

Generazione degli effetti dei farmaci

I farmaci non creano risposte ma modulano funzioni fisiologiche



Conoscere i farmaci = conoscere il funzionamento di organo/sistema/individuo

Conoscere il meccanismo d'azione dei farmaci consente di:

- definire le basi logiche all'intervento terapeutico secondo lo schema:
conosco la causa della malattia e le sue conseguenze sul funzionamento dell'organo/sistema/individuo (sintomi) → progetto un intervento che sia diretto a bloccare/limitare/eliminare la causa e/o a sollecitare risposte compensatorie
- prevedere quali sono i sintomi che devo monitorare per valutare la qualità della mia terapia/diagnosi
- prevedere gli effetti indesiderati (a me e/o al paziente) per monitorarli/evitarli all'interno del processo terapeutico

Generazione degli effetti dei farmaci

I farmaci non creano risposte ma modulano funzioni fisiologiche



Conoscere i farmaci = conoscere il funzionamento di organo/sistema/individuo

Conoscere il meccanismo d'azione dei farmaci consente di:

**FARE IL MEDICO E NON
IL CIARLATANO**

FARMACOLOGIA: cosa serve

1. Conoscere il meccanismo d'azione dei farmaci
2. Conoscere i sintomi indotti/modificati dai farmaci (vantaggi)
3. Conoscere i limiti e gli svantaggi (reazioni avverse) dei farmaci

Saper fare 1 + 2+ 3 = Saper fare la scelta razionale della terapia

Generazione degli effetti dei farmaci

Farmaci come strumento di modulazione delle risposte a mediatori naturali

I RECETTORI ENDOGENI PER NEUROTRASMETTITORI E ORMONI:

CARATTERISTICHE GENERALI

Classificazione per:

- 1. Localizzazione: recettori di membrana e recettori intracellulari**
- 2. Struttura**
- 3. Modalità di funzionamento**
- 4. Agonista naturale**

Recettori aventi la stessa struttura molecolare generalmente funzionano in modo analogo

Tipi di recettori distinti per struttura/funzione

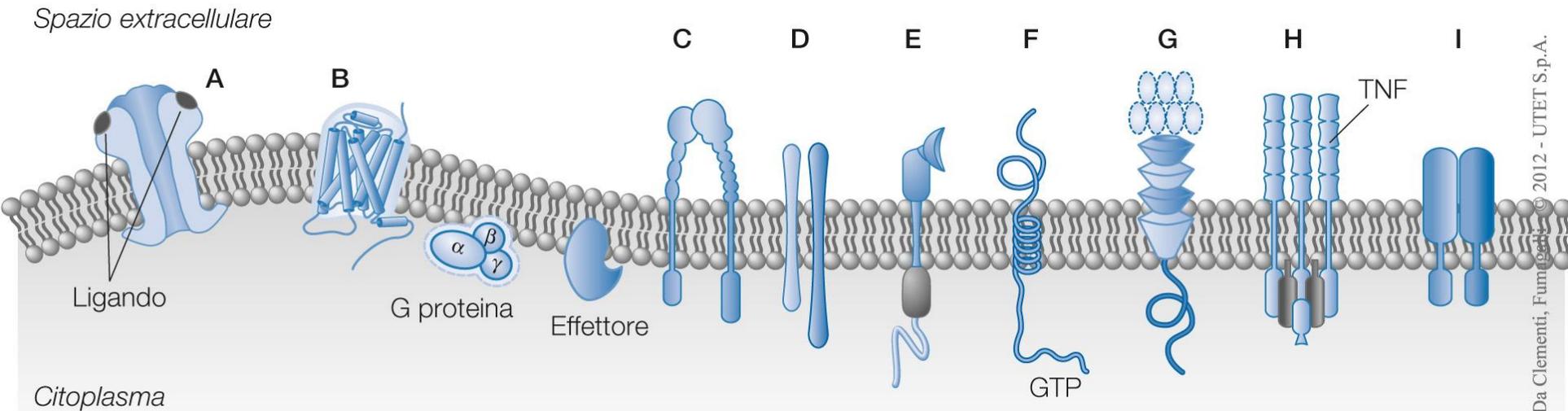


Figura 6.2 Rappresentazione schematica delle varie famiglie di recettori di membrana. A. Canali ionici aperti dal legame con il neurotrasmettitore. B. Recettori accoppiati a proteine G con la caratteristica struttura a sette zone transmembrinarie. C. Recettori per la matrice extracellulare (integrine). D. Recettori per le citochine. E. Recettori che possiedono attività proteinchinasica intrinseca (cilindro grigio) che fosforila residui di tirosina e/o serina. F. Recettori che possiedono un'attività guanilato ciclasica intrinseca. G. Recettori per le lipoproteine. H. Recettori per il TNF o recettori di morte. I. Recettori "toll-like".

Recettori-canale: quando attivati lasciano passare ioni

Recettori a proteina G: quando attivati producono i messaggeri

Recettori tirosinchinasici: quando attivati fosforilano substrati in tirosina

Vi sono ulteriori classi di recettore distinguibili per struttura e meccanismo di trasduzione del segnale

Tipi di recettori distinti per struttura/funzione

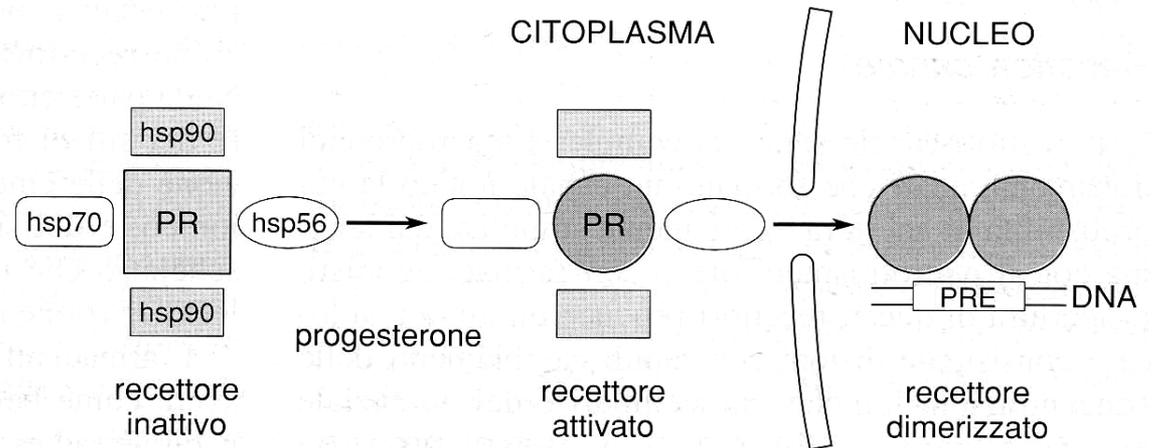
Recettori intracellulari

Sono recettori per ligandi lipofili che penetrano passivamente nel citoplasma e/o nel nucleo per diffusione passiva

Legano il DNA modulando la trascrizione genica

Recettori per androgeni, estrogeni, progesterone cortisolo, aldosterone, vit D

Fig. 5.1. Schema del meccanismo di trasduzione del segnale dei recettori per gli ormoni steroidei. In questo esempio il recettore per il progesterone (PR) è associato con tre *heat-shock proteins* (hsp) ed è inattivo. Quando il progesterone si lega al recettore, esso cambia conformazione, si dissocia dalle HSP, dimerizza ed è quindi trasportato nel nucleo. Qui interagisce con sequenze specifiche di DNA, dette *progesteron-responder element* (PRE) presenti nel promotore di geni sensibili al progesterone. In tal modo viene attivata la trascrizione del gene.



Sistemi neurotrasmettitoriali nel SNC

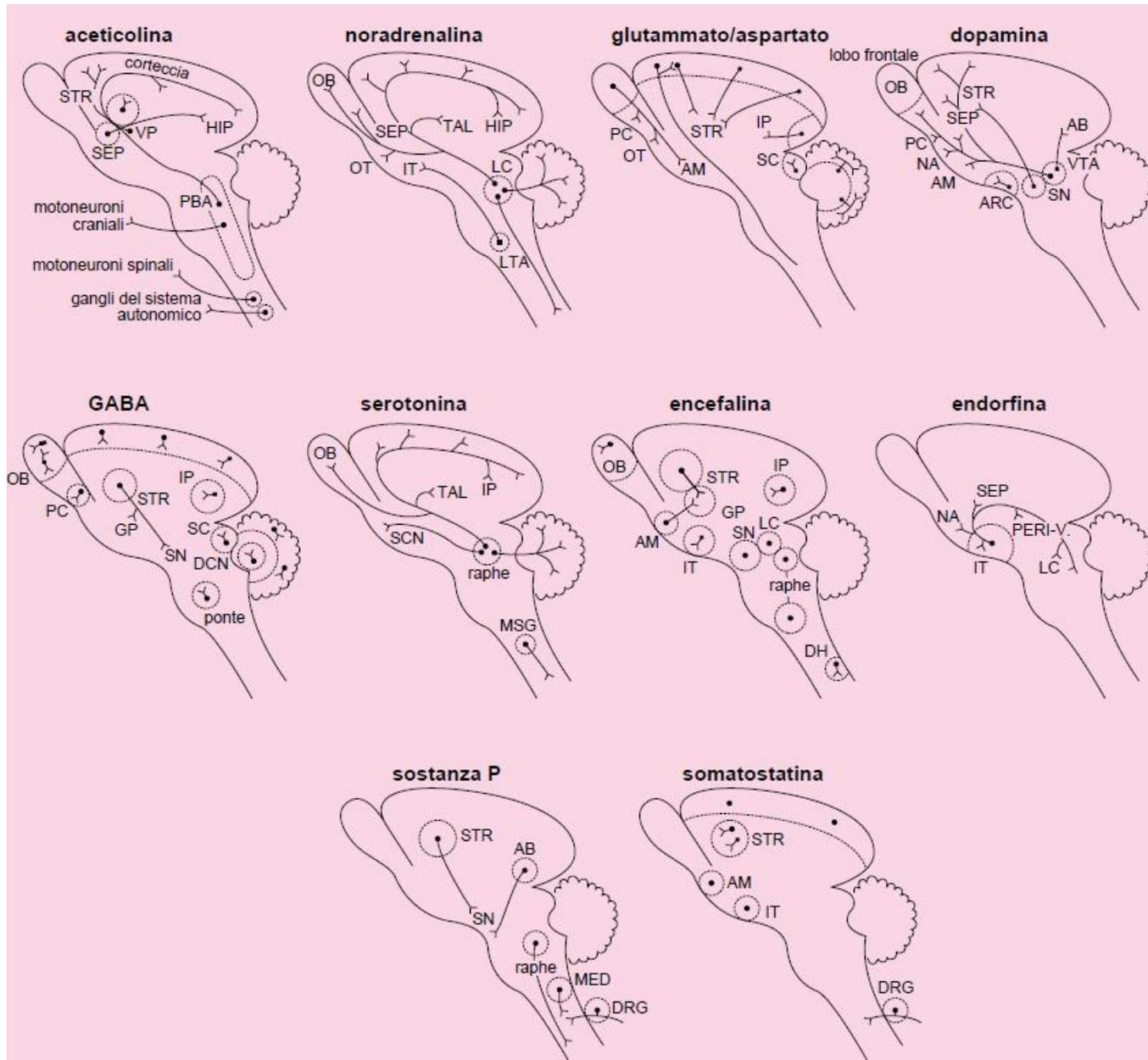


Fig. 1. Da: Transmitter molecules in the Brain, J.M. Mc Queen, Springer-Verlag, 1987.

Uno stesso neurotrasmettitore può avere recettori di classe diversa

Neurotrasmettitore	Risposta veloce	Risposta lenta
Acetilcolina	Nicotinici	Muscarinici
GABA	GABA _A	GABA _B
Glutammato	Ionotropi	Metabotropi
Serotonina	5-HT ₃	5-HT _{1,2,4,5}
ATP	P _{2x}	P _{2y}

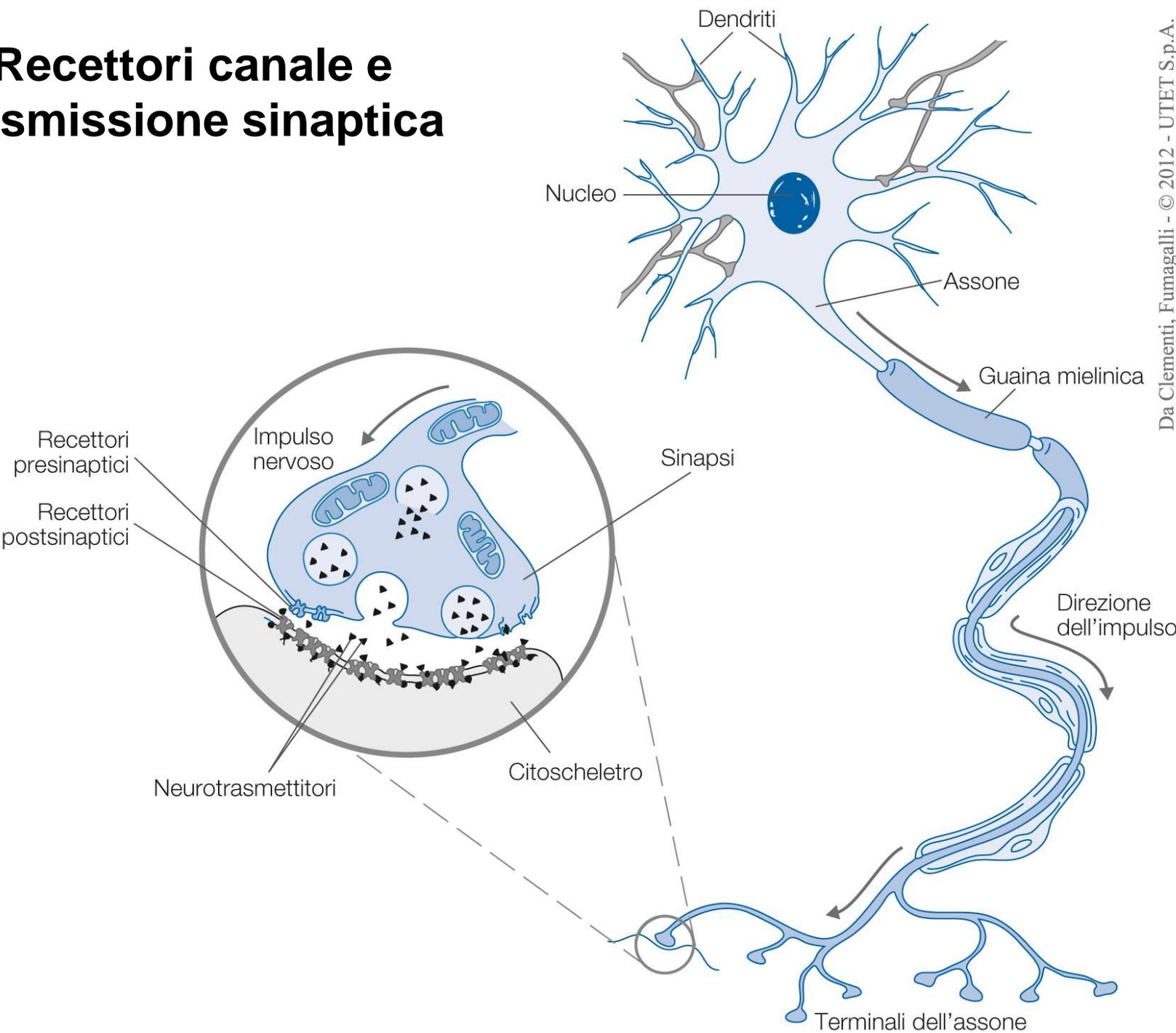
Generalmente recettori di classe diversa mediano risposte di classe diversa

I RECETTORI CANALE

IL RECETTORE NICOTINICO PER L'ACETILCOLINA E IL RECETTORE-CANALE PER IL GABA

ASPETTI GENERALI SULL'ORGANIZZAZIONE MOLECOLARE, SUL MODO DI FUNZIONARE E SULLA MODULAZIONE FARMACOLOGICA DEI RECETTORI CANALE

Recettori canale e trasmissione sinaptica



I recettori-canale sono proteine multimeriche (fatte da più subunità) che attraversano da parte a parte la membrana plasmatica

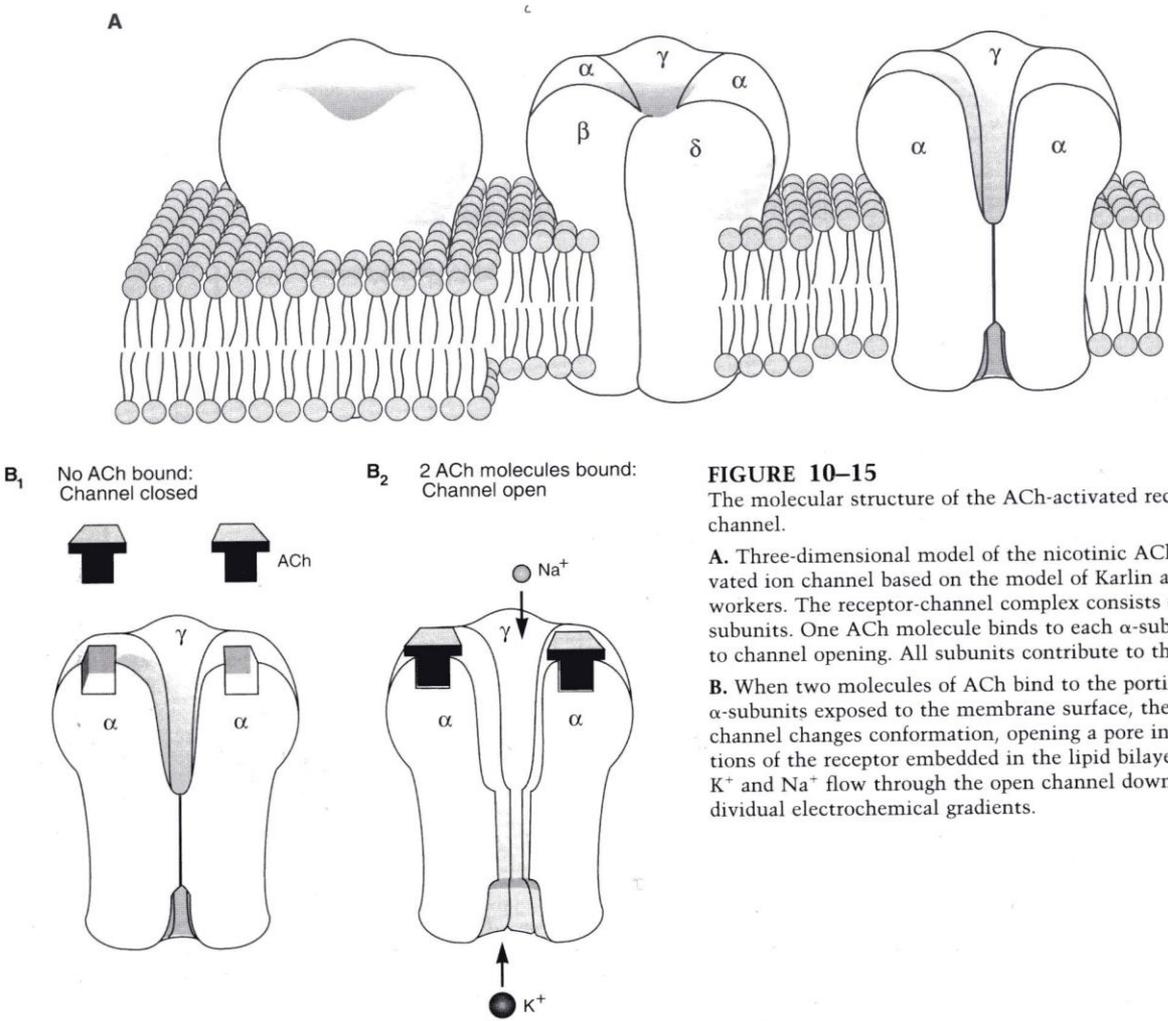


FIGURE 10-15
The molecular structure of the ACh-activated receptor-channel.

A. Three-dimensional model of the nicotinic ACh-activated ion channel based on the model of Karlin and co-workers. The receptor-channel complex consists of several subunits. One ACh molecule binds to each α -subunit prior to channel opening. All subunits contribute to the pore.

B. When two molecules of ACh bind to the portions of the α -subunits exposed to the membrane surface, the receptor-channel changes conformation, opening a pore in the portions of the receptor embedded in the lipid bilayer. Both K^+ and Na^+ flow through the open channel down their individual electrochemical gradients.

I recettori canale sono multimerici

(sono composti da più subunità)

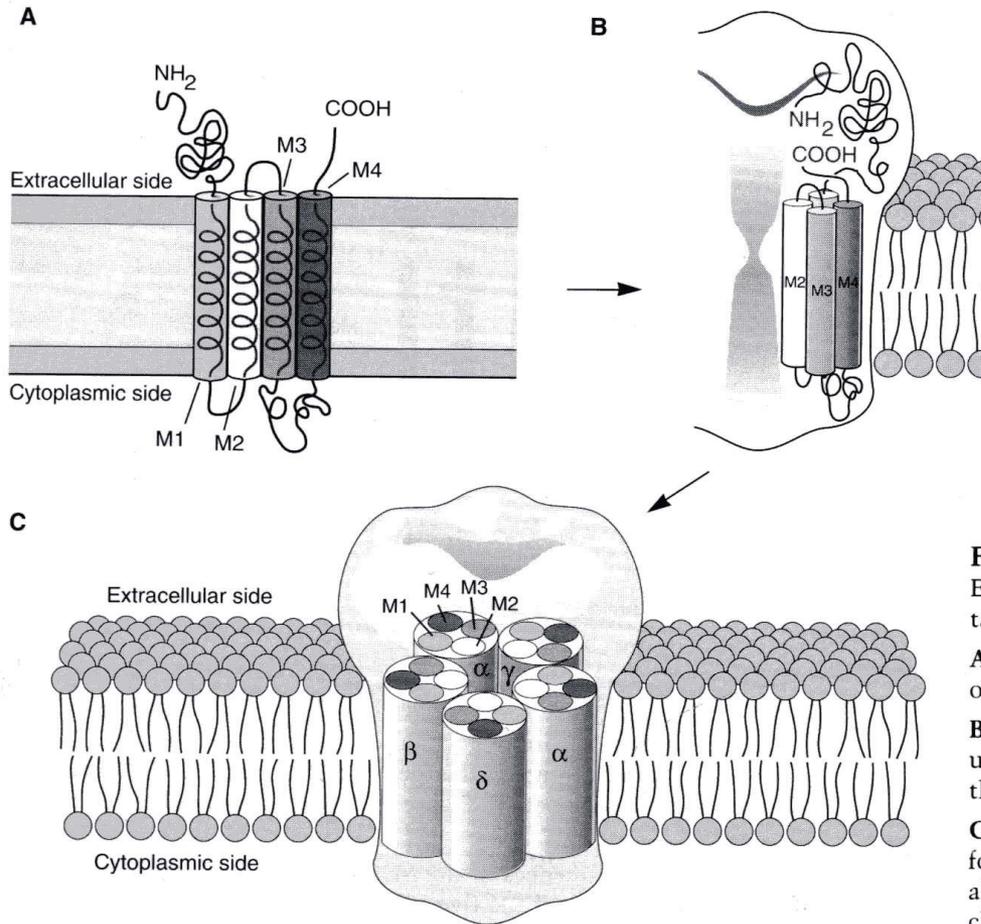


FIGURE 10-16

Each subunit of the ACh receptor-channel contains four membrane-spanning α -helices.

A. The four membrane-spanning components of one subunit (labeled M1–M4).

B. A hypothetical folding arrangement for one subunit in the channel with the M2 segment facing the channel.

C. A hypothetical arrangement of the five subunits forming an aqueous channel, with the M2 segment always on the inside forming the lining of the channel.

Il numero di subunità varia tra recettori

TABELLA 12.1 Recettori-canale e loro subunità clonate

Recettori		Sigla	Trasmittitore	Subunità clonate
Recettori permeabili a cationi	Recettore nicotinic muscolare	AChR	Acetilcolina	$\alpha_1, \beta_1, \gamma, \delta, \epsilon$
	Recettore nicotinic neuronale	nAChR	Acetilcolina	$\alpha_{2-10}, \beta_{2-4}$
	Recettori glutammatergici ionotropi	AMPA - KAR NMDAR	Amminoacidi eccitatori	GluA ₁₋₄ - GluK ₁₋₅ - Glu N1 - Glu N2 _{A-D} - GluN3 _{A, B}
	Recettore serotoninergico	5-HT ₃	Serotonina	5-HT _{3A-C}
	Recettore purinergico	P2X	ATP	P2X ₁₋₇
	Recettori aperti dai nucleotidi ciclici	CNG	cAMP e cGMP	CNCA ₁₋₄ - CNCB _{1,3}
Recettori permeabili ad anioni	Recettore GABAergico	GABA _A	GABA	$\alpha_{1-6} - \beta_{1-3} - \gamma_{1-3} - \delta, \epsilon, \pi, \theta - \rho_{1-3}$
	Recettore glicinerico	Gly-R	Glicina	$\alpha_{1-3} - \beta$

Organizzazione molecolare dei recettori-canale

Quattro classi

1- recettori Cys-loop

2- Recettori ionotropi del glutammato

3- Recettori dei nucleotidi ciclici cGMP e cAMP

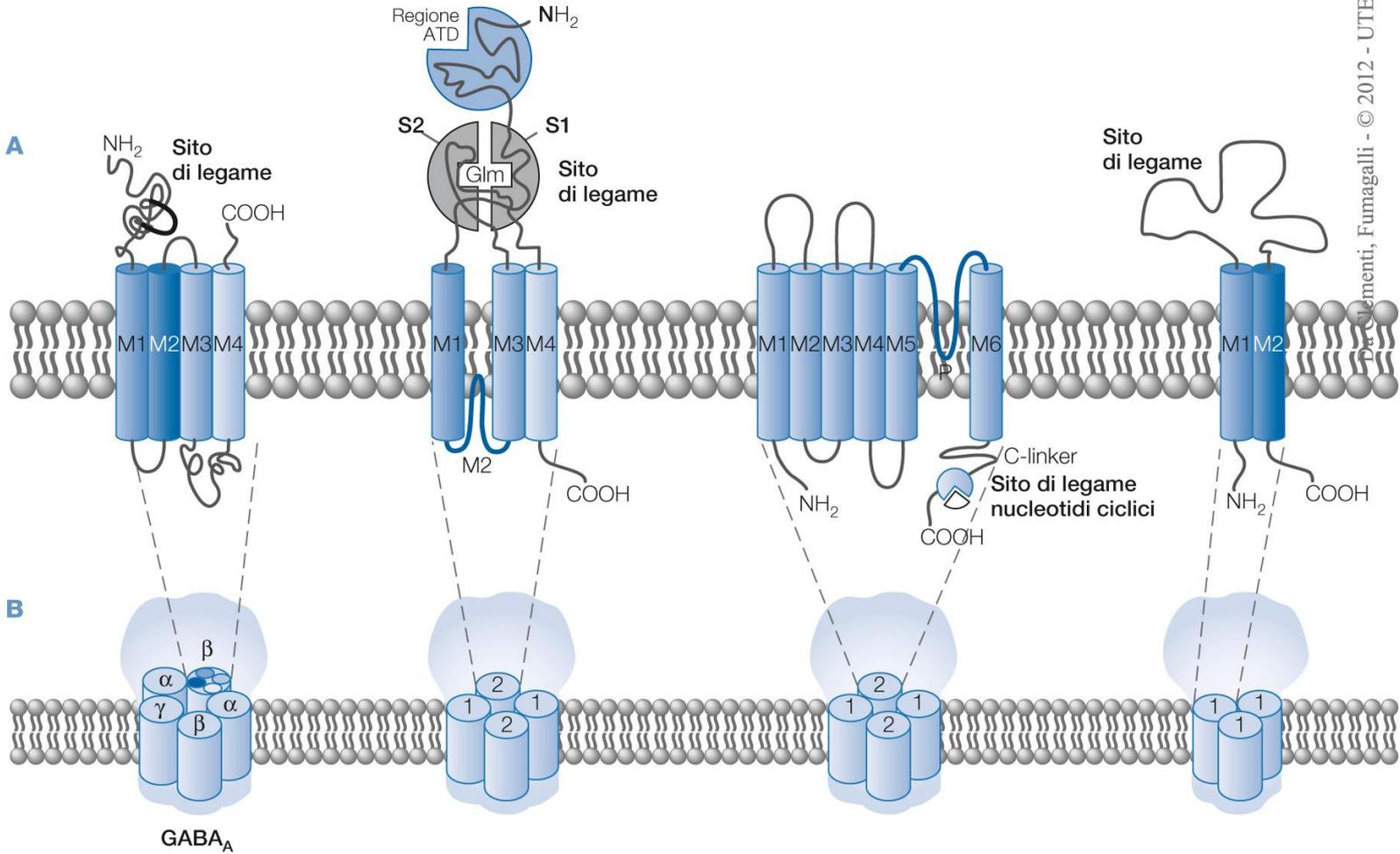
4- Recettori ionotropi per ATP P2X

1^a classe:
Cys-loop
recettori

2^a classe:
Glutammato
recettori

3^a classe:
Nucleotidi ciclici
recettori

4^a classe:
ATP
recettori

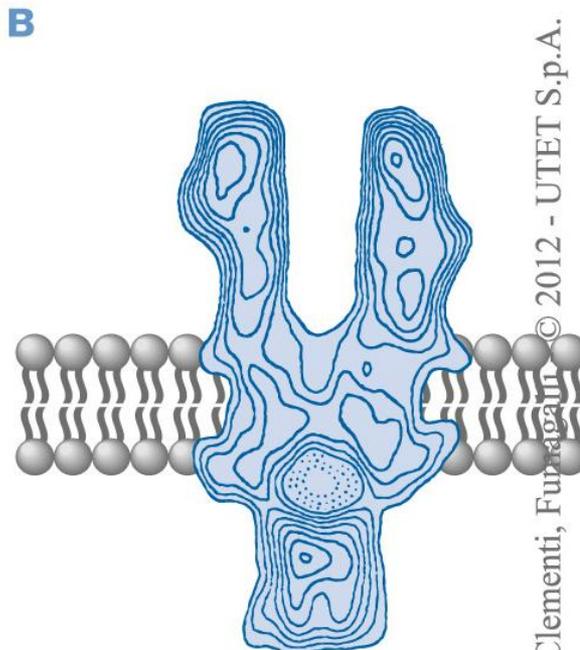


Topografia

Sono transmembrana

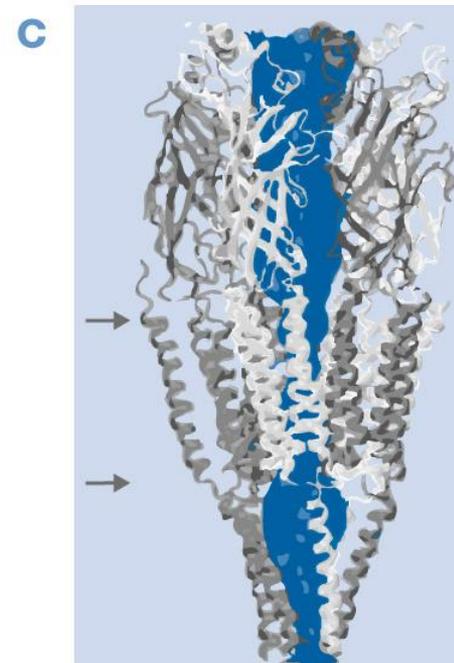
AChR è prototipo: cilindro di diam 8 nm e h di 16 nm

Parte extracellulare ha forma di imbuto e sporge di 6.5 nm e diametro interno di 2 nm



Proteina del citoscheletro

Da Clementi, Fubini, © 2012 - UTET S.p.A.



I recettori-canale sono selettivi per carica

I recettori-canale si dividono in base alla carica che lasciano passare in:

1- cationici (fanno passare cariche positive come sodio e calcio; esempi: recettore per l'acetilcolina, recettori per il glutammato, recettori per purine, per serotonina)

2- anionici (fanno passare cariche negative come cloro) ; esempi: recettore per il GABA, per glicina

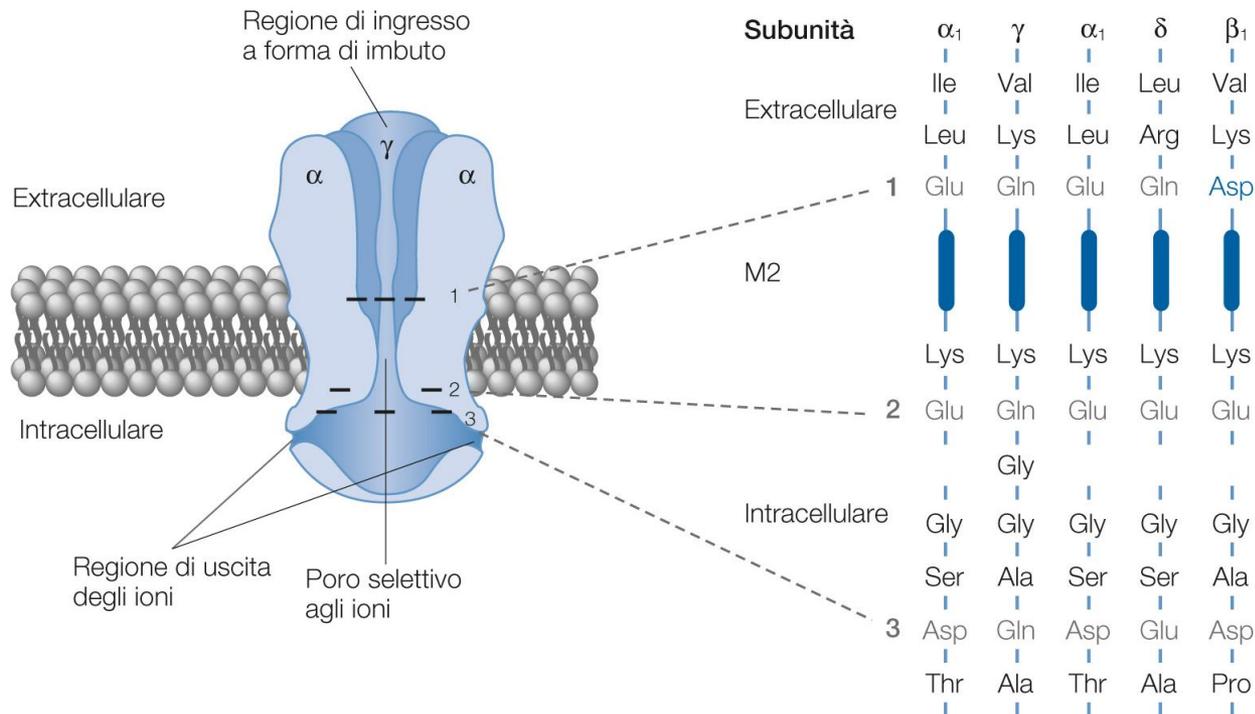
Topografia

3 anelli di aac carichi lungo imbuto che definiscono la carica ionica permeante

Negativa: canale cationico

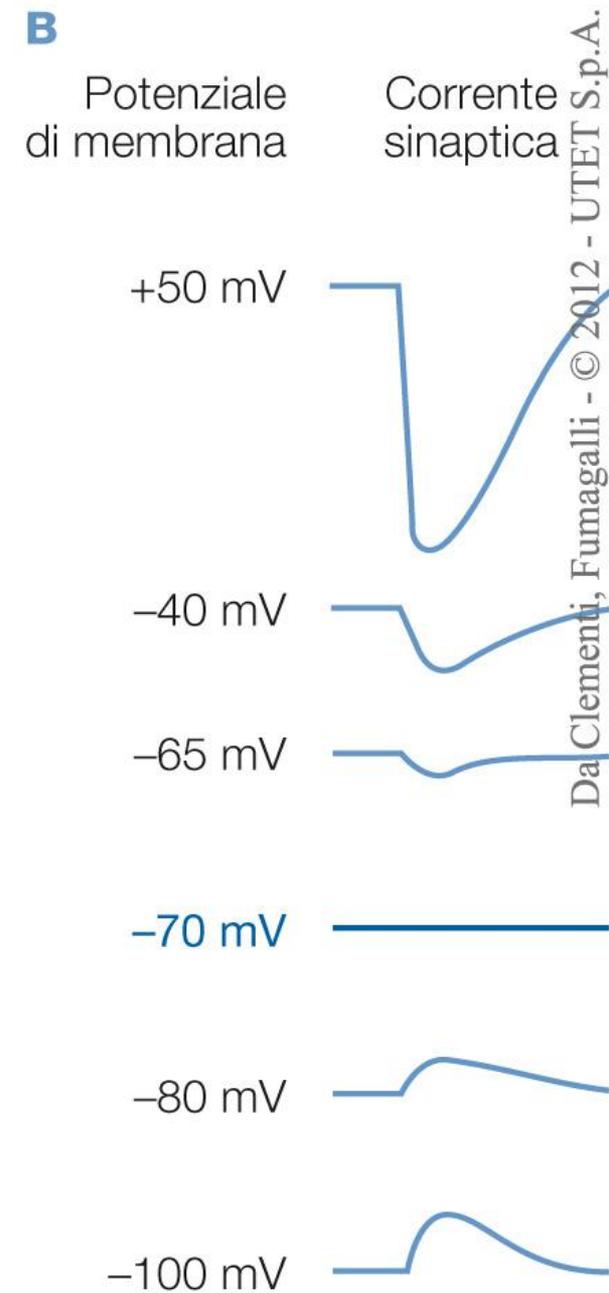
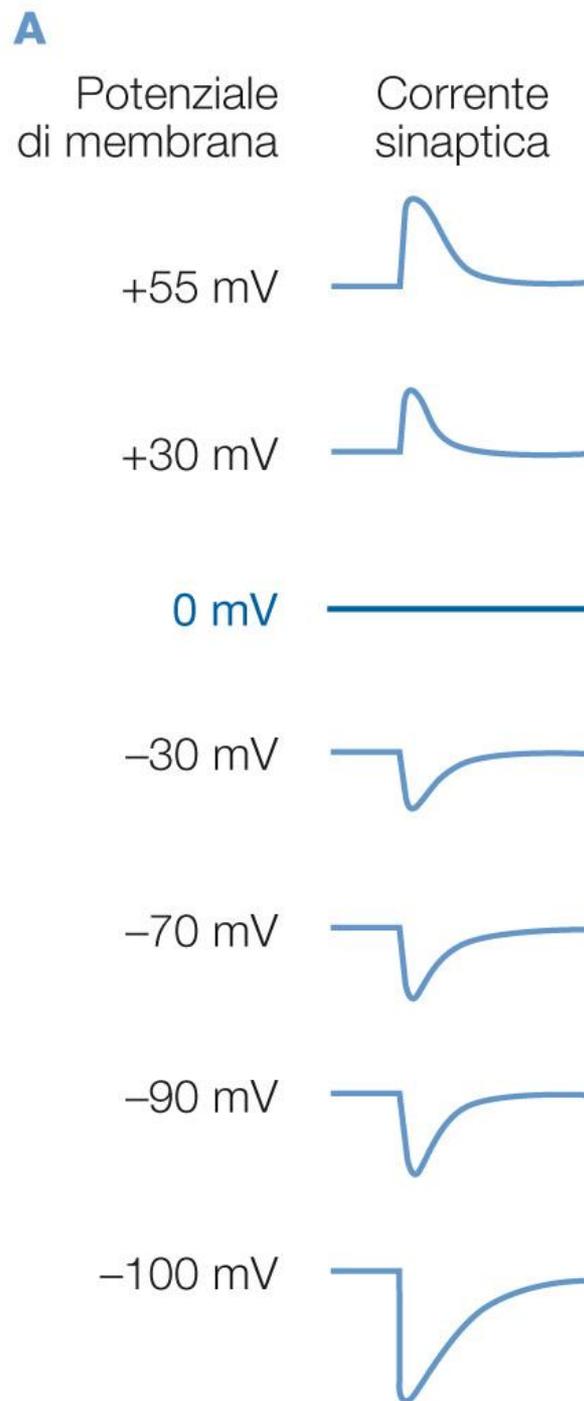
In uscita il canale ha sbocchi laterali

In ICD siti di fosforilazione e di interazione con citoscheletro



Modulazione dell'attività dei recettori

Direzione e entità di flusso ionico dipendono dal potenziale di membrana



La quantità di corrente che ciascun canale lascia passare dipende dalla conduttanza e dal tempo di apertura

Le proprietà ioniche di un LGIC dipendono dalla sua composizione in subunità

Le proprietà farmacologiche di un LGIC dipendono dalla composizione in subunità

Vedi differenze tra AChR neuronali e tra GABAA

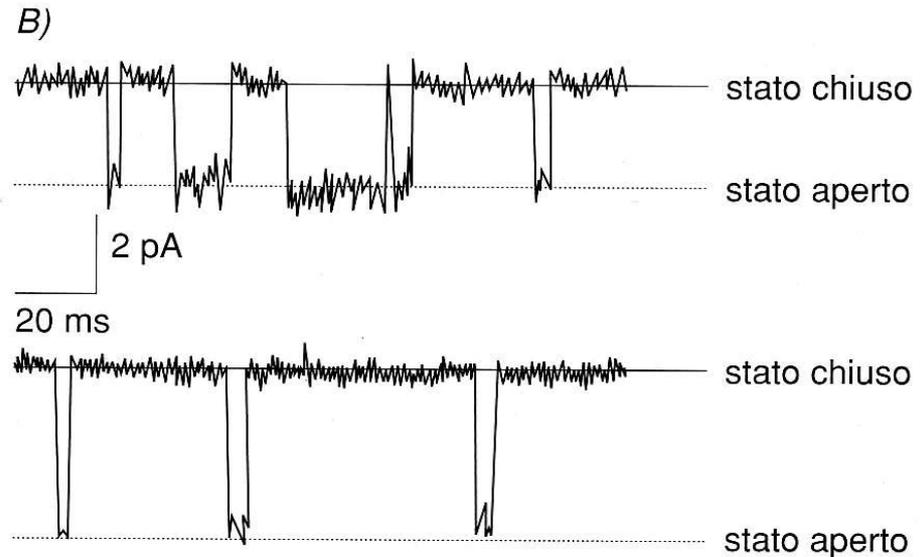
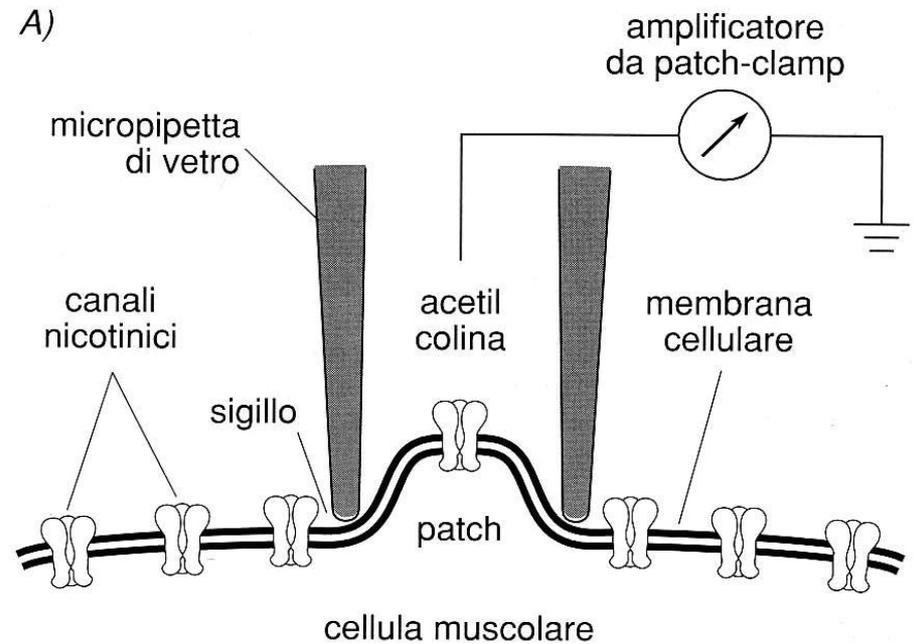
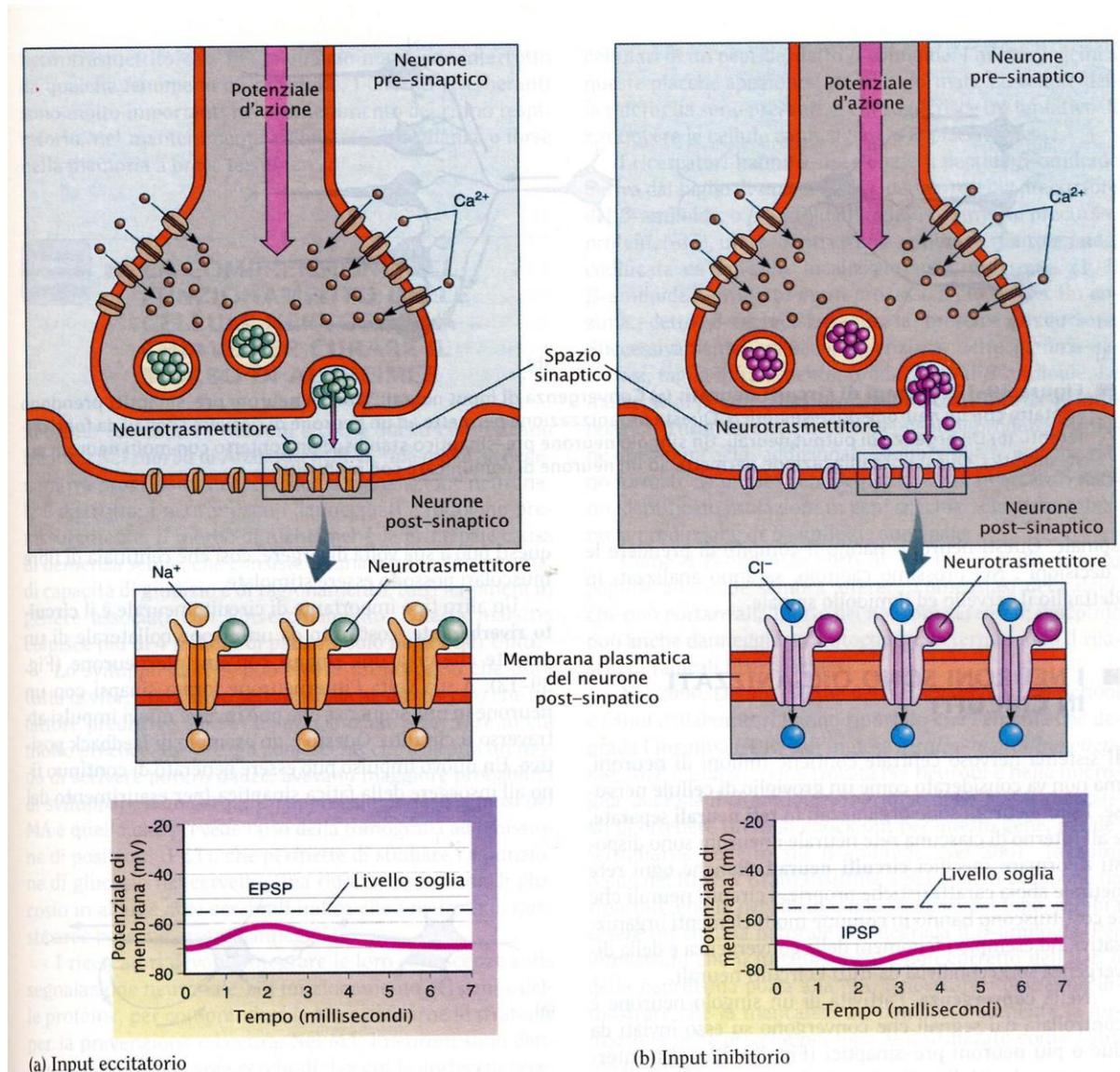


Fig. 6.8. Le proprietà funzionali del recettore nicotinic muscola-

A seconda della carica permeante, la stimolazione recettoriale può portare a depolarizzazione o iperpolarizzazione



■ **Figura 39-11** Confronto tra (a) un potenziale post-sinaptico eccitatorio (EPSP) e (b) un potenziale post sinaptico inibitorio (IPSP). Da notare che un neurotrasmettitore, che apre i canali per il Na^+ genera EPSP. Questo porta alla genesi di un potenziale d'azione. Un neurotrasmettitore che apre i canali per il Cl^- genera IPSP e in questo modo iperpolarizza la membrana.

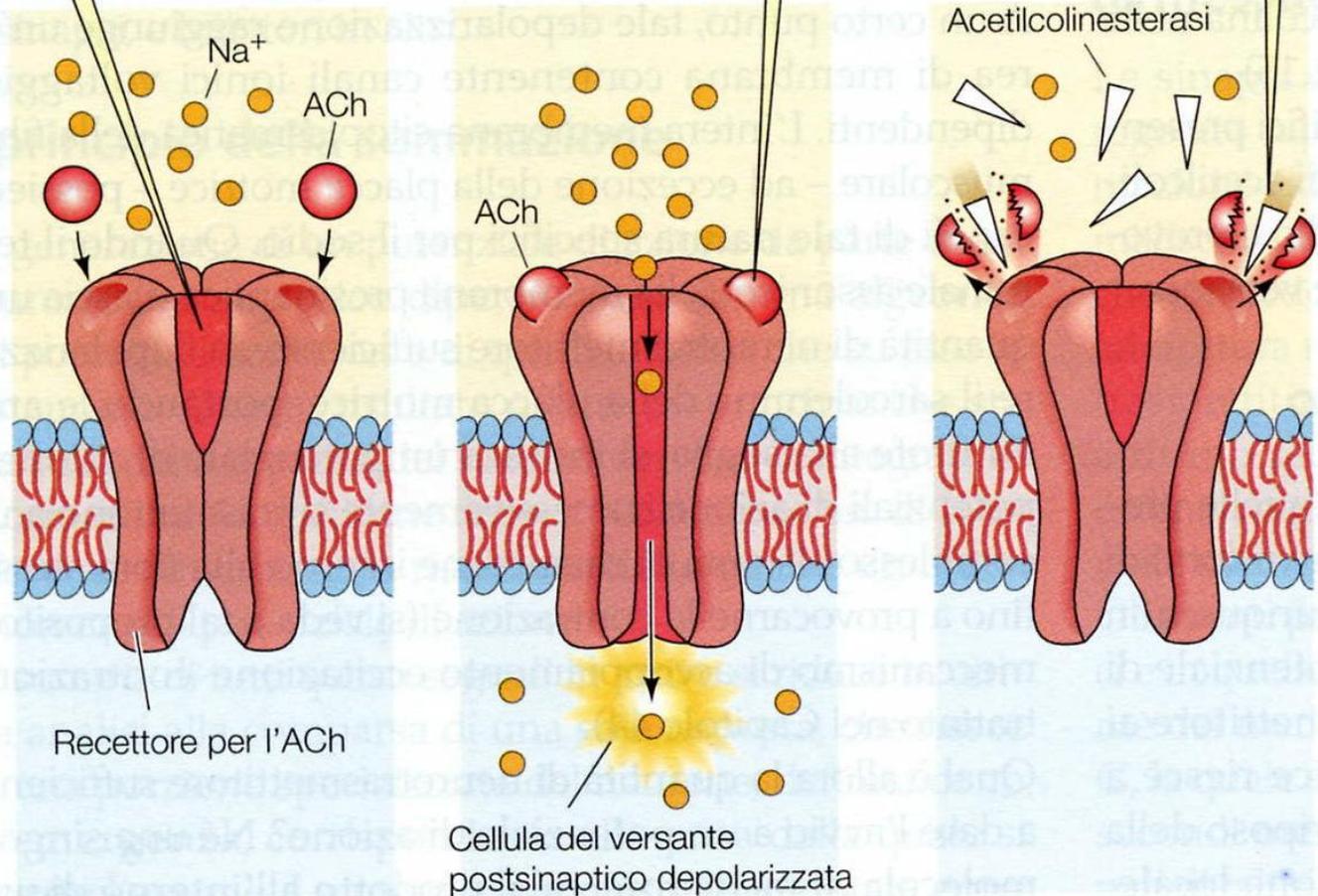
La risposta postsinaptica

Ogni molecola di recettore-canale contribuisce all'influsso di ioni

In condizioni normali, il canale controllato dal recettore per l'acetilcolina si trova allo stato chiuso.

Il legame di ACh in corrispondenza del sito specifico del recettore provoca l'apertura del canale, permettendo agli ioni Na^+ di entrare nella cellula sul versante postsinaptico.

L'acetilcolinesterasi degrada l'ACh, provocando la chiusura del canale ligando-dipendente.



La quantità di corrente che ciascun canale lascia passare dipende dalla conduttanza e dal tempo di apertura

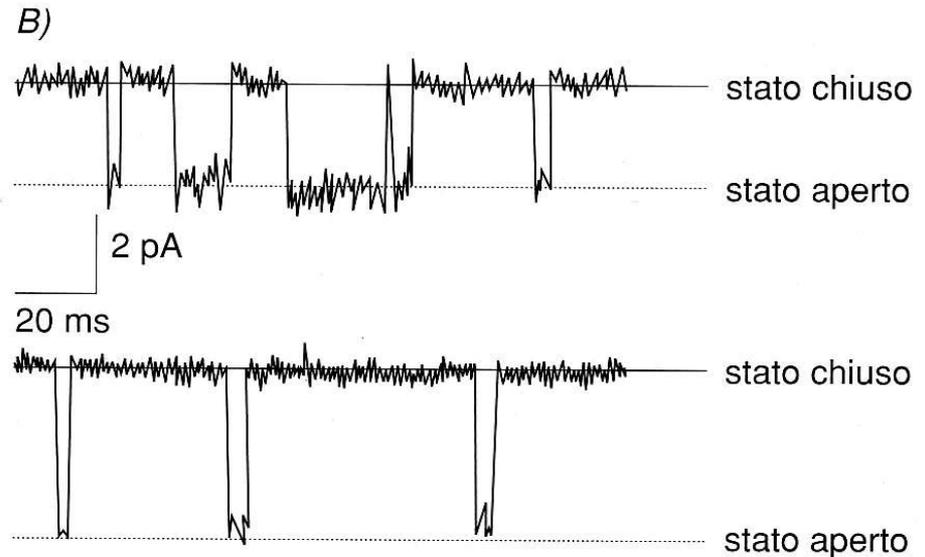
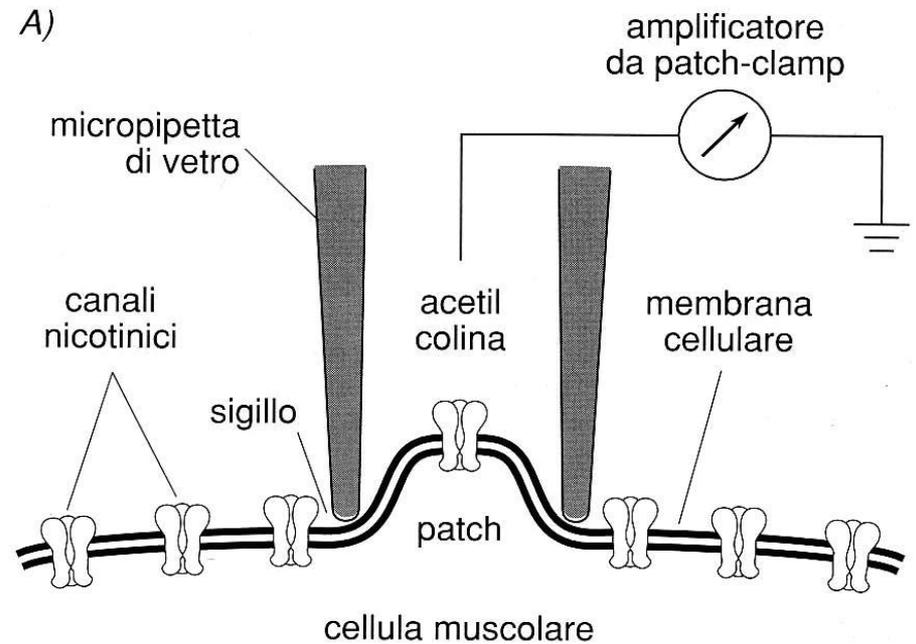


Fig. 6.8. Le proprietà funzionali del recettore nicotinico muscolare.

Localizzazione dei siti di legame dell'agonista

1- Cys loop

Agonist binding site a cavallo di due subunità di cui una principale (alfa x AChR, beta x GABAA)

Numero di siti x agonista può variare (2 x AChR, 5 x omomerici e 5HT3)

Attivazione può richiedere legame di tutti i siti

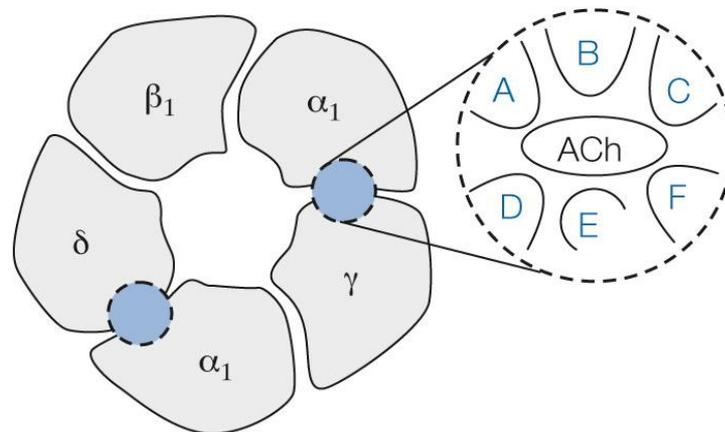
Durata di attivazione dipende anche da farmaco (es Carbacolo diverso da Ach)

Acetylcholine binding protein (AChBP)



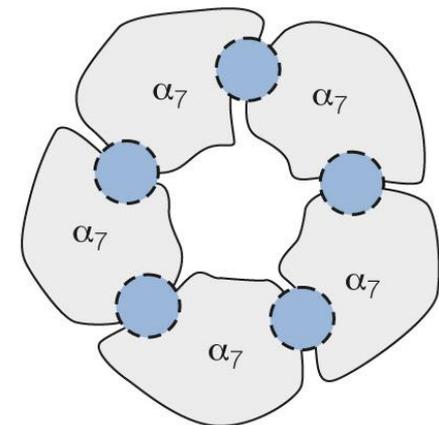
A

Recettore nicotinico muscolare



B

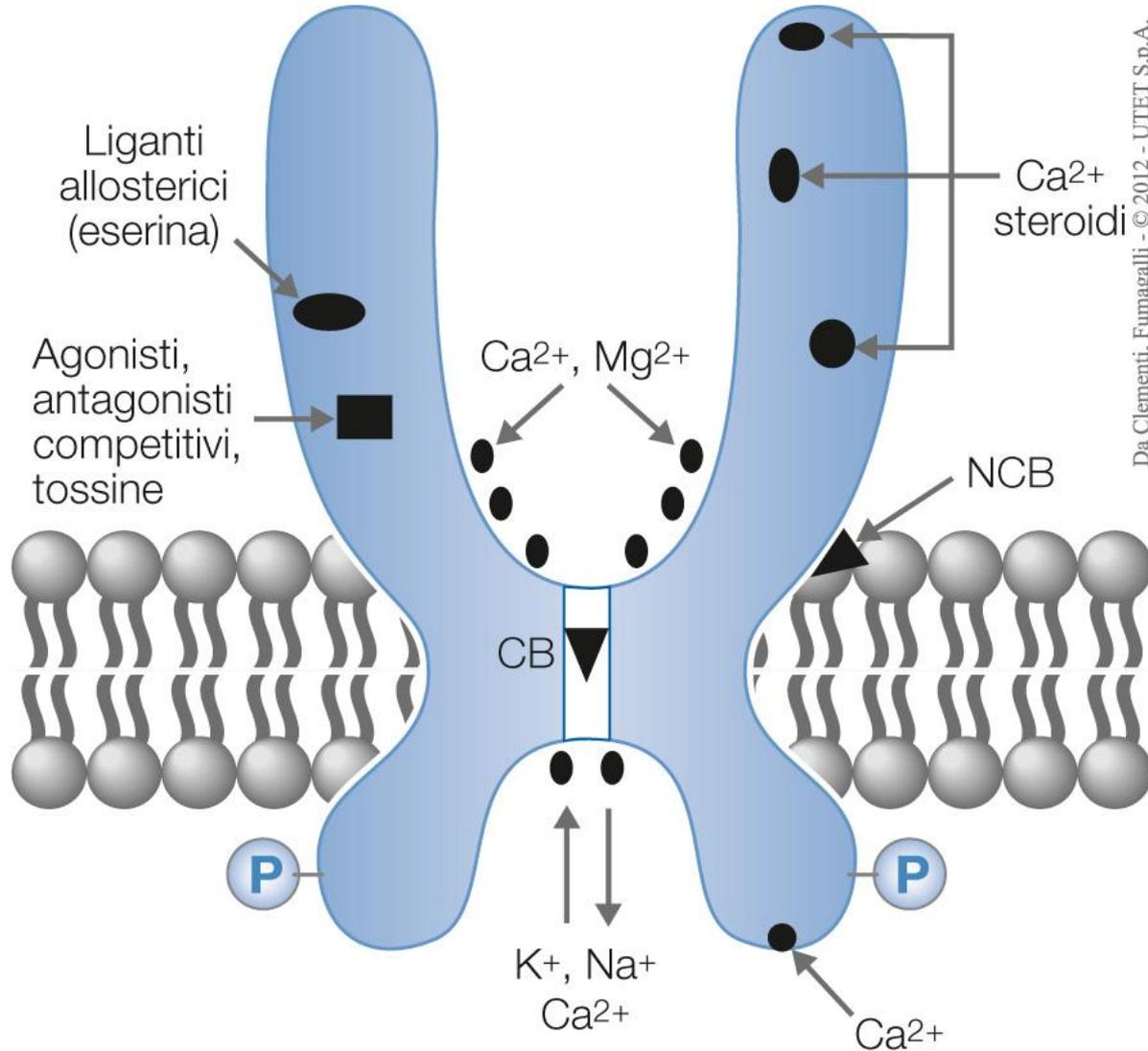
Recettore nicotinico neuronale



C

Siti di legame dei farmaci sui LGIC

Siti ortosterici e allosterici



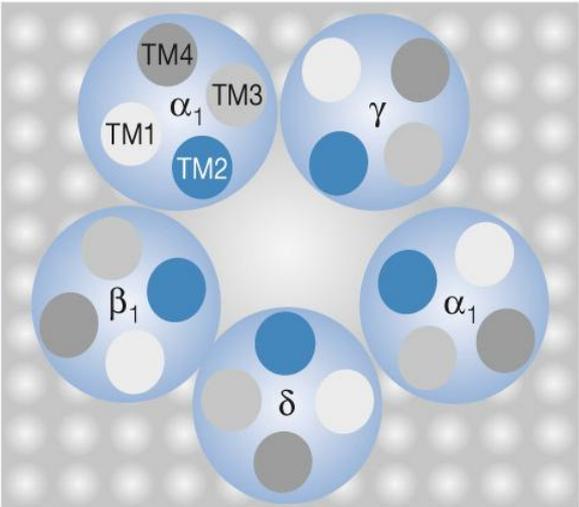
Localizzazione e struttura del canale ionico

1- Cys loop

Formato dall'appaiamento dei M2 delle 5 subunità

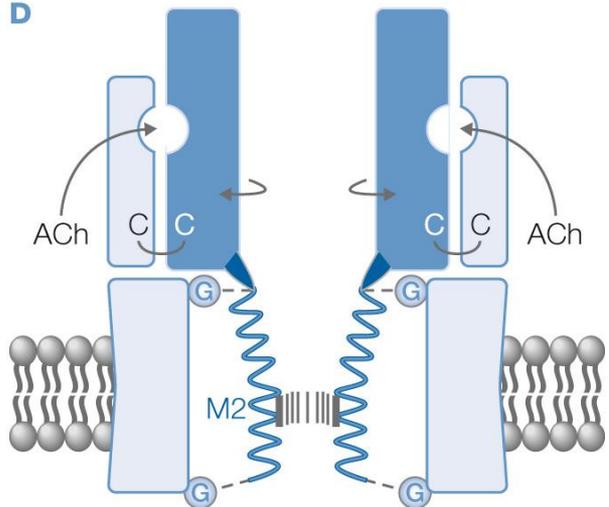
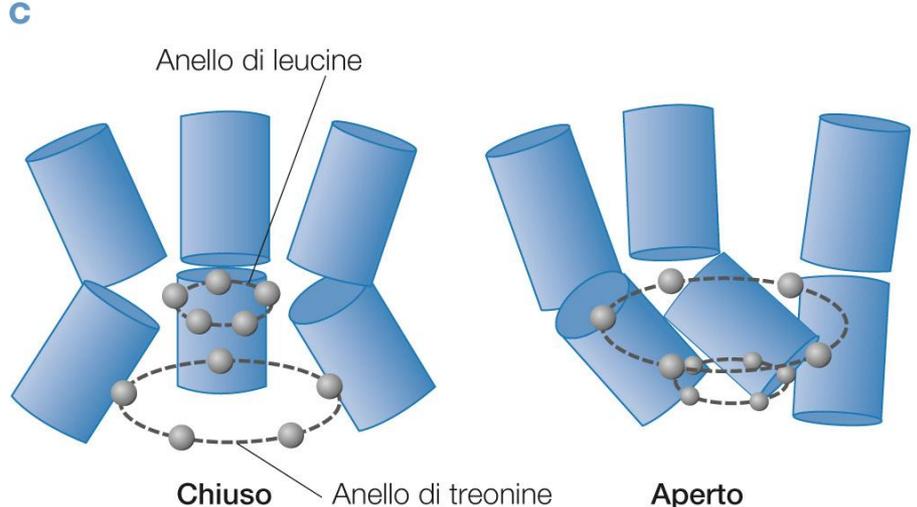
M2 sono alfaeliche amfipatiche che allineano su asse verticale aac non carichi e idrofobici

Anelli carichi: 1 e 3 regolano conduttanza; il 2 è negativo x cationi e neutro x anioni



Allo stato chiuso canale fatto da 2 emicilindri che spingono all'interno anello di leucine che chiudono; quando attivato anello di leucine si allarga e canale si apre; l'anello di treonine fa la selettività ionica (AChR)

Selettività di ione può variare tra recettori cationici: per anionici solo Cl



Controllo della capacità di risposta all'agonista/farmaci

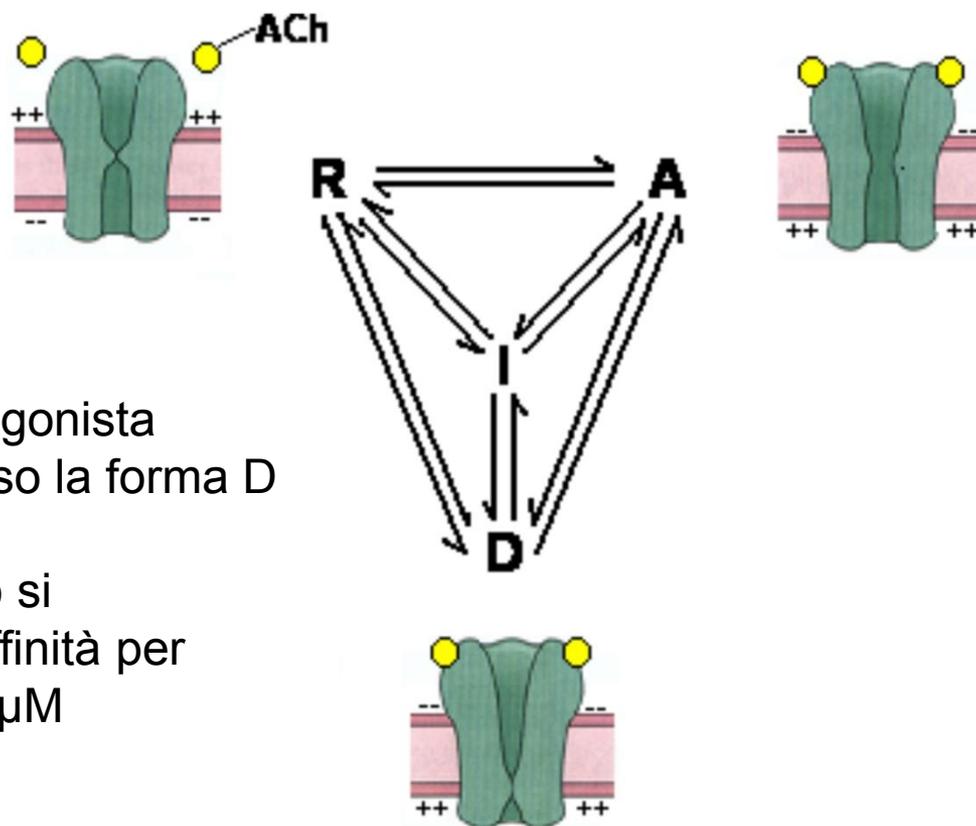
La desensitizzazione: Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore

R: a riposo;

A: attivo;

I: desensitizzato (fase rapida);

D: desensitizzato (fase lenta).

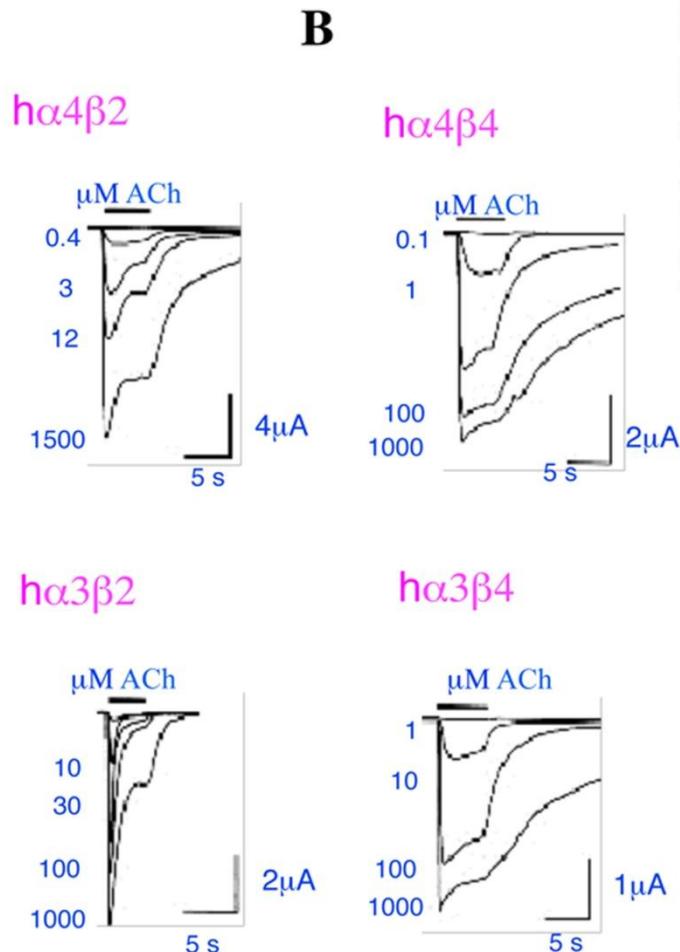
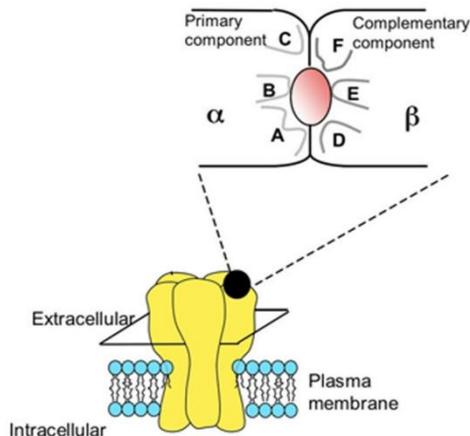


I quattro stati sono interconvertibili. L'agonista sposta l'equilibrio tra i quattro stati verso la forma D

L'insorgenza dello stato desensitizzato si accompagna a notevoli aumenti dell'affinità per l'agonista (K_d stato R $\approx 100 \mu\text{M}$, D $\approx 1 \mu\text{M}$ e I $\approx 5 \mu\text{M}$)

La desensitizzazione dipende anche dalla composizione in subunità

Recettori nicotinici neuronali

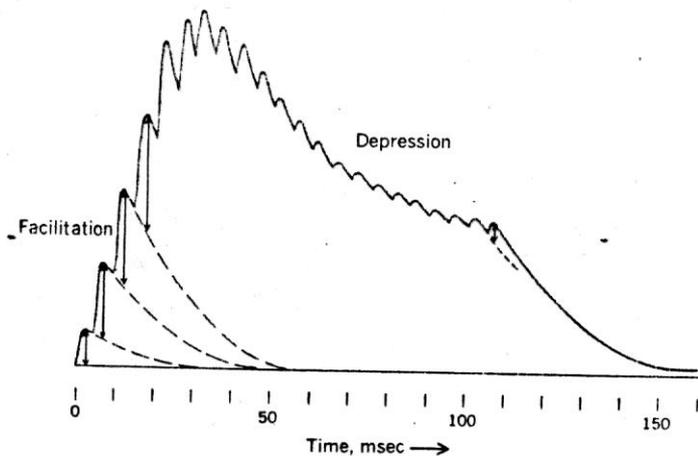


Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - UTET S.p.A.

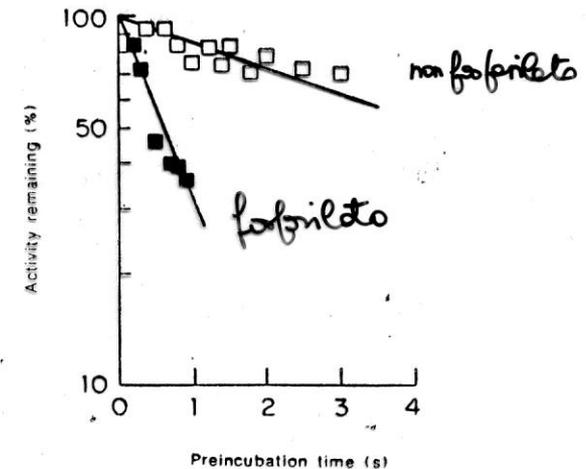
Recettore x Kinati: GluK1-5, le subunità Gluk 4 e 5, che legano il mediatore ad alta affinità, sono responsabili dell'apertura del canale eteromero, mentre le subunità Gluk 2 e 3, presenti nello stesso recettore, legano il mediatore a bassa affinità e sono importanti nel processo di desensitizzazione del canale

La velocità del processo di desensitizzazione può essere regolata da fosforilazioni indotte da altri recettori

nerve, muscle, and synapse | 140



Progressive changes of postsynaptic potentials (for example, e.p.p.'s) during repetitive impulse bombardment, illustrating "facilitation" followed by "depression."



Gli effetti della fosforilazione dipendono dal tipo di subunità espresse.

Esempio:

Fosforilazione da PKA mantiene $GABA_A$ più a lungo nello stato attivo nei neuroni spinali, ma aumenta la velocità di desensitizzazione in neuroni corticali e ippocampali; la fosforilazione da PKC accelera la desensitizzazione

Effetti eliminati dalla fosfatasi calcineurina

Il recettore per l'acetilcolina muscolare

AChR

E' detto nicotinic in quanto attivabile da nicotina

Il recettore nicotinic muscolare è un eteropentamero fatto da :

2 subunità alfa

una subunità beta

una subunità delta

una subunità epsilon (nell'embrione o nel muscolo denervato è presente una subunità gamma al posto della subunità gamma).

AChR nervoso

Il recettore nicotinicò è presente anche nel Sistema Nervoso Centrale ma differisce da quello muscolare per le subunità che lo compongono (solo subunità alfa e beta) e per la sensibilità ai farmaci

Nel SNC esistono 3 diverse subunità beta e 9 diverse subunità alfa che possono associarsi in combinazioni che sono specifiche per varie zone del SNC

I recettori nicotinici del SNC partecipano a modulare importanti funzioni come memoria e affettività

Trasmissione sinaptica: la giunzione neuromuscolare

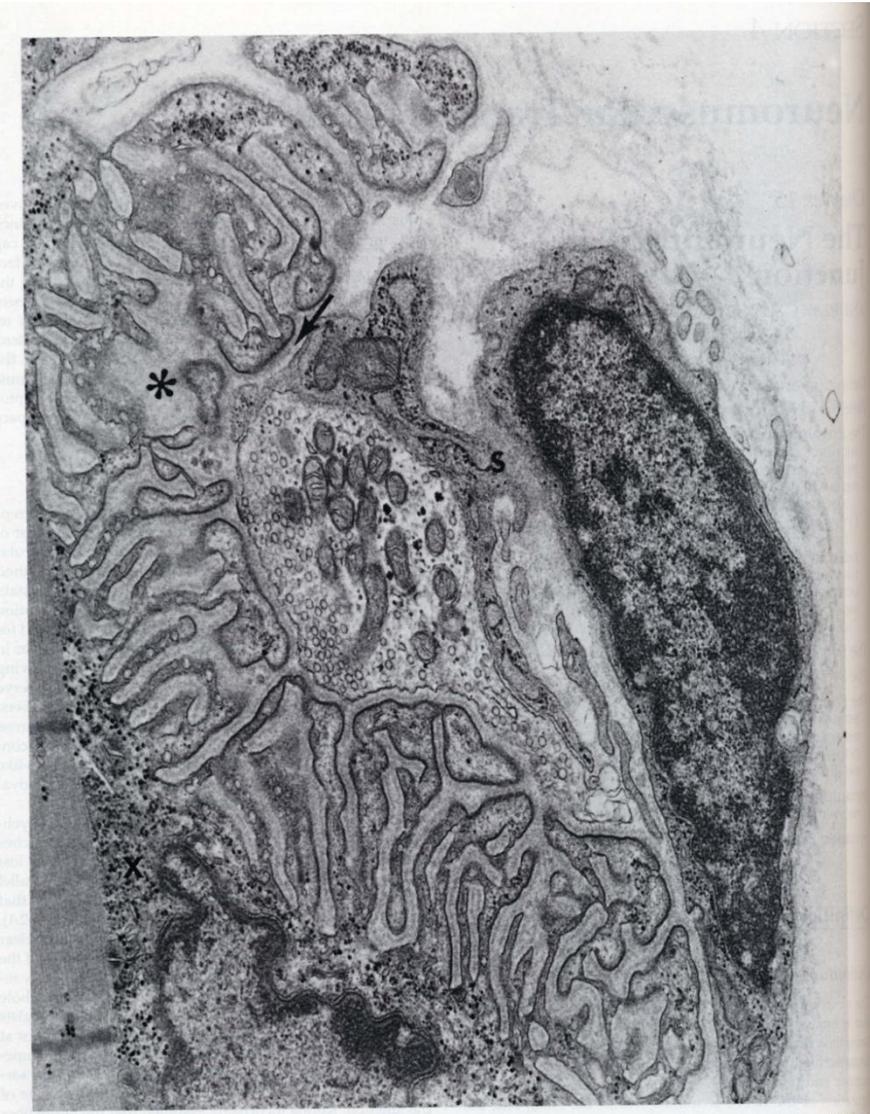
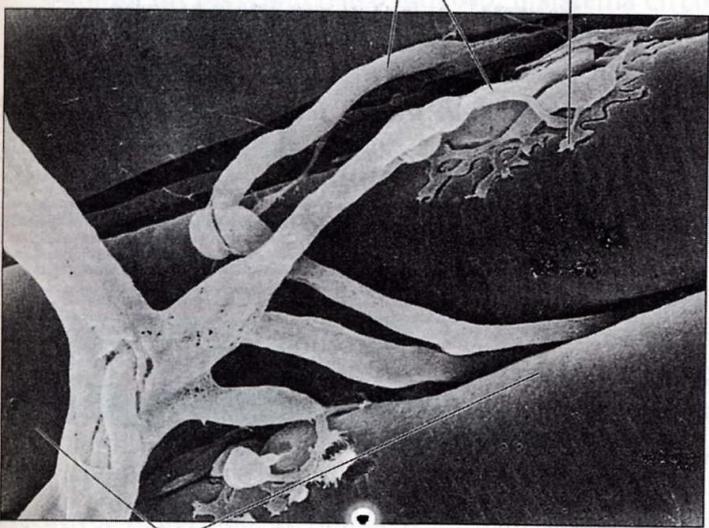
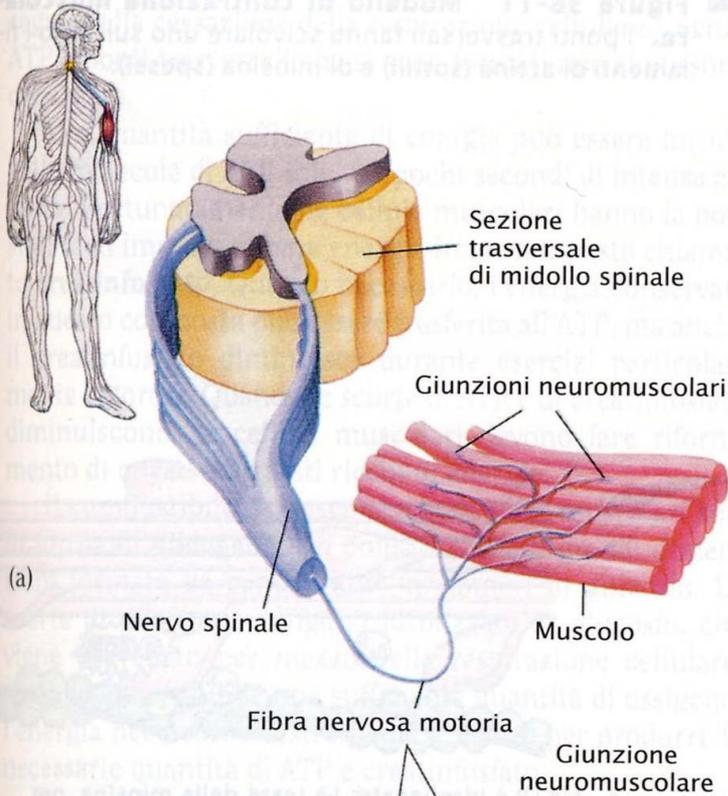


FIGURE 15-1. Electron micrograph of normal human NMJ. The right side of the nerve terminal is covered by a Schwann cell (S); the left side of the terminal faces the postsynaptic region of clefts and folds. Junctional sarcoplasm (X) contains glycogen granules, ribosomes, small tubular profiles, and nucleus. The arrow and asterisk mark primary and secondary synaptic clefts, respectively. ($\times 30,600$.) (Engel AG, *Handbook of Clinical Neurology*, vol 41, part II. New York: North Holland; 1979, pp 95-145. With permission.)

I recettori post-sinaptici sono concentrati ad alta densità

A

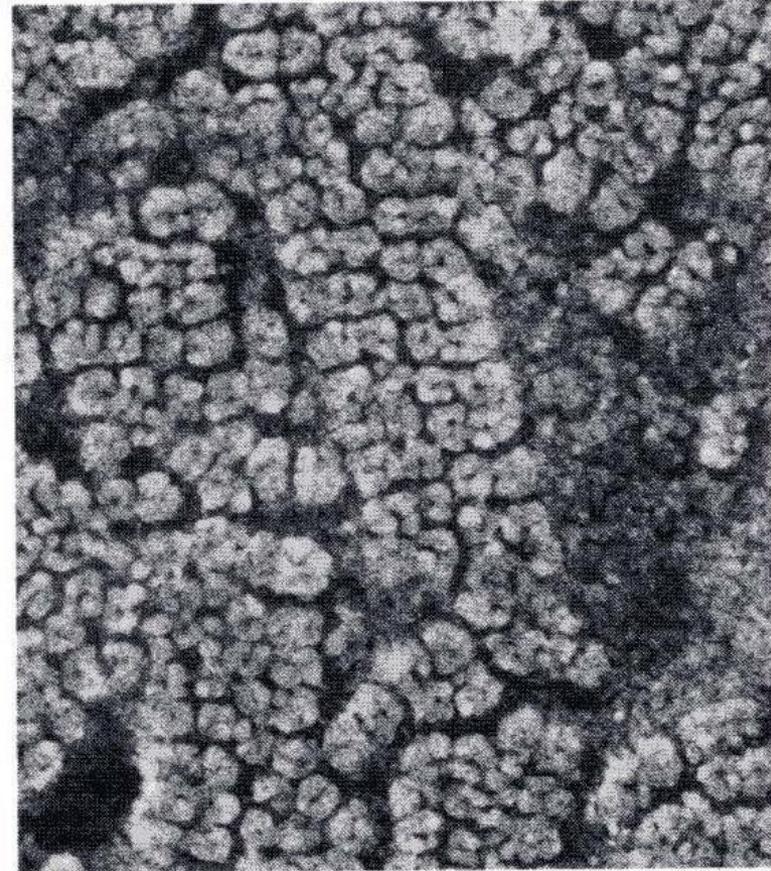


FIGURE 10-2

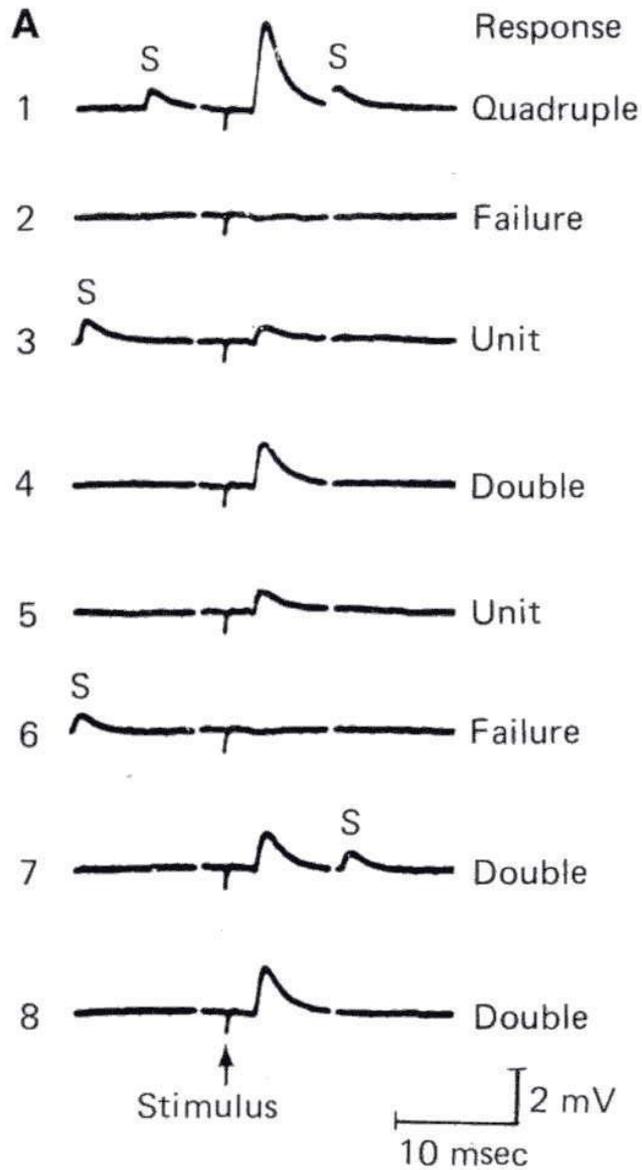


FIGURE 13-6

Il rilascio quantale e i m.e.p.p.s

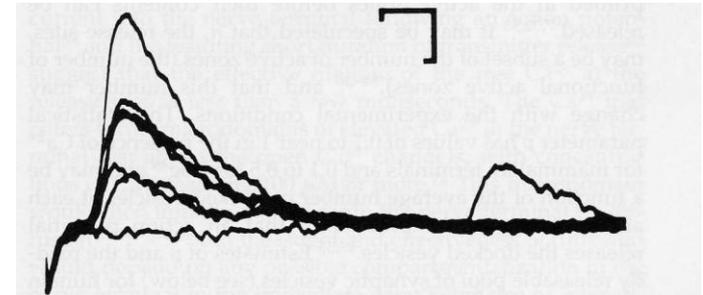
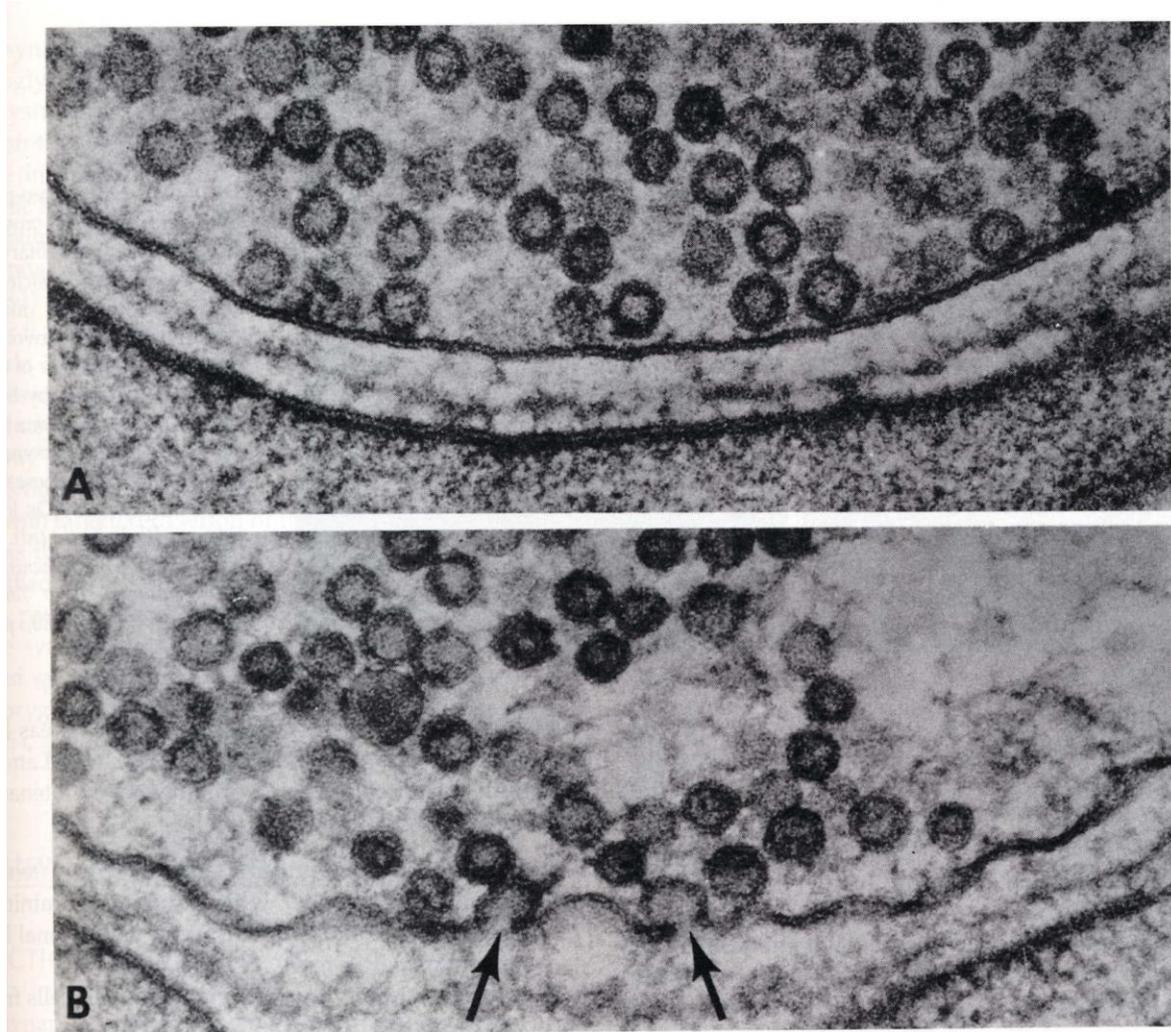


FIGURE 16-3. Quantal fluctuations in transmitter release. Intracellular recording from frog sartorius muscle under conditions of greatly reduced transmitter release obtained by raising $[Mg^{2+}]_o$ to 5 mM and reducing $[Ca^{2+}]_o$ to 0.5 mM. The responses obtained by stimulating the nerve seven consecutive times are superimposed. The EPP amplitude fluctuated from trial to trial in quantal steps of similar amplitude to the spontaneously occurring MEPP at the right of the figure. Three quanta were released in one trial, two quanta were released in three trials, one quantum was released in two trials, and one trial was a failure in which no quanta were released. The average quantal content of these seven trials was 1.57. Horizontal bar: 2.5 ms. Vertical bar: 0.3 mV. See Del Castillo and Katz¹⁵ for first experiments of this type. (From Barrett EF, Magleby KL, in Goldberg AM, Hanin I (eds): *Biology of Cholinergic Function*. New York: Raven Press, 1976, pp 29-100. With permission.)

I quanta

relazione con la
secrezione
vescicolare



21. Frog NMJ (A) at rest and (B) after stimulation in 4-line before ultrarapid freezing followed by freeze substitution. The stimulated nerve terminal is sectioned through zone. It displays two omega-shaped exocytotic images and many pockets. The smaller of these pockets have the center and curvature as synaptic vesicles. The larger, shall-

lower pockets look like collapsing vesicles. In both A and B the synaptic space shows a central, feathery layer of basal lamina connected by lateral extensions to the pre- and postsynaptic membranes. ($\times 153,000$.) These micrographs were prepared by Dr. John Heuser. (Heuser JE, Reese TS, *J Cell Biol* 88:564, 1981. With permission.²³¹)

La generazione del potenziale d'azione

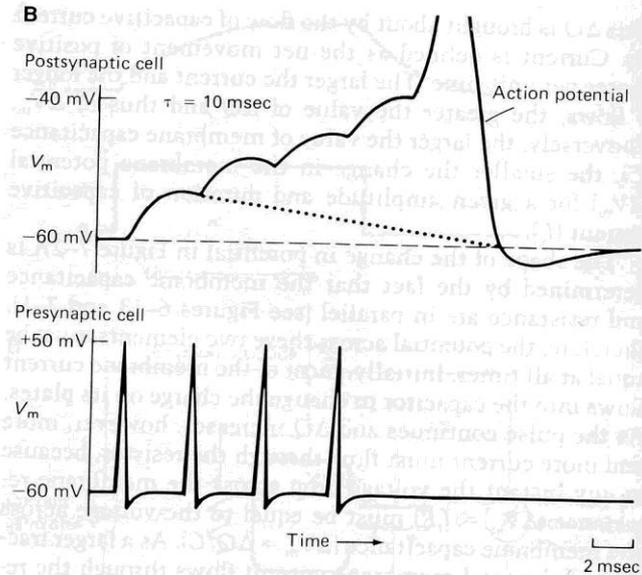
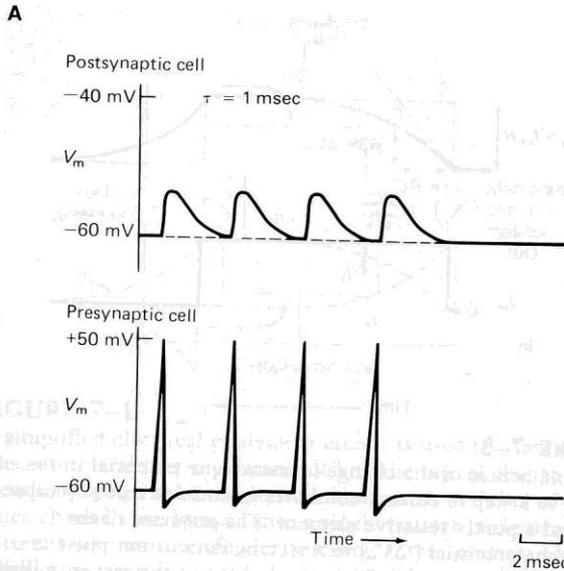


FIGURE 7-4

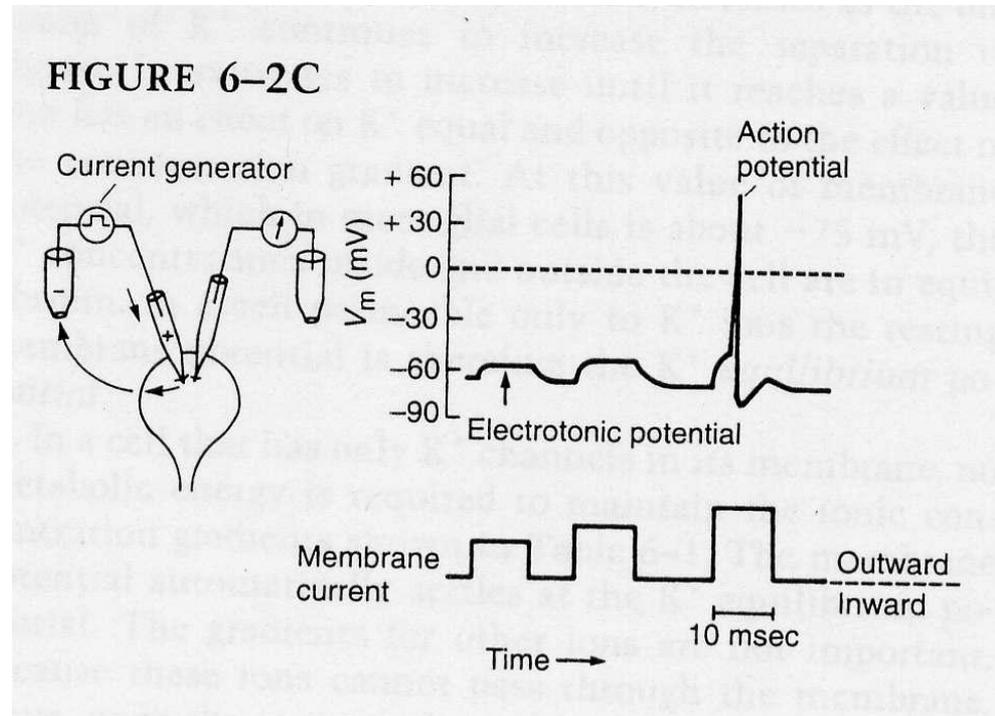
When the time course of individual postsynaptic potentials is longer than the interval between spikes in the presynaptic cell, the postsynaptic potentials overlap and their temporal summation can drive the membrane potential to the threshold for an action potential. The larger the membrane time constant (τ) of the postsynaptic cell, the longer the postsynaptic potential lasts

and the greater the extent of temporal summation. Here the consequences of different time constants in two postsynaptic cells are compared. In **A** the time constant is 1 ms; in **B** it is 10 ms. The **dotted line** shows the extrapolated falling phase of an individual excitatory postsynaptic potential.

Integrale dei canali attivi in uno stesso tempo

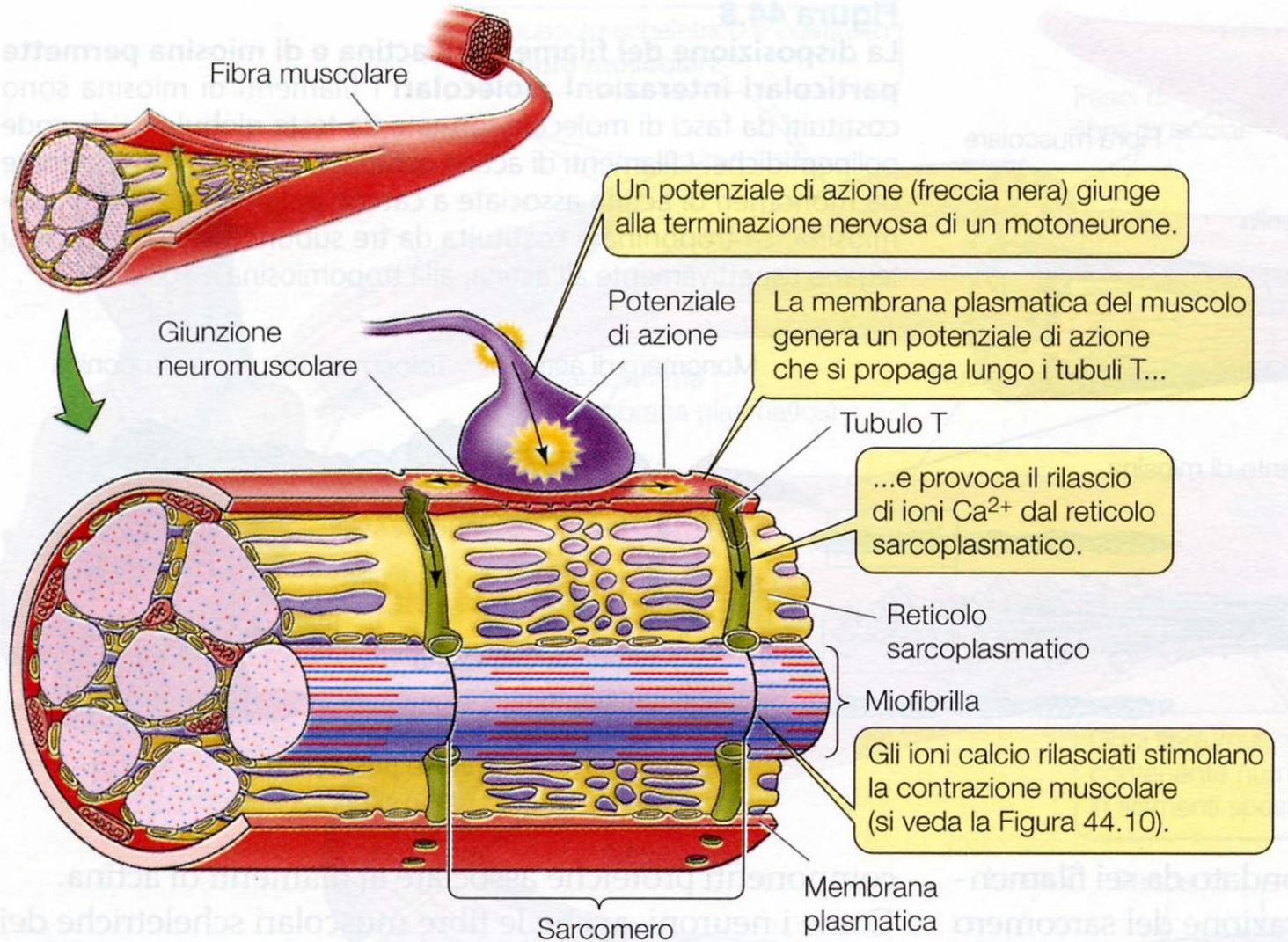
Integrale delle depolarizzazioni indotte in una stessa area

Quando la depolarizzazione indotta dai recettori post-sinaptici raggiunge un valore critico si genera il potenziale d'azione

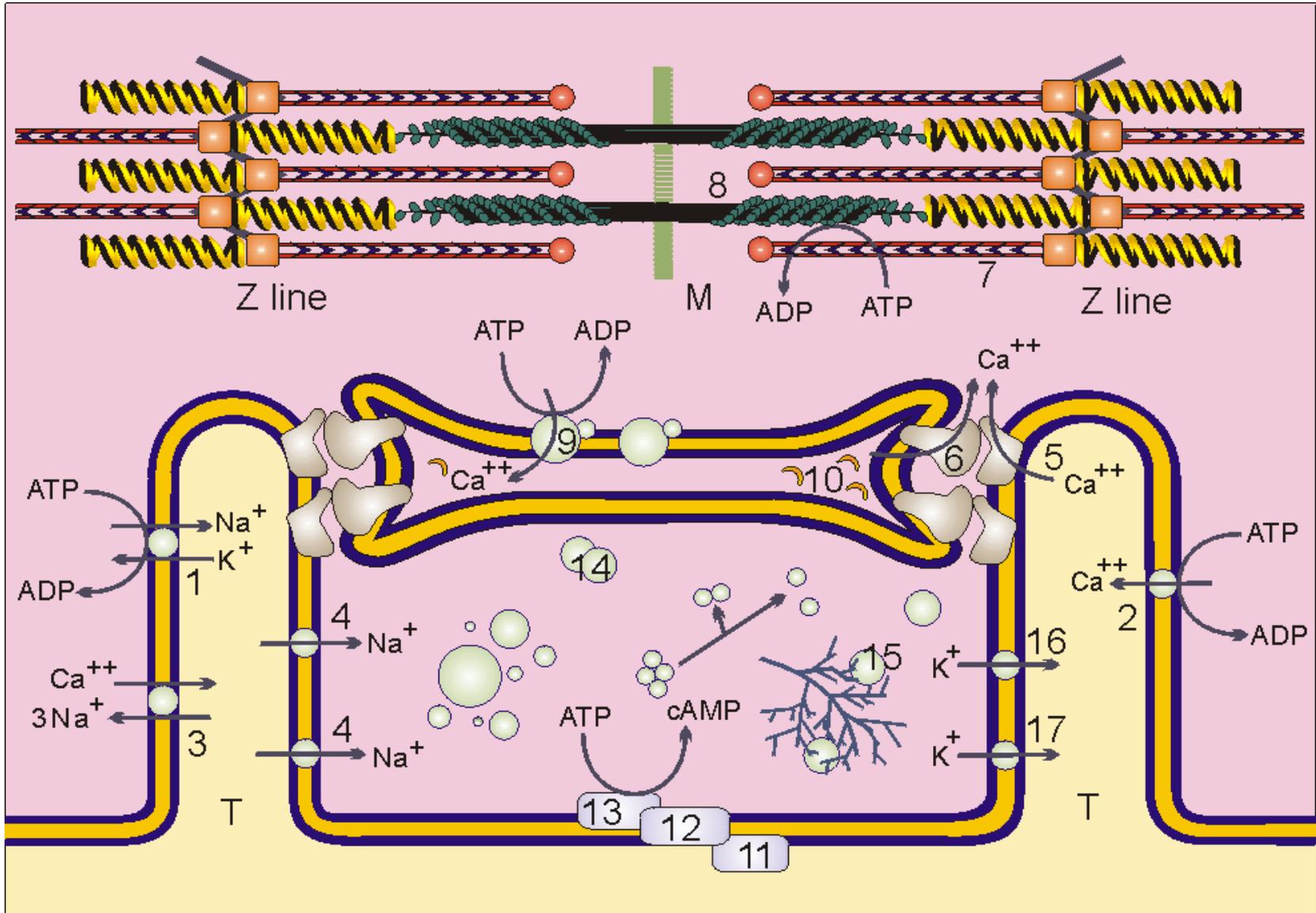


Il potenziale d'azione si genera quando il potenziale post-sinaptico porta il potenziale di membrana al valore soglia dei canali al sodio voltaggio-dipendenti

La trasmissione dell'impulso sinaptico



Il rilascio di Ca^{2+} dal reticolo



Modulazione farmacologica di AChR: esempio di desensitizzazione

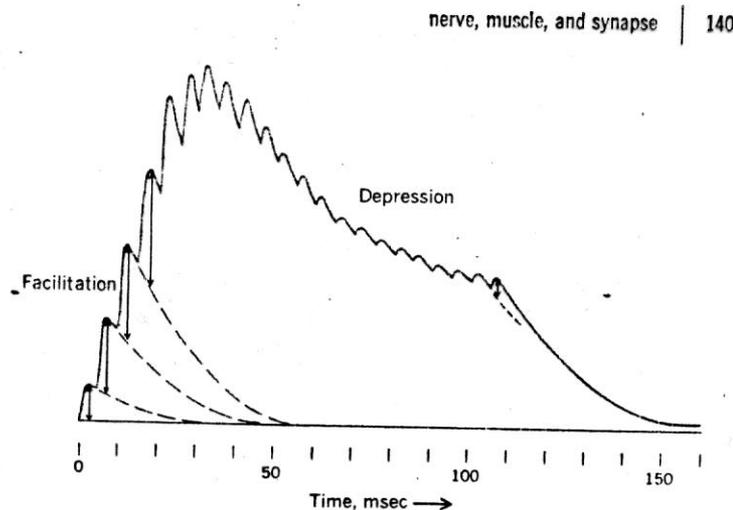
Desensitizzazione

Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore

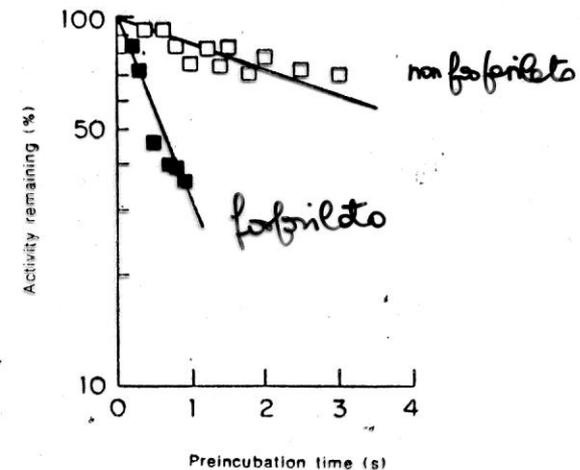
Fenomeno che ha luogo per molti recettori (anche non di tipo recettore-canale)

Spesso legato a fosforilazione modulata da altri recettori

Può causare depressione sinaptica



Progressive changes of postsynaptic potentials (for example, e.p.p.'s) during repetitive impulse bombardment, illustrating "facilitation" followed by "depression."



Stati biofisici e funzionali di un recettore-canale

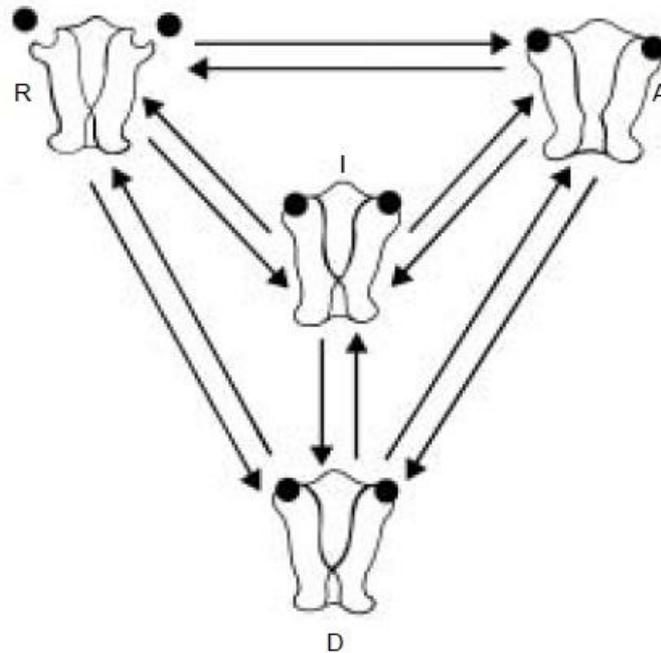


Fig. 5.4. Possibili stati funzionali in cui il recettore nicotino per l'acetilcolina può trovarsi. R = a riposo; A = attivo; I = desensitizzato (fase rapida); D = desensitizzato (fase lenta). I quattro stati sono interconvertibili. L'acetilcolina sposta l'equilibrio tra i 4 stati verso la forma D.

Farmaci depolarizzanti

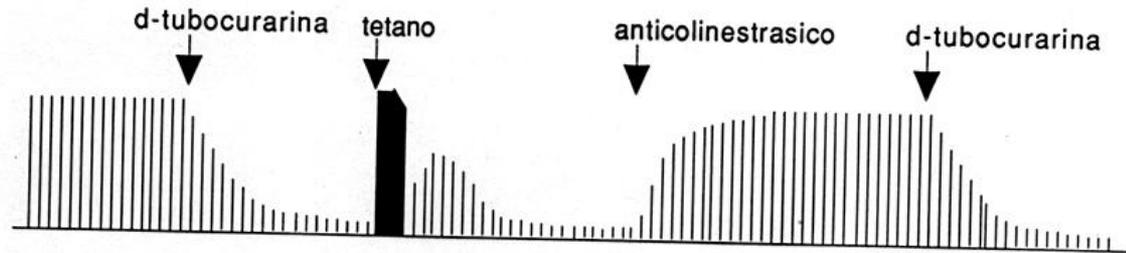
La stimolazione prolungata dei recettori canale provoca nel giro di pochi secondi desensitizzazione

(incapacità del recettore a rispondere al neurotrasmettitore)

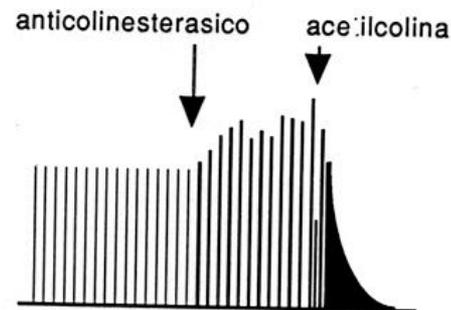
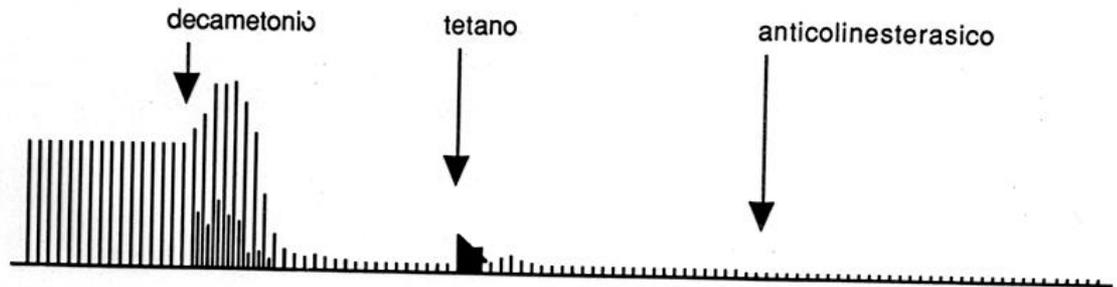
Decametonio ed analoghi

Utilizzati in anestesia

I depolarizzanti inducono paralisi spastica (attivano il recettore nicotinic) seguita da paralisi flaccida (sintomo della desensitizzazione)



Descrivi accuratamente le variazioni di trasmissione sinaptica e formula delle ipotesi sul meccanismo d'azione. Nel grafico successivo viene provato un farmaco per te nuovo; decametonio: classificato come curaro in quanto il suo effetto finale è di inibire la trasmissione neuromuscolare. Tuo compito è di formulare un'ipotesi sul suo meccanismo d'azione. A tal proposito, dovrebbe esserti d'aiuto l'ultimo esperimento (anticolinesterasico + acetilcolina)



Modulazione delle risposte recettoriali

Causate da eccesso di stimolazione

Desensitizzazione

Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore
Fenomeno che ha luogo per molti recettori (anche non di tipo recettore-canale)
Spesso legato a fosforilazione modulata da altri recettori

Downregulation

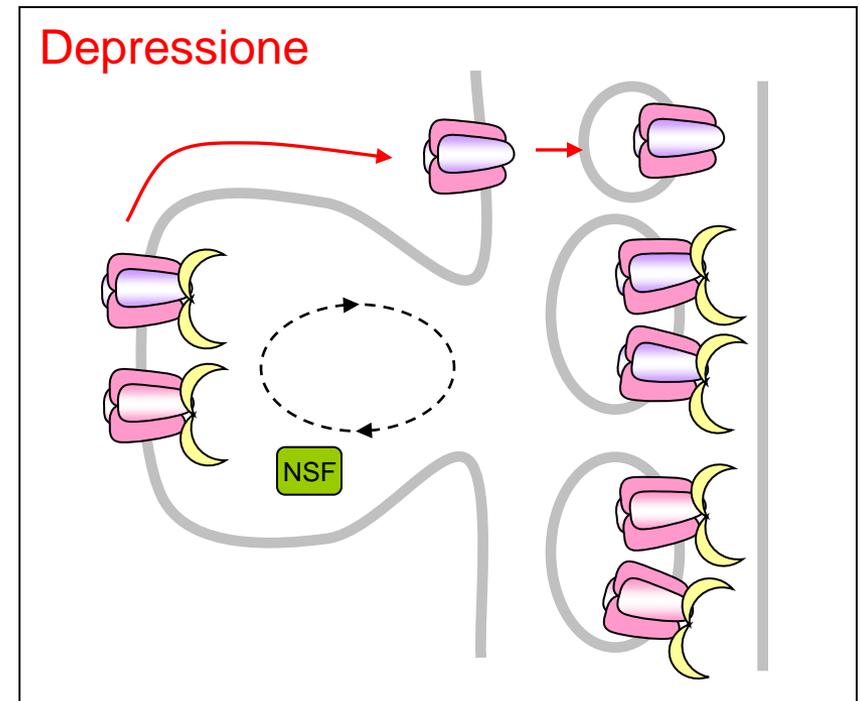
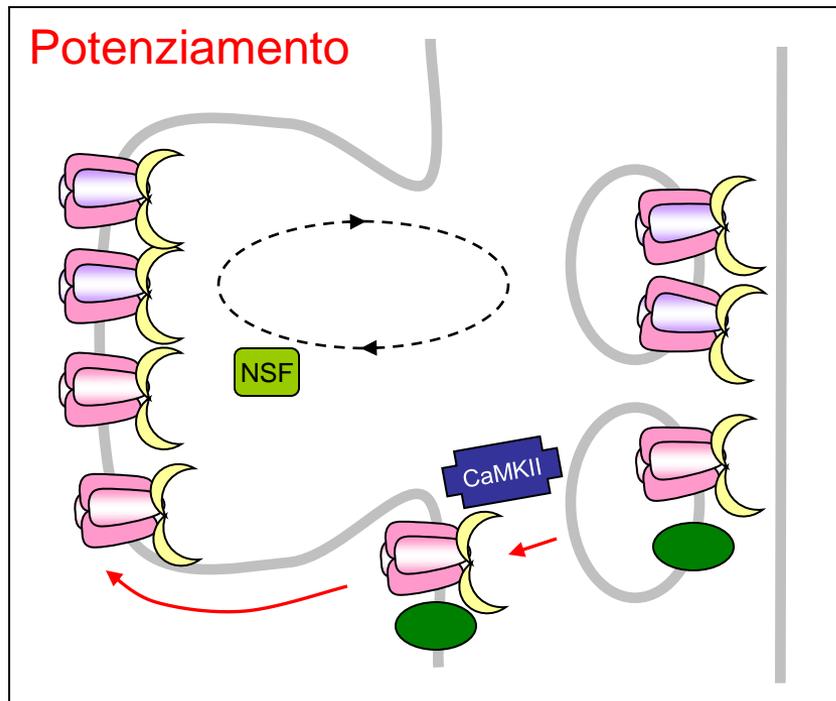
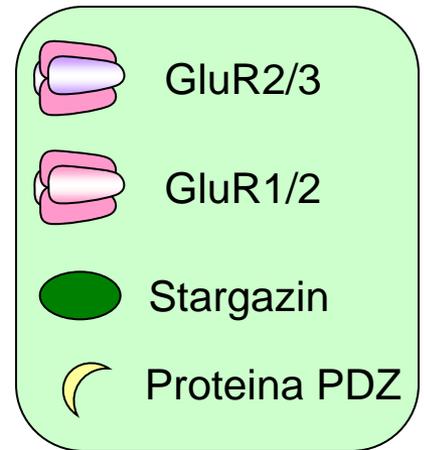
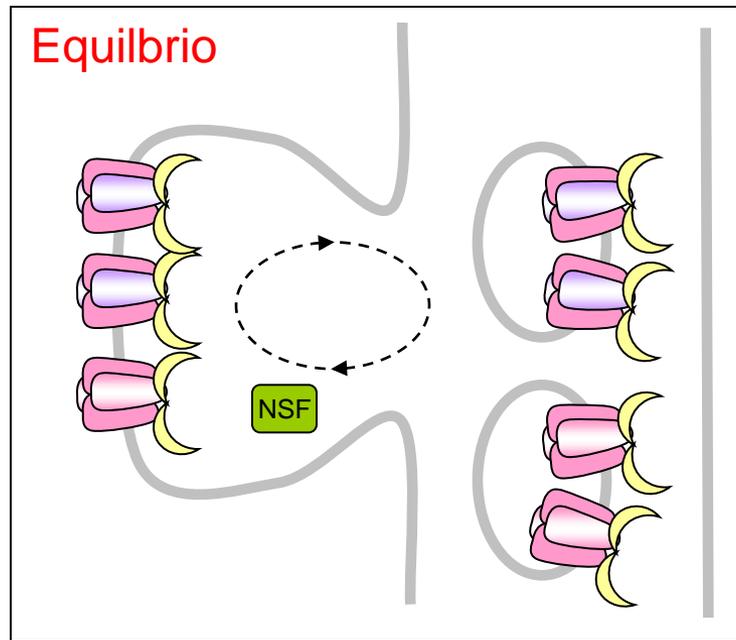
Condizione per cui una cellula riduce la risposta ad un agente/farmaco riducendo il numero di recettori presenti per quella sostanza

Causate da mancanza di stimolazione

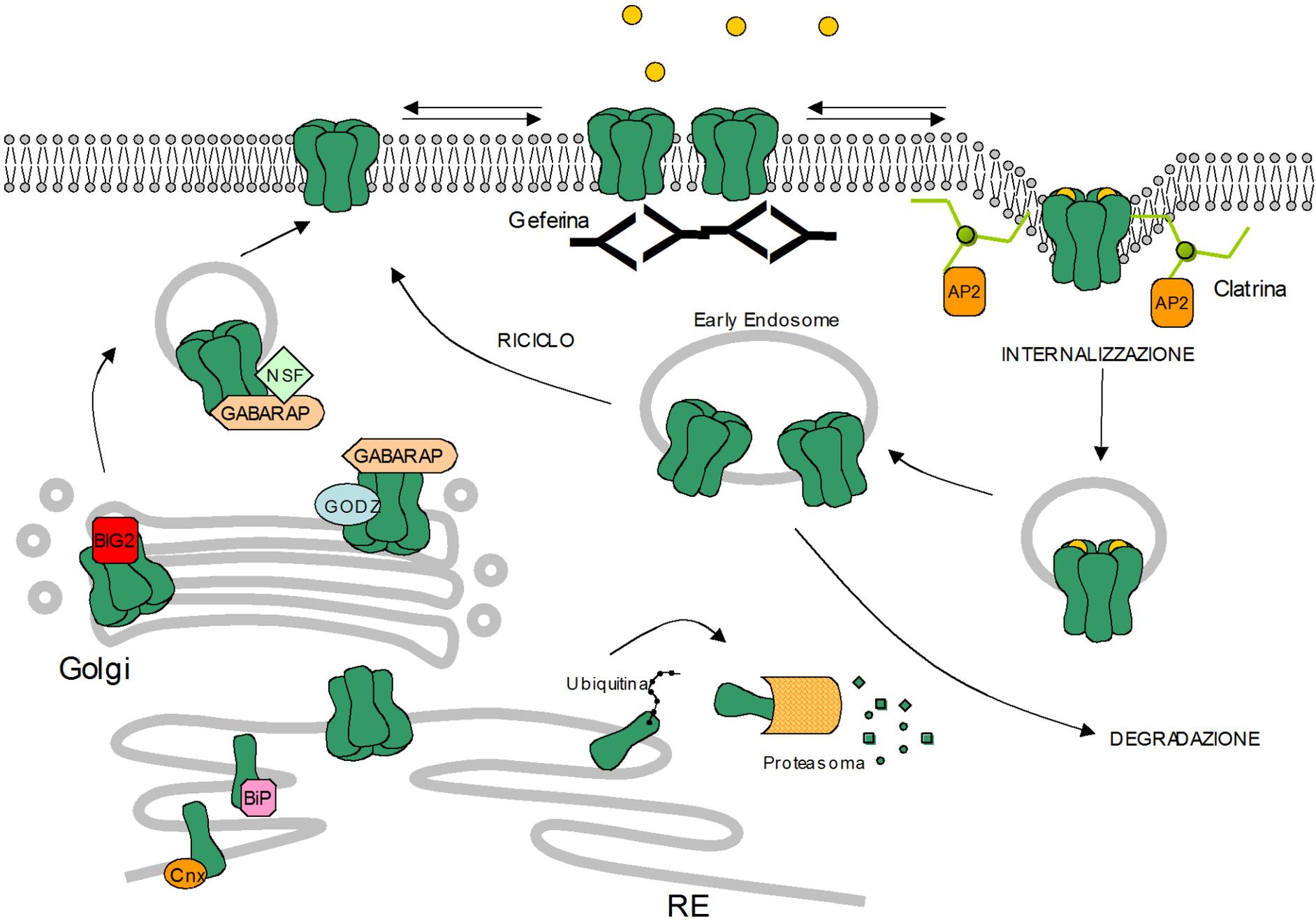
Upregulation

Condizione per cui una cellula aumenta la propria sensibilità all'agente/farmaco mancante aumentando il numero di recettori presenti per quella sostanza
Provoca iperreattività
Situazione classica: denervazione o uso cronico di antagonisti

Up- down- regulation di recettori canali



Traffico costitutivo di recettore canale (GABA A)



Modulazione farmacologica dell'AChR muscolare

Antagonisti competitivi:

d-tubocurarina e analoghi

impediscono l'attivazione
dell'AChR da parte dell'acetilcolina

Utilizzati come paralizzanti in
anestesia

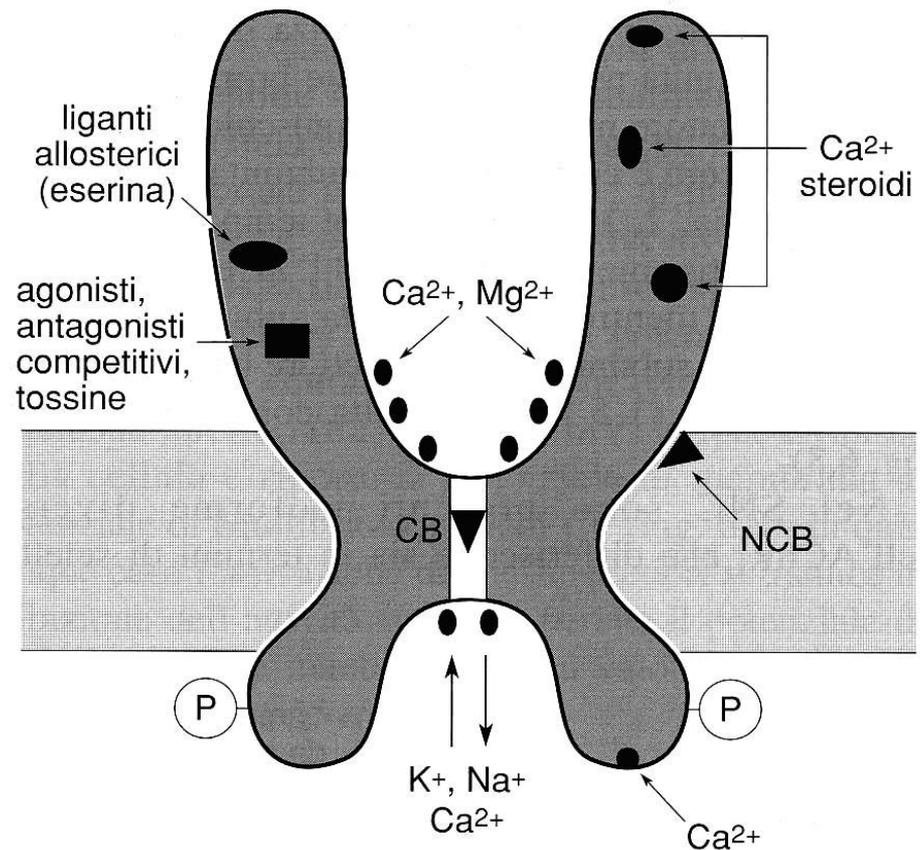
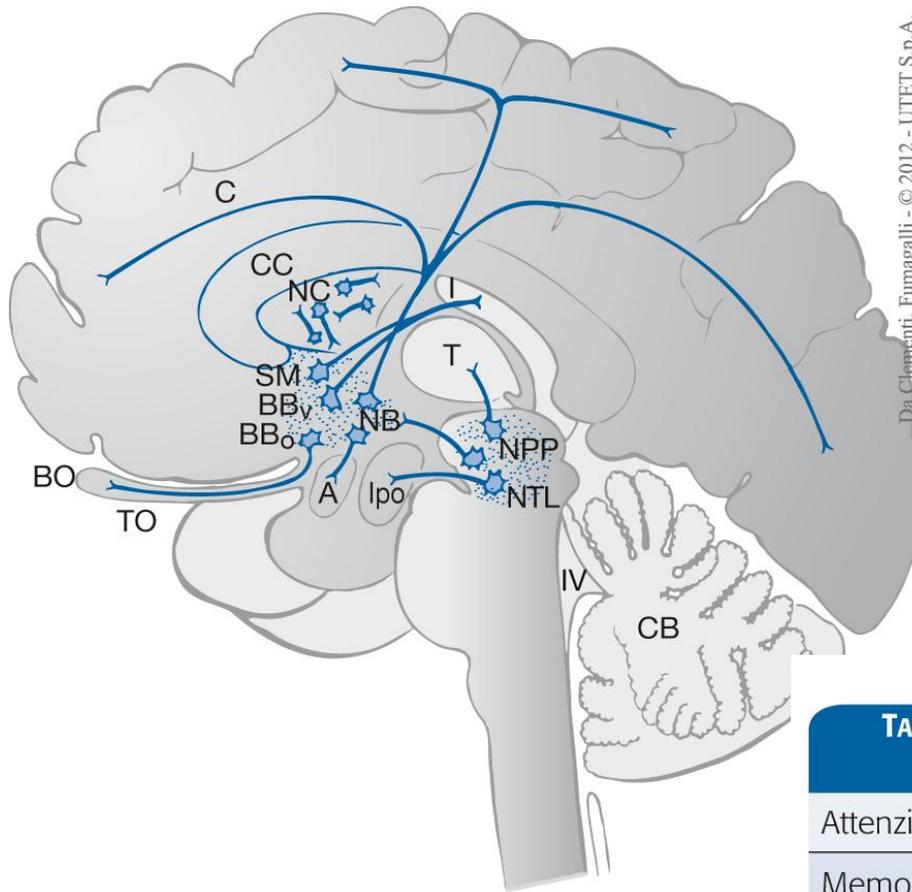


Fig. 6.9. Rappresentazione schematica del sito di legame di agonisti, antagonisti e dei numerosi siti allosterici che modulano a funzionalità del recettore nicotinico. I siti allosterici che legano il Ca²⁺, gli steroidi, l'eserina e i bloccanti non competitivi, sono distribuiti sulla parte esterna del canale, nel canale stesso, all'interfaccia con la membrana e nella parte citoplasmatica del recettore. P = sito di fosforilazione, CB = bloccanti del canale, NCB = bloccanti non competitivi.

Sistema colinergico (muscarinico & nicotinico) nel SNC



Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - UTET S.p.A.

Figura 34.2 Rappresentazione schematica delle vie colinergiche cerebrali. A: abenuola; BO: bulbo olfattorio; BB_o: lembo orizzontale della banda diagonale del Broca; BB_v: lembo verticale della banda diagonale del Broca; C: corteccia; CB: cervelletto; CC: corpo calloso; I: ippocampo; Lpo: ipotalamo; NB: nucleo basale magnocellulare; NC: nucleo caudato e putamen; NPP: nucleo tegmentale peduncolopontino; NTL: nucleo tegmentale laterodorsale; SM: setto mediale; T: talamo; TO: tratto olfattorio; IV: quarto ventricolo.

TABELLA 34.1 Processi cognitivi nei quali è coinvolto il sistema colinergico del cervello anteriore

Attenzione, attenzione sostenuta

Memoria di lavoro

Memoria spaziale

Memoria esplicita o dichiarativa

Codificazione delle informazioni

Controllo sensori-motorio

Recettori nicotinici periferici e centrali

TABELLA 34.2 I recettori nicotinici

Tipo (composizione in subunità)	Muscolari		Neuronali (principali sottotipi)			
	$\alpha_1\beta_1/\gamma\epsilon\delta$	α_7	$\alpha_4\beta_2$	$\alpha_3\beta_4$	$\alpha_4\alpha_5\beta_2$	$\alpha_4\alpha_6\beta_2$
Localizzazione	Giunzioni neuromuscolari	SNC gangli pre- e postsinaptici	SNC presinaptici	Ippocampo, pineale, locus coeruleus, retina	Striato, nucleo accumbens	Nucleo accumbens, VTA-SN
Permeabilità ionica	Na ⁺	Ca ²⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺
Agonisti	ACh, succinilcolina	colina, epibatidina	epibatidina, nicotina	citisina, nicotina,	TC-2559	–
Antagonisti selettivi	α -bungarotossina, α -conotossina, pancuronio	α -bungaro-tossina, metillicaconitina	DH β E, mecamilamina	α -CntxAulB	–	α -CntxMII

α -CntxMII: α -conotossina MII; α -CntxAulB: α -conotossina AulB; DH β E: diidro β eritroidina; TC-2559: (E)-N-metil-4-[3-(5-octane-3,2'-(3'H)furo[2,3-b]piridina.

Farmaci del sistema Nicotinico

Agonisti

Nicotina: nel tabacco scopo voluttuario

cerotto: anti dipendenza da nicotina

Vareniclina: agonista parziale, anti-dipendenza da nicotina

Depolarizzanti:

Succinilcolina

Paralizzanti in anestesia

Antagonisti competitivi AChR muscolare

d-tubocurarina, pancuronio, atracurio, vecuronio, rocuronio

Paralizzanti in anestesia

Antagonisti competitivi AChR gangliare/nervoso

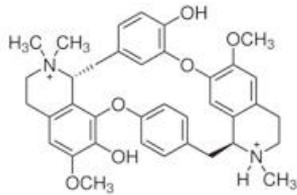
Trimetafano camsilato

Ganglioplegico, per indurre ipotensione in anestesia

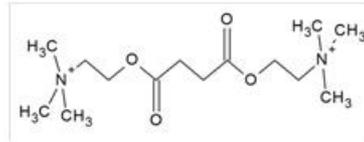
Mecamilamina, antagonista non selettivo e non competitivo

A basse dosi: blocco dipendenza da fumo e trattamento di schizofrenia e sindromi bipolari.

Farmaci attivi sui recettori nicotinici

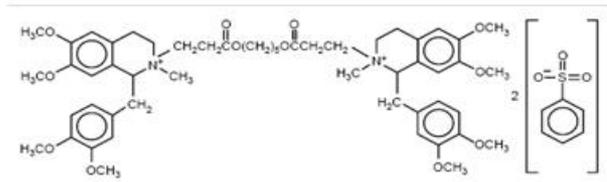


d-tubocurarina

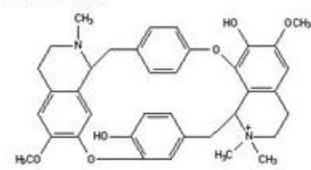


Succinilcolina

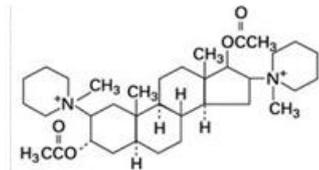
Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - UTET S.p.A.



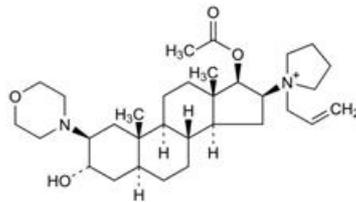
Atracurio



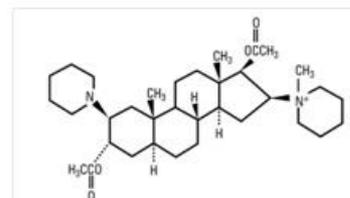
Cisatracurio



Pancuronio



Rocuronio



Vecuronio

Utilizzo clinico prevalente:
Paralizzanti in anestesia

NB: Alcuni farmaci nootropi sono attivi sul sistema colinergico a livello di sintesi di Ach

Il recettore-canale del GABA

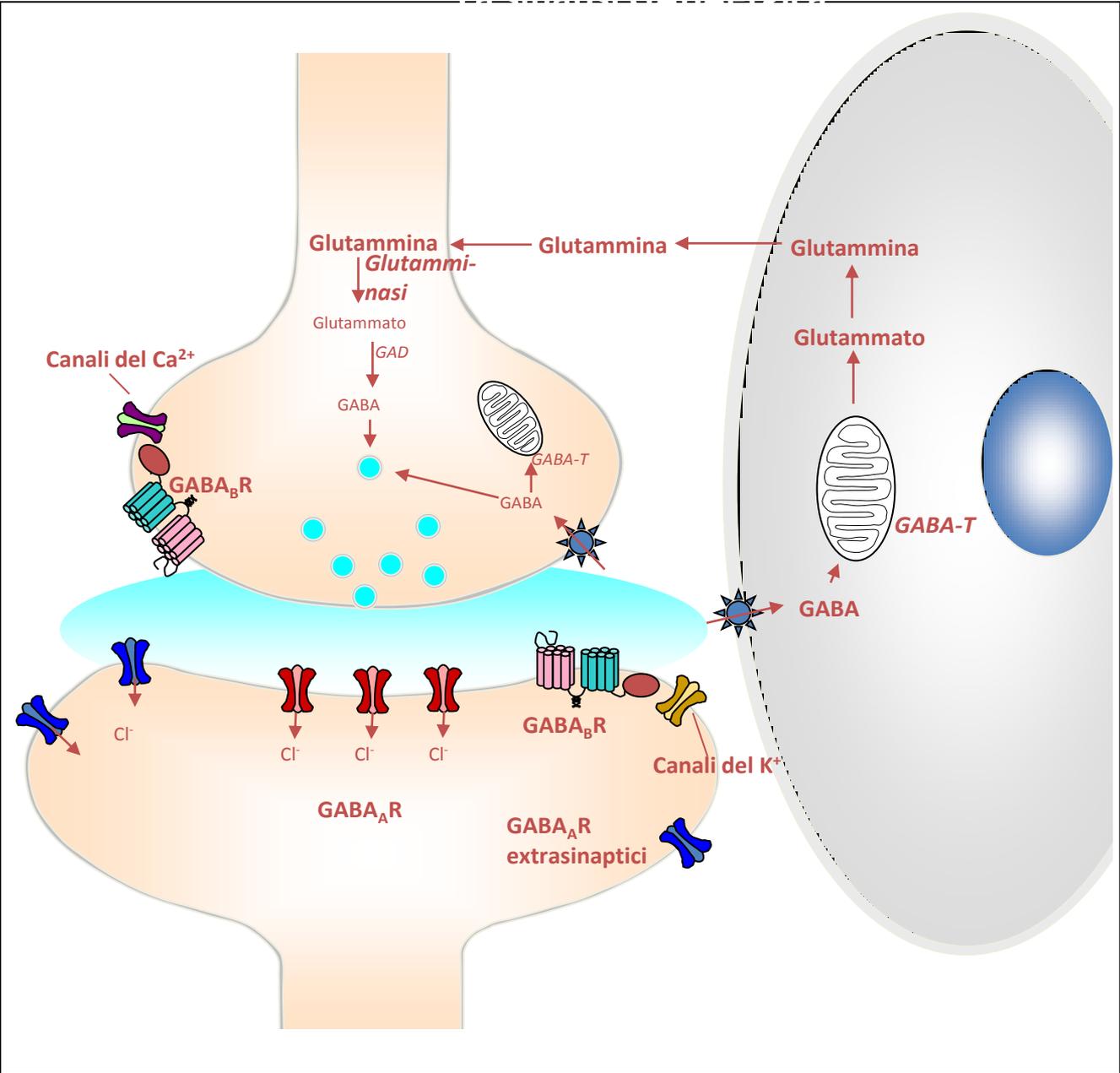
GABAA

FARMACOLOGIA DEL RECETTORE-CANALE PER IL GABA

Il recettore-canale per il GABA è detto GABAA e conduce ioni cloro

La sua attivazione causa riequilibrio delle concentrazioni del cloro lungo il gradiente elettrolitico che, nella maggior parte dei casi, comporta iperpolarizzazione e riduzione dell'eccitabilità della cellula nervosa

In alcune aree del SNC (midollo) il gradiente elettrochimico del cloro nei primi anni di vita è diverso e l'attivazione del recettore-canale per il GABA causa fuoriuscita di cloro, depolarizzazione e ipereccitabilità



Il recettore-canale per il GABA è un eteropentamero contenente subunità alfa, beta, gamma

La biologia molecolare ha dimostrato l'esistenza di diverse subunità alfa, beta e gamma che possono combinarsi in modo diverso nelle varie aree del SNC

Quindi in diverse aree del cervello vi sono varie forme di recettore-canale per il GABA che possono avere sensibilità diversa per i farmaci

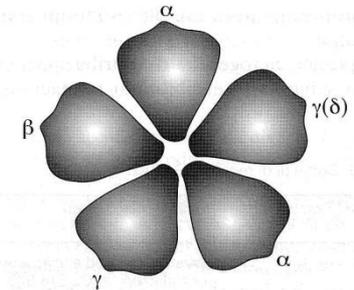
Vi sono tre maggiori classi di farmaci che attivano i recettori-canale del GABA:

benzodiazepine

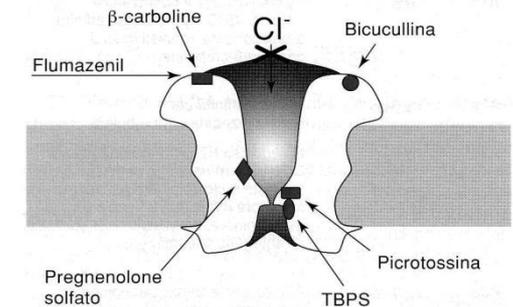
barbiturici

alcol

A) Subunità del recettore GABA_A



B) Antagonisti e modulatori negativi



C) Agonisti e modulatori positivi

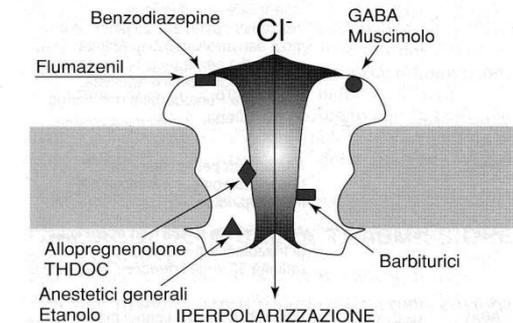
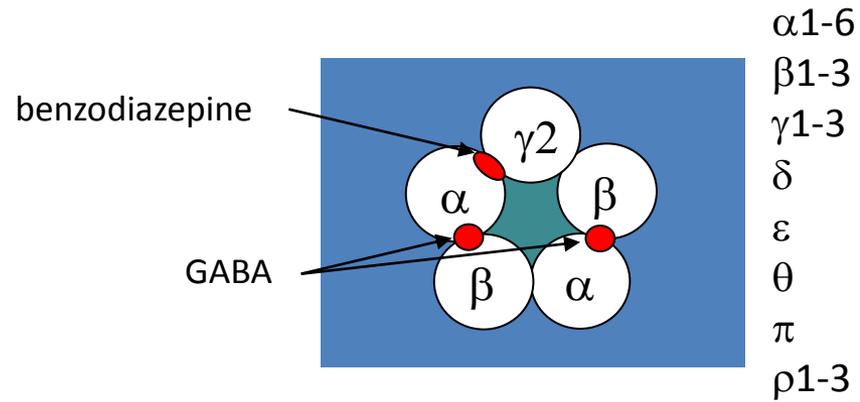
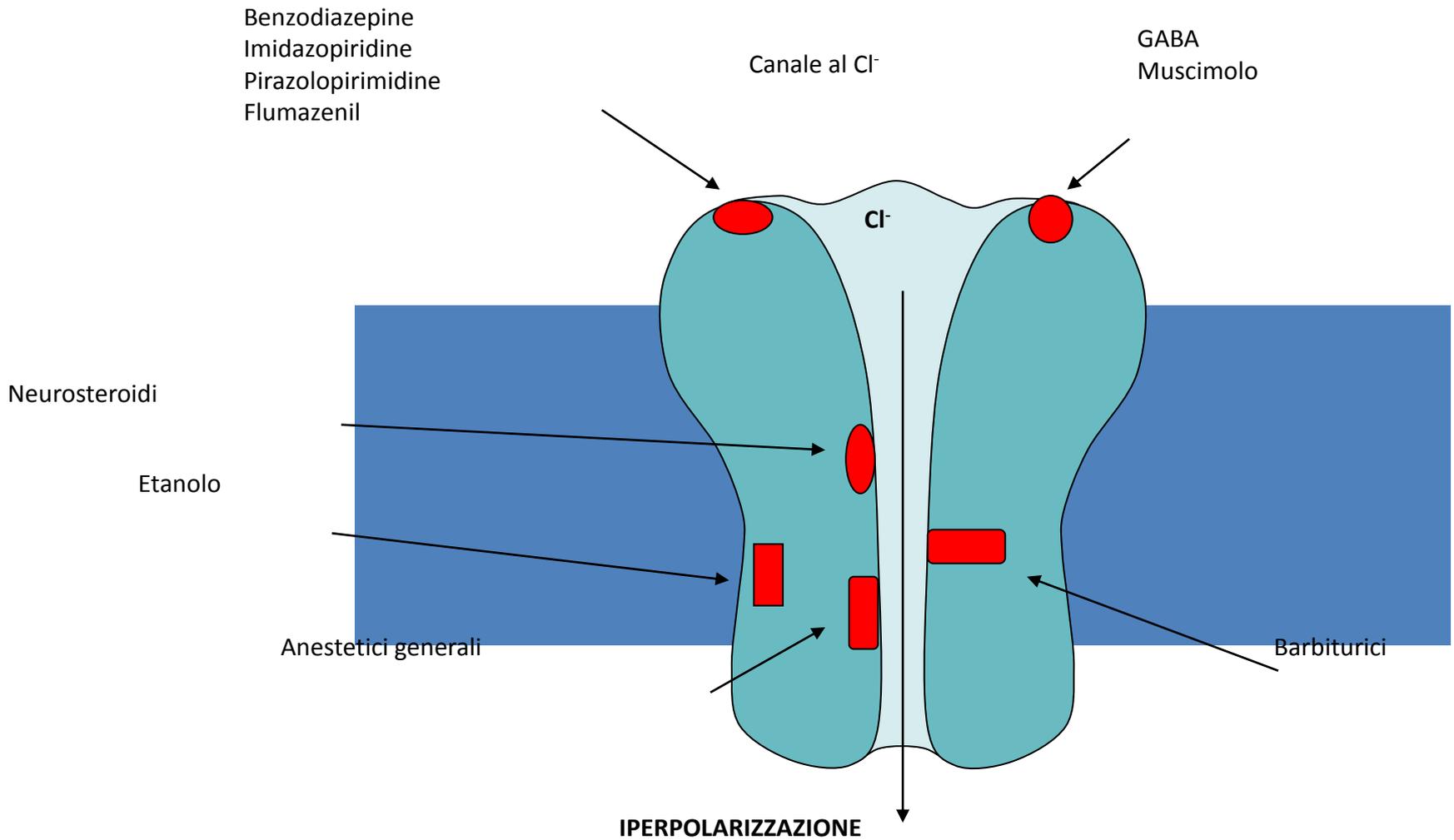


Fig. 29.2. Schema ipotetico della struttura molecolare del recettore GABA_A. In (A) sono indicate le tre differenti subunità α , β , γ (o δ in alternativa) necessarie per costituire un recettore funzionalmente sensibile sia all'azione dei barbiturici (α - β) che delle benzodiazepine (α , β , γ). Il rapporto tra subunità (nella figura 2 α , 1 β , 2 γ) può variare nelle diverse aree del SNC. In (B) e (C) sono ipotizzati due differenti momenti funzionali del canale allo ione cloro: (B) inibito, (C) attivato. Sono riportati i siti di legame di differenti modulatori negativi (B) e positivi (C).

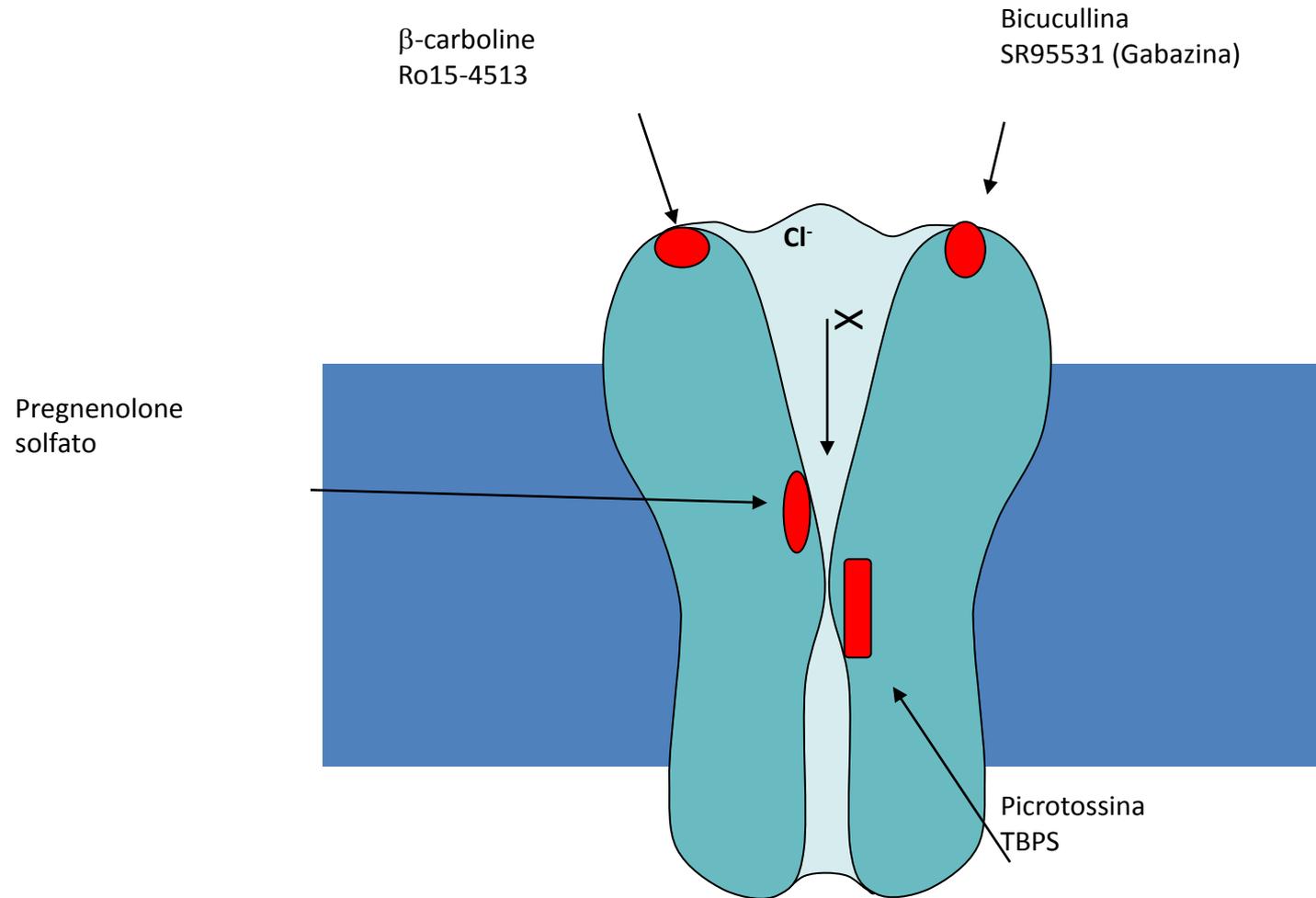
A. Subunità del recettore GABA_A



B. Agonisti e modulatori positivi



C. Antagonisti e modulatori negativi



Le benzodiazepine sono modulatori allosterici del GABA per il recettore. La loro attività richiede quindi la presenza del GABA (per questo portano difficilmente a morte)

I barbiturici attivano il recettore-canale per il GABA anche indipendentemente dal GABA. La depressione del SNC che essi causano è dose dipendente e, quando interessa il centro del respiro, causa morte dovuta ad arresto respiratorio

L'alcool attiva in modo indiretto alcuni sottotipi di recettori-canale per il GABA. La sintomatologia dovuta all'alcool è quindi diversa da quella dovuta a benzodiazepine e barbiturici. Tuttavia l'alcool potenzia gli effetti di queste due classi di farmaci

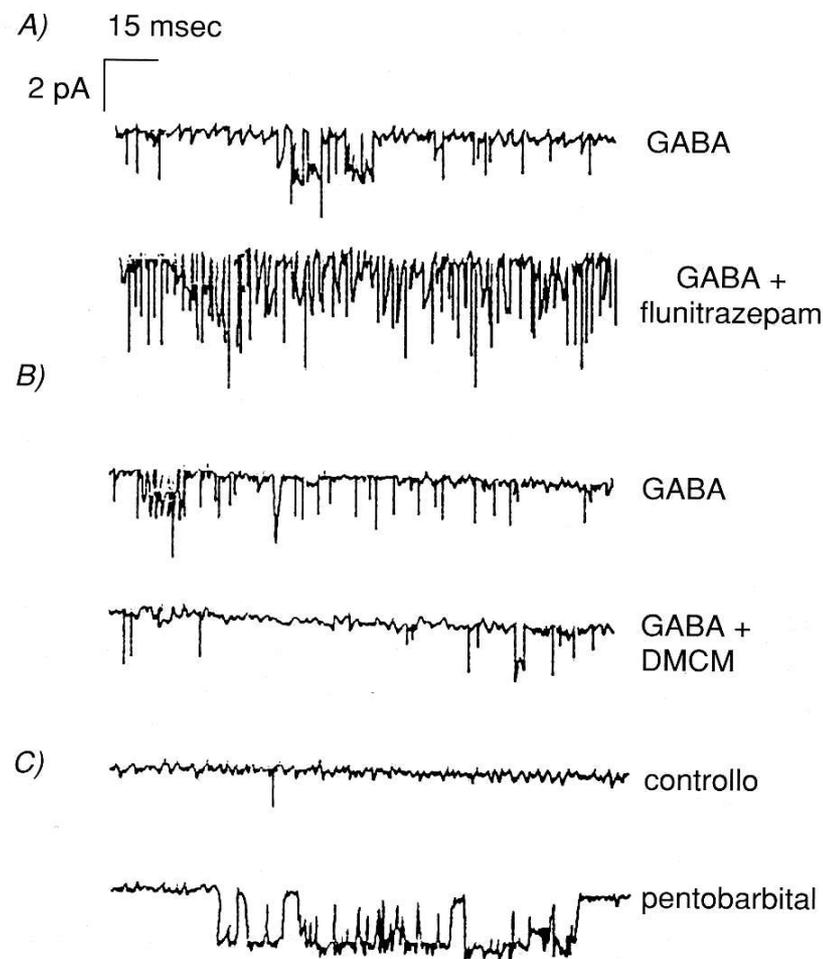


Fig. 29.3. Correnti di singolo canale al cloro attivate da vari modulatori del recettore GABA_A in un "outside-out patch" staccato dalla membrana di cellule di corteccia cerebrale di ratto (A e B) o di cellule di midollo spinale di topo (C). A) La corrente attivata dal GABA (1 μ M) è potenziata dalla benzodiazepina flunitrazepam (1 μ M). B) La corrente attivata dal GABA (1 μ M) è inibita dalla β -carbolina DCMC (5 μ M). C) Corrente attivata dal barbiturico pentobarbital (150 μ M); in questo caso il tracciato di controllo è ottenuto in assenza di GABA. I barbiturici inducono apertura del canale del recettore GABA_A anche in assenza del neurotrasmettitore e lo mantengono aperto per un tempo maggiore.

LE BENZODIAZEPINE

Sono modulatori allosterici del GABA per il recettore canale

Il loro legame aumenta l'affinità del GABA per il recettore causando aumento della frequenza di apertura del canale al cloro, iperpolarizzazione e depressione dell'attività delle cellule nervose

Vengono classificate come ansiolitici-sedativi

Il 15% degli adulti assume benzodiazepine (BDZ) almeno 1 volta all'anno

Sedativo

Farmaco in grado di indurre situazione di (piacevole) rilassamento psichico e muscolare con mantenimento della collaborazione attiva

Ipnotico

Farmaco capace di indurre e mantenere il sonno quanto più possibile simile al fisiologico

All'aumentare dell'inibizione delle funzioni del SNC

Anestesia → coma

Farmaci dotati di proprietà sedative/ipnotiche

BDZ e analoghi (es. zolpidem)

Barbiturici

Alcool

Meprobamato / cloralio idrato

Antipsicotici

Antidepressivi

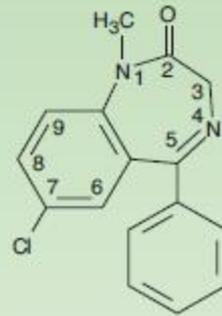
Antiistaminici

Buspirone (agonista parziale 5-HT_{1A} e D₂)

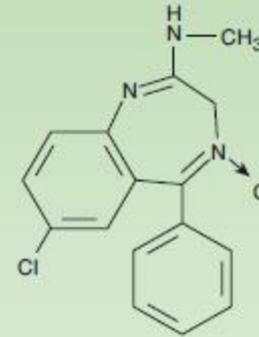
Ramelteon: agonista MT1 e MT2 (melatonina → ritmo circadiano)

Benzodiazepine

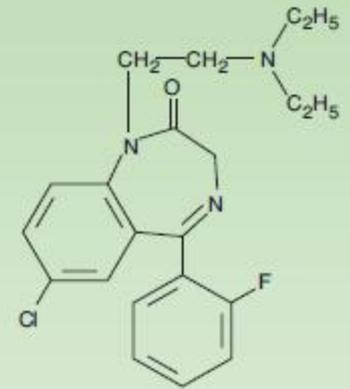
Per attività sedativo-
ipnotica è necessaria
sostituzione in 7 con
alogeno o nitrogruppo



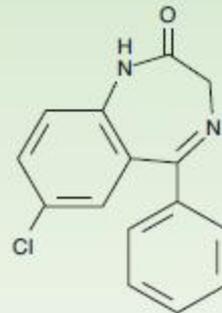
Diazepam



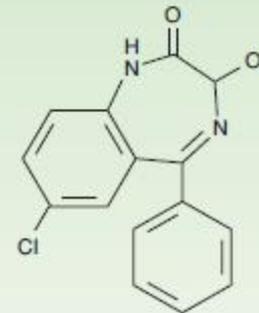
Clordiazepossido



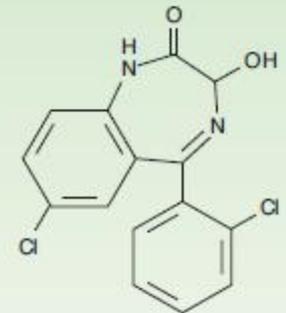
Flurazepam



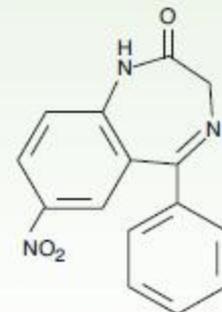
Desmetildiazepam



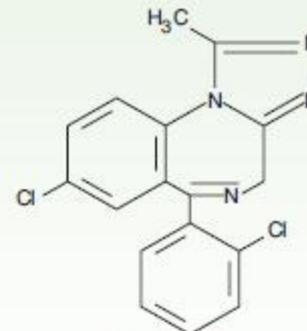
Oxazepam



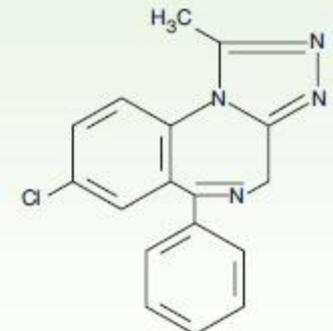
Lorazepam



Nitrazepam



Triazolam



Alprazolam

Figura 22-2. Struttura chimica delle benzodiazepine.

Altri ipnotico-sedativi non BDZ

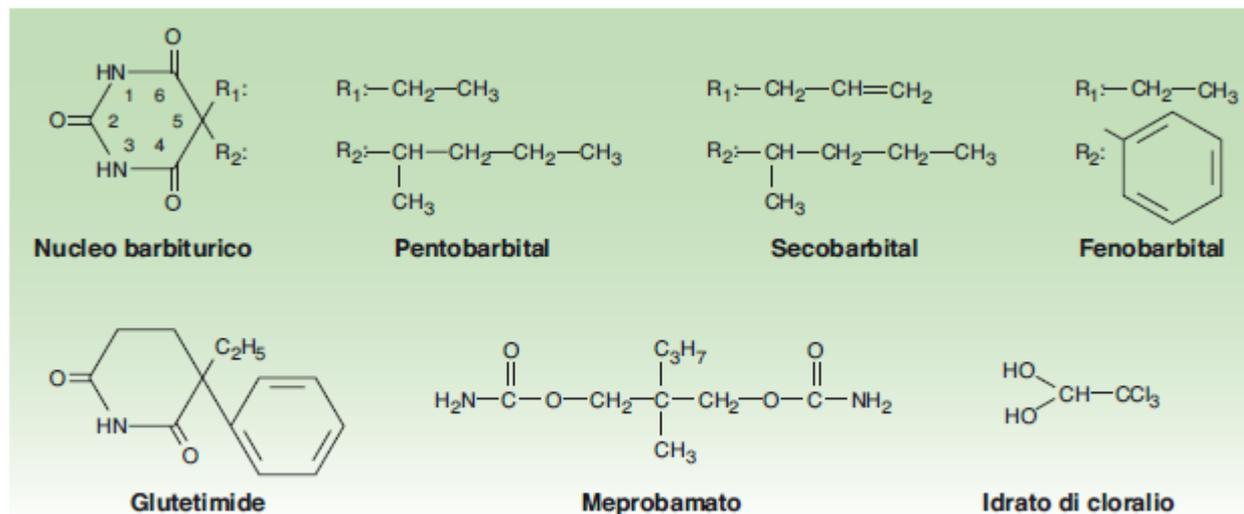


Figura 22-3. Struttura chimica dei barbiturici e degli altri sedativo-ipnotici.

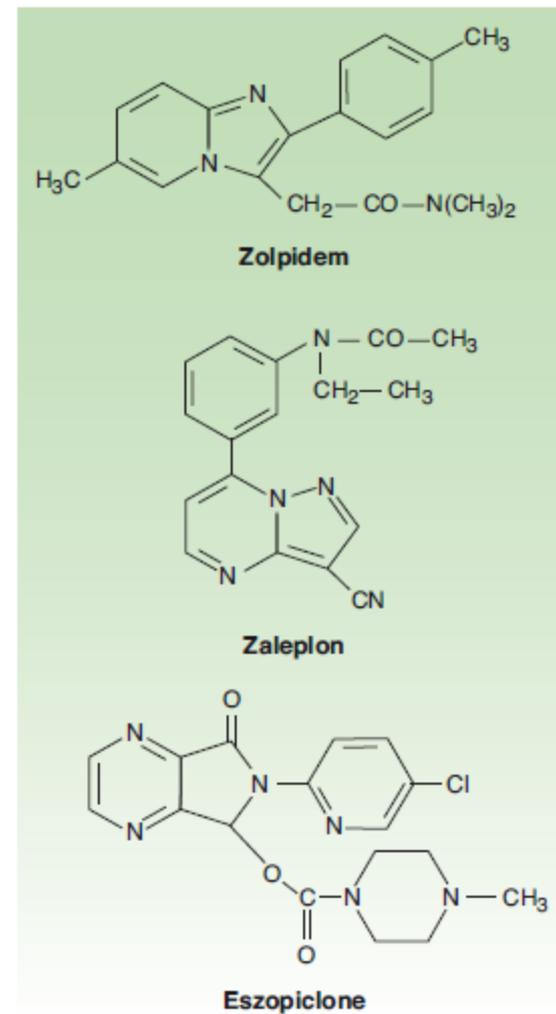


Figura 22-4. Struttura chimica di ipnotici più recenti.

Molte BDZ devono essere metabolizzate per essere attive

Per lo più via CYP3A4

SEDATIVE-HYPNOTIC DRUGS / 337

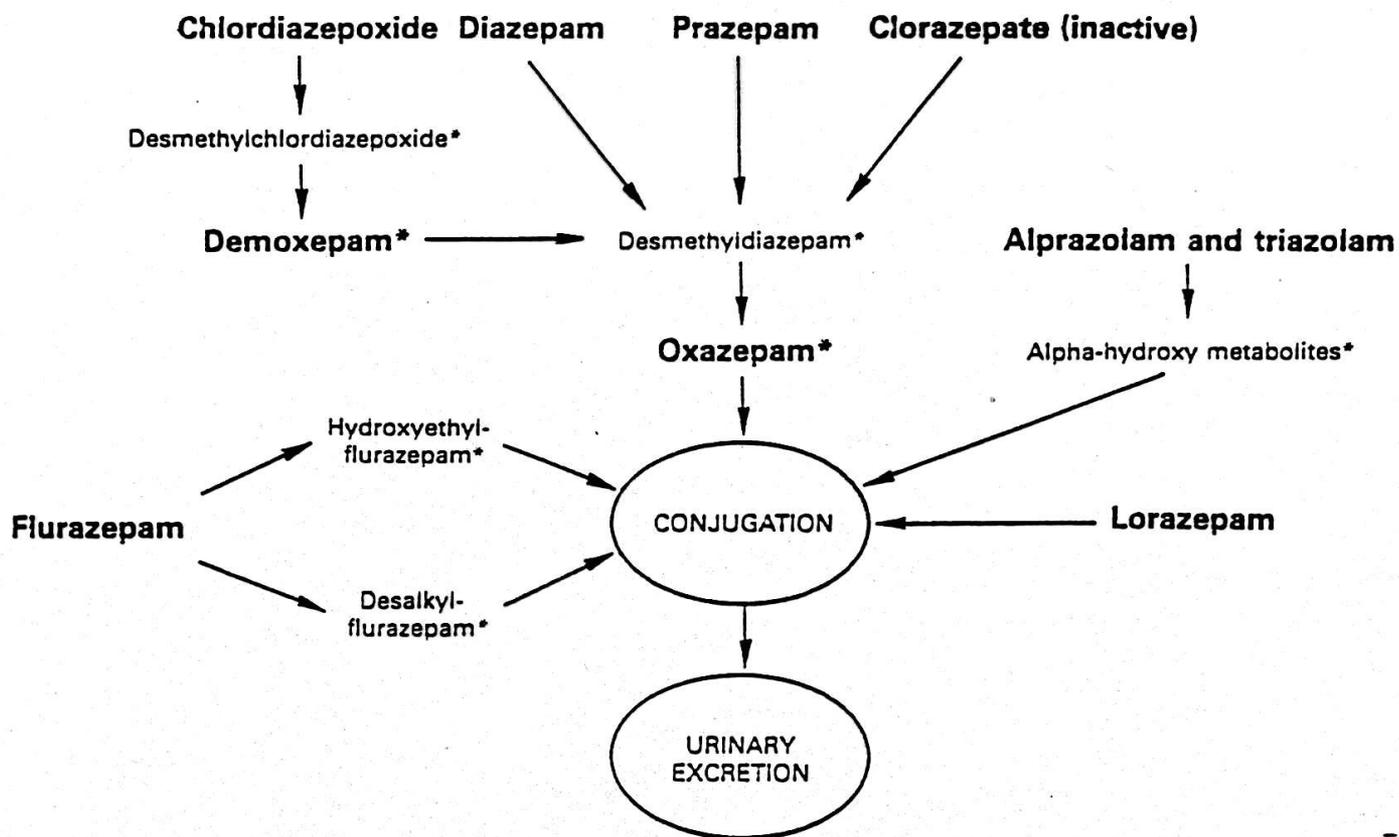


Figure 21-4. Biotransformation of benzodiazepines. (Boldface, drugs available for clinical use; *, active metabolite.)

variabilità individuale (o da patologia) per la risposta alle BDZ

Le diverse BDZ si distinguono in base al profilo farmacocinetico

Table 21-1. Pharmacokinetic properties of benzodiazepines in humans.

Drug	Elimination Half-Life Range (hours)	Metabolites	Comments
Alprazolam	12-15	Active: α -hydroxyalprazolam	Rapid oral absorption.
Chlordiazepoxide	5-30	Active: desmethyl derivative, demoxepam, oxazepam	Poor intramuscular bioavailability.
Chlorazepate	50-100 (metabolites)	Active: desmethyldiazepam, oxazepam	Hydrolyzed to active form in stomach.
Diazepam	50-150	Active: desmethyldiazepam, temazepam, oxazepam	Poor intramuscular bioavailability.
Flunitrazepam	12-24	Active: desmethylflunitrazepam	Large volume of distribution.
Flurazepam	24-100 (metabolites)	Active: desalkyl derivative and others	Long elimination half-lives of active metabolites.
Lorazepam	10-18	Inactive: glucuronides	Elimination not much affected by age or liver disease.
Nitrazepam	24-36	Probably inactive	Large volume of distribution.
Oxazepam	4-10	Inactive: glucuronides	Slow oral absorption may delay onset of effects.
Prazepam	30-120	Active: desmethyldiazepam	Slow oral absorption.
Temazepam	5-8	Possibly active	Slow oral absorption.
Triazolam	3-5	Active: α -hydroxytriazolam	Rapid oral absorption.

LE BENZODIAZEPINE

Sono dotate di effetti ansiolitici

Sono ipnotico-sedativi (inducono sedazione fino al sonno) a dosi maggiori

A dosi superiori sono dotate di attività anticonvulsivante

Alcune BDZ sono miorilassanti in quanto inibiscono l'attività del motoneurone

Respiro: non vi è depressione ma può esservi potenziamento della depressione respiratoria indotta da barbiturici, alcool, morfina

Effetto ansiolitico-sedativo

Associata a riduzione capacità cognitive e psicomotorie

Abolizione inibizione comportamentale (indotta da punizione): effetti disinibitori sul comportamento (euforia, perdita autocontrollo)

Amnesia anterograda (non ricordare durante effetti del farmaco)

Ipnosi

Diminuzione tempo di latenza

Prolungamento durata fase 2 (non-REM)

Diminuzione durata fase REM (rimbalzo e ansia alla sospensione)

Diminuzione fase 4 (onde lente) no x zolpidem

Attività anti-convulsivante

Da potenziamento GABAergico

Utilizzati in crisi convulsive

Attività miorilassante

Attività di inibizione trasmissione dolorifica

Alte dosi: inibizione trasmissione neuromuscolare

Effetti più visibili in animali che uomo

LE BENZODIAZEPINE

Tolleranza e dipendenza

Compaiono solo con trattamenti prolungati e con dosaggi alti

La sospensione brusca di un trattamento prolungato può creare gli stessi sintomi che avevano portato all'uso del farmaco (insonnia, incubi)

Sospendere sempre gradualmente dopo un trattamento prolungato

LE BENZODIAZEPINE

Tossicità

- Confusione fino a atassia, incoordinazione motoria, apatia, debolezza
- Sonnolenza
- Eccitazione in anziani e bambini (fino a incubi, ostilità)
- **Rallentamento significativo dei riflessi motori**
- Riduzione delle prestazioni intellettuali
- Alterazioni della memoria

Controllo stati di intossicazione da sovradosaggio: flumazenil

Usi clinici dei sedativo-ipnotici

Azione ansiolitica

Ipnosi

Sedazione ed amnesia prima di interventi medici e chirurgici

Trattamento dell'epilessia e degli stati convulsivi

Somministrazione endovenosa, come componente di un'anestesia bilanciata

Controllo dell'astinenza da etanolo o da altri farmaci sedativo-ipnotici

Rilasciamento muscolare in specifiche patologie neuromuscolari

In psichiatria come presidio diagnostico o terapeutico

Uso clinico delle BDZ

Ansiolitici: sia situazionale che disturbo generalizzato d'ansia
Attacchi di panico e agorafobia: alprazolam

Insonnia e disturbi del sonno

Convulsioni

Rilasciamento muscolatura scheletrica (spasmi, ernie discali compressive)

SCELTA DI UNA BDZ

La scelta di una BDZ è fatta sulla base della patologia e del profilo farmacocinetico

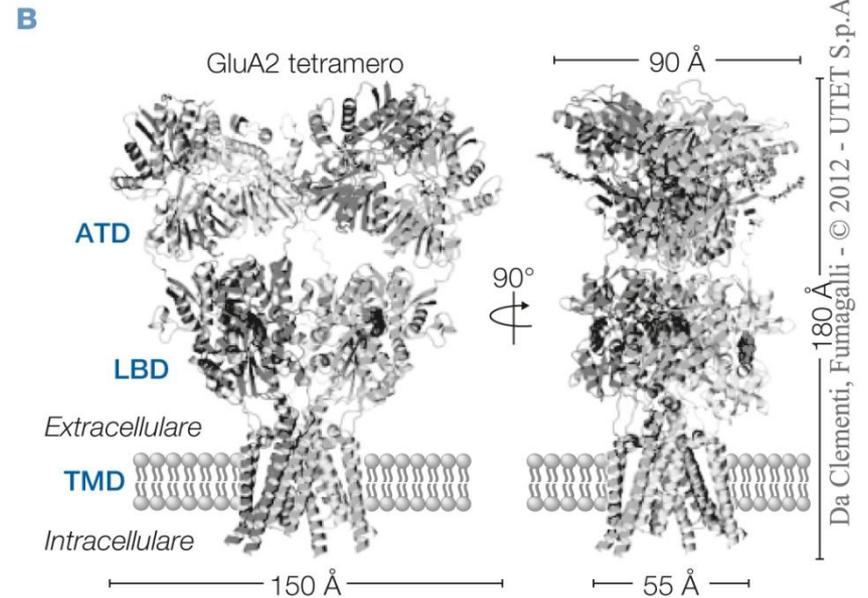
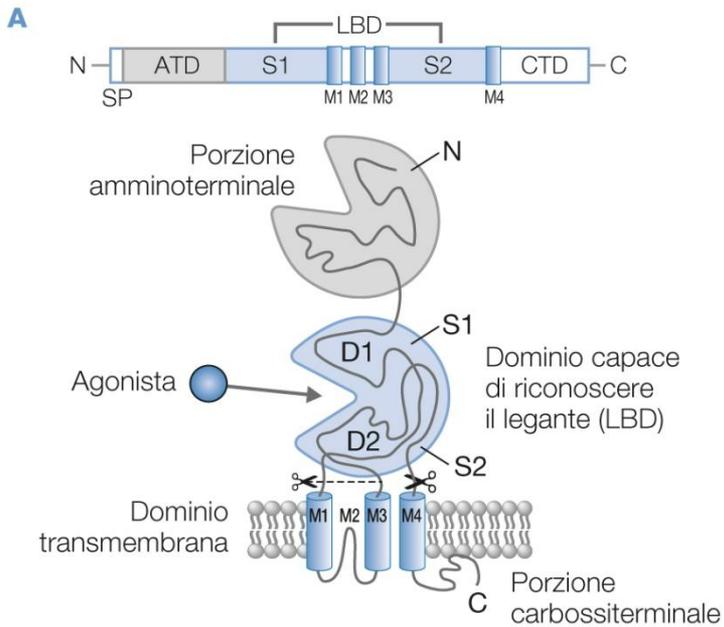
BDZ a emivita lunga: per effetti prolungati (ansia, miorilassamento);

BDZ a emivita breve: per effetti rapidi (insonnia da incapacità ad addormentarsi);

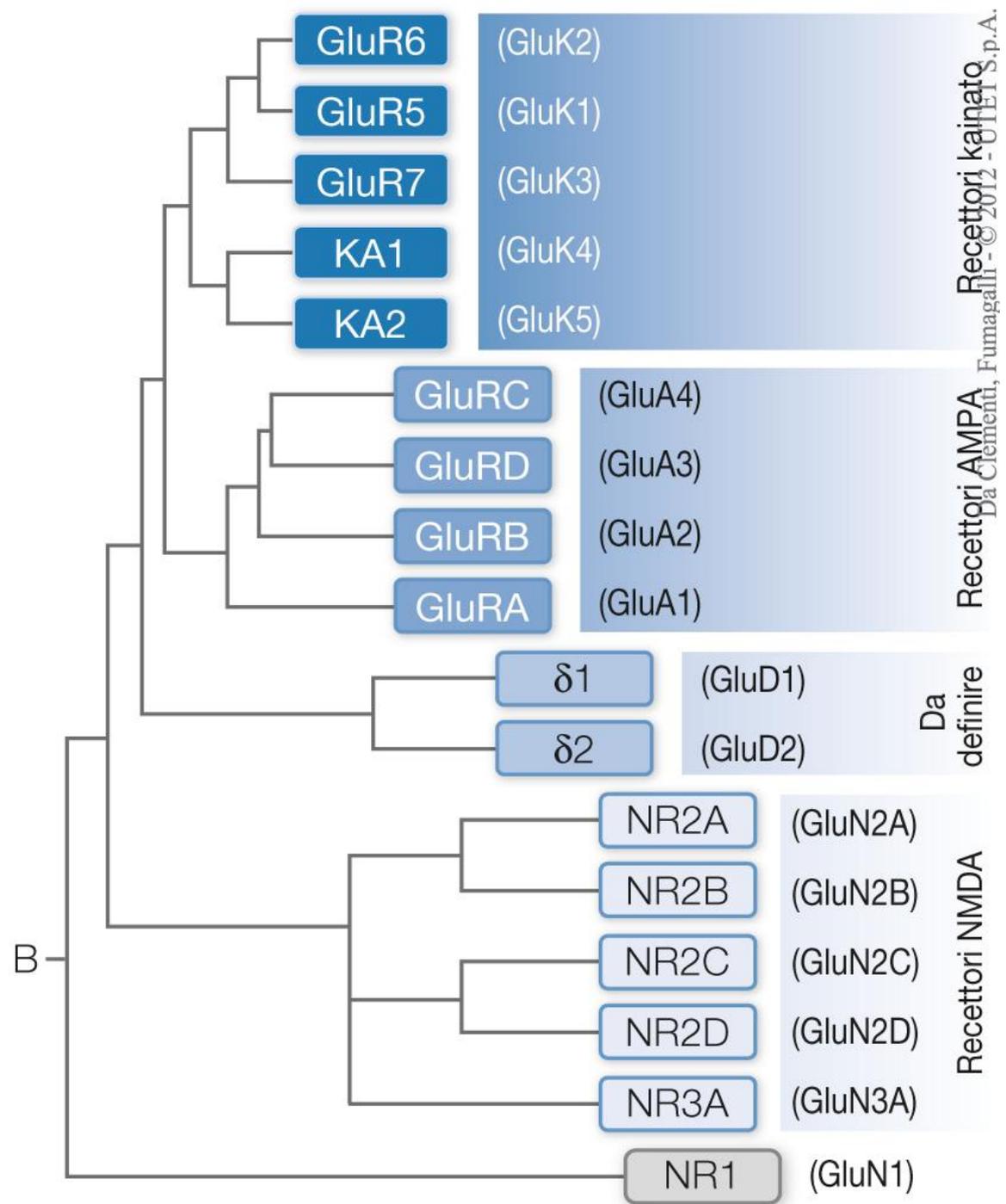
BDZ a emivita intermedia: per effetti di durata intermedia (es insonnia da risveglio)

Recettori per il glutammato

AMPA
NMDA
KA



Subunità dei recettori per il glutammato



Recettori AMPA

- GluA1-4
- Eterotetrameri
- Permeabili a Na^+ , poco a Ca^{2+}
- Subunità più diffusa è la GluA2 con R in sito Q/R
- NB: codone in GluA2 codifica per Q ma editing di mRNA che cambia in R
- Tutti contengono GluA2 (impermeabile a Ca) tranne Glia di Berrmann in cervelletto
- Rispondono anche a KA con attivazione prolungata non desensitizzante (neurotossicità da LKA)

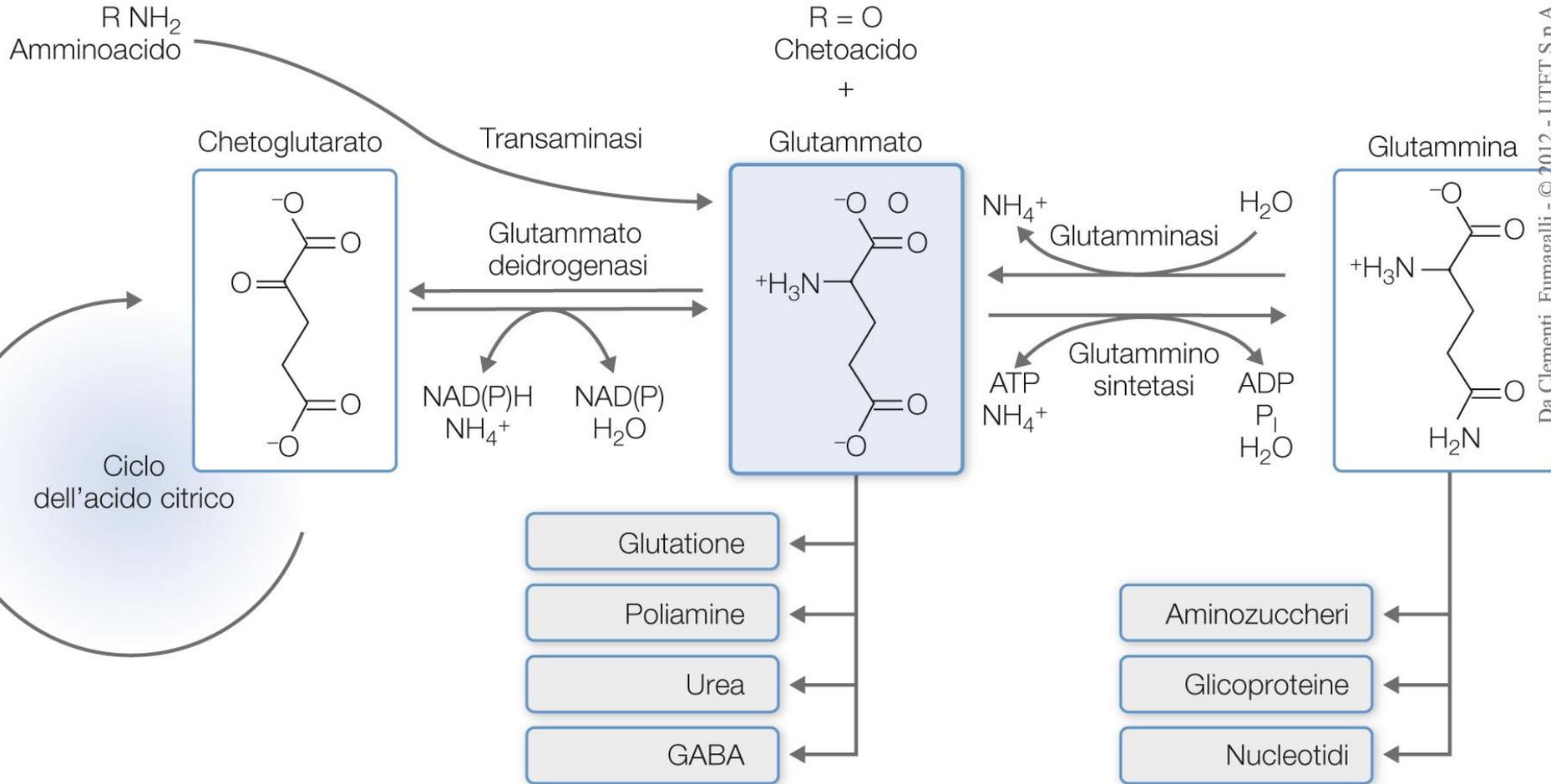
Recettori Kainato

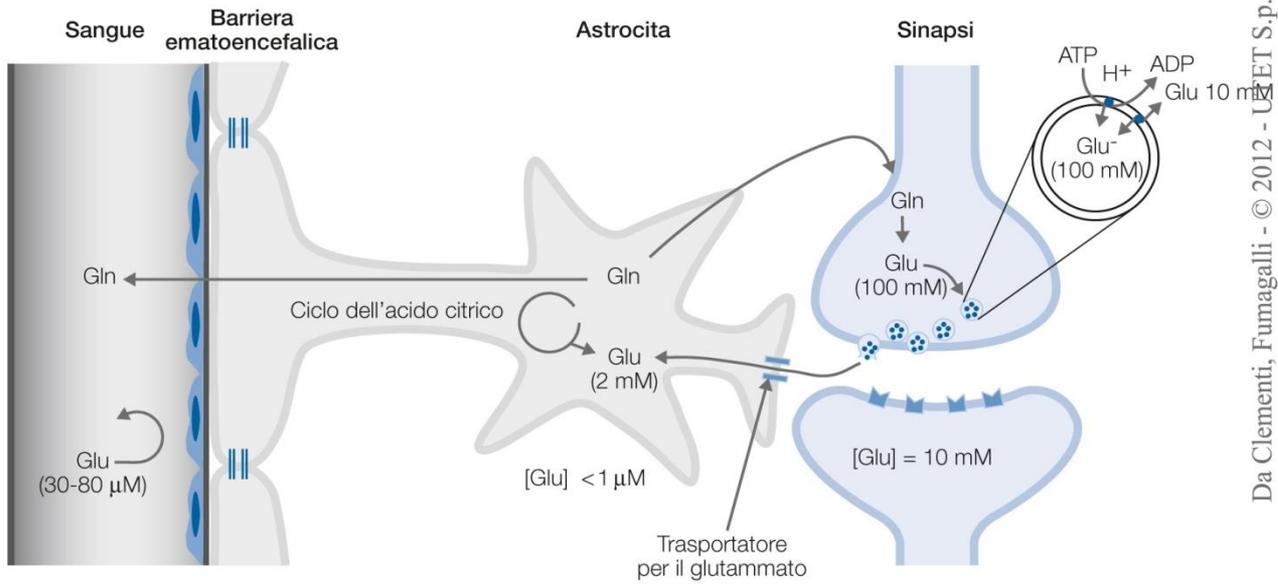
- ✓ GluK1-5
- ✓ Eterotetrameri
- ✓ Diffusi in SNC, effetti di KA mascherati da neurotossicità da attivazione AMPA
- ✓ Anche presinaptici con significato facilitatorio
- ✓ GluK1 e 2 possono essere sia Q che R in Q/R e GluK1 ha altri 2 siti di editing mRNA

Recettori NMDA

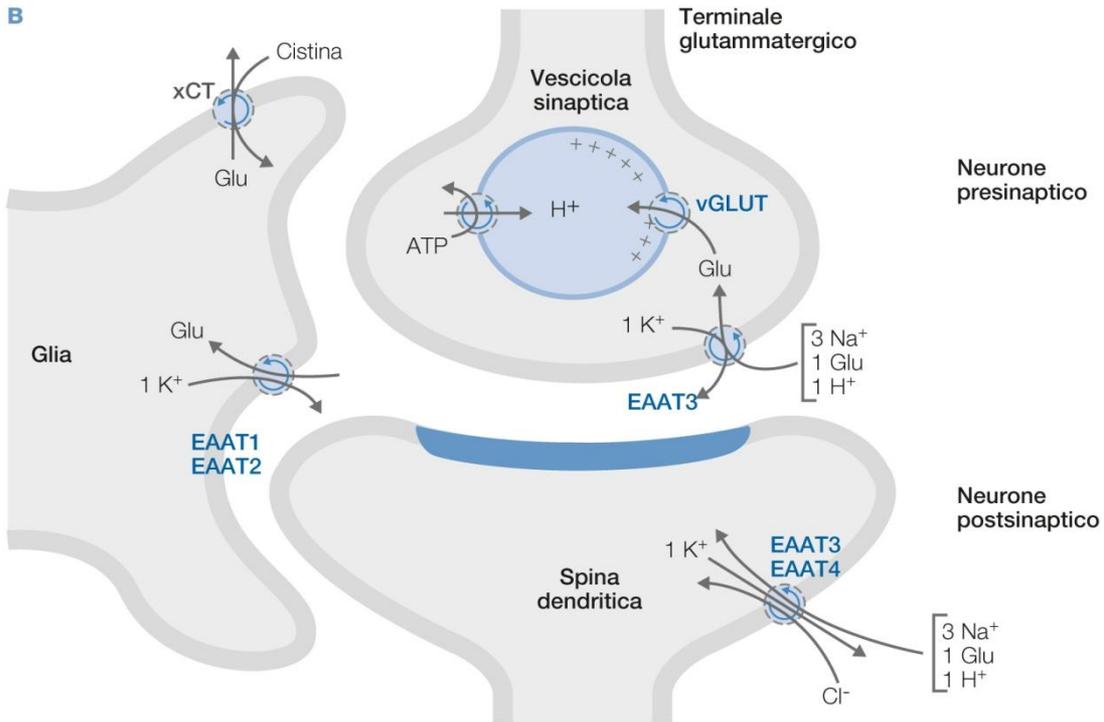
- ✓ GluN1-3; tutti con QW in Q/R
- ✓ Sempre un GluN1; più freq GluN2(a-d) che GluN3
- ✓ Cinetiche di apertura lente (>100 msec)
- ✓ Permeabile Ca^{2+}
- ✓ Blocco da Mg^{2+} rimosso da depolarizzazione
- ✓ Attivazione per legame Glu (con GluN2) e glicina/serina (con dimeri GluN1 e 3)
- ✓ Permeabilità influenzata da poliamine, pH, stato red-ox di gruppi $-\text{SH}$ e attivazione mGluR

La sinapsi glutammatergica: sintesi del glutammato



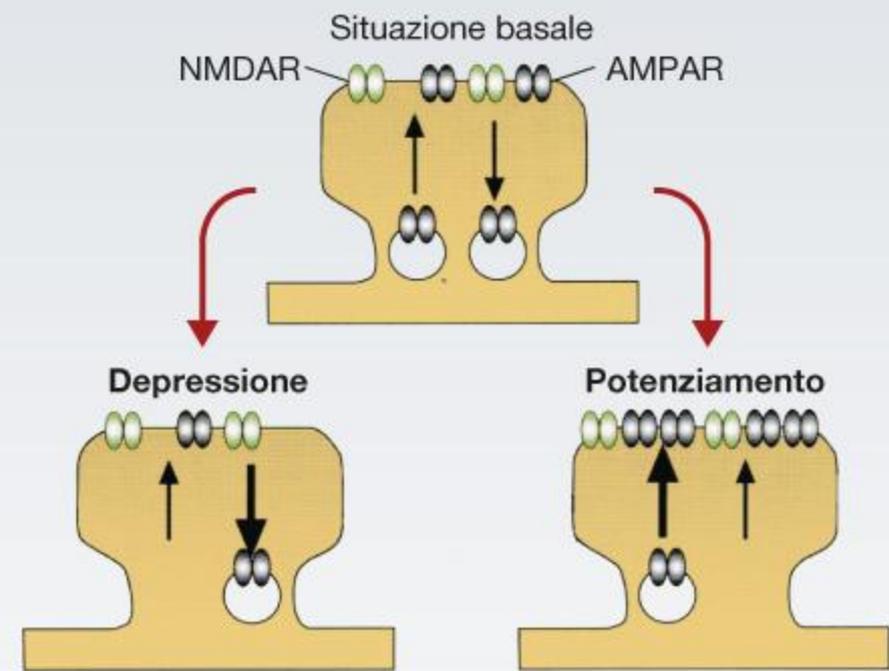
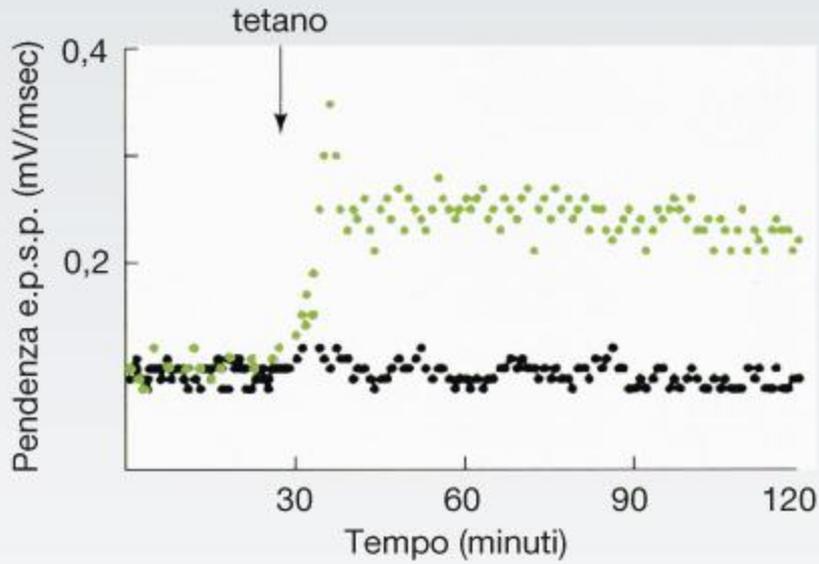
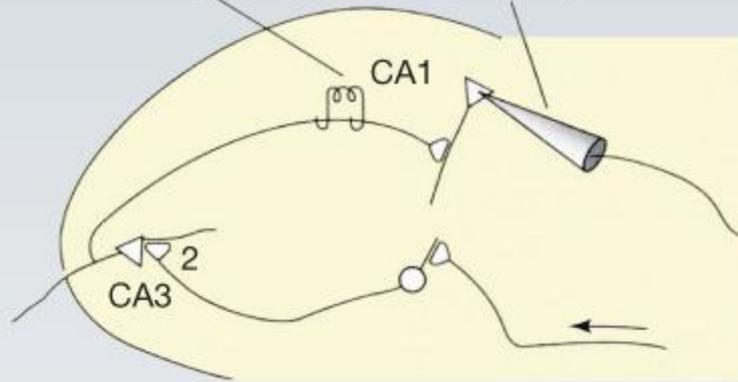
A

Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - UTET S.p.A.

B

Glutammato e LTP

A Elettrodo stimolatore su collaterale di Schaffer
Elettrodo registratore su neurone piramidale



Funzioni di potenziale interesse clinico

Eccitotossicità

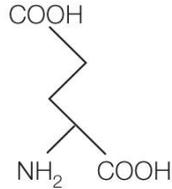
- ✓ acido domoico di cozze: eccitotox da AMPA
- ✓ 2-metil-amino-anilina (seme di palma in isola Guamm → indigeni alta incidenza m. neurologiche degenerative)
- ✓ Aac beta-oxililamino-alanina in cicerchia → paraplegia spastica Africa orientale e Asia sud

Depressione

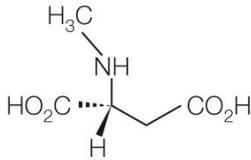
- ✓ Ketamina (blocca NMDA, anche anestetico) contrasta depressione in pz resistenti a SSR; effetti forse mediati da attivazione di via mTOR
- ✓ In sperimentazione Ro 25-6981 anti GluN1-GluN2B
- ✓ Alcool: inibitore NMDA a alte dosi

Farmaci e sistema glutammatergico

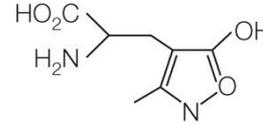
Agonisti dei recettori ionotropi



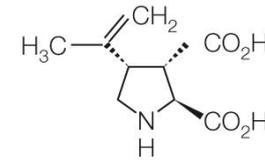
Glutammato



NMDA

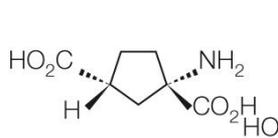


AMPA

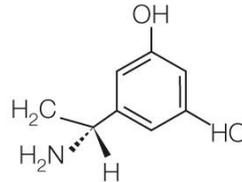


Kainato

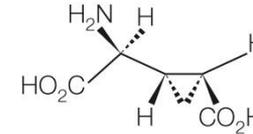
Agonisti dei recettori metabotropi



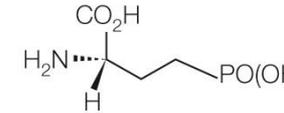
1S, 3R-ACPD



DHPG

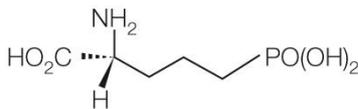


L-CGG-I

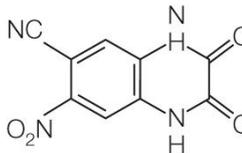


L-AP4

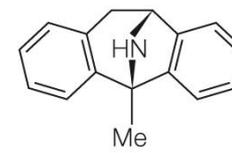
Antagonisti dei recettori ionotropi



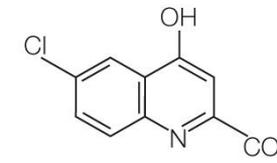
AP5



CNQX

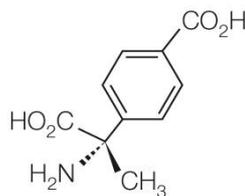


MK-801

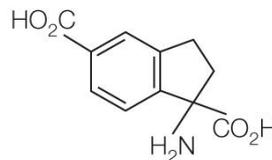


7-Cl-Chinurenato

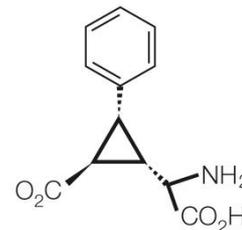
Antagonisti dei recettori metabotropi



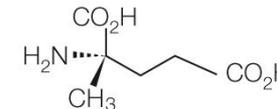
MCPG



AIDA



PCCG IV



EGLU

Farmaci

Unici approvati per uso clinico

TABELLA 38.2 Farmaci e neurotrasmissione eccitatoria

Molecola	Meccanismo d'azione	Uso clinico
Ketamina	Bloccante canale NMDA Alta affinità	Anestetico generale
Memantina	Bloccante canale NMDA Bassa affinità	Demenze
Riluzolo	Riduce liberazione glutammato	Sclerosi laterale amiotrofica Uso compassionevole

Altri solo sperimentali:

- ✓ Antagonisti AMPA e KA: derivati chinoxalinici CNQX e DNQX e BDZ
GYKI-52466

Recettori accoppiati a Proteina G

GPCR

ovvero

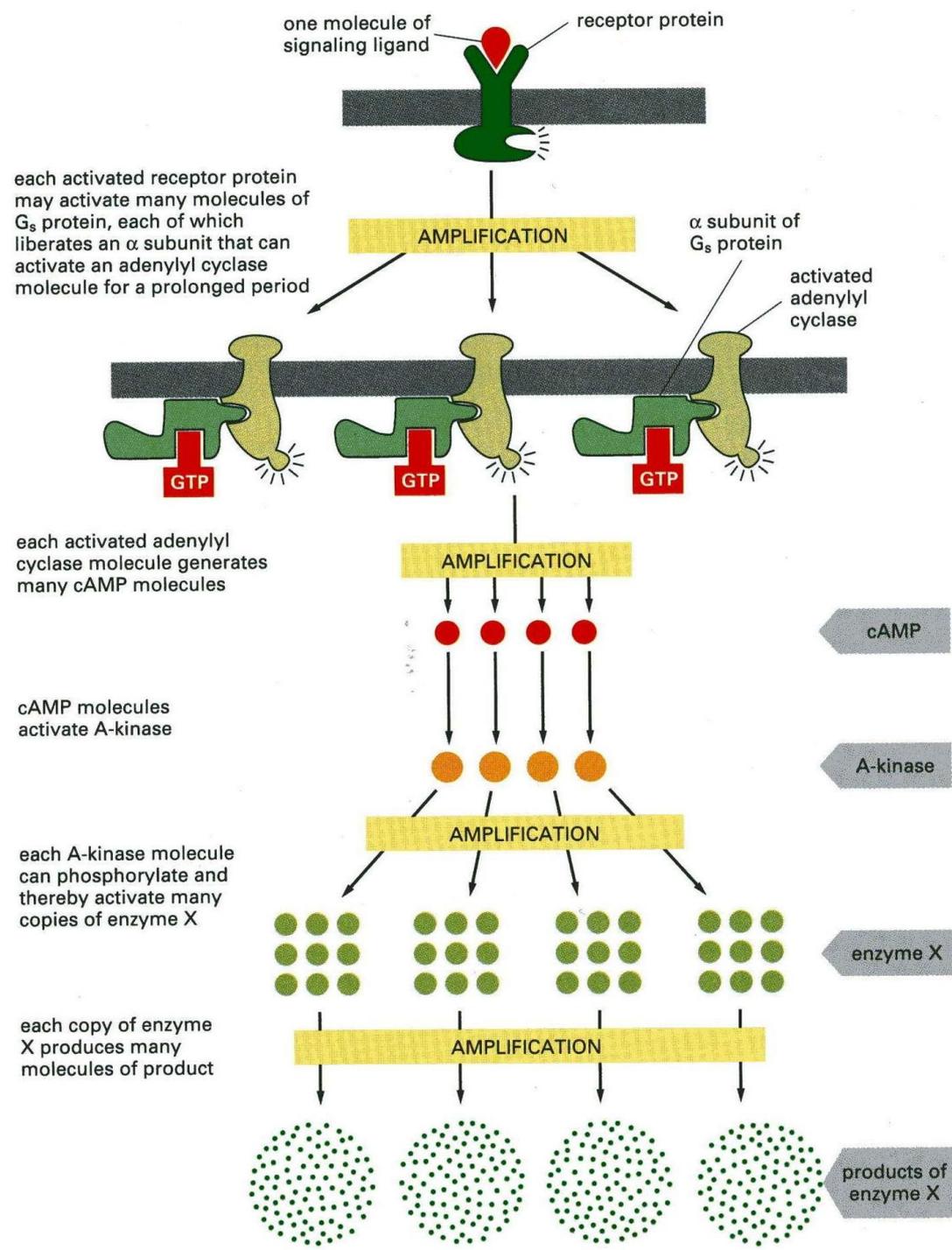
Recettori che trasducono il segnale generando

Il messaggeri

GPCR

Recettore per	Proteina G	Effettore	Recettore per	Proteina G	Effettore
Neurotrasmettitori:					
Catecolamine Adrenergico β_1	G_s	↑ Adenilato ciclasi ↑ Canali al Ca^{2+}	Ormone di rilascio del TSH (TRH)	G_q	↑ Fosfolipasi C
Adrenergico β_2, β_3	G_s	↑ Adenilato ciclasi	Fattore di rilascio dell'ACTH (CRF)	G_s	↑ Adenilato ciclasi
Adrenergico α_1	G_q	↑ Fosfolipasi C	Somatostatina	G_i/G_o	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al K^+ ↓ Canali al Ca^{2+}
Adrenergico α_2	G_i/G_o	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al K^+ ↓ Canali al Ca^{2+}	Vasopressina		
Dopamina			V_1	G_q	↑ Fosfolipasi C
D_1	G_s	↑ Adenilato ciclasi	V_2	G_s	↑ Adenilato ciclasi
D_2	G_i/G_o	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al K^+ ↓ Canali al Ca^{2+}	Glucagone	G_s	↑ Adenilato ciclasi
Serotonina			Ormone paratiroideo (PTH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi
$5-HT_1$	G_i	↓ Adenilato ciclasi		$G_q?$	↑ Fosfolipasi C
$5-HT_2$	G_q	↑ Fosfolipasi C	Calcitonina	G_s	↑ Adenilato ciclasi
$5-HT_4$	G_s	↑ Adenilato ciclasi		$G_q?$	↑ Fosfolipasi C
Acetilcolina			Altri fattori di regolazione:		
Muscarinico M_1, M_3, M_5	G_q	↑ Fosfolipasi C	Trombina	G_i	↓ Adenilato ciclasi
Muscarinico M_2, M_4	G_i	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al K^+		G_q	↑ Fosfolipasi C
Ormoni peptidici:			Bradichinina		
Ormone adrenocorticotropo (ACTH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi	B_2	G_q	↑ Fosfolipasi C
Ormone luteinizzante (LH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi	Eicosanoidi:		
	$G_q?$	↑ Fosfolipasi C	Prostaglandina PGE_2		
Ormone follicolo-stimolante (FSH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi	EP_1	G_q	↑ Fosfolipasi C
Ormone tireotropo (TSH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi	EP_2	G_s	↑ Adenilato ciclasi
	G_q	↑ Fosfolipasi C	EP_3	G_i	↓ Adenilato ciclasi
Ormone di rilascio del GH (GHRH)	G_s	↑ Adenilato ciclasi	Prostaglandina PGF_{2a}	G_q	↑ Fosfolipasi C
Ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH)	G_q	↑ Fosfolipasi C	Prostaciclina PGI_2	G_s	↑ Adenilato ciclasi
			Leucotrieni LTC_4, LTD_4	G_q	↑ Fosfolipasi C
			Trombossano TXA_2	G_q	↑ Fosfolipasi C
			Fotoni		
			Rodopsina	G_t	↑ cGMP fosfodiesterasi

I secondi messaggeri
rappresentano un
sistema di
amplificazione del
messaggio del
neurotrasmettitore



Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

Tipi di II messaggeri

Nucleotidi ciclici: cAMP

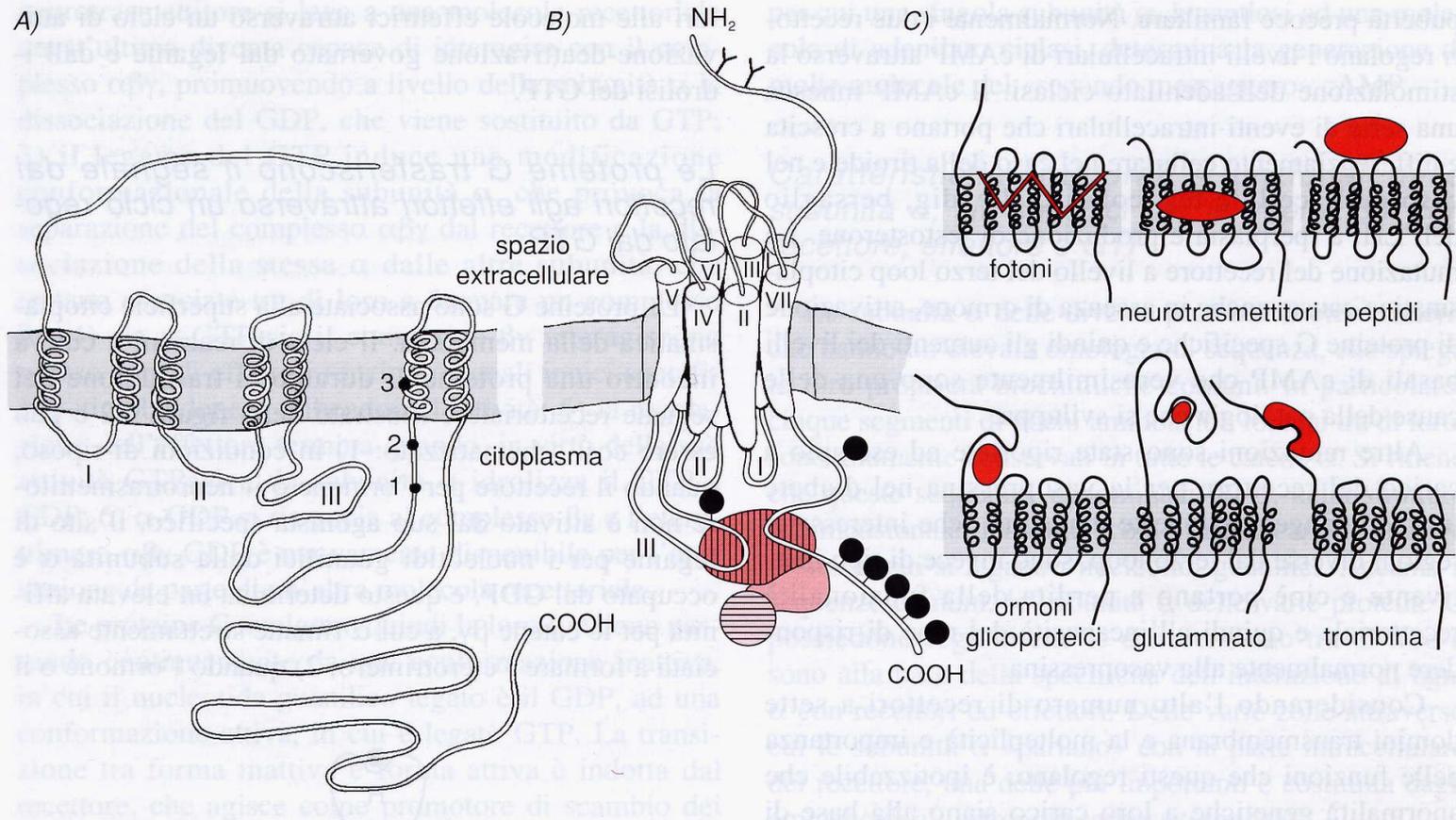
Costituenti della membrana cellulare: IP3

Ioni: Ca²⁺

Struttura dei GPCR

Recettori accoppiati alle proteine G

89



Recettori monomerici con 7 domini transmembrana

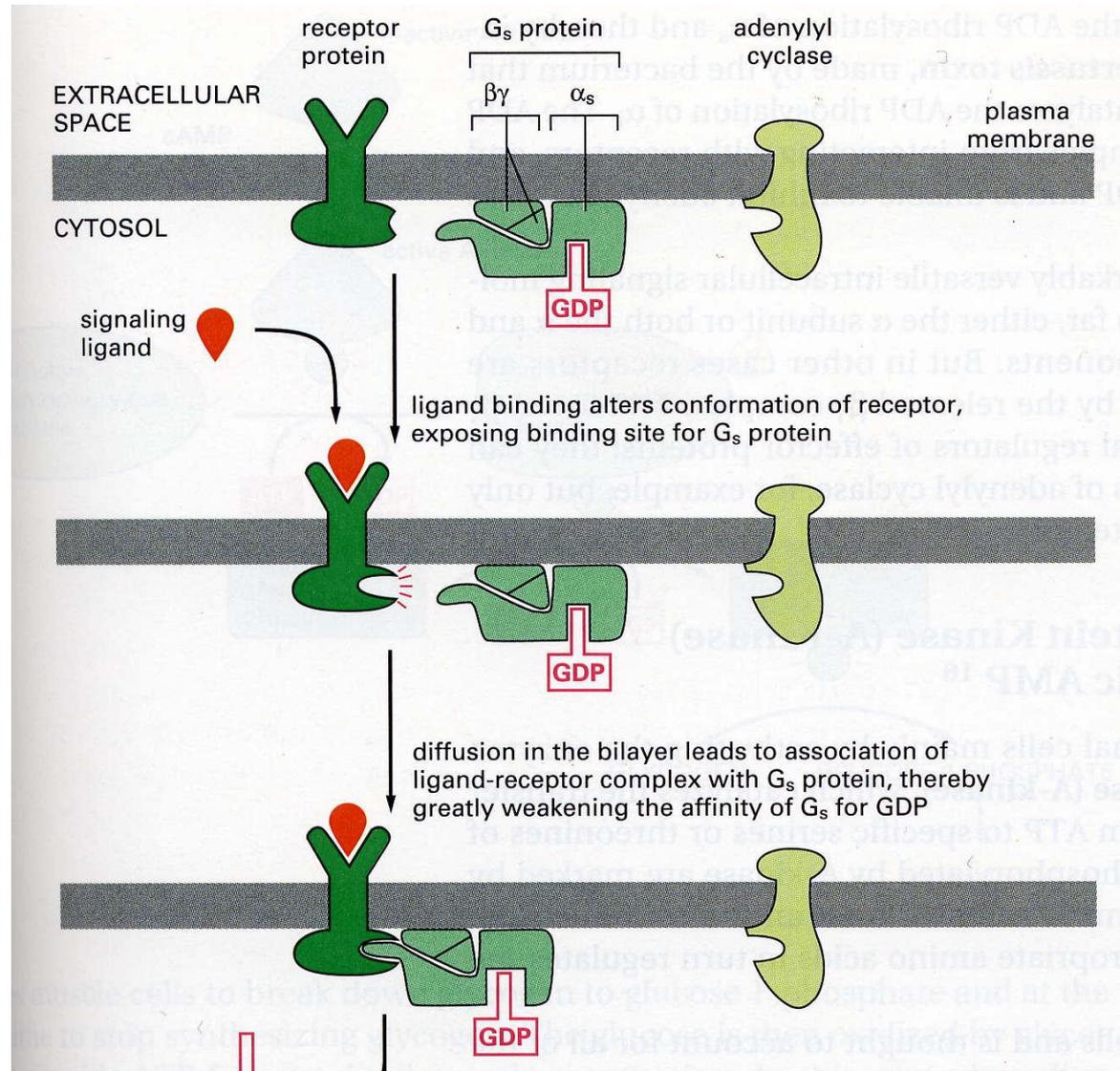
Il ciclo delle proteine G

La proteina G

Famiglia di proteine trimeriche

Subunità α , β e γ

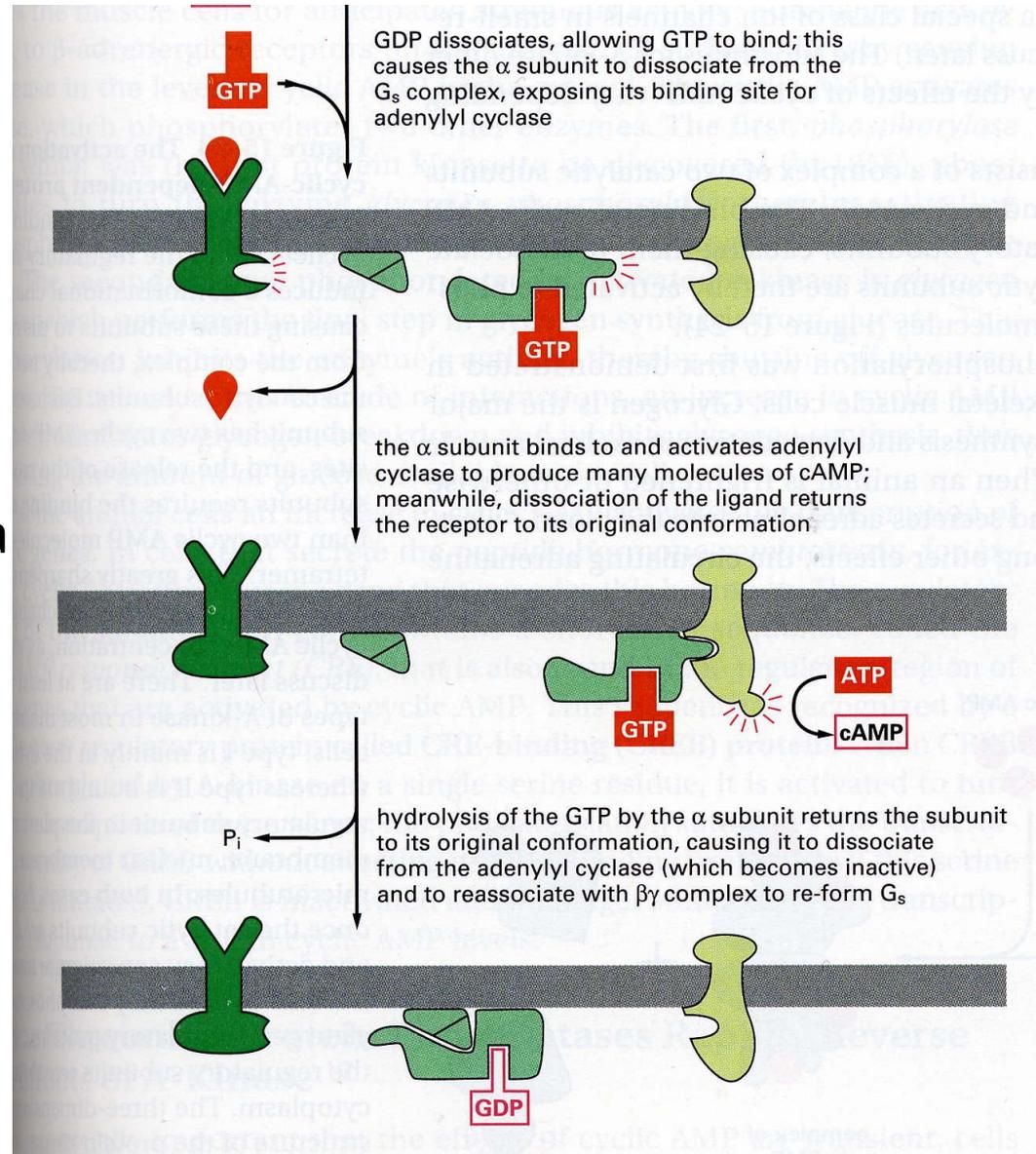
La subunità α possiede attività GTPasica



Il ciclo delle proteine G

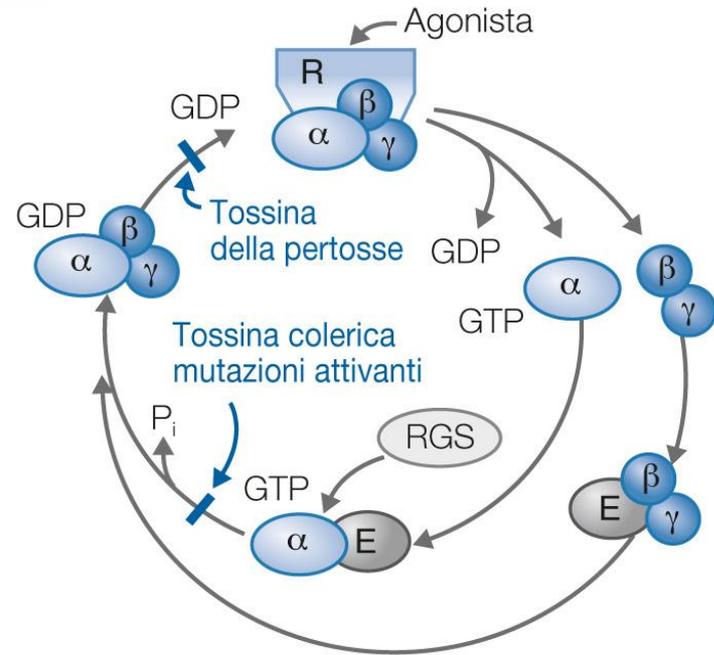
La durata del segnale indotto dall'attivazione del GPCR è funzione dell'attività GTPasica della proteina G con cui interagisce

Vedi movie

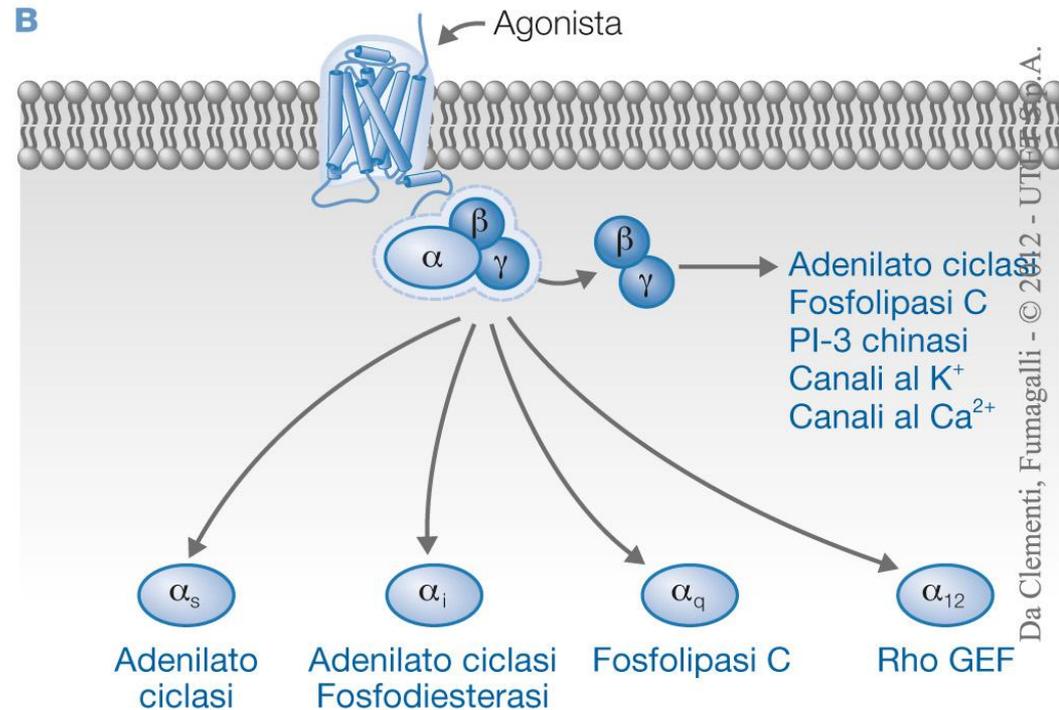


GPCR – Ciclo della G protein - Effettori

A



B



Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - UTET - S.p.A.

Figura 13.2 Trasduzione del segnale da parte delle proteine G. A. Ciclo delle proteine G. Quando il recettore (R) non è attivato, la proteina G è in forma trimerica e porta, nel sito di legame per i nucleotidi guanilici, una molecola di GDP. Il legame dell'agonista al recettore stimola la formazione del complesso recettore-proteina G e induce lo scambio GDP-GTP. In seguito a questo, la proteina G si separa dal recettore e la subunità α si dissocia dal complesso $\beta\gamma$. Sia la subunità α -GTP sia il complesso $\beta\gamma$ si legano a questo punto agli effettori (E) modulandone l'attività. La subunità α è anche dotata di attività GTPasica e quindi idrolizza il GTP a GDP; in questo modo perde la capacità di legare l'effettore e si riassocia al complesso $\beta\gamma$. Le proteine RGS accelerano notevolmente la velocità di idrolisi del GTP da parte delle subunità α . Le tossine batteriche del colera e della pertosse sono in grado di modificare la subunità α , alterando il normale funzionamento del ciclo della proteina G; mutazioni individuate in tumori umani attivano le subunità α inibendone l'attività GTPasica. B. Effettori principali delle subunità α e dei complessi $\beta\gamma$ delle proteine G. Sulla base di caratteristiche strutturali e funzionali le subunità α sono state suddivise in quattro classi: α_s , α_i , α_q , e α_{12} . Le subunità α_s e α_i regolano l'adenilato ciclasi. Il gruppo delle subunità α_i comprende α_{i1} , α_{i2} , α_{i3} , α_o e la trasducina, o α_t , che nella retina attiva una fosfodiesterasi per il cGMP. Le subunità di tipo α_q (α_q , α_{11} , α_{14} e α_{16}) stimolano la fosfolipasi C mentre la classe di catene α_{12} , che comprende α_{12} e α_{13} , regola fattori di scambio dei nucleotidi guanilici per la GTPasi Rho (Rho GEF). Le subunità α delle proteine G sono rappresentate nel citoplasma solo per chiarezza del disegno, mentre fisiologicamente sono localizzate alla membrana citoplasmatica.

GPCR

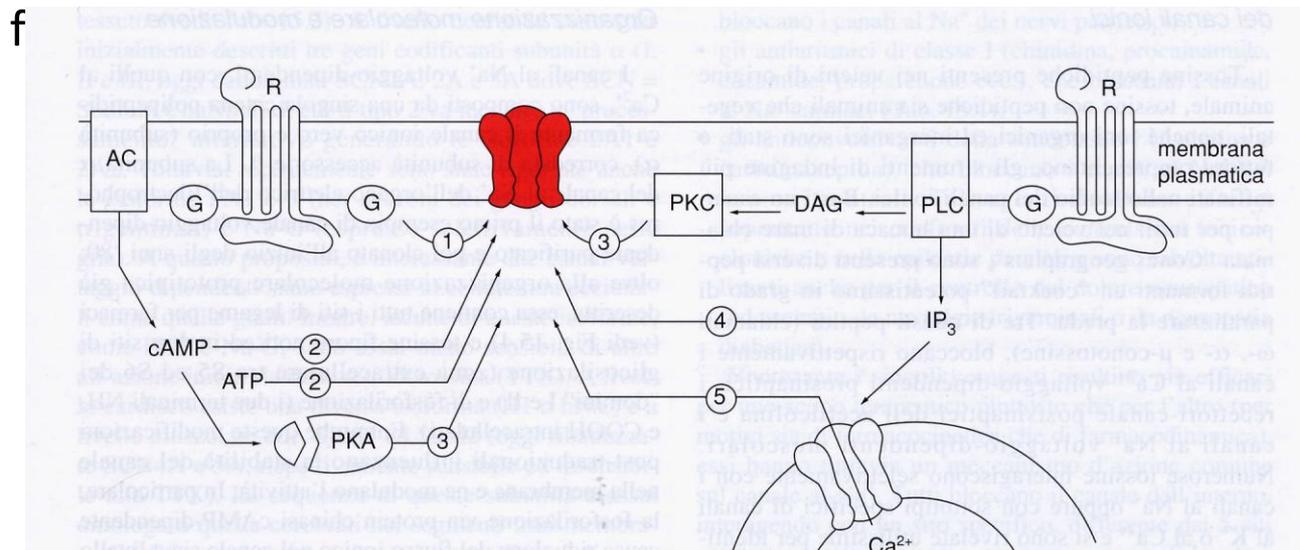
La subunità α e il complesso β/γ attivano effettori che possono essere

Enzimi:

Adenilati ciclasi
Fosfolipasi

Canali ionici

Es. canale Na e K in cuore per controllo frequenza
Canale Ca-volt dipendente di muscolo per controllo



Il messaggeri: cAMP

Table 15–1 Some Hormone-induced Cellular Responses Mediated by Cyclic AMP

Target Tissue	Hormone	Major Response
Thyroid gland	thyroid-stimulating hormone (TSH)	thyroid hormone synthesis and secretion
Adrenal cortex	adrenocorticotrophic hormone (ACTH)	cortisol secretion
Ovary	luteinizing hormone (LH)	progesterone secretion
Muscle	adrenaline	glycogen breakdown
Bone	parathormone	bone resorption
Heart	adrenaline	increase in heart rate and force of contraction
Liver	glucagon	glycogen breakdown
Kidney	vasopressin	water resorption
Fat	adrenaline, ACTH, glucagon, TSH	triglyceride breakdown

cAMP

Prodotto da enzima Adenilatociclastasi attivato da proteina $G\alpha$

cAMP attiva

Enzimi (es proteinkinasi A, fosfatasi)

Canali (es Na f di cuore che regola frequenza)

Trascrizione genica (CREB)

La durata degli effetti di cAMP dipende:

dalla velocità dei sistemi che riducono la concentrazione di cAMP (fosfodiesterasi inibiti da thé, Viagra)

dall'attività dei sistemi che contrastano gli effetti dell'attivazione di enzimi

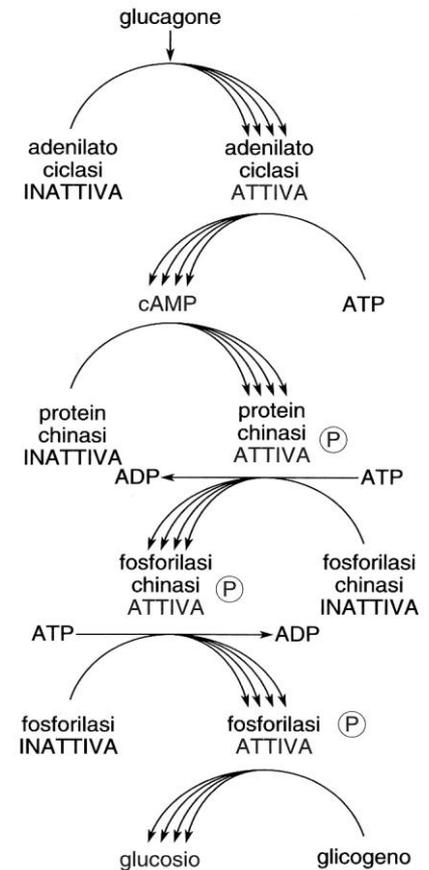
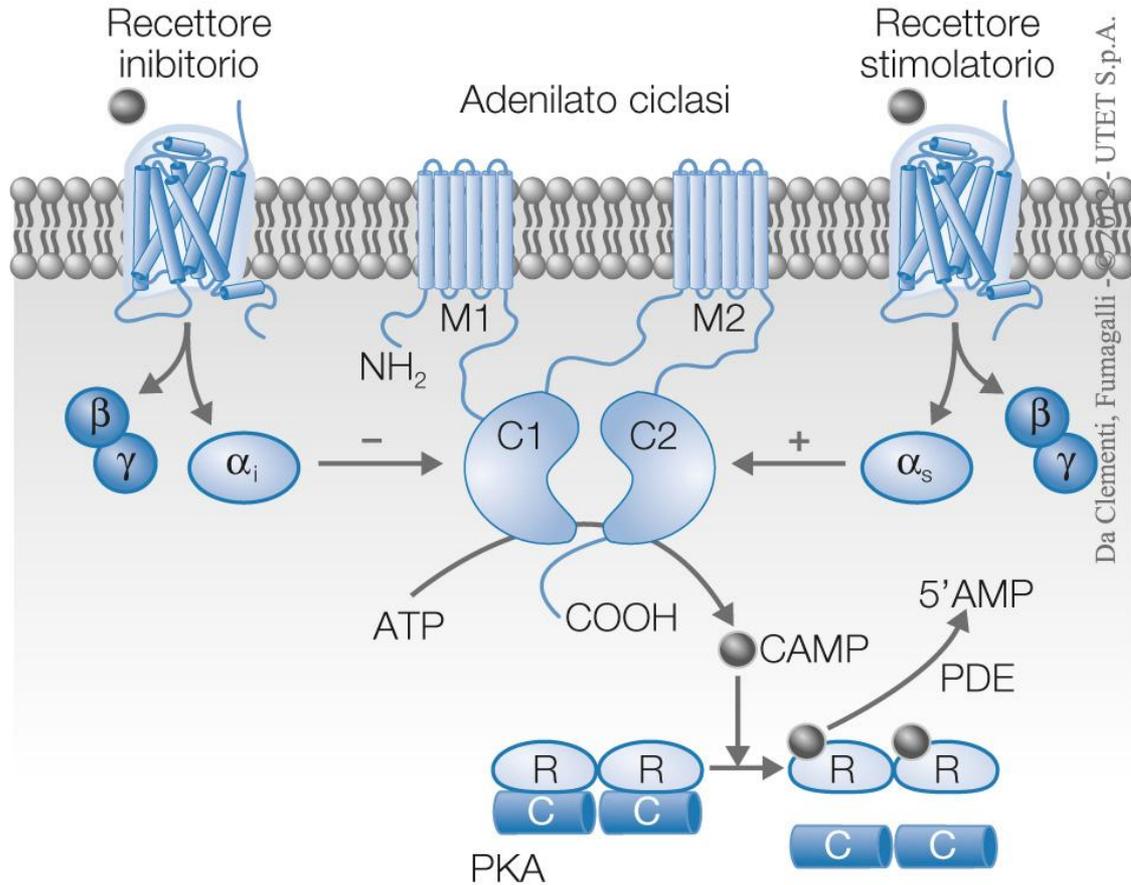


Fig. 4.9. Meccanismo di amplificazione a cascata del segnale. L'esempio riguarda l'attivazione della glicogenolisi da parte del glucagone. Il fattore di amplificazione della risposta ad ogni passaggio varia fra 10^2 e 10^6 .

ADENILATO CICLASI



Da Clementi, Fumagalli - UTET S.p.A.

Figura 13.3 Sistema dell'adenilato ciclasi. Sono rappresentati la struttura dell'enzima e i principali meccanismi della sua regolazione da parte di recettori di tipo stimolatorio e inibitorio. Agonisti o antagonisti di molti recettori stimolatori, quali i recettori adrenergici β , o inibitori, come i recettori adrenergici α_2 e dopaminergici D2, sono largamente usati come farmaci. Stimolazione e inibizione dell'adenilato ciclasi sono mediate dalle subunità α_s -GTP e α_i -GTP, rispettivamente. Le subunità delle proteine G sono rappresentate nel citoplasma solo per chiarezza del disegno e la loro posizione rispetto alla molecola dell'adenilato ciclasi è arbitraria. La stimolazione dell'adenilato ciclasi porta ad aumento della concentrazione intracellulare di cAMP e a conseguente attivazione della proteinchinasi A (PKA). Nella sua forma inattiva la PKA è costituita da due subunità regolatorie (R) unite a due subunità catalitiche (C). Il legame del cAMP provoca il rilascio delle subunità catalitiche che fosforilano vari substrati cellulari. Il cAMP viene infine idrolizzato dalle fosfodiesterasi (PDE).



PKA

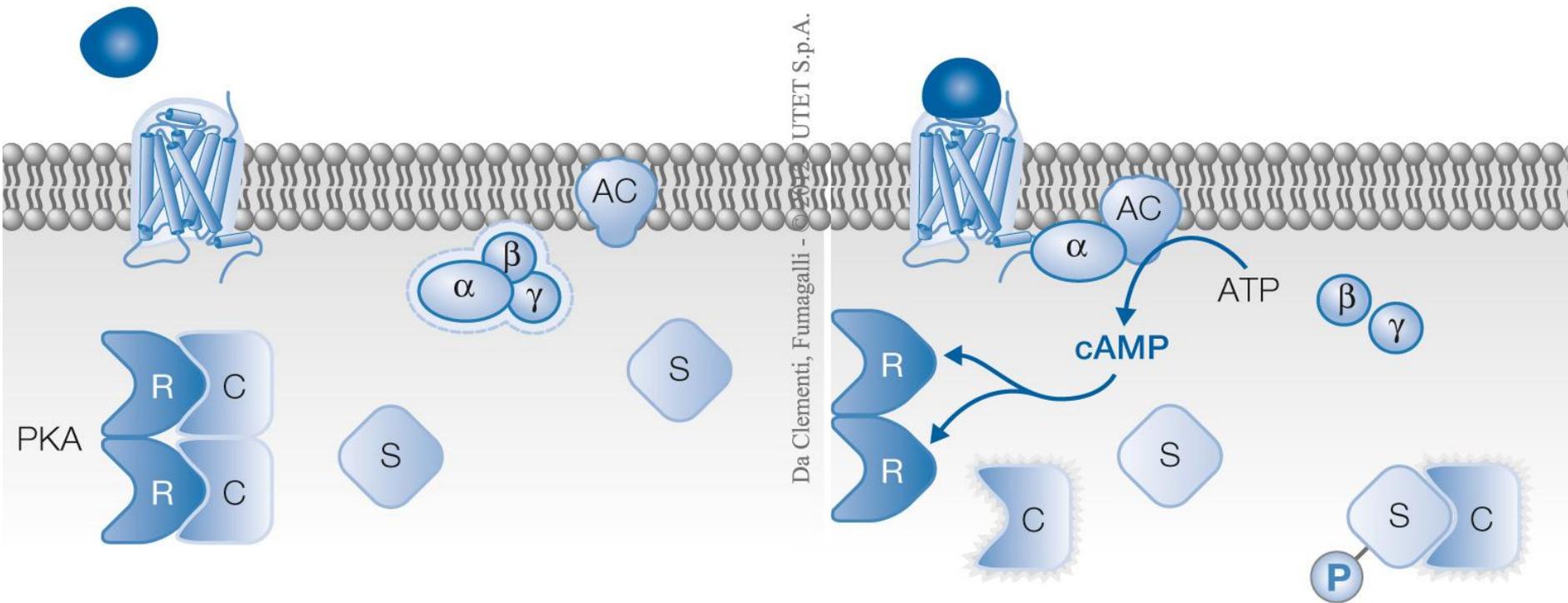
cAMP induce dissociazione di subunità regolatoria da catalitica

Fosforilazione su sequenze consenso PKA

Localizzazione PKA regolata AKAP (A-Kinase anchoring Protein; >50 isoforme)

Segnale rimosso da **fosfatasi**

cAMP inibisce fosfatasi via fosforilazione di inibitore da parte di PKA



Il messaggeri: cAMP

Table 15–1 Some Hormone-induced Cellular Responses Mediated by Cyclic AMP

Target Tissue	Hormone	Major Response
Thyroid gland	thyroid-stimulating hormone (TSH)	thyroid hormone synthesis and secretion
Adrenal cortex	adrenocorticotrophic hormone (ACTH)	cortisol secretion
Ovary	luteinizing hormone (LH)	progesterone secretion
Muscle	adrenaline	glycogen breakdown
Bone	parathormone	bone resorption
Heart	adrenaline	increase in heart rate and force of contraction
Liver	glucagon	glycogen breakdown
Kidney	vasopressin	water resorption
Fat	adrenaline, ACTH, glucagon, TSH	triglyceride breakdown

Fosfodiesterasi

Idrolizzano cAMP a 5'AMP

11 famiglie

3 e 5 importanti x farmaci

<i>PDE isoenzyme</i>	<i>No. of isoforms</i>	<i>Substrate</i>	<i>K_m (μM) cAMP</i>	<i>K_m (μM) GMP</i>	<i>Tissue expression</i>	<i>Specific inhibitors</i>
1	8	Ca ²⁺ /calmodulin-stimulated	1-30	3	Heart, brain, lung, smooth muscle	KS-505a
2		cGMP-stimulated	50	50	Adrenal gland, heart, lung, liver, platelets	EHNA (MEP-1)
3	4	cGMP-inhibited, cAMP-selective	0.2	0.3	Heart, lung, liver, platelets, adipose tissue, inflammatory cells	Cilostamide Enoxamone Milrinone Siguazodan
4	20	cAMP-specific	4		Sertoli cells, kidney, brain, liver, lung, inflammatory cells	Rolipram, Roflumilast Cilomilast
5	3	cGMP-specific	150	1	Lung, platelets, vascular smooth muscle	Sildenafil, Zaprinast
6		cGMP-specific		60	Photoreceptor	Dipyridamole
7	3	cAMP-specific, high-affinity	0.2		Skeletal muscle, heart, kidney, brain, pancreas, T lymphocytes	BRL-50481
8		cAMP-selective,	0.06		Testes, eye, liver, skeletal muscle, heart, kidney, ovary, brain, T lymphocytes	none
9	4	cGMP-specific,		0.17	Kidney, liver, lung, brain	BAY 73-6691
10	2	cGMP-sensitive, cAMP-selective	0.05	3.0	Testes, brain	none
11	4	cGMP-sensitive, dual specificity	0.7	0.6	Skeletal muscle, prostate, kidney, liver, pituitary gland	None

11 famiglie PDE

I non-specifici come Aminofillina, teofillina e derivati xantinici, non sono considerati inibitori PDE (agonisti adenosina)

Inibitori specifici delle fosfodiesterasi di tipo III

Producono aumento $[Ca^{2+}]_i$ per aumento conduttanza VOCC e inibizione scambiatore Na/Ca
→ effetti inotropo

Aumento cAMP causa vasodilatazione (sia pre che postcarico) : *Inodilatatori*

Derivati biperidinici: Inamrinone, Milrinone

Derivati imidazolici : enoximone, piroximone

Derivati benzimidazolici: sulmazolo, pimobendan

Inamrinone e milrinone

Approvate per supporto a breve termine in scompenso cardiaco avanzato

Stimolano contrattilità e accelerano rilassamento

Vasodilatazione arteriosa e venosa → riduzione resistenze periferiche sistemiche polmonari e pressioni riempimento Dx e Sin

Effetto su gettata è maggiore di nitroprussiato e vasodilatazione maggiore di dobutamina:
poco uso in pz con pa bassa

Pimobedan

Migliora la tolleranza all'esercizio fisico; probabilmente aumentando sensibilità al Ca dell'interazione actina-miosina

Vesnarinone

Azione mista su PDE III e canali ionici

Azioni -su canali al Na e K con effetti inotropi +

Inibitore di PDE inibita da cGMP (da NO) espressa in cuore e reni.

E' 10 volte meno -potente su PDE III

Effetto totale: riduzione della frequenza, aumento del periodo refrattario

Scompenso grave

Sildenafil

Inibitore PDE5, la più rappresentata nel tessuto polmonare

Attività selettiva su arteria polmonare per cui uso limitato a scompenso dx da ipertensione polmonare

Recentemente buoni risultati (resistenza allo sforzo) in pz con ipertensione polmonare da insufficienza di ventricolo sinistro

Probabile che efficacia sia legata a riduzione stimolo adrenergico e ad antagonismo di ipertrofia cardiaca da sovraccarico

Viagra: utilizzo, disfunzioni erettile

Taldanafil, Verdenafil

Idem

Roflumilast

Inibitore fosfodiesterasi di tipo 4

Broncopneumopatia cronica ostruttiva

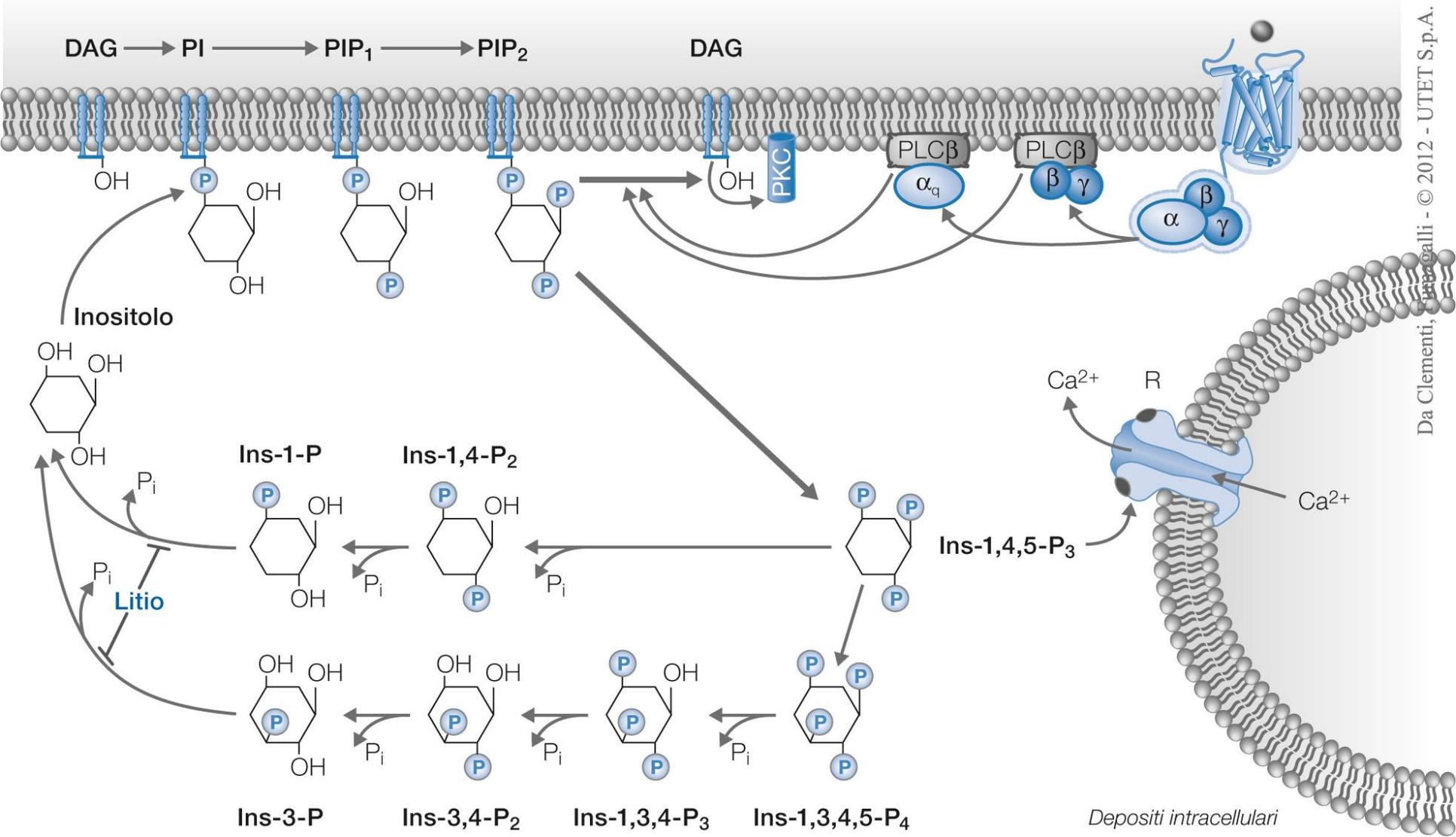
Spegnimento del segnale da aumentato cAMP: fosfodiesterasi

Spegnimento del segnale da fosforilazione da PKA: PPTasi

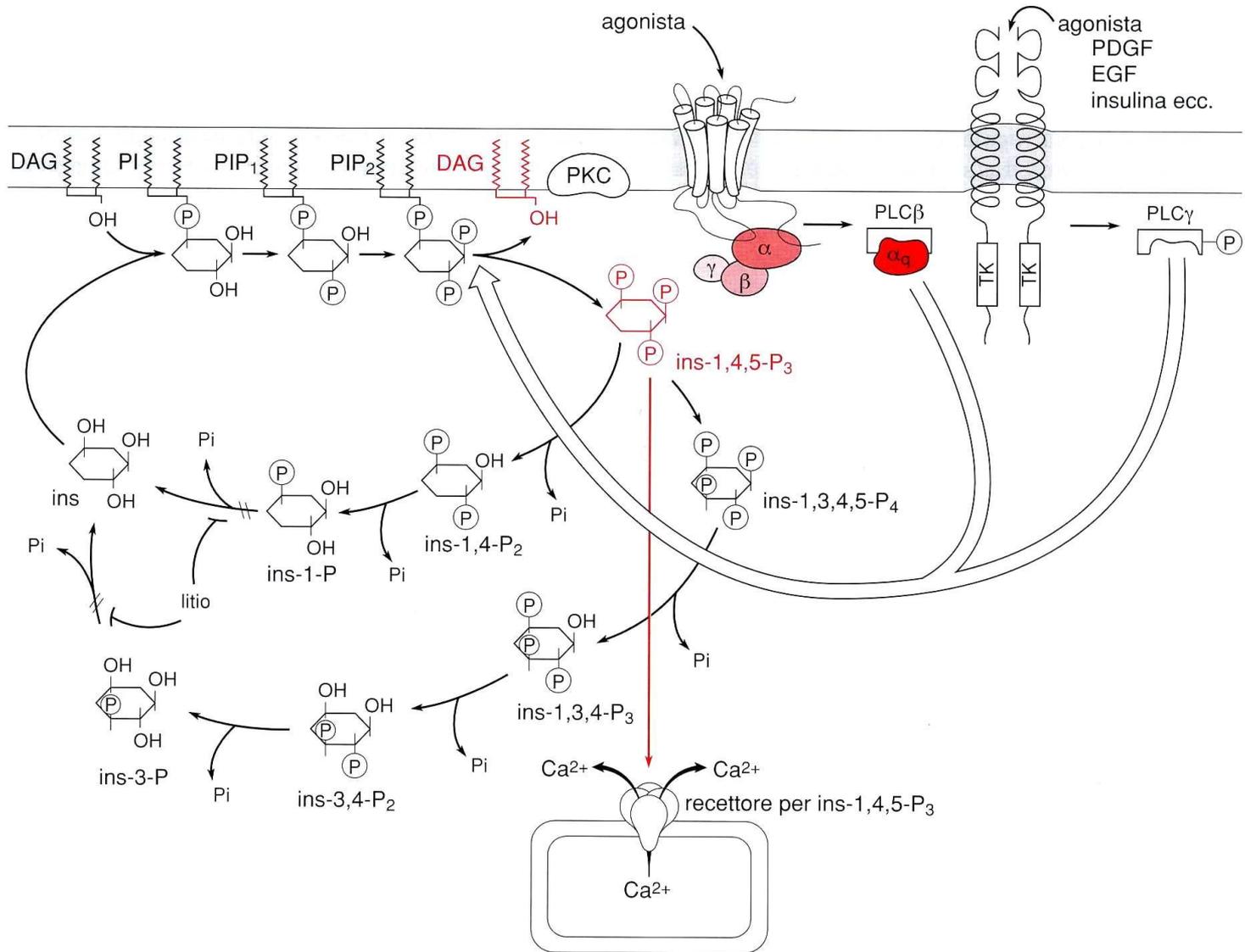
Tabella 13.4.1. Principali farmaci che agiscono come inibitori delle fosfodiesterasi

Farmaco	Enzima	Substrato	Indicazione terapeutica
Milrinone Enoximone	Fosfodiesterasi di tipo 3	cAMP	Scompenso cardiaco
Sildenafil Tadalafil Vardenafil	Fosfodiesterasi di tipo 5	cGMP	Disfunzioni erettili, ipertensione polmonare
Roflumilast	Fosfodiesterasi di tipo 4	cAMP	Broncopneumopatia cronica ostruttiva

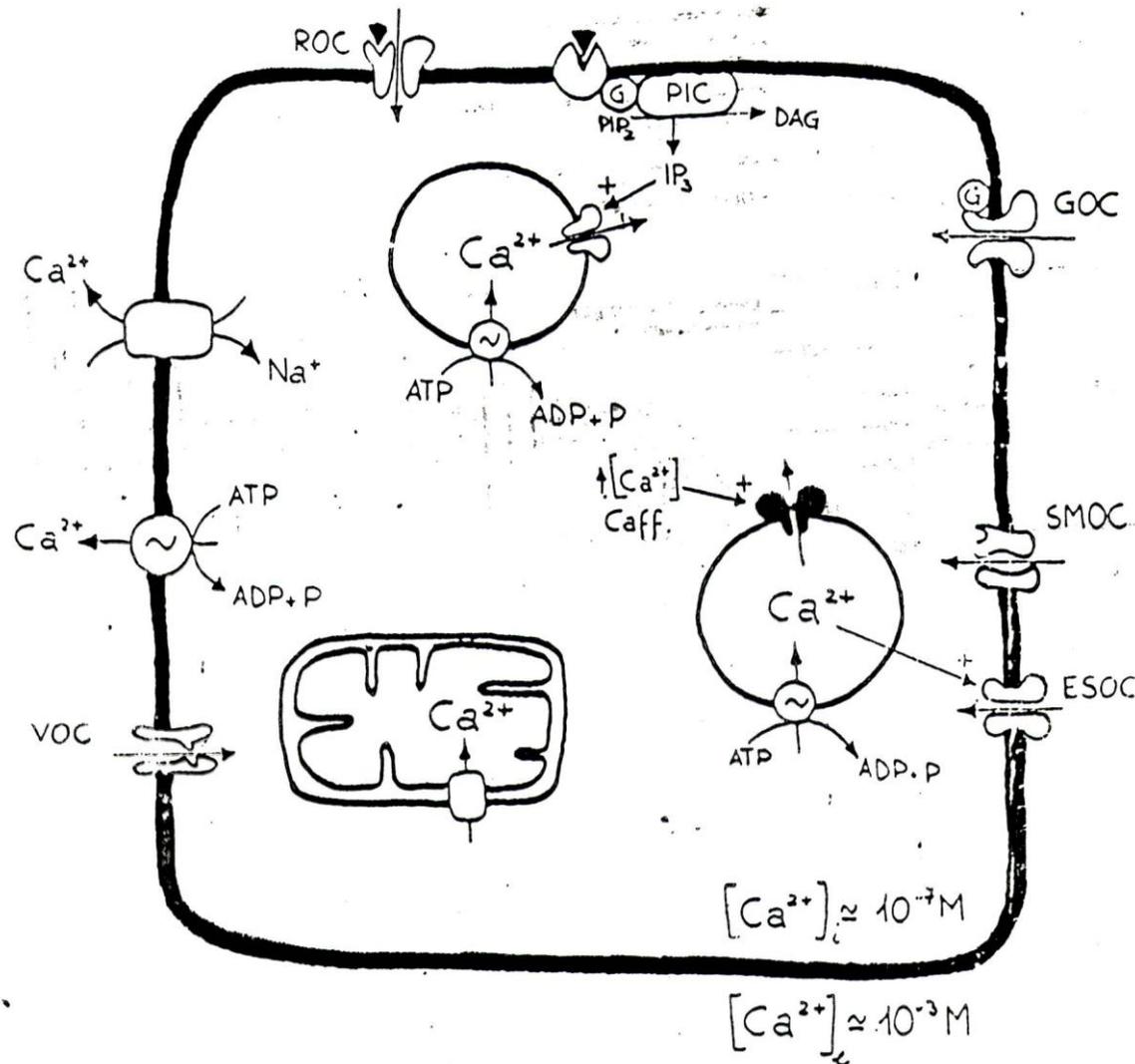
Il messaggeri: IP3



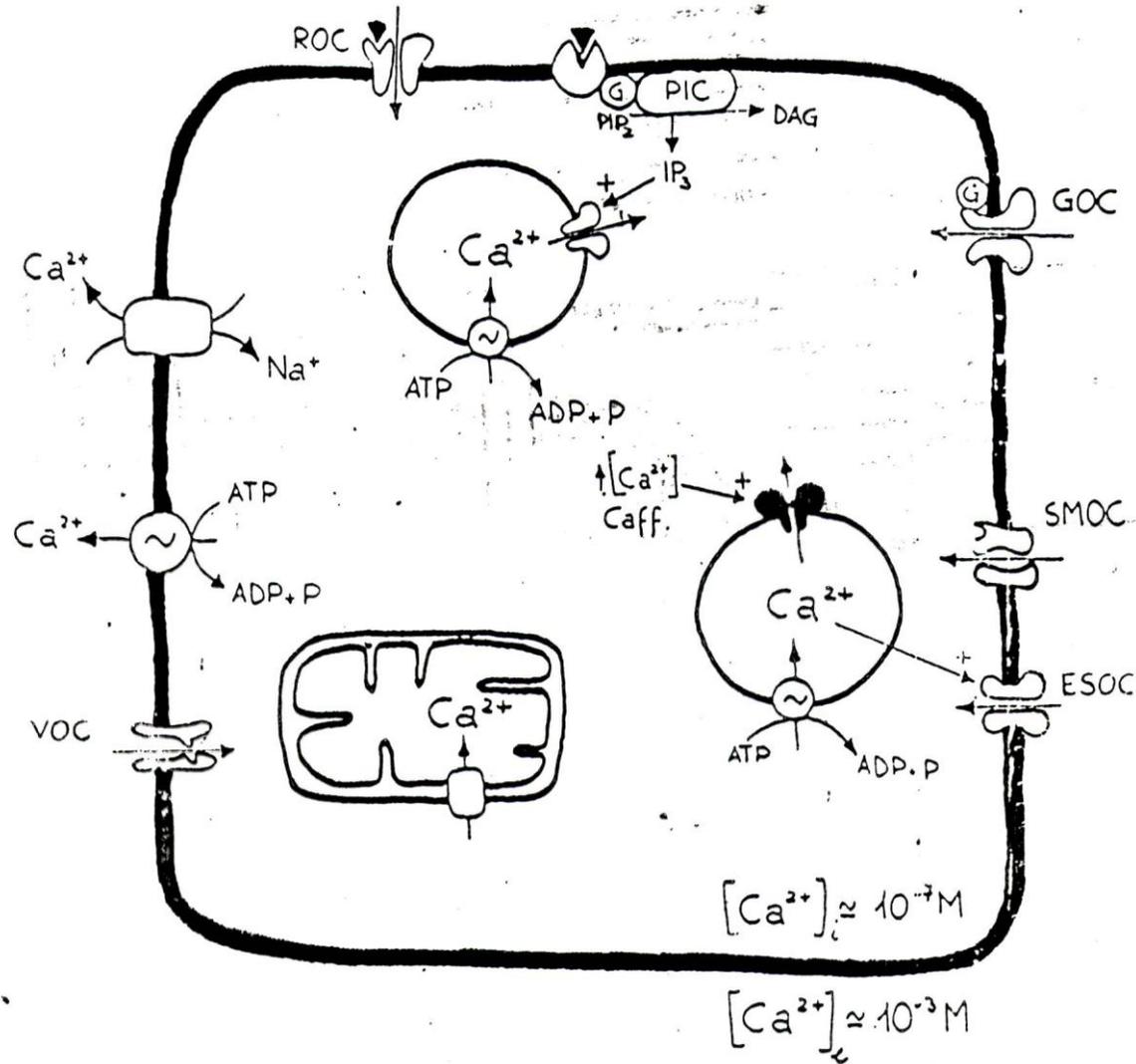
Il messaggeri: IP3



Il messaggeri: lo ione Ca^{2+}



La concentrazione intracellulare di Ca^{2+} libero è 10.000 volte più bassa che nello spazio extracellulare

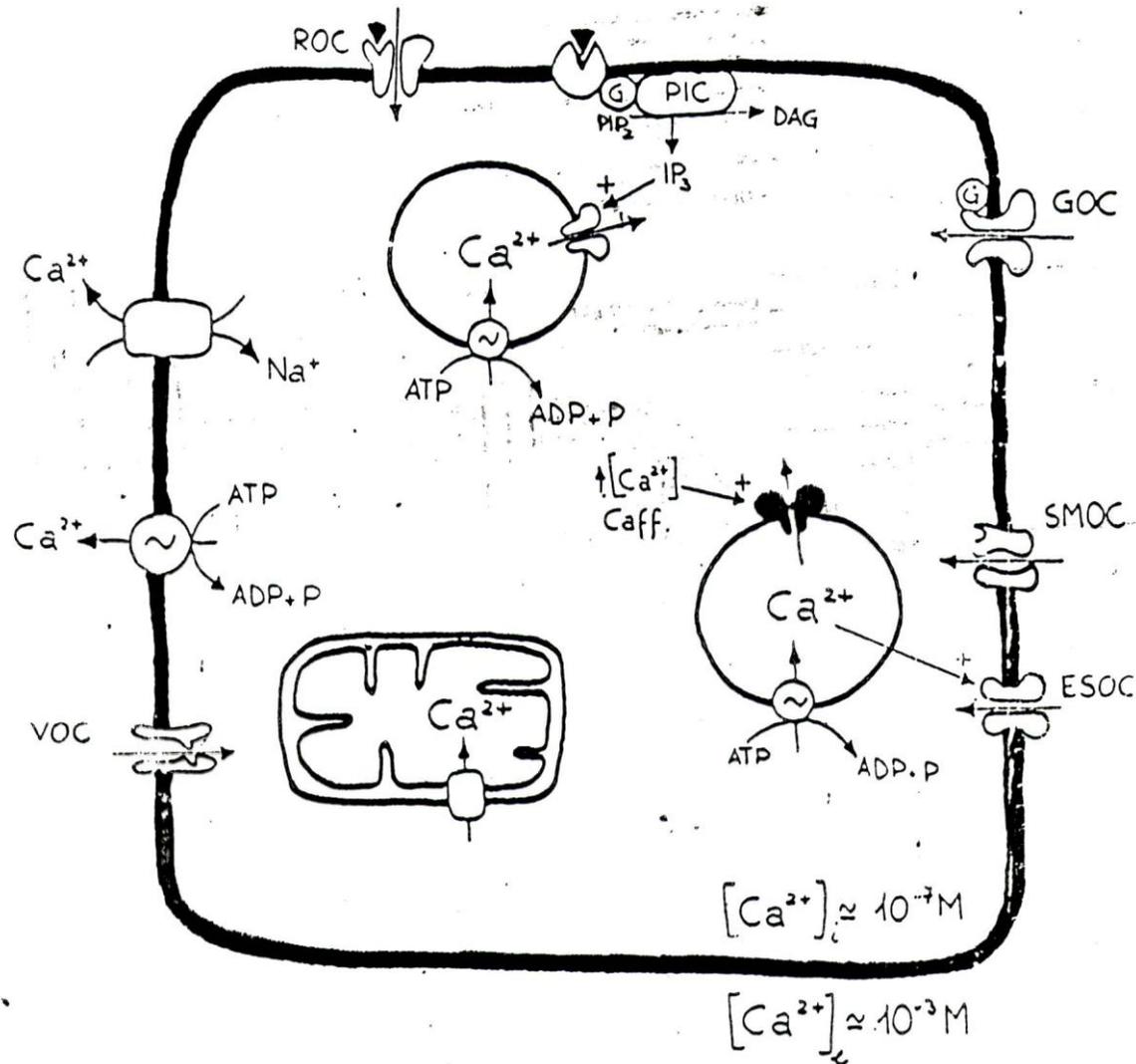


Sistemi molecolari per abbassare la concentrazione intracellulare di Ca^{2+}

Estrusione e sequestro

Sistemi molecolari per alzare la concentrazione intracellulare di Ca^{2+}

Influsso e rilascio



Omeostasi del Ca^{2+} intracellulare

POMPE AL CALCIO

Ca^{2+} ATPASI DI MEMBRANA

Alta affinità ma bassa capacità per lo ione Ca^{2+}

SERCA

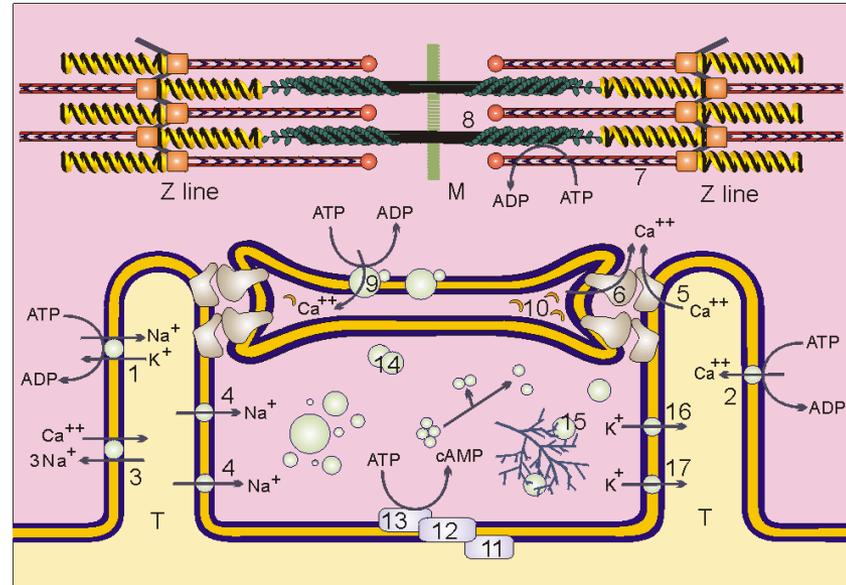
TRASPORTATORI AL Ca^{2+}

SCAMBIATORE $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

L'entità e la direzione del movimento del Ca^{2+} dipendono dai gradienti di Na^+ , di Ca^{2+} e dal potenziale di membrana.

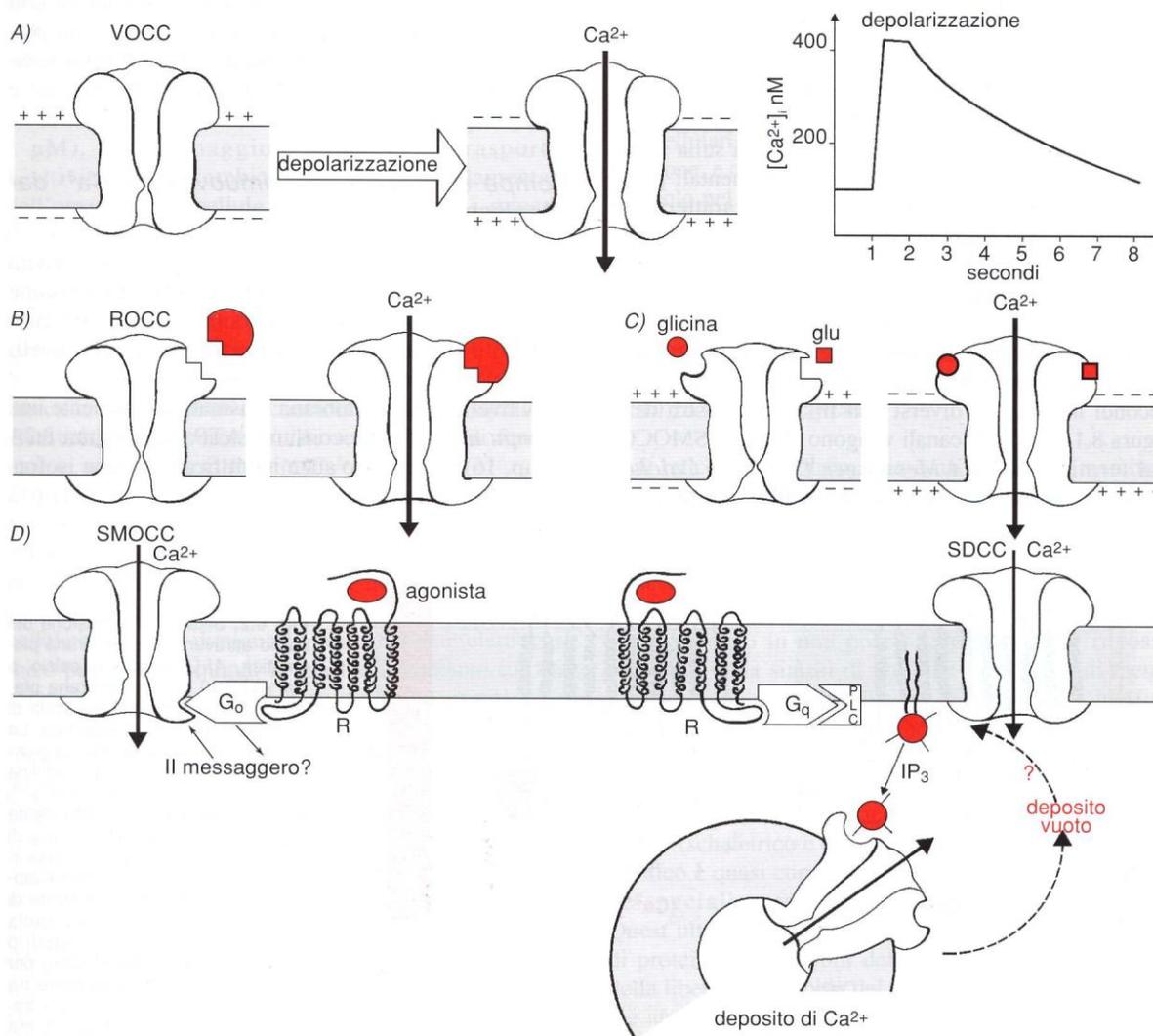
Scambio avviene con stechiometria di $3\text{Na}^+ : 1\text{Ca}^{2+}$: il sistema è elettrogenico.

Quando si riduce il gradiente Na^+/K^+ (controllato dalla pompa Na^+/K^+ ATPasi) lo scambiatore è inibito e si accumula Ca^{2+} intracellulare: morte cellulare



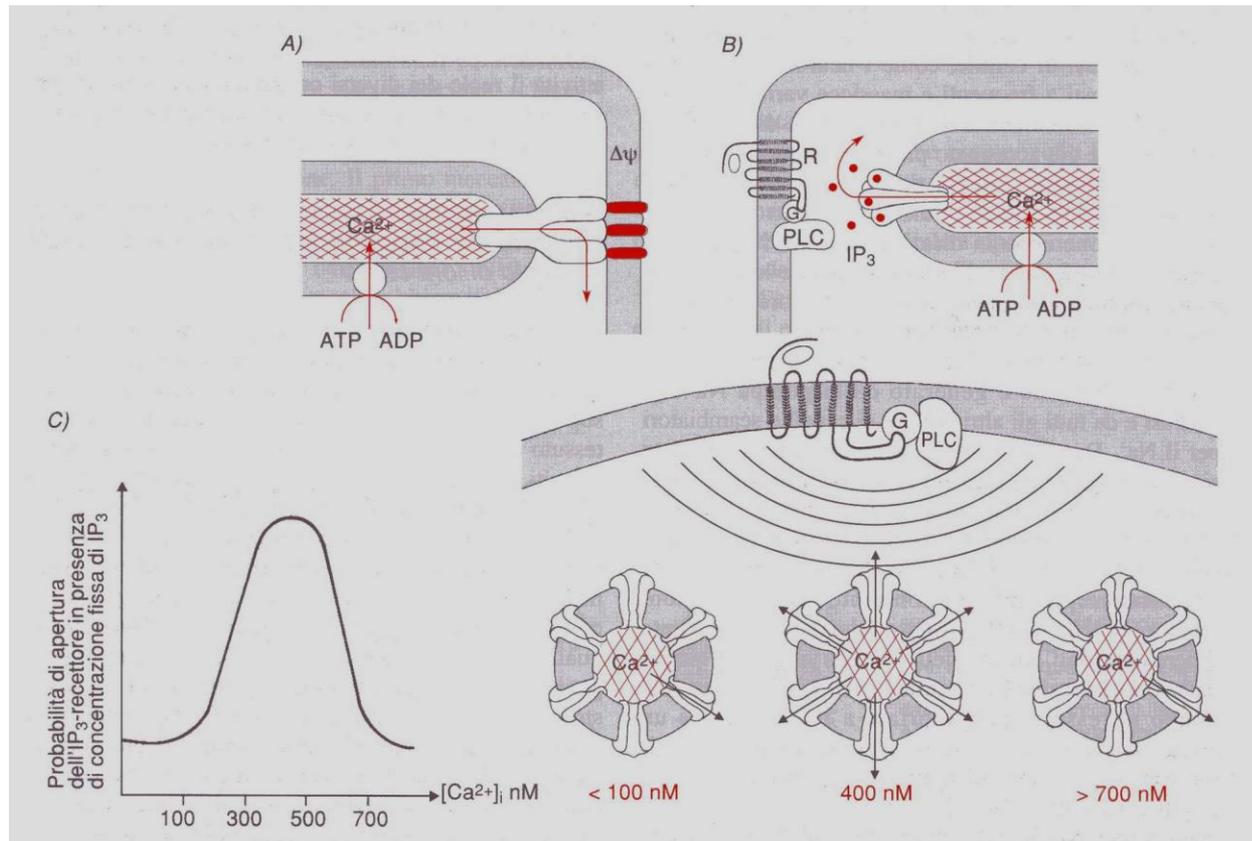
Omeostasi del Ca^{2+} intracellulare

Influsso e rilascio



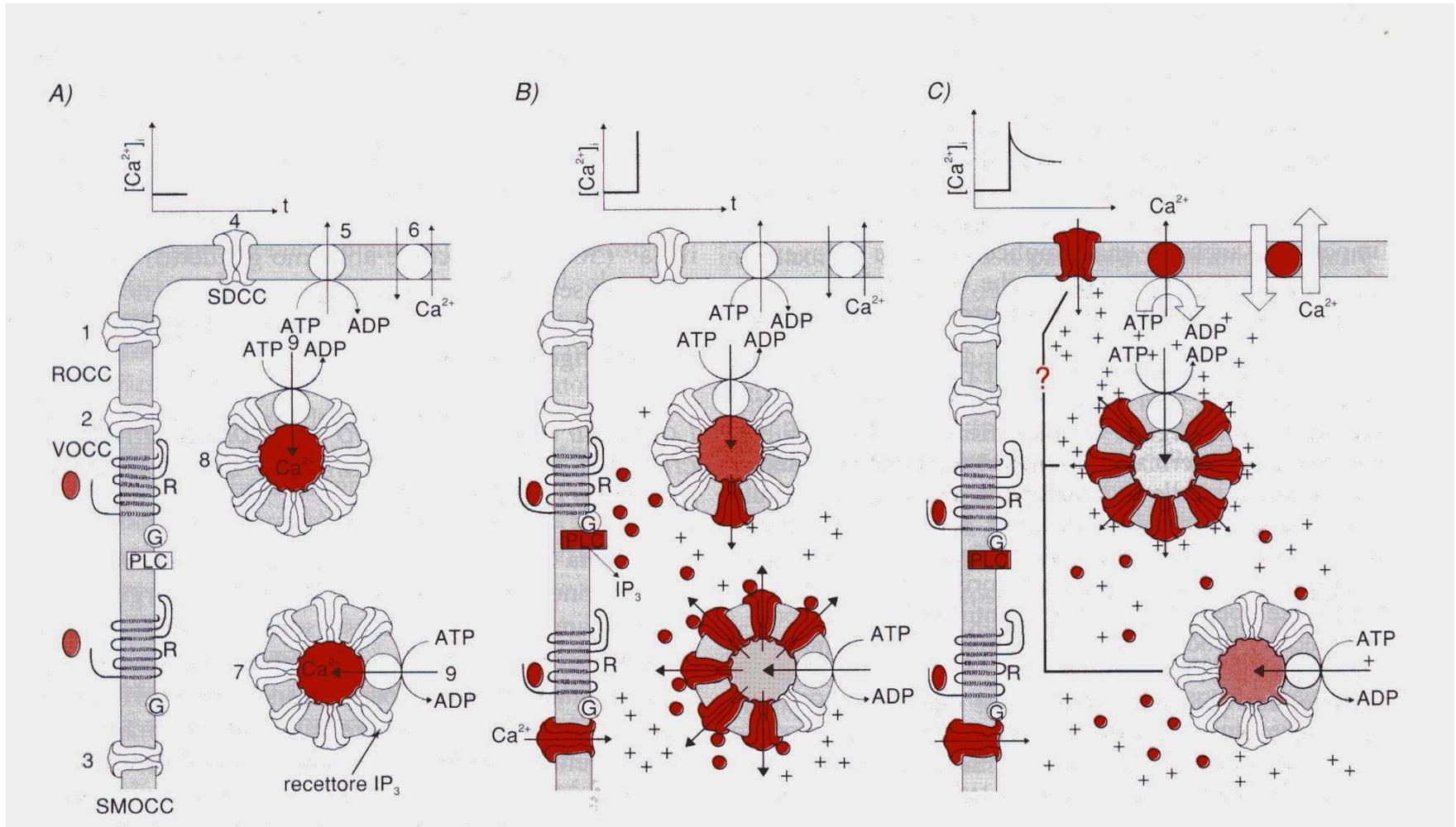
Omeostasi del Ca^{2+} intracellulare

Il rilascio



Omeostasi del Ca^{2+} intracellulare

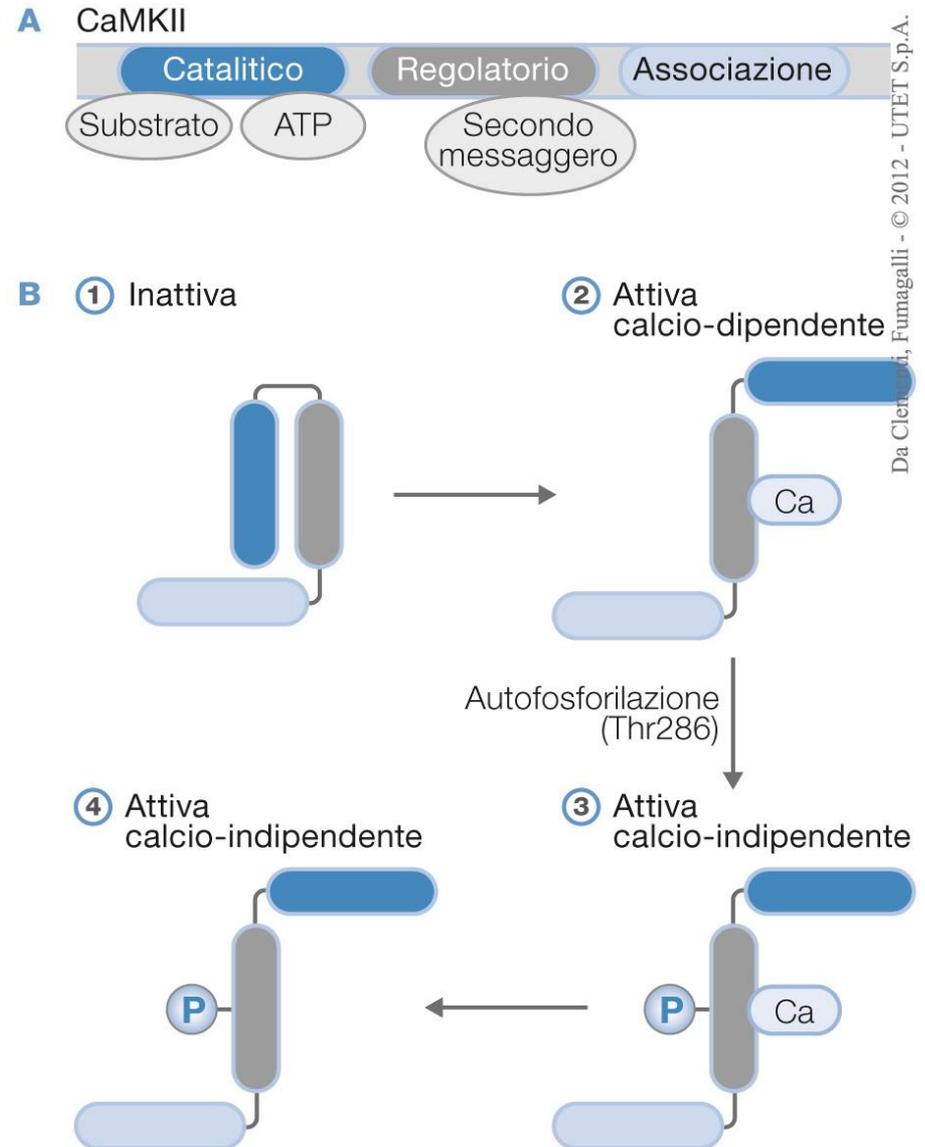
I transienti di Ca^{2+}



proteinchinasi Ca²⁺/calmodulina-dipendente

Figura 8.1 Struttura delle proteinchinasi e meccanismo di attivazione della proteinchinasi Ca²⁺/calmodulina-dipendente di tipo II (CaMKII). A. Le proteinchinasi sono generalmente composte da diversi domini. Il dominio catalitico (contiene il sito di legame per ATP) e il sito di interazione con i substrati. Si ha quindi un dominio regolatorio, che contiene una sequenza inibitoria la quale blocca l'attività enzimatica in quanto, interagendo con il sito di legame con il substrato, ne impedisce l'interazione con il substrato stesso. Il dominio regolatorio contiene inoltre i siti di legame per i secondi messaggeri.

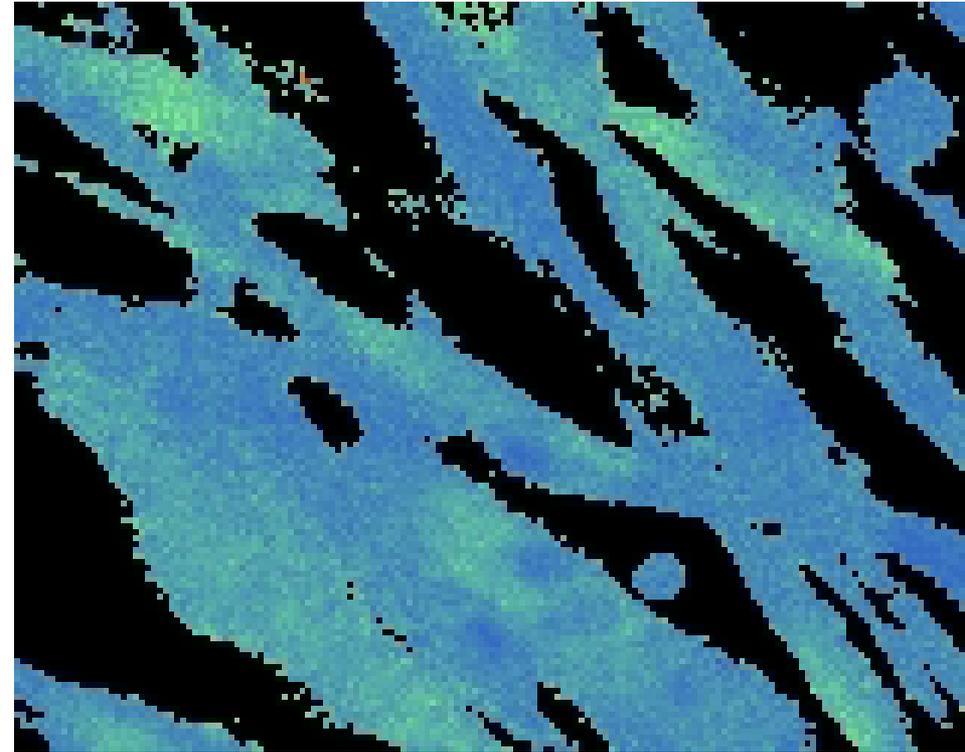
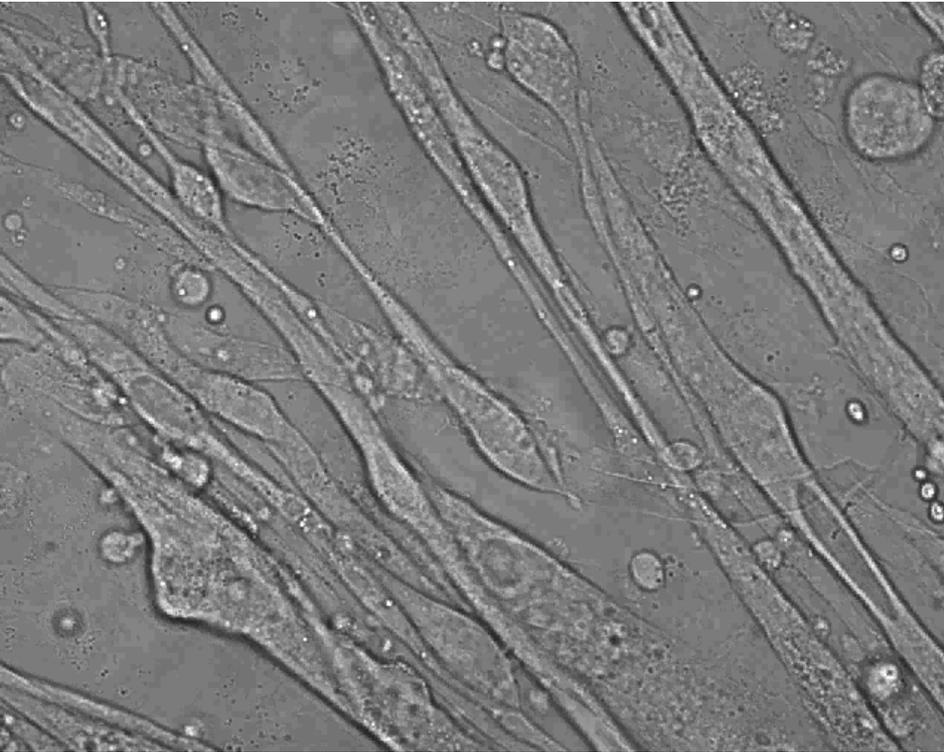
In B è rappresentata la chinasi inattiva (1), con la regione catalitica (blu) mantenuta in stato di inibizione dall'interazione con la regione regolatoria (grigio), che funge da pseudosubstrato. Quando la concentrazione intracellulare di Ca²⁺ aumenta, ioni Ca²⁺ formano un complesso con la calmodulina, e il complesso si lega alla regione regolatoria (2). In presenza di ATP, le molecole di chinasi a cui si è legato il complesso Ca²⁺/calmodulina sono in grado di fosforilare molecole adiacenti della stessa chinasi (autofosforilazione intermolecolare), rendendo la chinasi attiva "calcio-indipendente" (3). In questa fase, il distacco dello ione Ca²⁺ non modifica lo stato di attivazione della chinasi (4)



Funzioni modulate da aumenti discreti e temporanei di Ca^{2+} intracellulare

- Contrazione
- Secrezione
- Trascrizione genica

La contrazione muscolare è mediata dall'aumento della concentrazione intracellulare dello ione Ca^{2+}



Nel muscolo scheletrico l'aumento di Ca^{2+} avviene per rilascio dalle cisterne

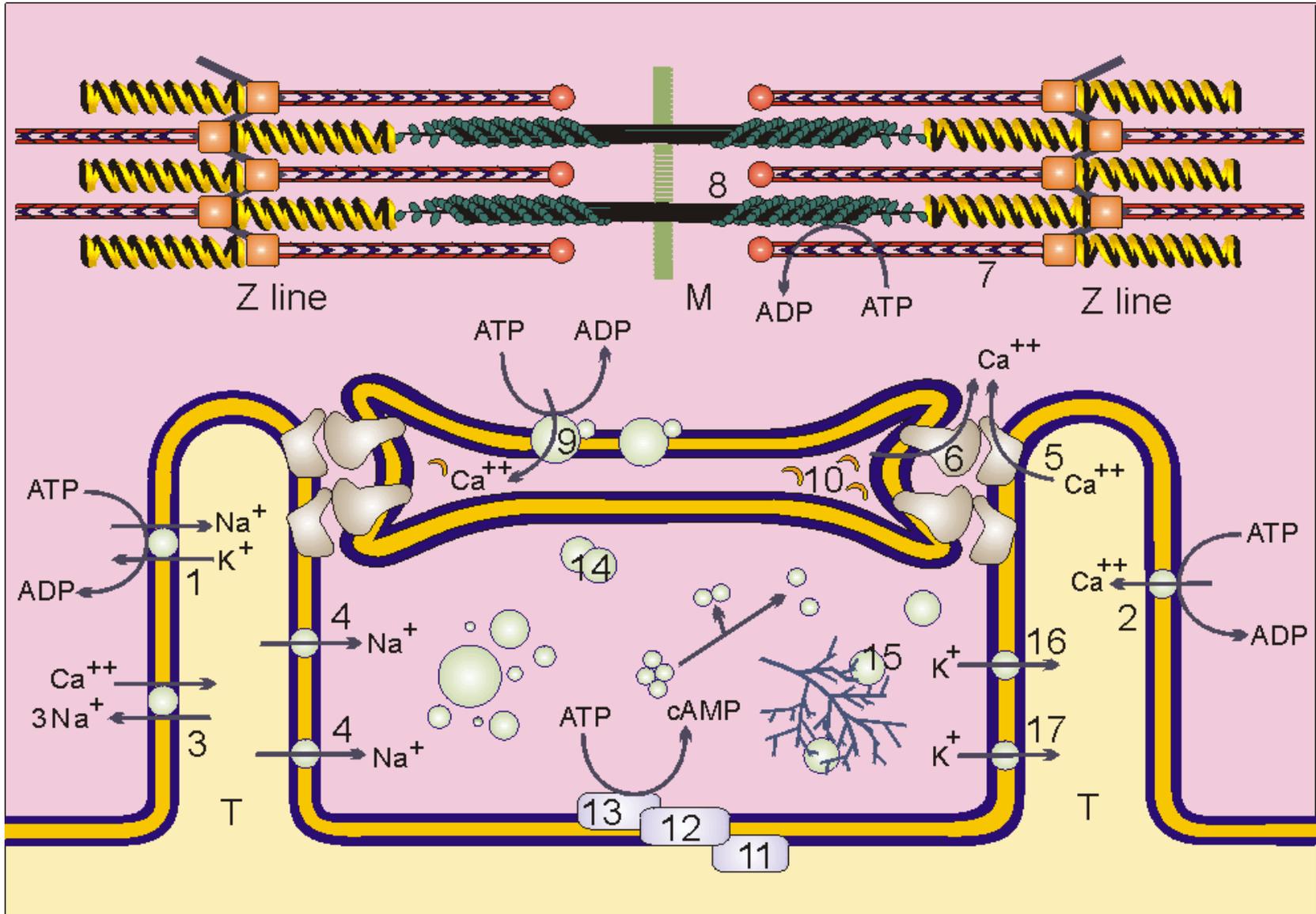
Nel muscolo cardiaco per influsso attraverso canali VOCC

Nei muscoli lisci per rilascio dal reticolo e/o per influsso

animazione actin-miosina

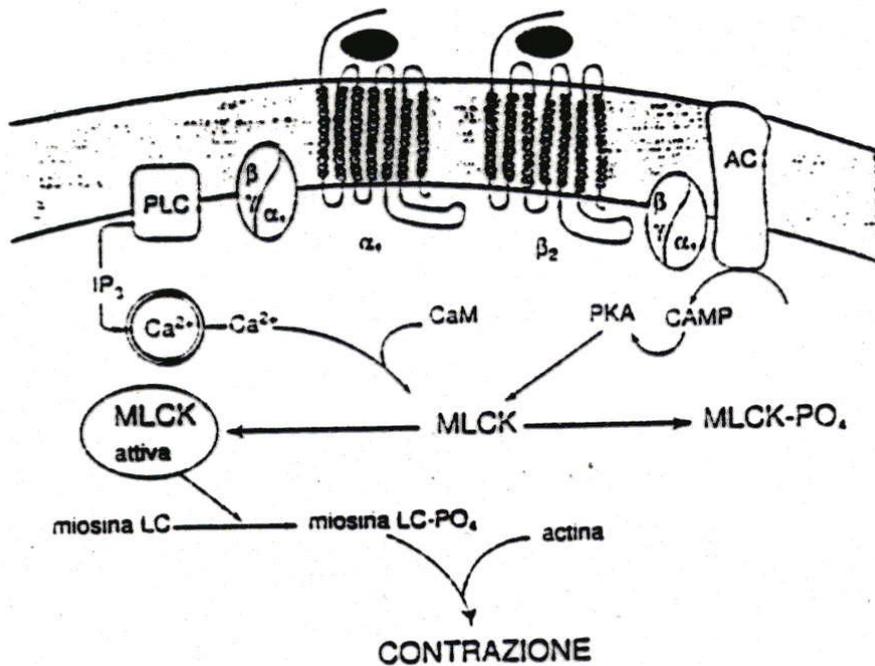
- http://www.sci.sdsu.edu/movies/actin_myosin_gif.html

Il rilascio di Ca^{2+} dal reticolo



Effetti opposti di Ca^{2+} e cAMP sulla contrazione delle cellule muscolari lisce

La comunicazione intercellulare



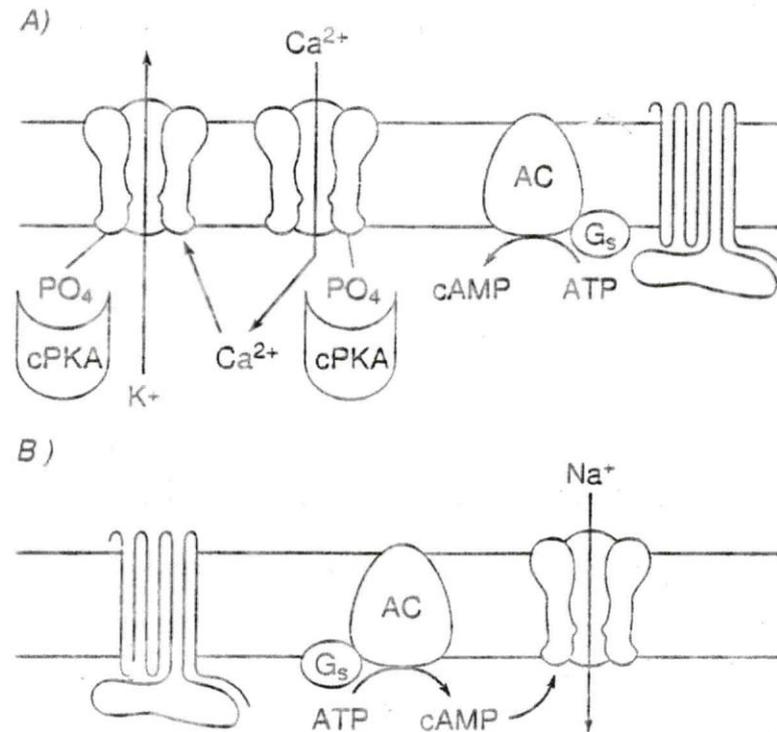
I recettori alfa fanno aumentare la concentrazione intracellulare di Ca^{++} :

CONTRAZIONE

I recettori beta fanno aumentare la concentrazione intracellulare di cAMP:

RILASSAMENTO

Sui muscoli striati (scheletrico e cardiaco) l'aumento di cAMP provoca maggiore influsso di Ca^{2+} attraverso i canali al ca-volt-dipendenti e quindi potenzia la contrazione



L'attivazione dei recettori beta del cuore provoca effetti inotropo e cronotropo positivi

Alterazione indotte da aumenti prolungati ed elevati di Ca^{2+} intracellulare

- Contratture muscolari
- Rilascio incontrollato di neurotrasmettitori in SNC
- Attivazioni di proteasi, lipasi, DNAsi
- Morte cellulare: necrosi

Altri meccanismi di trasduzione del segnale di GPCR

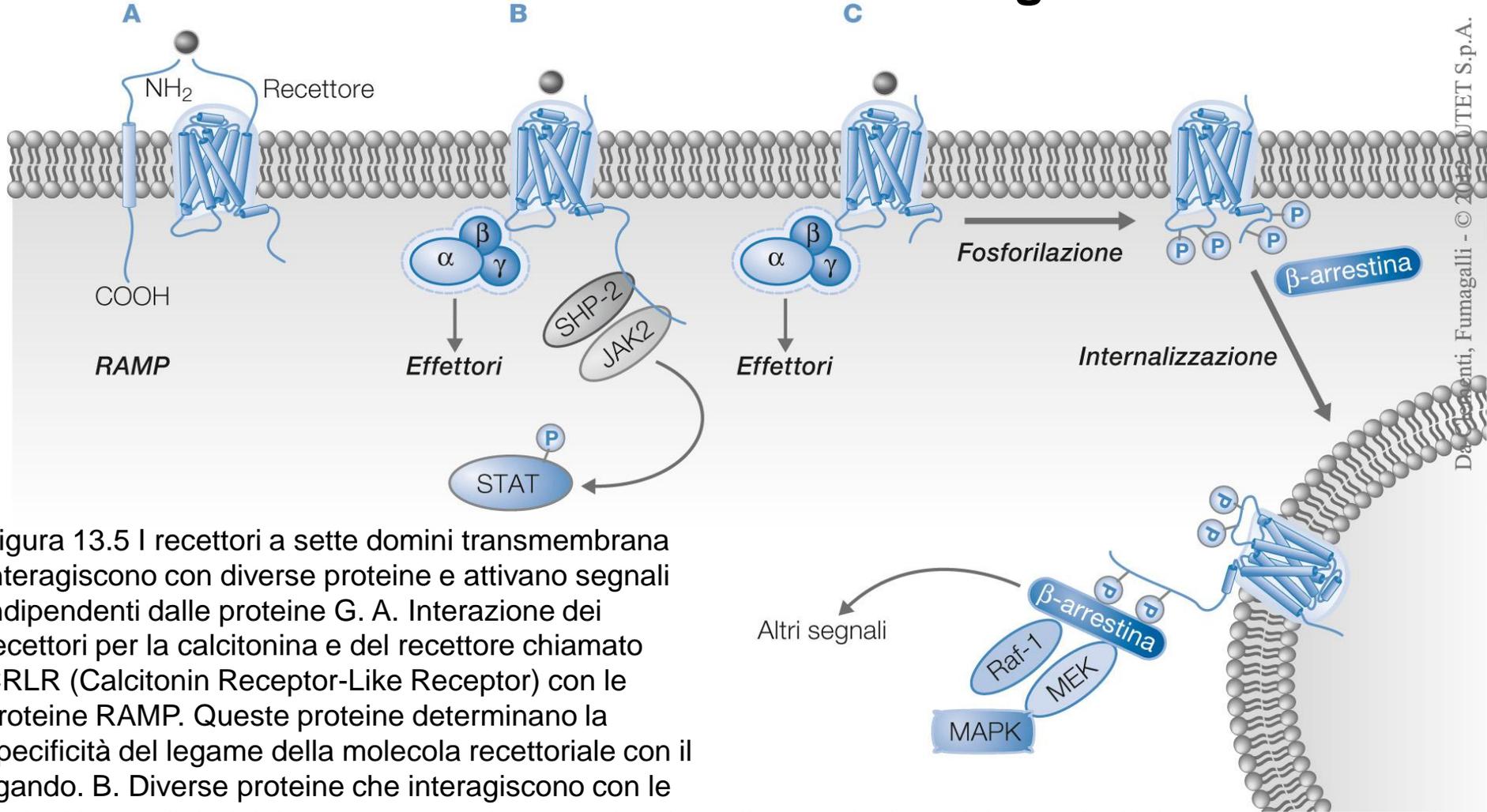


Figura 13.5 I recettori a sette domini transmembrana interagiscono con diverse proteine e attivano segnali indipendenti dalle proteine G. A. Interazione dei recettori per la calcitonina e del recettore chiamato CRLR (Calcitonin Receptor-Like Receptor) con le proteine RAMP. Queste proteine determinano la specificità del legame della molecola recettoriale con il ligando. B. Diverse proteine che interagiscono con le regioni intracellulari del recettore sono invece coinvolte nella trasmissione del segnale. Nel caso del recettore di tipo 1 per l'angiotensina II è stato dimostrato che la coda carbossiterminale della molecola interagisce con un complesso formato dalla fosfatasi SHP-2 e dalla tirosinchinasi JAK2. Questo favorisce l'attivazione di JAK2 e la fosforilazione dei fattori di trascrizione STAT. C. Moltissimi recettori attivano le MAPK e altri segnali intracellulari attraverso le β -arrestine. Le β -arrestine si legano ai recettori attivati e fosforilati dalle chinasi GRK. L'attivazione delle MAPK avviene negli endosomi attraverso l'assemblaggio di un complesso che può contenere molecole diverse.

Signalling mediato da β -arrestine

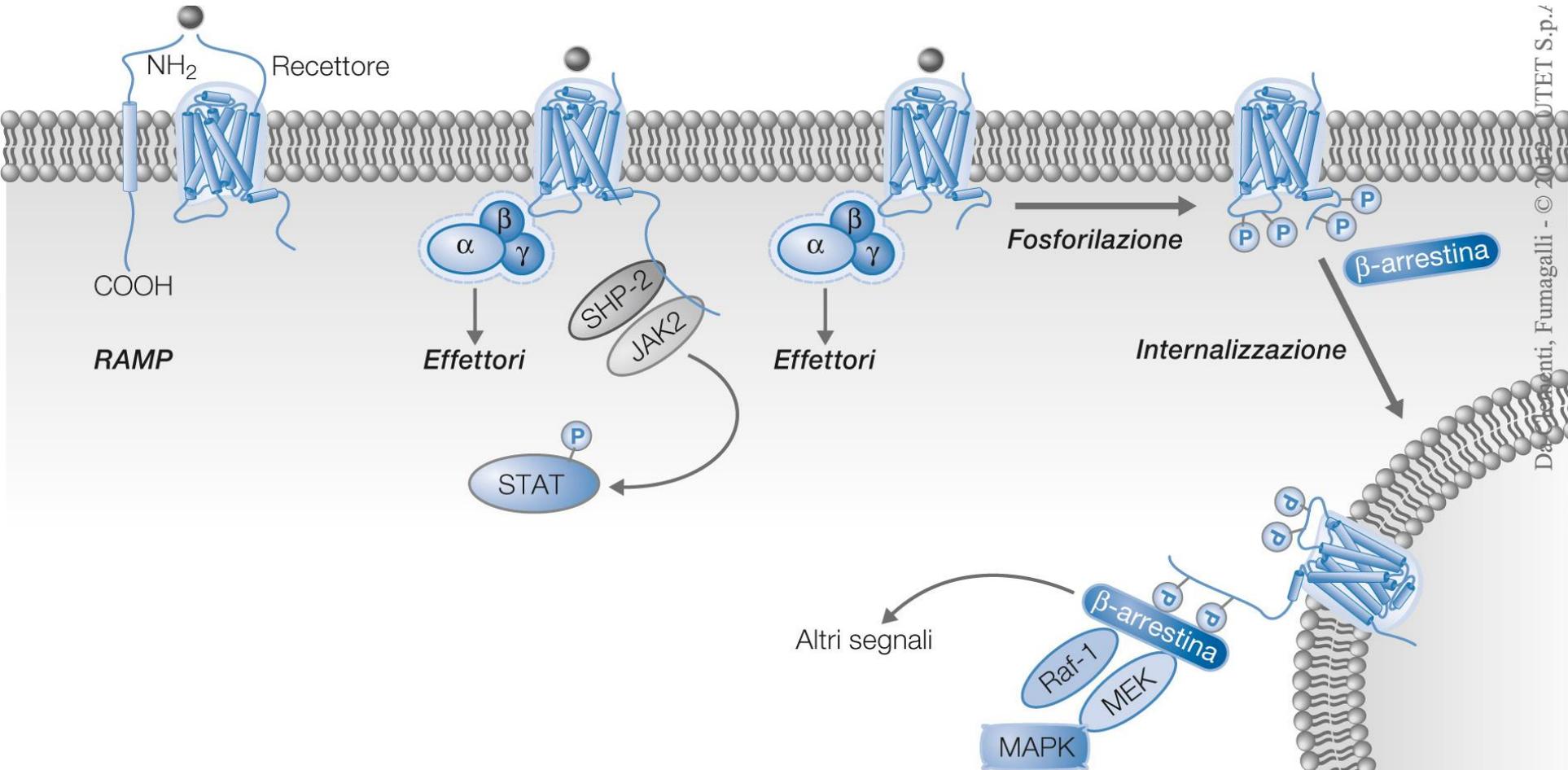
Attivazione delle MAPK

Spesso attivazione mediata da attivazione di Src che viene legata da arrestina (es. β AR2)

Arrestina fa complesso di GPCR con Raf, MEK e MAPK in endosoma

Attivazione di MAPK da Gprot: rapida e breve; via arrestina: lenta e lunga

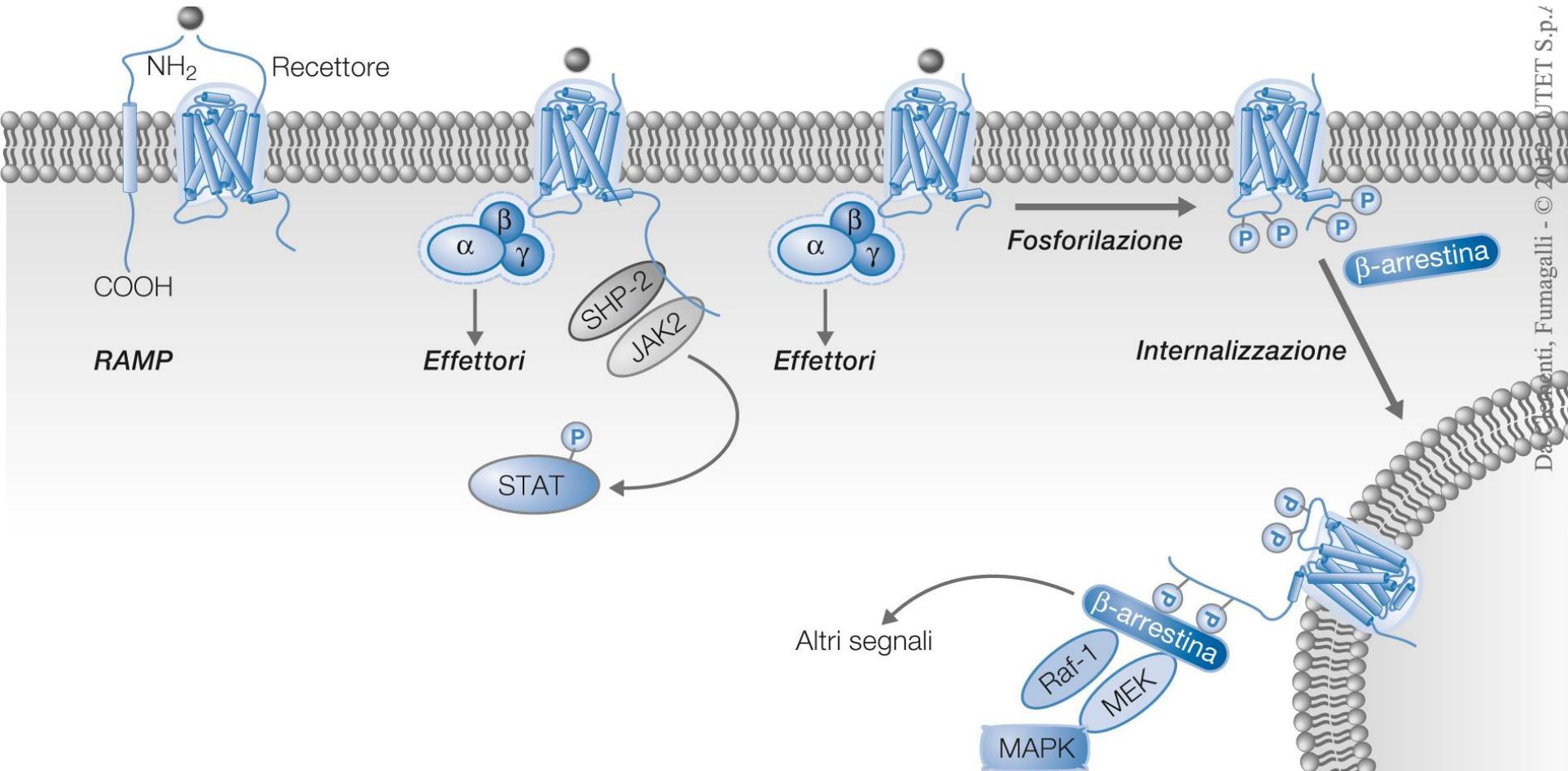
Agonisti "biased": capaci di attivare o l'una o l'altra via di MAPK !!!



Signalling indipendente da G protein

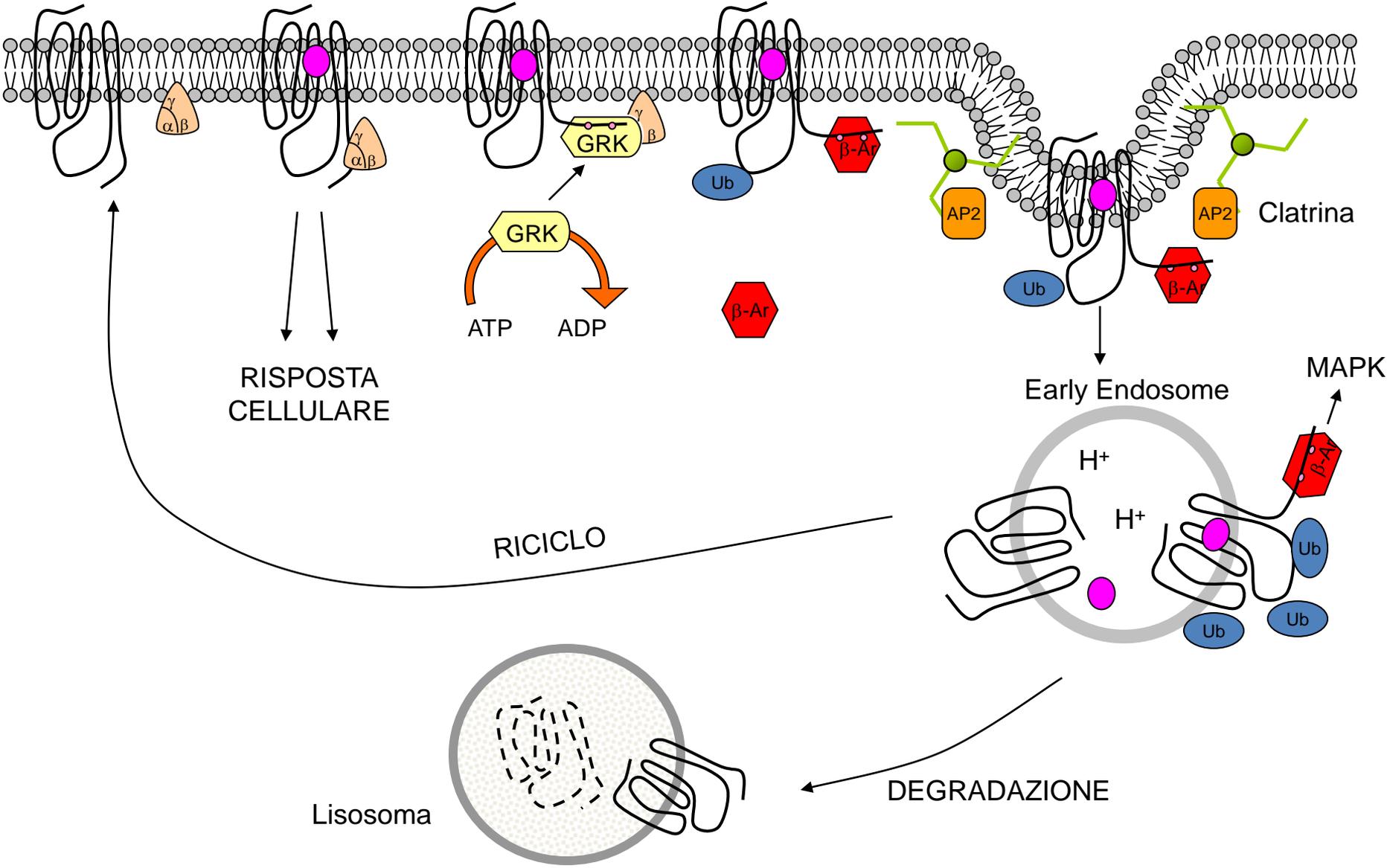
Es: AT1 attivato legato al C terminale da complesso tyrkinasi JAK2: tyrfosfatasi SHP2 attivazione JAK2 → fosforila STAT (fattore trascrizione)

AR β 2: attivato lega con C terminale PDZ presente in Na/H Exchanger Regulatory Factor 1 (NHHERF1) impedendone la funzione → attivazione scambiatore



Traffico di GPCR modulato da agonista

● Agonista



Modulazione delle risposte recettoriali

Causate da eccesso di stimolazione

Desensitizzazione

Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore

Fenomeno che ha luogo per molti recettori (anche non di tipo recettore-canale)

Spesso legato a fosforilazione modulata da altri recettori

Downregulation

Condizione per cui una cellula riduce la risposta ad un agente/farmaco riducendo il numero di recettori presenti per quella sostanza

Causate da mancanza di stimolazione

Upregulation

Condizione per cui una cellula aumenta la propria sensibilità all'agente/farmaco mancante aumentando il numero di recettori presenti per quella sostanza

Provoca iperreattività

Situazione classica: denervazione o uso cronico di antagonisti

Altre modificazioni postraduzionali

TABELLA 8.1 Classificazione delle più importanti modificazioni post-traduzionali e principali funzioni e caratteristiche

Tipo di modificazione	Stabilità	Funzione e caratteristiche
Fosforilazione pTyr, pSer, pThr	+ / +++	Reversibile. Attivazione/inattivazione di attività enzimatiche, modulazione di interazioni proteina-proteina, signalling
SUMOilazione	+ / ++	Reversibile. Regolazione della localizzazione cellulare e dell'interazione proteina-proteina; protezione dalla degradazione
Ubiquitinazione	+ / ++	Reversibile. Ruolo nella degradazione di proteine danneggiate, mal funzionanti e con un folding alterato
Acetilazione Miristolazione, prenilazione, palmitilazione	+++	Reversibile. Regolazione della stabilità delle proteine, regolazione dell'interazione proteine-DNA
Idrossilazione	++	Regolazione della stabilità della proteina
Carbossilazione	+++	Modulazione della capacità di legare lo ione calcio
Metilazione	+++	Regolazione dell'espressione genica
Legami disolfuro	+++	Irreversibile. Stabilizzazione della struttura terziaria
Glicosilazione	+ / ++	Reversibile. Regolazione della localizzazione cellulare, protezione dall'attacco di proteasi, regolazione del turnover
Aggiunta di lipidi	++ / +++	Regolazione della localizzazione cellulare
Aggiunta di glicosilfosfatidilinositoli	++ / +++	Ancoraggio alla membrana plasmatica, localizzazione sulla superficie cellulare