o tossici.

Ovviamente, un farmaco con un valore alto di indice terapeutico è un farmaco sostanzialmente sicuro, perché per ottenere un effetto tossico è necessario alzare molto le dosi. Viceversa, quando l'indice terapeutico è basso, facilmente si possono verificare effetti indesiderati o addirittura tossici, perché la concentrazione plasmatica del farmaco alla ED50 si può avvicinare alla concentrazione con la LD50 (Fig. 12).

