

Το κίνητρο για την κατανόηση των δυνατοτήτων και των αδυναμιών των φαρμάκων προήλθε από την κλινική πρακτική, αλλά η σχετική επιστήμη έπρεπε να εδραιωθεί σε στερεά θεμέλια στη φυσιολογία και τη χημεία. Μόλις το 1858 διατυπώθηκε η κυτταρική θεωρία από τον Virchow. Η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε δομικός τύπος για να περιγραφεί μια χημική ένωση ήταν το 1868. Τα βακτήρια ως αιτία ασθνεσιών ανακαλύφθηκαν το 1878 από τον Pasteur. Μέχρι τότε, η φαρμακολογία δεν είχε κανένα έρεισμα, και είναι πραγματικά αξιοθαύμαστο το τολμηρό όραμα του Rudolf Buchheim, ο οποίος ίδρυσε το πρώτο ινστιτούτο φαρμακολογίας (στο ίδιο του το σπίτι) το 1847 στην Εσθονία.

Στα πρώτα της βήματα, πριν από την έλευση της συνθετικής οργανικής χημείας, η φαρμακολογία ασχολείτο αποκλειστικά με την κατανόηση των επιδράσεων των φυσικών ουσιών –κυρίως φυτικών εκχυλισμάτων και μερικών (ως επί το πλείστον τοξικών) χημικών ουσιών, όπως ο υδράργυρος και το αρσενικό. Μια από τις πρώτες εξελίξεις στη χημεία ήταν η απομόνωση δραστικών ενώσεων από τα φυτά. Ο Friedrich Sertürner, ένας νεαρός Γερμανός φαρμακοποιός, απομόνωσε τη μορφίνη από το όπιο το 1805. Γρήγορα ακολούθησαν και άλλες ουσίες· αν και η δομή τους ήταν άγνωστη, αυτές οι ενώσεις απέδειξαν ότι χημικές ουσίες, και όχι μαγικές ή «ζωτικές» δυνάμεις, είναι υπεύθυνες για τις επιδράσεις των φυτικών εκχυλισμάτων στους ζωντανούς οργανισμούς. Οι πρώτοι φαρμακολόγοι εστίαζαν κυρίως σε τέτοια φάρμακα φυτικής προέλευσης, όπως η κινίνη, η δακτυλίτιδα, η ατροπίνη, η εφεδρίνη, η στρουχνίνη και άλλα (πολλά από αυτά εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σήμερα και θα εξοικειωθείτε καλά μαζί τους μέχρι να τελειώσετε το βιβλίο αυτό).⁴

Η ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΣΤΟΝ 20^Ο ΚΑΙ ΤΟΝ 21^Ο ΑΙΩΝΑ

Κατά τον 20^ο αιώνα, η συνθετική χημεία έδωσε νέα πνοή και έφερε επανάσταση στη φαρμακοβιομηχανία, και μαζί με αυτή και στην επιστήμη της φαρμακολογίας. Άρχισαν να εμφανίζονται νέα συνθετικά φάρμακα, π.χ., βαρβιτουρικά και τοπικά αναισθητικά, και η εποχή της αντιμικροβιακής χημειοθεραπείας ξεκίνησε με την ανακάλυψη των ενώσεων του αρσενικού για τη θεραπεία της σύφιλης από τον Paul Ehrlich το 1909. Άλλες επαναστατικές εξελίξεις ήταν η ανακάλυψη των σουλφοναμιδών, των πρώτων αντιβακτηριακών φαρμάκων, από τον Gerhard Domagk το 1953, και η ανακάλυψη της πενικιλίνης από τους Chain και Florey κατά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, χάρη σε παλαιότερες εργασίες του Fleming.

Αυτά τα λίγα και πολύ γνωστά παραδείγματα δείχνουν

⁴Ένας μικρός αριθμός συνθετικών ουσιών απέκτησε μεγάλη σπουδαιότητα στη φαρμακολογία πολύ καιρό πριν από την εποχή της συνθετικής χημείας. Ο διαιθυλαιθέρας (που παρασκευάστηκε ως «γλυκό έλατο βιτριολίου» κατά τον 16ο αιώνα) και το υποξείδιο του αζώτου (που παρασκευάστηκε από τον Humphrey Davy το 1799) χρησιμοποιήθηκαν για να «ζωηρεύουν» τις κοσμικές συγκεντρώσεις προτού αρχίσουν να χρησιμοποιούνται ως αναισθητικά στα μέσα του 19ου αιώνα (Κεφ. 40). Το νιτροδές αμύλο (Κεφ. 21) παρασκευάστηκε το 1859 και μπορεί να θεωρηθεί το πρώτο «ορθολογικό» θεραπευτικό φάρμακο: η θεραπευτική του δράση στη στηθάγχη προβλέφθηκε με βάση τη φυσιολογική του επίδραση –ένα πραγματικό «φαρμακολογικό» φάρμακο και ένας δύσσομος πρόδρομος των αγγειοδιασταλτών που χρησιμοποιούνται εκτεταμένα σήμερα. Η ασπιρίνη (Κεφ. 26), το πιο διαδεδομένο φάρμακο στην ιστορία, συντέθηκε για πρώτη φορά το 1853, χωρίς να προορίζεται για θεραπευτική χρήση. Ανακαλύφθηκε εκ νέου το 1897 στα εργαστήρια της γερμανικής εταιρείας Bayer, η οποία αναζητούσε ένα λιγότερο τοξικό παράγωγο του σαλικυλικού οξέος. Η Bayer διέθεσε την ασπιρίνη στην αγορά το 1899 με τεράστια κέρδη.

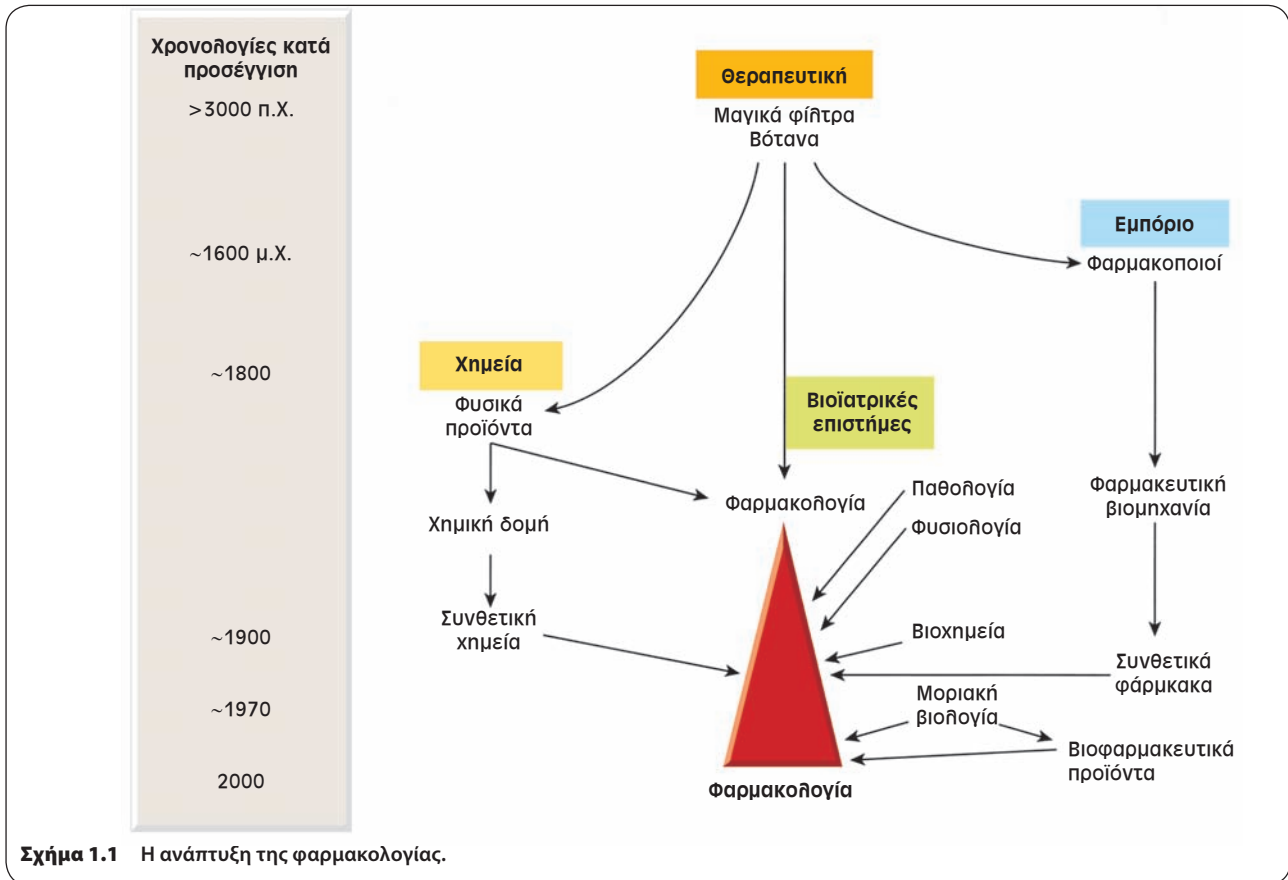
πώς η ανάπτυξη της συνθετικής χημείας και η αναβίωση της χημείας φυσικών προϊόντων αναζωογόνησαν εντυπωσιακά τη θεραπευτική κατά το πρώτο ήμισυ του 20ού αιώνα. Κάθε νέα φαρμακευτική κατηγορία αποτελούσε νέα πρόκληση για τους φαρμακολόγους, και η φαρμακολογία εδραίωνε ουσιαστικά εκείνη την εποχή την ταυτότητά της και τη θέση της μεταξύ των βιοϊατρικών επιστημών.

Παράλληλα με τον οργισμένο πολλαπλασιασμό των θεραπευτικών μορίων –κυρίως χάρη στη χημεία– που έδωσε πλούσια τροφή για σκέψη στους φαρμακολόγους, γρήγορη πρόοδος σημειώθηκε και στη φυσιολογία (ιδίως σε ό,τι αφορούσε τους χημικούς διαμεσολαβητές (οι οποίοι συζητούνται αναλυτικά σε άλλο σημείο αυτού του βιβλίου). Κατά την περίοδο αυτή ανακαλύφθηκαν πολλές ορμόνες, νευροδιαβιβαστές και διαμεσολαβητές φλεγμονής, και η διαπίστωση ότι η χημική επικοινωνία διαδραματίζει βασικό ρόλο σε όλους σχεδόν τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς που διαθέτει ο οργανισμός μας έδειξε ότι υπάρχει μεγάλη αλληλοκάλυψη μεταξύ της φυσιολογίας και της φαρμακολογίας, καθώς οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ χημικών ουσιών και ζωντανών συστημάτων ήταν αυτό ακριβώς που απασχολούσε τους φαρμακολόγους από την αρχή. Η έννοια των «υποδοχέων» για τους χημικούς διαμεσολαβητές, που προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Langley το 1905, υιοθετήθηκε γρήγορα από φαρμακολόγους όπως οι Clark, Gaddum, Schild και άλλους και αποτελεί σταθερή έννοια στη σύγχρονη φαρμακολογία (όπως θα διαπιστώσετε σύντομα καθώς θα μελετάτε τα δύο επόμενα κεφάλαια). Η έννοια του υποδοχέα, και οι τεχνολογίες που αναπτύχθηκαν με βάση αυτή, επέδρασαν ριζικά στην ανακάλυψη φαρμάκων και στη θεραπευτική. Η βιοχημεία αναδύθηκε, επίσης, ως χωριστή επιστήμη στις αρχές του 20ού αιώνα και η ανακάλυψη των ενζύμων και η σκιαγράφηση των βιοχημικών οδών προσέφερε ένα ακόμη πλαίσιο για την κατανόηση των φαρμακολογικών επιδράσεων. Η εικόνα της φαρμακολογίας που προκύπτει από αυτή τη σύντομη ματιά στην ιστορία της (Σχ. 1.1) είναι η εικόνα ενός επιστημονικού αντικείμενου που εξελίχθηκε από την αρχαία, προεπιστημονική θεραπευτική, απέκτησε εμπορικό ενδιαφέρον από τον 17ο αιώνα και μετά, και απέκτησε επιστημονικό κύρος μόλις αυτό έγινε εφικτό στα μέσα του 19ου αιώνα. Η φαρμακολογία εξακολουθεί να δείχνει τα σημάδια από το καιροσκοπικό παρελθόν της, καθώς η φαρμακοβιομηχανία είναι πλέον ένας τεράστιος επιχειρηματικός κλάδος και μεγάλο μέρος της φαρμακολογικής έρευνας πραγματοποιείται σήμερα σε εμπορικό περιβάλλον, έναν χώρο πολύ πιο σκληρό και πραγματοκρατικό απ' ό,τι τα ακαδημαϊκά πεδία.⁵ Καμία άλλη βιοϊατρική επιστήμη δεν βρίσκεται τόσο κοντά στον Μαμμώνα.

ΑΡΧΕΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ

Η σύγχρονη ιατρική στηρίζεται σε μεγάλο βαθμό στα φάρμακα ως το κύριο θεραπευτικό εργαλείο της. Φυσικά, άλλες θεραπευτικές διαδικασίες όπως οι χειρουργικές επεμβάσεις,

⁵Μερικοί από τους πιο διακεκριμένους πρωτοπόρους της φαρμακολογίας δραστηριοποιήθηκαν στη βιομηχανία: π.χ., ο Henry Dale, ο οποίος έθεσε τα θεμέλια των γνώσεών μας στη χημική διαβίβαση και στο αυτόνομο νευρικό σύστημα (Κεφ. 12)· ο George Hitchings και η Gertrude Elion, οι οποίοι περιέγραψαν την αρχή των αντιμεταβολιτών και παρήγαγαν τα πρώτα αποτελεσματικά αντικαρκινικά φάρμακα (Κεφ. 56)· και ο James Black, ο οποίος ανέπτυξε τους πρώτους ανταγωνιστές των β-αδρενεργικών και ισταμινικών H₂ υποδοχέων (Κεφ. 13 και 17). Δεν είναι τυχαίο το ότι σε αυτό το βιβλίο, που εστιάζει στις επιστημονικές αρχές της φαρμακολογίας, τα περισσότερα από τα παραδείγματα είναι βιομηχανικά, και όχι φυσικά, προϊόντα.



η διαίτα, η άσκηση κ.ά. είναι, επίσης, σημαντικές, αλλά καμία δεν εφαρμόζεται τόσο εκτεταμένα όσο η φαρμακευτική θεραπευτική.

Πριν από την έλευση των επιστημονικών προσεγγίσεων, είχαν γίνει επανειλημμένες προσπάθειες να κατασκευαστούν συστήματα θεραπευτικής· πολλές από αυτές έδωσαν αποτελέσματα χειρότερα από τον απλό εμπειρισμό. Ένα από αυτά ήταν η λεγόμενη *αλλοπάθεια*, που υιοθετήθηκε από τον James Gregory (1735–1821). Συνιστούσε θεραπείες όπως η αφάιμαξη, τα εμετικά και τα καθαρτικά, τα οποία χορηγούνταν μέχρι να υποχωρήσουν τα προέχοντα συμπτώματα της νόσου. Πολλοί ασθενείς απεβίωσαν μετά από τέτοια θεραπεία και, σε απάντηση προς αυτό το σύστημα, ο Hahnemann εισήγαγε την πρακτική της *ομοιοπαθητικής* στις αρχές του 19ου αιώνα. Οι θεμελιώδεις αρχές της ομοιοπαθητικής είναι:

- τα όμοια θεραπεύουν όμοια
- η δραστηριότητα μπορεί να ενισχυθεί με την αραιώση.

Το σύστημα αυτό γρήγορα εκφυλίστηκε σε παραλογισμούς: π.χ., ο Hahnemann συνιστούσε τη χρήση φαρμάκων σε αραιώσεις 1:10⁶⁰, οι οποίες ισοδυναμούν με συγκεντρώσεις ενός μορίου σε όγκο μιας σφαίρας με διάμετρο ίση με την τροχιά του Ποσειδώνα.

Πολλά άλλα συστήματα θεραπευτικής ήλθαν και παρήλθαν, και η ποικιλία των δογματικών αρχών που αντιπροσώπευαν μάλλον παρεμπόδιζε παρά προωθούσε την επιστημονική πρόοδο. Σήμερα διαδίδονται θεραπευτικά συστήματα των

οποίων η βάση βρίσκεται εκτός του επιστημονικού πλαισίου, με τη γενική ονομασία της «εναλλακτικής» ή «συμπληρωματικής» ιατρικής. Ως επί το πλείστον, αυτά απορρίπτουν το «ιατρικό μοντέλο», το οποίο αποδίδει τις ασθένειες σε μια υποκείμενη διαταραχή της κανονικής λειτουργίας, που μπορεί να προσδιοριστεί με βιοχημικούς ή δομικούς όρους, να ανιχνευθεί με αντικειμενικά μέσα και να επηρεαστεί ευεργετικά με κατάλληλες χημικές ή φυσικές παρεμβάσεις. Αντιθέτως, εστιάζουν κυρίως στην υποκειμενική δυσφορία, η οποία μπορεί να σχετίζεται με την ασθένεια, αλλά μπορεί και όχι. Η εγκατάλειψη της αντικειμενικότητας ως προς τον προσδιορισμό και τη μέτρηση της νόσου συνοδεύεται από μια αντίστοιχη εκτροπή από τις επιστημονικές αρχές αξιολόγησης της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας και του κινδύνου, με συνέπεια να γίνονται αποδεκτές αρχές και πρακτικές που δεν ικανοποιούν κανένα από τα κριτήρια εγκυρότητας τα οποία θα έπρεπε να εμπίπτουν με κριτική σκέψη και τα οποία πρέπει διά νόμου να πληρούνται προκειμένου να αρχίσει η θεραπευτική χρήση ενός νέου φαρμάκου. Δυστυχώς, η αποδοχή από το ευρύ κοινό έχει ελάχιστη σχέση με την αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα.⁶

⁶Η Βρετανική Ρυθμιστική Υπηρεσία Φαρμάκων και Υγειονομικής Περιθαλψης (ΜΗΕΑ) απαιτεί λεπτομερή αποδεικτικά στοιχεία της θεραπευτικής ικανότητας ενός φαρμάκου, βασισμένη σε ελεγχόμενες κλινικές μελέτες, πριν χορηγηθεί άδεια κυκλοφορίας. Δεν απαιτούνται, όμως, κλινικές μελέτες για ομοιοπαθητικά φάρμακα ή για πολλά φυτικά παρασκευάσματα, τα οποία είχαν κυκλοφορήσει πριν το Νόμο για τα Φάρμακα του 1968.

στη δράση ενός διαμεσολαβητή όπως η **αγγειοτασίνη** (Κεφ. 22). Αυτό το πεπτίδιο έχει ισχυρή δράση στον αγγειακό λείο μυ και στο νεφρικό σωληνάριο, αλλά έχει μικρή μόνο επίδραση σε άλλους τύπους λείου μυός ή στο εντερικό επιθήλιο. Άλλοι διαμεσολαβητές επηρεάζουν έναν πολύ διαφορετικό συνδυασμό κυττάρων και ιστών, ο οποίος κάθε φορά εξαρτάται από το ιδιαίτερο μοτίβο έκφρασης των πρωτεϊνικών υποδοχέων για τους διάφορους διαμεσολαβητές. Μια μικρή χημική μεταβολή, όπως, π.χ., η μετατροπή ενός από τα αμινοξέα της αγγειοτασίνης από τη χωροδιάταξη L στην D ή η αφαίρεση ενός αμινοξέος από την αλυσίδα, μπορεί να αδρανοποιήσει εντελώς το μόριο, επειδή ο υποδοχέας αδυνατεί να δεσμευτεί στην τροποποιημένη μορφή του μορίου. Η εκλεκτικότητα των προσδεμάτων και των θέσεων δέσμευσης ως προς τη συμπληρωματικότητα, στην οποία οφείλονται οι εξαιρετικά ειδικές ιδιότητες μοριακής αναγνώρισης των πρωτεϊνών, παίζει κεντρικό ρόλο στην ερμηνεία πολλών φαρμακολογικών φαινομένων. Δεν είναι υπερβολή να πει κανείς ότι η ικανότητα των πρωτεϊνών να αλληλεπιδρούν με ισχυρά εκλεκτικό τρόπο με άλλα μόρια –συμπεριλαμβανομένων και άλλων πρωτεϊνών– αποτελεί τη βάση για την ύπαρξη των ζωντανών οργανισμών. Η σημασία της στην κατανόηση της δράσης των φαρμάκων είναι ένα θέμα που θα μας απασχολήσει συχνά σε αυτό το βιβλίο.

Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι κανένα φάρμακο δεν έχει απόλυτη εκλεκτικότητα δράσης. Π.χ, τα τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά φάρμακα (Κεφ. 47) αποκλείουν τους μεταφορείς μονοαμινών αλλά είναι γνωστά και για τις ανεπιθύμητες ενέργειές τους (π.χ., ξηροστομία) λόγω της ικανότητάς τους να αποκλείουν διάφορους άλλους υποδοχείς. Γενικά, όσο χαμηλότερη είναι η ισχύς ενός φαρμάκου και όσο υψηλότερη η απαιτούμενη δόση, τόσο πιθανότερο είναι ότι θα καταστούν σημαντικές και άλλες θέσεις δράσης εκτός από την πρωτεύουσα. Από κλινικής άποψης, αυτό συνδέεται συχνά με την εκδήλωση ανεπιθύμητων ενεργειών, από τις οποίες κανένα φάρμακο δεν είναι απαλλαγμένο.

Από τη δεκαετία του 1970 μέχρι σήμερα, η φαρμακολογική έρευνα έχει κατορθώσει να αναγνωρίσει τους πρωτεϊνικούς στόχους πολλών διαφορετικών τύπων φαρμάκων. Είναι πλέον γνωστό ότι φάρμακα όπως τα οπιοειδή αναλγητικά (Κεφ. 42), τα κανναβινοειδή (Κεφ. 19) και τα βενζοδιαζεπινικά ηρεμιστικά (Κεφ. 44), η δράση των οποίων έχει περιγραφεί λεπτομερώς εδώ και πολλά χρόνια, έχουν ως στόχο ορισμένους καλώς προσδιορισμένους υποδοχείς, οι οποίοι έχουν χαρακτηριστεί πλήρως με τεχνικές κλωνοποίησης γονιδίων και κρυσταλλογραφία πρωτεϊνών (Κεφ. 3).

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Εάν είναι εφικτό να συσχετιστεί η δράση ενός φαρμάκου με έναν ορισμένο υποδοχέα, αυτό αποτελεί πολύτιμο βοήθημα στην ταξινόμηση και τη βελτιστοποίηση της σχεδίασης νέων φαρμάκων. Π.χ., η φαρμακολογική ανάλυση της δράσης της ισταμίνης (Κεφ. 17) έδειξε ότι μερικές από τις δράσεις της (επιδράσεις τύπου H_1 , όπως η σύσπαση των λείων μυών) υφίστανται ισχυρό ανταγωνισμό από τους τότε γνωστούς συναγωνιστικούς ανταγωνιστές της ισταμίνης. Το 1970, ο Black και οι συνεργάτες του διατύπωσαν την άποψη ότι οι υπόλοιπες δράσεις της ισταμίνης, μεταξύ αυτών η διεγερτική δράση της στις γαστρικές εκκρίσεις, ενδέχεται να οφείλονται σε μια δεύτερη κατηγορία υποδοχέων ισταμίνης (H_2). Αφού δοκίμασαν διάφορα ανάλογα ισταμίνης, βρήκαν ότι κάποια από αυτά παρουσίαζαν επιλεκτικά επιδράσεις τύπου H_2 , ενώ είχαν μικρή δραστηριότητα H_1 . Ανέλυσαν τα τμήματα του μορίου ισταμίνης που είναι υπεύθυνα για αυτήν την εκλεκτικότητα και κατόρθωσαν να αναπτύξουν εκλεκτικούς ανταγωνιστές H_2 , οι οποίοι

αποδείχθηκαν ισχυροί αναστολείς της έκκρισης γαστρικών υγρών, επίτευγμα με μεγάλη θεραπευτική σημασία (Κεφ. 30)². Αργότερα αναγνωρίστηκαν άλλοι δύο τύποι υποδοχέα ισταμίνης (H_3 και H_4).

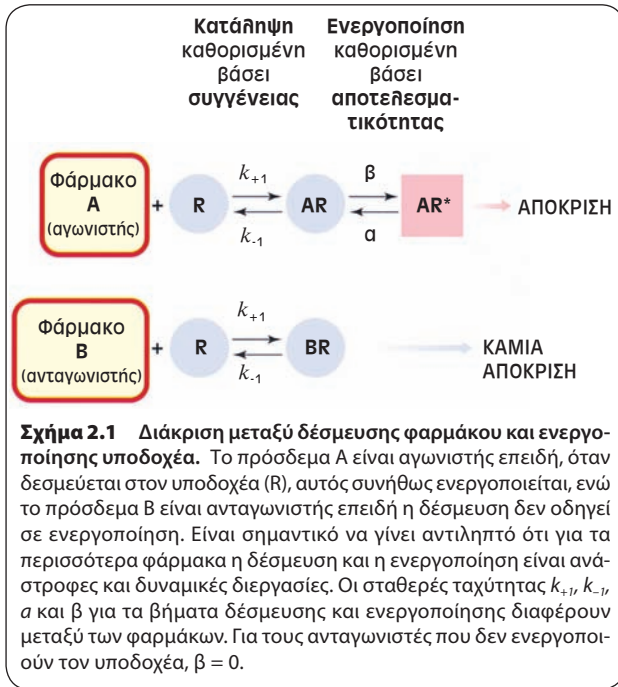
Η ταξινόμηση υποδοχέων με βάση τη φαρμακολογική ανταπόκριση εξακολουθεί να αποτελεί μια πολύτιμη και ιδιαίτερα διαδεδομένη προσέγγιση. Άλλες νεότερες πειραματικές προσεγγίσεις έχουν δώσει διαφορετικά κριτήρια για την ταξινόμηση των υποδοχέων. Η άμεση μέτρηση της δέσμευσης προσδεμάτων στους υποδοχείς (βλ. ακολούθως) επέτρεψε τον προσδιορισμό πολλών νέων υποτύπων υποδοχέων, οι οποίοι δεν διακρίνονται εύκολα με βάση τις μελέτες φαρμακολογικής δράσης μόνο. Η μοριακή κλωνοποίηση (Κεφ. 3) προσέφερε μια εντελώς νέα βάση για την ταξινόμηση, σε πολύ υψηλότερο επίπεδο λεπτομέρειας από αυτό που επιτυγχάνεται με τις φαρμακολογικές αναλύσεις. Τέλος, η ανάλυση των βιοχημικών οδών που συνδέονται με την ενεργοποίηση των υποδοχέων (Κεφ. 3) προσφέρει άλλη μια βάση για την ταξινόμηση.

Το αποτέλεσμα αυτής της εκρηκτικής αύξησης των διαθέσιμων δεδομένων ήταν πως η ταξινόμηση των υποδοχέων έγινε ξαφνικά πολύ πιο λεπτομερής, ενώ πολλαπλασιάστηκαν οι γνωστοί υποτύποι υποδοχέων για τους κυριότερους τύπους προσδεμάτων. Καθώς αναπτύσσονταν εναλλακτικά συστήματα μοριακής και βιοχημικής ταξινόμησης που ήταν ασύμβατα με τις αποδεκτές, φαρμακολογικά καθορισμένες κατηγορίες υποδοχέων, η Διεθνής Ένωση Φαρμακολογικών Επιστημών (IUPHAR) συγκρότησε ομάδες εργασίας ειδικών με σκοπό να θεσπιστούν ομόφωνες ταξινομήσεις υποδοχέων για τους κυριότερους τύπους, οι οποίες να λαμβάνουν υπ' όψιν τις διαθέσιμες φαρμακολογικές, μοριακές και βιοχημικές πληροφορίες. Αυτοί οι σοφοί άνθρωποι έχουν δύσκολο έργο: τα συμπεράσματά τους δεν θα είναι ούτε τέλεια ούτε οριστικά, αλλά είναι απαραίτητα για να διασφαλιστεί ομοιόμορφη ονοματολογία. Για τον φοιτητή, αυτό μπορεί να μοιάζει με αποκρυφιστική εργασία συστηματικής κατάταξης που θα αποδώσει πολλές λεπτομέρειες αλλά όχι και πολλή φώτιση. Υπάρχει ο κίνδυνος ότι οι βαρετοί και επαχθείς για τους φοιτητές της φαρμακολογίας κατάλογοι ονομάτων, δράσεων και ανεπιθύμητων ενεργειών των φαρμάκων θα αντικατασταθούν από εξαντλητικούς πίνακες υποδοχέων, προσδεμάτων και οδών σηματοδότησης. Σε αυτό το βιβλίο, προσαθήσαμε να αποφύγουμε τις περιττές λεπτομέρειες και συμπεριλάβαμε μόνον όσες πληροφορίες ταξινόμησης υποδοχέων θεωρήσαμε ενδιαφέρουσες ή χρήσιμες στην ερμηνεία της δράσης σημαντικών φαρμάκων. Η ολοκληρωμένη βάση δεδομένων της IUPHAR με τις γνωστές κατηγορίες υποδοχέων είναι διαθέσιμη στην ιστοσελίδα <http://www.iuphar-db.org>, καθώς και μια περίληψη αυτής της βάσης δεδομένων, η οποία ανανεώνεται τακτικά (Alexander et al. 2013).

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ-ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Η κατάληψη ενός υποδοχέα από ένα μόριο φαρμάκου δεν οδηγεί απαραίτητα σε *ενεργοποίηση* του υποδοχέα. Με τον όρο «ενεργοποίηση» εννοούμε ότι ο υποδοχέας επηρεάζεται από το δεσμευμένο μόριο κατά τρόπο ώστε να προκληθεί ιστική απόκριση. Οι μοριακοί μηχανισμοί που συνδέονται με την ενεργοποίηση των υποδοχέων εξετάζονται στο Κεφάλαιο 3. Η δέσμευση και η ενεργοποίηση αποτελούν δύο διακριτά βήματα της προκαλούμενης απόκρισης από έναν αγωνιστή μέσω του υποδοχέα (Σχ. 2.1). Εάν ένα φάρμακο δεσμεύεται στον υποδοχέα χωρίς να προκαλεί ενεργοποίηση, αλλά κατ' αυτόν τον τρόπο εμποδίζει τη δέσμευση του αγωνιστή, τότε ονομάζεται *ανταγωνιστής υποδοχέα*. Η τάση ενός φαρμάκου να δεσμευτεί στους υποδοχείς καθορίζεται από τη *συγγενεία*

²Για το επίτευγμα αυτό, καθώς επίσης και για την ανάπτυξη των β-αδρενεργικών ανταγωνιστών, χρησιμοποιώντας παρόμοιες τεχνικές, ο Sir James Black τιμήθηκε με το βραβείο Nobel στη Φυσιολογία και στην Ιατρική.



του (affinity), ενώ η τάση του να ενεργοποιεί τον υποδοχέα αφού δεσμευτεί σε αυτόν υποδηλώνεται με την *αποτελεσματικότητά* του (efficacy). Αυτοί οι όροι ορίζονται ακριβέστερα ακολούθως (σελ. 12 και 18). Τα φάρμακα με υψηλή ισχύ έχουν συνήθως υψηλή συγγένεια προς τους υποδοχείς και, συνεπώς, καταλαμβάνουν σημαντικό ποσοστό των υποδοχέων ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι αγωνιστές διαθέτουν, επίσης, σημαντική αποτελεσματικότητα, ενώ οι ανταγωνιστές έχουν –στην καλύτερη περίπτωση– μηδενική αποτελεσματικότητα. Τα φάρμακα με ενδιάμεσα επίπεδα αποτελεσματικότητας, δηλαδή αυτά που επιτυγχάνουν υπομέγιστη ιστική απόκριση, ακόμα και όταν έχουν καταλάβει το 100% των υποδοχέων, ονομάζονται *μερικοί αγωνιστές*, για να διακρίνονται από τους *πλήρεις αγωνιστές*, των οποίων η αποτελεσματικότητα επαρκεί ώστε να σημειωθεί η μέγιστη ιστική απόκριση. Αυτές οι έννοιες αποτελούν προφανώς μια υπεραπλουστευμένη περιγραφή των συμβάντων στο μοριακό επίπεδο (Κεφ. 3), αλλά συνιστούν μια χρήσιμη βάση για τον χαρακτηρισμό των επιδράσεων των φαρμάκων.

Θα εξετάσουμε τώρα πιο αναλυτικά ορισμένες πτυχές, όπως η δέσμευση των φαρμάκων, οι καμπύλες συγκέντρωσης/αποτελέσματος αγωνιστή, ο συναγωνιστικός ανταγωνισμός, οι μερικοί ανταγωνιστές και η φύση της αποτελεσματικότητας. Η κατανόηση αυτών των εννοιών σε ποιοτικό επίπεδο είναι επαρκής σε πολλές περιπτώσεις, όμως για λεπτομερέστερες αναλύσεις θα χρειαστούν και ποσοτικές διατυπώσεις (σελ. 18-20).

ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Η δέσμευση των φαρμάκων στους υποδοχείς μπορεί συχνά να μετρηθεί άμεσα με τη χρήση μορίων φαρμάκου (αγωνιστών ή ανταγωνιστών) που έχουν σημαθεί με ένα ή περισσότερα ραδιενεργά άτομα (συνήθως ^3H , ^{14}C ή ^{125}I). Η συνήθης διαδικασία περιλαμβάνει την επώαση δειγμάτων ιστού (ή τμημάτων μεμβράνης) με διάφορες συγκεντρώσεις ραδιενεργού φαρμάκου μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία (δηλαδή όταν ο ρυθμός δέσμευσης και αποδέσμευσης του ραδιενεργού μορίου βρίσκονται σε

ισορροπία). Ακολούθως, η ειδική δεσμευμένη ραδιενέργεια διαχωρίζεται από την ελεύθερη και τη μη ειδική και μετράται σε υγρό σπινθηρογραφία. Στα πειράματα αυτά, τα ραδιενεργά φάρμακα θα τύχει τόσο ειδικής δέσμευσης (δηλαδή δέσμευσης σε ειδικούς υποδοχείς που υπόκεινται σε κορεσμό, καθώς ο αριθμός τους είναι πεπερασμένος), καθώς και «μη ειδικής δέσμευσης» (δηλαδή προσρόφησης του φαρμάκου από δομές διαφορετικές των υποδοχέων, οι οποίες στις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιούνται σε τέτοιες μελέτες δεν υπόκεινται συνήθως σε κορεσμό), η οποία αποκρύπτει την ειδική συνιστώσα και συνεπώς πρέπει να περιορίζεται στο ελάχιστο. Η ποσότητα μη ειδικής δέσμευσης υπολογίζεται με μέτρηση της ραδιενέργειας που προσλαμβάνεται όταν ένα (μη ραδιενεργό) πρόσδεμα έχει προστεθεί σε συγκεντρώσεις κορεσμού ώστε να εμποδίσει πλήρως τη δέσμευση του ραδιενεργού φαρμάκου στους υποδοχείς, με αποτέλεσμα να παραμένει μόνον η μη ειδική συνιστώσα. Αυτή αφαιρείται κατόπιν από την ολική δέσμευση ώστε να εκτιμηθεί η ειδική δέσμευση (Σχ. 2.2). Η *καμπύλη δέσμευσης* (Σχ. 2.2B,C) ορίζει τη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης και της ποσότητας δεσμευμένου φαρμάκου (B), και στις περισσότερες περιπτώσεις συμφωνεί αρκετά καλά με τη θεωρητικά προβλεπόμενη σχέση (Σχ. 2.13), και άρα επιτρέπει την εκτίμηση της συγγένειας του φαρμάκου προς τους υποδοχείς του, καθώς και την *ικανότητα δέσμευσης* (B_{max}), η οποία αντιπροσωπεύει την πυκνότητα των υποδοχέων στον ιστό. Σε συνδυασμό με λειτουργικές μελέτες, οι μετρήσεις δέσμευσης έχουν αποδείξει εξαιρετικά πολύτιμες. Π.χ., έχει επιβεβαιωθεί ότι η *υπόθεση των εφεδρικών υποδοχέων* (σελ. 10) για τους μωσκαρινικούς υποδοχείς στους λείους μύες είναι ορθή, καθώς βρέθηκε ότι οι αγωνιστές δεσμεύονται κατά κανόνα με χαμηλή μάλλον συγγένεια και ότι η μέγιστη βιολογική επίδραση σημειώνεται σε χαμηλό ποσοστό κατάληψης υποδοχέων. Έχει αποδειχθεί, επίσης, ότι η απουσία μύες, σε λείους μύες και άλλους ιστούς, οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των υποδοχέων στα κύτταρα-στόχους, εύρημα που εξηγεί –τουλάχιστον εν μέρει– το φαινόμενο της *υπερευαισθησίας απενεύρωσης*. Τενικότερα, φαίνεται ότι ο αριθμός των υποδοχέων αυξάνεται (συνήθως μέσα σε μερικές ημέρες), εάν η αντίστοιχη ορμόνη ή ο διαβιβαστικός απουσιάζει ή σπανίζει, και μειώνεται εάν η ορμόνη ή ο διαβιβαστικός βρίσκεται σε περίσσεια: μια διεργασία προσαρμογής στη συνεχή χορήγηση φαρμάκων ή ορμονών (σελ. 17).

Τεχνικές μη επεμβατικής απεικόνισης, όπως η *τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων* (PET), μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μελετηθεί η κατανομή των υποδοχέων σε δομές όπως ο ανθρώπινος εγκέφαλος ασθενών. Αυτή η τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί, π.χ., για τη μέτρηση του βαθμού αποκλεισμού των υποδοχέων ντοπαμίνης από τα αντιψυχωσικά φάρμακα στον εγκέφαλο σχιζοφρενών ασθενών (Κεφ. 46).

Οι καμπύλες δέσμευσης των αγωνιστών συχνά αποκαλύπτουν μια φαινομενική ανομοιογένεια μεταξύ των υποδοχέων. Π.χ., η δέσμευση αγωνιστών στους μωσκαρινικούς υποδοχείς (Κεφ. 13) και στους β -αδρενεργικούς υποδοχείς (Κεφ. 14) δείχνει ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο πληθυσμοί θέσεων δέσμευσης, με διαφορετικές συγγένειες. Αυτό μπορεί να συμβαίνει επειδή οι υποδοχείς βρίσκονται είτε ελεύθεροι είτε συζευγμένοι με άλλα μόρια της κυτταρικής μεμβράνης, τις G-πρωτεΐνες (Κεφ. 3), οι οποίες συνιστούν μέρος του συστήματος σηματοδότησης μέσω του οποίου επιτελεί τη ρυθμιστική του δράση ο υποδοχέας. Η δέσμευση των ανταγωνιστών δεν παρουσιάζει τέτοια πολυπλοκότητα, πιθανόν επειδή οι ανταγωνιστές (από τη φύση τους) δεν προκαλούν τη δευτερογενή σύζευξη με τις G-πρωτεΐνες. Επειδή η δέσμευση των αγωνιστών οδηγεί σε ενεργοποίηση, ο ορισμός της έννοιας της συγγένειας μπορεί να αποδειχθεί απρόσμενα δύσκολος και είναι αγαπημένο θέμα συζήτησης και διαφωνίας μεταξύ των ερευνητών.

ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Αν και μπορούμε να μετρήσουμε άμεσα τη δέσμευση, συνήθως μας ενδιαφέρει κάποια βιολογική απόκριση, όπως, π.χ., η αύξηση στην αρτηριακή πίεση, η σύσπαση ή η χαλάρωση μιας λωρίδας λείου μυός ενός οργάνου μέσα σε λουτρό εμ-

στή μέσω αύξησης της συγκέντρωσής του. Σε άλλους τύπους ανταγωνισμού (βλ. λεπτομέρειες ακολούθως), ο αποκλεισμός είναι συνήθως μη αντιμετωπίσιμος.

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά του συναγωνιστικού ανταγωνισμού είναι:

- μετατόπιση της καμπύλης λογαριθμικής συγκέντρωσης/αποτελέσματος του αγωνιστή προς τα δεξιά, χωρίς μεταβολή της κλίσης ή του μεγίστου (δηλαδή, ο ανταγωνισμός μπορεί να εξαλειφθεί αυξάνοντας τη συγκέντρωση του αγωνιστή)
- γραμμική σχέση μεταξύ του λόγου δόσεων αγωνιστή και της συγκέντρωσης του ανταγωνιστή
- ευρήματα ανταγωνισμού στις μελέτες δέσμευσης.

Ο συναγωνιστικός ανταγωνισμός είναι ο πιο άμεσος από τους μηχανισμούς μέσω των οποίων ένα φάρμακο μπορεί να μειώσει την επίδραση ενός άλλου (ή ενός ενδογενούς διαμεσολαβητή).

▼ Τα χαρακτηριστικά του *αναστρέψιμου συναγωνιστικού ανταγωνισμού* που περιγράφονται παραπάνω εκφράζουν το γεγονός ότι ο ρυθμός διάσπασης των μορίων του ανταγωνιστή είναι αρκετά μεγάλος ώστε να αποκαθίσταται γρήγορα μια νέα ισορροπία όταν προστεθεί ο αγωνιστής. Στην πράξη, ο αγωνιστής μπορεί να εκτοπίσει τα μόρια του ανταγωνιστή από τους υποδοχείς (αν και στην πραγματικότητα δεν μπορεί να απομακρύνει ένα μόριο ανταγωνιστή που έχει ήδη δεσμευτεί). Η εκτόπιση οφείλεται στο ότι ο αγωνιστής καταλαμβάνει ένα ποσοστό των κενών υποδοχέων και έτσι μειώνει τον ρυθμό σύνδεσης των μορίων του ανταγωνιστή: έτσι, ο ρυθμός διάσπασης προσωρινά υπερβαίνει τον ρυθμό σύνδεσης και μειώνεται το συνολικό ποσοστό κατάληψης από τον ανταγωνιστή.

ΜΗ ΑΝΑΣΤΡΕΨΙΜΟΣ ΣΥΝΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΣ

▼ *Μη αναστρέψιμος*, ή *μη ισόρροπος*, συναγωνιστικός ανταγωνισμός συμβαίνει όταν ο ανταγωνιστής δίσταται από τους υποδοχείς πολύ αργά ή και καθόλου, με αποτέλεσμα να μην συμβαίνει καμία μεταβολή στο ποσοστό κατάληψης από τον ανταγωνιστή όταν προστίθεται ο αγωνιστής.³

Η προβλεπόμενη επίδραση των αναστρέψιμων και μη αναστρέψιμων ανταγωνιστών συγκρίνεται στο Σχήμα 2.4.

Σε ορισμένες περιπτώσεις (Σχ. 2.6A), η θεωρητική επίδραση αναπαράγεται με ακρίβεια, αλλά η διάκριση μεταξύ αναστρέψιμου και μη αναστρέψιμου συναγωνιστικού ανταγωνισμού (ή και μη συναγωνιστικού ανταγωνισμού, σελ. 17) δεν είναι πάντοτε τόσο προφανής. Αυτό συμβαίνει λόγω του φαινομένου των εφεδρικών υποδοχέων (σελ. 10): εάν το ποσοστό κατάληψης από τον αγωνιστή που απαιτείται για να επιτευχθεί μέγιστη βιολογική απόκριση είναι πολύ μικρό (π.χ., 1% της συνολικής ποσότητας υποδοχέων), τότε είναι δυνατόν να αποκλειστεί μη αναστρέψιμο το 99% σχεδόν των υποδοχέων χωρίς να μειωθεί η μέγιστη απόκριση. Εάν μειωθεί το ποσοστό κατάληψης από τον ανταγωνιστή, το αποτέλεσμα θα είναι η παράλληλη μετατόπιση της καμπύλης λογαριθμού συγκέντρωσης/αποτελέσματος, η οποία δεν μπορεί να διακριθεί από τον αναστρέψιμο συναγωνιστικό ανταγωνισμό (Σχ. 2.6B).

Μη αναστρέψιμος συναγωνιστικός ανταγωνισμός συμβαίνει με φάρμακα που διαθέτουν αντιδρώσες ομάδες οι οποίες σχηματίζουν ομοιοπολικό δεσμό με τον υποδοχέα. Αυτά χρησιμοποιούνται κυρίως ως πειραματικά εργαλεία για τη μελέτη της λειτουργίας των υποδοχέων· λίγα μόνο έχουν κλινική χρήση. Ωστόσο, μη αναστρέψιμοι αναστολείς ενζύμων με παρόμοια

δράση χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική: μεταξύ αυτών είναι φάρμακα όπως η *ασπιρίνη* (Κεφ. 26), η *ομεπραζόλη* (Κεφ. 30) και οι αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης (Κεφ. 47).

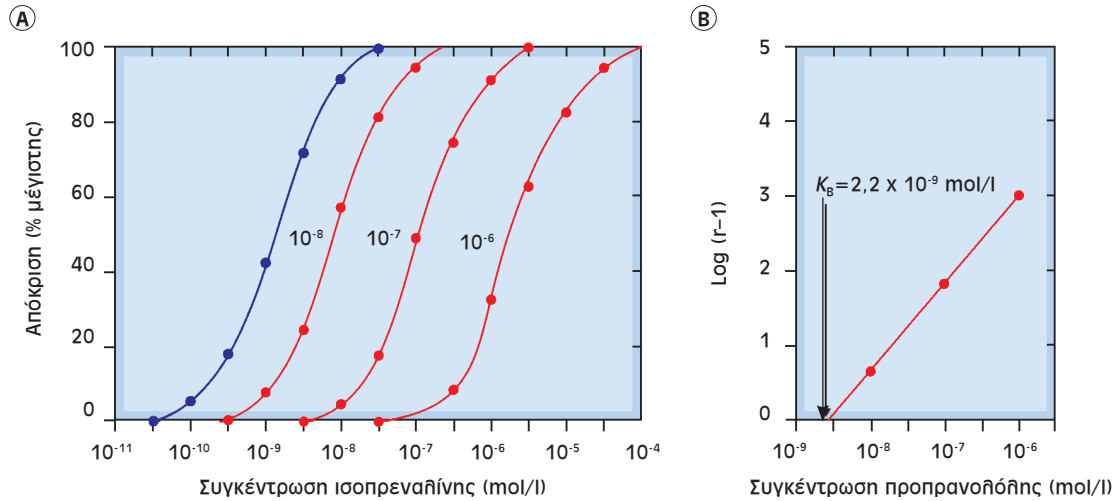
ΜΕΡΙΚΟΙ ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΚΑΙ Η ΕΝΝΟΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Μέχρι τώρα εξετάσαμε τα φάρμακα είτε ως αγωνιστές, οι οποίοι κατά κάποιον τρόπο ενεργοποιούν τον υποδοχέα όταν τον καταλαμβάνουν, είτε ως ανταγωνιστές, οι οποίοι δεν προκαλούν καμία ενεργοποίηση. Ωστόσο, η ικανότητα ενός μορίου φαρμάκου να ενεργοποιεί τον υποδοχέα και είναι στην πραγματικότητα μια βαθμιδωτή ιδιότητα και όχι δράση τύπου «ναι/όχι». Εάν μια σειρά χημικών συγγενών αγωνιστών που δρουν στον ίδιο υποδοχέα εξεταστούν σε ένα ορισμένο βιολογικό σύστημα, συχνά διαπιστώνεται ότι η υψηλότερη απόκριση που μπορεί να επιτευχθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις των φαρμάκων διαφέρει μεταξύ των φαρμάκων. Ορισμένες ενώσεις (γνωστές ως *πλήρεις αγωνιστές*) μπορούν να προκαλέσουν μέγιστη απόκριση (την υψηλότερη απόκριση που μπορεί να παρουσιάσει ο ιστός), ενώ άλλες (*μερικοί αγωνιστές*) μπορούν να επιτελέσουν υπομέγιστη απόκριση μόνο. Το Σχήμα 2.7A δείχνει τις καμπύλες συγκέντρωσης/αποτελέσματος για διαφόρους αγωνιστές α-αδρενεργικών υποδοχέων (Κεφ. 14) που προκαλούν σύσπαση απομονωμένων ταινιών αορτής κουνελιού. Ο πλήρης αγωνιστής *φαινυλεφρίνη* προκάλεσε τη μέγιστη επίδραση που μπορεί να παρουσιάσει ο ιστός, ενώ οι άλλες ενώσεις μπορούν να προκαλέσουν υπομέγιστες αποκρίσεις μόνο και χαρακτηρίζονται μερικοί αγωνιστές. Η διαφορά μεταξύ πλήρους και μερικού αγωνιστή εντοπίζεται στη σχέση μεταξύ του ποσοστού κατάληψης υποδοχέων και της απόκρισης. Το πείραμα που φαίνεται στο Σχήμα 2.7 επιτρέπει την εκτίμηση της συγγένειας των διαφόρων φαρμάκων για τον υποδοχέα, και συνεπώς (με βάση το θεωρητικό μοντέλο που θα περιγραφεί αργότερα, σελ. 19) τον υπολογισμό του κλάσματος των υποδοχέων που έχουν καταληφθεί, ή αλλιώς το *ποσοστό κατάληψης* (occupancy), ανάλογα με τη συγκέντρωση του φαρμάκου. Τα διαγράμματα της απόκρισης ως συνάρτηση του ποσοστού κατάληψης για τις διάφορες ενώσεις φαίνονται στο Σχήμα 2.7B, το οποίο δείχνει ότι με τους μερικούς αγωνιστές η απόκριση σε ένα ορισμένο ποσοστό κατάληψης είναι χαμηλότερη απ' ό,τι με τους πλήρεις αγωνιστές. Ο ασθενέστερος μερικός αγωνιστής *τολαζολίνη*, προκαλεί σχεδόν μηδενική απόκριση, ακόμα και με ποσοστό κατάληψης 100% και συνήθως χαρακτηρίζεται ως *συναγωνιστικός ανταγωνιστής* (σελ. 10 και Κεφ. 14).

Αυτές οι διαφορές μπορούν να εκφραστούν ποσοτικά με όρους *αποτελεσματικότητας* (efficacy, *e*), μιας παραμέτρου που ορίστηκε για πρώτη φορά από τον Stephenson (1956) και περιγράφει την ικανότητα του συμπλέγματος αγωνιστή-υποδοχέα να προκαλεί απόκριση στον ιστό. Στο απλό σύστημα που φαίνεται στο Σχήμα 2.1, η αποτελεσματικότητα περιγράφει την τάση του συμπλέγματος φαρμάκου-υποδοχέα να υιοθετήσει την ενεργή κατάσταση (AR*) αντί για την κατάσταση ηρεμίας (AR). Ένα φάρμακο με μηδενική αποτελεσματικότητα ($e = 0$) δεν έχει τάση να προκαλέσει ενεργοποίηση του υποδοχέα και δεν προκαλεί ιστική απόκριση. Ένας πλήρης αγωνιστής είναι ένα φάρμακο⁴ η αποτελεσματικότητά του οποίου είναι επαρκής ώστε να προκαλεί μέγιστη ανταπόκριση όταν έχει καταλάβει

³Αυτό το είδος ανταγωνισμού ονομάζεται και μη συναγωνιστικός, αλλά αυτός ο όρος είναι ασαφής και είναι καλύτερο να αποφεύγεται σε αυτές τις περιπτώσεις.

⁴Στη διατύπωση του Stephenson, η αποτελεσματικότητα είναι το αντίστροφο του ποσοστού κατάληψης που απαιτείται για να επιτευχθεί το 50% της μέγιστης απόκρισης, συνεπώς $e = 25$ σημαίνει ότι το 50% της μέγιστης απόκρισης σημειώνεται σε ποσοστό κατάληψης 4%. Δεν υπάρχει θεωρητικό ανώτατο όριο στην αποτελεσματικότητα.

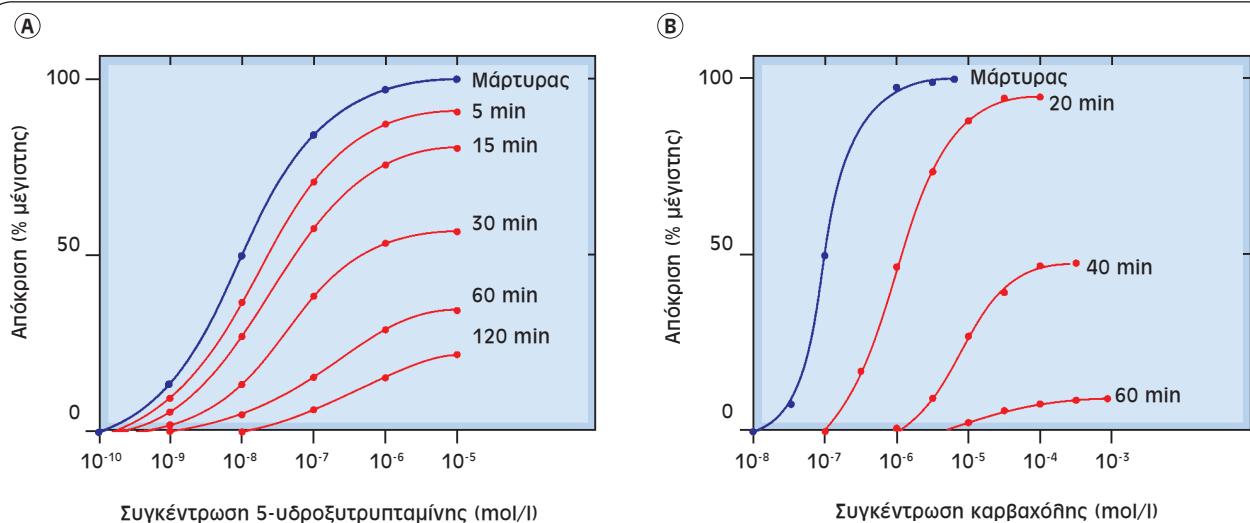


Σχήμα 2.5 Συναγωνιστικός ανταγωνισμός της ισοπρεναλίνης από την προπρανολόλη, όπως μετρήθηκε σε απομονωμένους καρδιακούς κόλπους ινδικών χοιριδίων. [A] Καμπύλες συγκέντρωσης/αποτελέσματος σε διάφορες συγκεντρώσεις προπρανολόλης (σημειωμένες επάνω στις καμπύλες). Προσέξτε τη σταδιακή μετατόπιση προς τα δεξιά χωρίς μεταβολή της κλίσης ή του μεγίστου. [B] Διάγραμμα Schild (εξίσωση 2.10, σελ. 19). Η σταθερά ισορροπίας (K) για την προπρανολόλη δίνεται από την τετμημένη, $2,2 \times 10^{-9}$ mol/l. (Αποτελέσματα από: Potter L T, 1967 Uptake of propranolol by isolated guinea-pig atria. *J Pharmacol Exp Ther* 55: 91–100).

λιγότερο από το 100% των υποδοχέων. Ο μερικός αγωνιστής έχει μικρότερη αποτελεσματικότητα, ώστε και με κατάληψη του 100% των υποδοχέων προκαλεί υπομέγιστη ανταπόκριση.

▼ Αργότερα, διαπιστώθηκε ότι τα χαρακτηριστικά του ιστού (π.χ., ο αριθμός των υποδοχέων που διαθέτει και η φύση της σύζευξης μεταξύ του υποδοχέα και της απόκρισης, Κεφ. 3), αλλά και του ίδιου του φαρμάκου, διαδραματίζουν, επίσης, σημαντικό ρόλο, και έτσι αναπτύχθηκε η έννοια της *εγγενούς αποτελεσματικότητας* (intrinsic efficacy, Jenkinson, 1996· Kenakin, 1997), η οποία μπορεί να ερμηνεύσει ορισμένα ανώμαλα ευρήματα. Π.χ., ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των ιστών, ένα ορισμένο φάρμακο μπορεί να δρα ως πλήρης αγωνιστής σε έναν ιστό, αλλά ως μερικός αγωνιστής σε άλλον, παρότι ο υποδοχέας είναι ο ίδιος.

Καλό θα ήταν να μπορούσαμε να εξηγήσουμε τι σημαίνει «αποτελεσματικότητα» με όρους φυσικής και να κατανοήσουμε γιατί ένα φάρμακο είναι αγωνιστής ενώ ένα άλλο, χημικώς πολύ όμοιο, είναι ανταγωνιστής. Αρχίζουμε να κατανοούμε τα μοριακά συμβάντα στα οποία στηρίζεται η ενεργοποίηση των υποδοχέων (και τα οποία περιγράφονται στο Κεφ. 3) αλλά δεν μπορούμε ακόμη να εξηγήσουμε σαφώς γιατί κάποια προσδέματα είναι αγωνιστές και άλλα ανταγωνιστές, αν και το απλό θεωρητικό μοντέλο δύο καταστάσεων που περιγράφεται ακολούθως αποτελεί χρήσιμη αφετηρία.



Σχήμα 2.6 Επιδράσεις μη αναστρέψιμων συναγωνιστικών ανταγωνιστών επάνω στις καμπύλες συγκέντρωσης/αποτελέσματος αγωνιστή. [A] Λείος μυς στομάχου επίμοσ που αντιδρά σε 5-υδροξυτριπταμίνη σε διάφορα χρονικά σημεία μετά από προσθήκη μεθυσεργίδης (10^{-9} mol/l). [B] Στόμαχος κουνελιού που αντιδρά στην καρβαχόλη σε διάφορα χρονικά σημεία μετά από προσθήκη διβεναμίνης (10^{-5} mol/l). ([A] Κατά Frankhuijsen A L, Bonta I L 1974 *Eur J Pharmacol* 26: 220, [B] Κατά Furchgott R F 1965 *Adv Drug Res* 3: 21)

3

Πώς δρουν τα φάρμακα: μοριακές πτυχές

ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ

Σε αυτό το κεφάλαιο, προχωρούμε πέρα από τις γενικές αρχές της δράσης των φαρμάκων που περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 2 και εξετάζουμε τα μόρια που συμμετέχουν στην αναγνώριση των χημικών σημάτων και στη μετατροπή τους σε κυτταρικές αποκρίσεις. Η μοριακή φαρμακολογία εξελίσσεται με γρήγορους ρυθμούς και οι νέες γνώσεις που συγκεντρώνονται αλλάζουν τον τρόπο που κατανοούμε τη δράση των φαρμάκων και ανοίγουν πολλές νέες θεραπευτικές δυνατότητες, οι οποίες θα εξεταστούν αναλυτικότερα σε επόμενα κεφάλαια.

Θα μελετήσουμε πρώτα τα είδη πρωτεϊνών-στόχων επί των οποίων δρουν τα φάρμακα. Κατόπιν, θα περιγράψουμε τις κυριότερες οικογένειες υποδοχέων και καναλιών ιόντων που έχουν ανακαλυφθεί με μελέτες κλωνοποίησης και δομικής ανάλυσης. Τέλος, θα συζητήσουμε τις διάφορες μορφές σύνδεσης υποδοχέων-ενδογενών διαμεσολαβητών (μηχανισμοί μετάδοσης σημάτων) μέσω των οποίων οι υποδοχείς συμμετέχουν στη ρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών: εδώ, η σχέση μεταξύ της μοριακής δομής ενός υποδοχέα και της λειτουργικής σύνδεσής του με έναν ορισμένο τύπο συστήματος ενδογενών διαμεσολαβητών αποτελεί βασικό στοιχείο. Στα δύο επόμενα κεφάλαια θα δούμε πώς αυτά τα μοριακά συμβάντα τροποποιούν σημαντικές πτυχές της κυτταρικής λειτουργίας – μια χρήσιμη βάση για την κατανόηση της επίδρασης των φαρμάκων σε ζωντανούς οργανισμούς. Θα δώσουμε περισσότερες λεπτομέρειες για την κατανόηση της σύγχρονης φαρμακολογίας σε βασικό επίπεδο. Οι φοιτητές μπορούν να παραλείψουν ή να διαβάσουν επί τροχάδην τα κεφάλαια αυτά, όπως προτιμούν, χωρίς να χάνουν τον ειρμό του βιβλίου. Είμαστε, όμως, βέβαιοι ότι η φαρμακολογία του αύριο θεμελιώνεται στις προόδους της κυτταρικής και της μοριακής βιολογίας που παρουσιάζονται εδώ.

ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Οι πρωτεϊνικοί στόχοι της δράσης των φαρμάκων στα κύτταρα των θηλαστικών (Σχ. 3.1) που περιγράφονται σε αυτό το κεφάλαιο διακρίνονται γενικά στις εξής κατηγορίες:

- υποδοχείς
- κανάλια ιόντων
- ένζυμα
- μεταφορείς (μεταφορικά μόρια).

Τα περισσότερα σημαντικά φάρμακα επιδρούν σε κάποιον

από τους παραπάνω τύπους πρωτεϊνών, όμως υπάρχουν και εξαιρέσεις. Π.χ., η **κολχικίνη** (Κεφ. 26) αλληλεπιδρά με τη δομική πρωτεΐνη τουμπουλίνη, ενώ αρκετά ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (π.χ., **κυκλοσπορίνη**, Κεφ. 26) δεσμεύονται σε ορισμένες κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που ονομάζονται «ανοσοφιλίνες». Υπάρχουν, επίσης, θεραπευτικά αντισώματα που δρουν μέσω της δέσμευσης και απομόνωσης ορισμένων κυτταροκινών (πρωτεϊνικών διαμεσολαβητών που συμμετέχουν στη φλεγμονή, Κεφ. 26). Οι στόχοι των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων (Κεφ. 50–56), τα οποία αποσκοπούν στην καταστροφή των ξένων μικροοργανισμών ή των καρκινικών κυττάρων, περιλαμβάνουν μόρια DNA, συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος, αλλά και άλλες πρωτεΐνες.

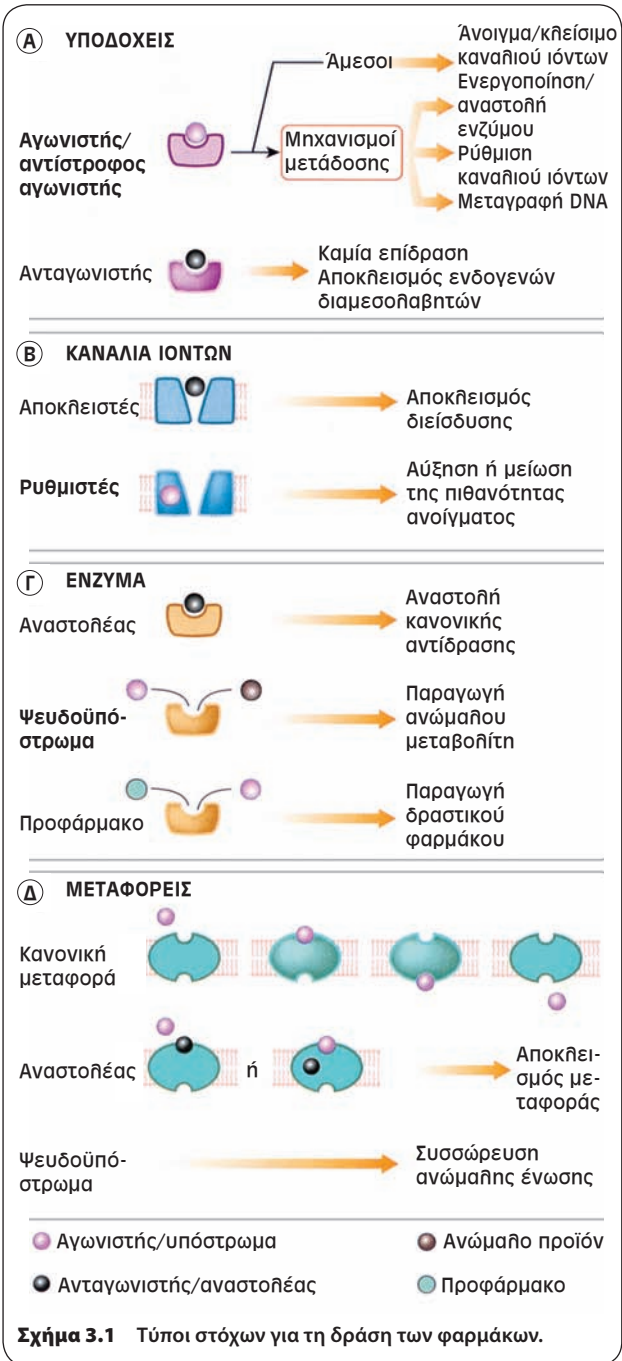
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Οι υποδοχείς (Σχ. 3.1A) αποτελούν τα αισθητήρια στοιχεία του συστήματος χημικής επικοινωνίας που συντονίζει τη λειτουργία όλων των κυττάρων του οργανισμού και το οποίο χρησιμοποιεί ως χημικούς αγγελιαφόρους τις διάφορες ορμόνες, τους διαβιβαστές και άλλους διαμεσολαβητές που παρουσιάζονται στην Ενότητα 2. Πολλά φάρμακα με θεραπευτική χρησιμότητα επιδρούν, είτε ως αγωνιστές είτε ως ανταγωνιστές, σε υποδοχείς γνωστών ενδογενών διαμεσολαβητών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο ενδογενής διαμεσολαβητής είχε ανακαλυφθεί πολύ πριν (μέχρι και πολλά χρόνια πριν) χαρακτηριστεί φαρμακολογικά και βιοχημικά ο υποδοχέας, αλλά πρόσφατα, πολλοί υποδοχείς ταυτοποιήθηκαν αρχικά με βάση τα φαρμακολογικά ή μοριακά χαρακτηριστικά τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως, π.χ., οι υποδοχείς των κανναβινοειδών (Κεφ. 19 και 42), ο ενδογενής διαμεσολαβητής ταυτοποιήθηκε αργότερα, ενώ υπάρχουν υποδοχείς (οι λεγόμενοι *ορφανοί υποδοχείς*, βλ. ακολούθως) για τους οποίους ο διαμεσολαβητής, αν υπάρχει, παραμένει άγνωστος.

ΚΑΝΑΛΙΑ ΙΟΝΤΩΝ

Τα κανάλια ιόντων¹ είναι ουσιαστικά πύλες στις κυτταρικές μεμβράνες, οι οποίες επιτρέπουν επιλεκτικά τη διέλευση συγκεκριμένων ιόντων και οι οποίες ανοίγουν και κλείνουν υπό την επίδραση διαφόρων μηχανισμών. Δύο σημαντικοί τύποι καναλιών είναι τα *ελεγχόμενα από το πρόσδεμα* (ligand-gated) και τα *εξαρτώμενα από το δυναμικό* (voltage-gated) κανάλια. Τα πρώτα ανοίγουν μόνον όταν δεσμευτούν ένα ή περισσότερα μόρια αγωνιστή, και ορθά κατατάσσονται στους υποδοχείς, καθώς απαιτείται δέσμευση του αγωνιστή για να ενεργοποιηθούν. Τα εξαρτώμενα από το δυναμικό κανάλια ελέγχονται από μεταβολές στο διαμεμβρανικό δυναμικό και όχι από αγωνιστές.

¹«Τα κανάλια ιόντων και οι ηλεκτρικές ιδιότητες που αυτά προσδίδουν στα κύτταρα εμπλέκονται σε όλα τα ανθρώπινα χαρακτηριστικά που μας διακρίνουν από τις πέτρες στον αγρό.» (Armstrong C M 2003 Voltage-gated K channels- <http://www.stke.org>)



Γενικά, τα φάρμακα μπορούν να επηρεάσουν τα κανάλια ιόντων με διάφορους τρόπους:

1. Αποκλείουν τη διόδο ιόντων στα κανάλια που ελέγχονται από πρόσδεμα, δεσμευόμενα στην πρωτεΐνη του καναλιού είτε στο σημείο δέσμευσης του προσδέματος (ορθοστερικό), είτε σε άλλα σημεία (αλλοστερικά), ή, στην πιο απλή περίπτωση, όπως στο χαρακτηριστικό παράδειγμα των τοπικών αναισθητικών που δρουν σε κανάλια νατρίου που ελέγχονται από το δυναμικό (Κεφ. 43), το μόριο του φαρμάκου φράζει το κανάλι με φυσικό τρόπο (Σχ. 3.1 Β). Παραδείγματα φαρμάκων που δεσμεύονται σε αλλοστερικές θέσεις στις πρωτεΐνες των καναλιών και επηρεάζουν τη διαβατότητά τους, περιλαμβάνουν:

- ηρεμιστικά **βενζοδιαζεπίνης** (Κεφ. 44). Αυτά τα φάρμακα δεσμεύονται σε μια περιοχή του συμπλέγματος καναλιού χλωρίου/υποδοχέα GABA_A (ένα ελεγχόμενο από πρόσδεμα κανάλι) διαφορετική από τη θέση δέσμευσης του GABA και διευκολύνουν τη διάνοιξη του καναλιού από τον ανασταλτικό νευροδιαβιβαστή GABA (Κεφ. 38).
 - αγγειοδιασταλτικά φάρμακα τύπου **διυδροπυριδίνης** (Κεφ. 22), τα οποία αναστέλλουν τη διάνοιξη των καναλιών ασβεστίου τύπου L (Κεφ. 4)
 - **σουλφονουρίες** (Κεφ. 31) που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του διαβήτη και δρουν στα ελεγχόμενα από την ATP κανάλια καλίου στα β κύτταρα του παγκρέατος, αυξάνοντας την έκκριση ινσουλίνης.
2. Με έμμεση επίδραση, διά μέσου μιας G πρωτεΐνης και άλλων διαμεσολαβητών (σελ. 30). (Check)
 3. Μεταβάλλοντας τα επίπεδα έκφρασης των καναλιών ιόντων στην επιφάνεια των κυττάρων. Π.χ., η γκαμπαπεντίνη μειώνει την ένθεση νευρωνικών καναλιών ασβεστίου στην κυτταρική μεμβράνη (Κεφ. 45).

Μια περίληψη των διαφόρων οικογενειών καναλιών ιόντων με τις αντίστοιχες λειτουργίες δίνεται ακολούθως.

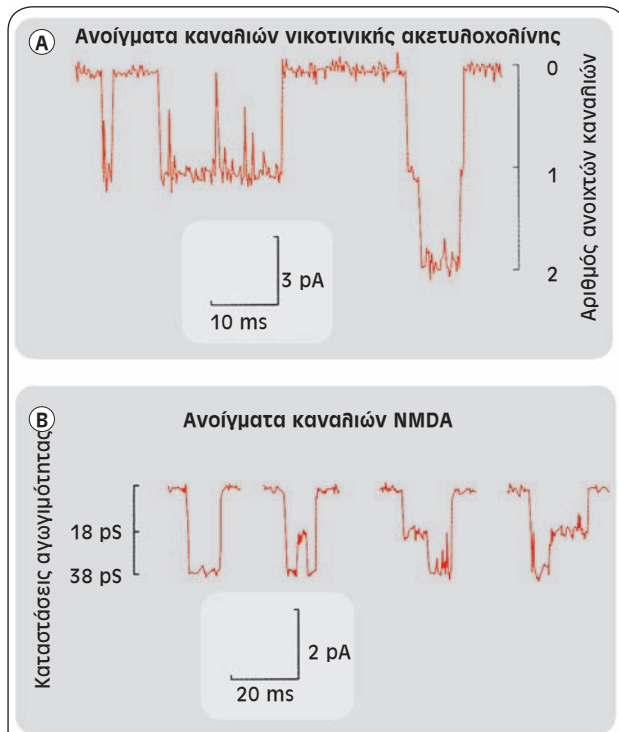
ΕΝΖΥΜΑ

Πολλά φάρμακα επιδρούν σε ένζυμα (Σχ. 3.1Γ) –όπως τα παραδείγματα του Πίνακα 3.1. Πολύ συχνά, το μόριο του φαρμάκου είναι ένα ανάλογο του υποστρώματος που δρα ως συναγωνιστικός αναστολέας του ενζύμου (π.χ., η **καπτοπρίλη**, που δρα στο μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης – Κεφ. 22), ενώ σε άλλες περιπτώσεις η δέσμευση είναι μη αναστρέψιμη και μη συναγωνιστική (π.χ., η **ασπιρίνη**, που δρα στην κυκλοοξυγονάση – Κεφ. 26). Ένα φάρμακο μπορεί, επίσης, να δράσει ως ψευδοϋπόστρωμα, όταν υφίσταται χημικό μετασχηματισμό και μετατρέπεται σε ένα ανώμαλο προϊόν που εκτρέπει την κανονική μεταβολική οδό. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι το αντικαρκινικό φάρμακο **φθοριοουρακίλη**, το οποίο υποκαθιστά την ουρακίλη ως ενδιάμεση ένωση κατά τη βιοσύνθεση των πουρινών, αλλά δεν μπορεί να μετατραπεί σε θυμιδυλικό, με αποτέλεσμα να διακόπτεται η σύνθεση του DNA και να εμποδίζεται η κυτταρική διαίρεση (Κεφ. 56).

Πρέπει, επίσης, να αναφερθεί ότι ορισμένα φάρμακα χρειάζεται να υποστούν ενζυμική αποικοδόμηση για να μετατραπούν από την ανενεργή μορφή τους (προφάρμακο, Κεφ. 9) σε δραστική μορφή. (π.χ., εστεράσες μεταβολίζουν την **εναλαπρίλη** σε εναλαπριλάτη, η οποία αναστέλλει το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτασίνης). Επιπλέον, όπως θα αναλυθεί στο Κεφάλαιο 57, συχνά προκαλείται τοξικότητα από την ενζυμική μετατροπή του φαρμάκου σε έναν δραστικό μεταβολίτη. Η **παρακεταμόλη** (Κεφ. 26) προκαλεί ηπατική βλάβη κατ’ αυτόν τον τρόπο. Σε ό,τι αφορά την κύρια δράση του φαρμάκου, αυτό αποτελεί ανεπιθύμητη ενέργεια, αλλά έχει μεγάλη σημασία κατά τη χορήγηση του φαρμάκου.

ΜΕΤΑΦΟΡΕΙΣ

Η μετακίνηση ιόντων και μικρών οργανικών μορίων διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών πραγματοποιείται κατά κανόνα είτε μέσω καναλιών (βλ. ανωτέρω) είτε μέσω της δράσης μιας μεταφορικής πρωτεΐνης, καθώς πολλά εισερχόμενα μόρια είναι τόσο πολικά (ανεπαρκώς λιποδιαλυτά), ώστε δεν μπορούν να διασχίσουν μόνα τους τις λιπιδικές μεμβράνες (Σχ. 3.1Δ). Γνωρίζουμε πολλούς τέτοιους μεταφορείς: μερικά



Σχήμα 3.6 Καταγραφή ανοιγμάτων σε μονήρη κανάλια ιόντων με την τεχνική καθήλωσης δυναμικού. [A] Κανάλια ιόντων ελεγχόμενα από ακετυλοχολίνη στην τελική κινητική πλάκα του βατράχου. Η πιπέτα, η οποία εφαρμόζεται στεγανά στην επιφάνεια της μεμβράνης, περιείχε 10 $\mu\text{mol/l}$ ACh. Οι κατωφερείς εκτροπές αντιστοιχούν σε ρεύμα που διέρχεται διαμέσου μεμονωμένων καναλιών ιόντων μέσα στο μικρό τμήμα της μεμβράνης που βρίσκεται κάτω από το ρύγχος της πιπέτας. Προς το τέλος της καταγραφής φαίνεται το ταυτόχρονο άνοιγμα δύο καναλιών με διακριτό βήμα μεταξύ πρώτου και δεύτερου. [B] Καταγραφή ιονικών ρευμάτων σε μονήρη κανάλια NMDA υποδοχέων σε νευρώνες παρεγκεφαλίδας με την τεχνική καθήλωσης δυναμικού σε διαμόρφωση στο εξωτερικό της μεμβράνης. NMDA προστέθηκε στο εξωτερικό της μεμβράνης για να ενεργοποιήσει (ανοίξει) το κανάλι. Το κανάλι ανοίγει σε πολλαπλά επίπεδα αγωγιμότητας. Στο [B] τα ανοίγματα σε υψηλότερα επίπεδα αγωγιμότητας και τα κλεισίματα είναι ομαλά, υποδεικνύοντας ότι ανοίγει ένα κανάλι (δεν αναμένεται να ανοίγουν και να κλείνουν δύο κανάλια ταυτόχρονα), ενώ στο [A] παρατηρούνται διακριτά βήματα, υποδεικνύοντας δύο κανάλια. ([A] με την ευγενή χορηγία των *D Colquhoun and DC Ogden*. Β] ανάπτυξη κατόπιν αδείας των *Cull-Candy SG & Usowicz MM 1987 Nature 325, 525-528*.)

η πιο πολυπληθής κατηγορία στόχων θεραπευτικών φαρμάκων· πιστεύεται ότι υπάρχουν πολλοί ενδιαφέροντες στόχοι θεραπευτικών φαρμάκων που δεν έχουν αναγνωριστεί ακόμα (Hill, 2006).

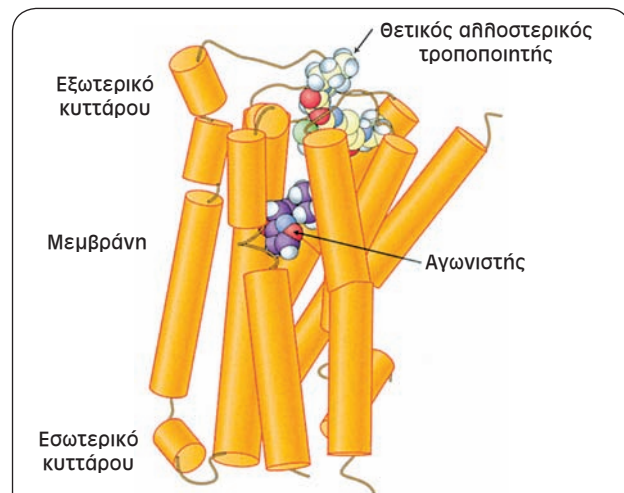
ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΟΜΗ

Ο πρώτος GPCR που χαρακτηρίστηκε πλήρως ήταν ο β αδρενεργικός υποδοχέας (Κεφ. 14), ο οποίος κλωνοποιήθηκε το 1986. Η μοριακή βιολογία σύντομα άρχισε να συμβαδίζει με τη φαρμακολογία, και σήμερα έχουν πλέον κλωνοποιηθεί όλοι οι υποδοχείς που έχουν αναγνωριστεί μέσω των φαρμακολογικών ιδιοτήτων τους. Αυτό που θεωρούνταν επαναστατικό το 1986 σήμερα είναι κοινότοπο. Πρόσφατα, ξεπεράστηκαν οι δυσκολίες κρυστάλλωσης των υποδοχέων GPCR (Weis

& Kobilka, 2008), επιτρέποντας τη λεπτομερή μελέτη της μοριακής δομής αυτών των πρωτεϊνών με την ισχυρή αναλυτική τεχνική της κρυσταλλογραφίας με ακτίνες X (Σχ. 3.7). Επίσης, αναπτύχθηκαν μέθοδοι φθορισμού με τη βοήθεια των οποίων μελετήθηκε η κινητική της δέσμευσης προσδέματος και συνακόλουθων μεταβολών στη στερεοδιάταξη του υποδοχέα σε σχέση με την ενεργοποίηση (Loshe et al., 2008; Bockenhauer et al., 2011). Οι τεχνικές αυτές έχουν συμβάλει στην παροχή σημαντικών πληροφοριών σχετικά με την επίδραση αγωνιστών και ανταγωνιστών στη διαμόρφωση των υποδοχέων, καθώς και των αλληλεπιδράσεων με τις G πρωτεΐνες. Αυτές οι μελέτες βοήθησαν στην κατανοήση του μηχανισμού ενεργοποίησης των GPCR και των παραγόντων που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα των αγωνιστών, και ταυτόχρονα παρέχουν γνώσεις για τον σχεδιασμό νέων προσδεμάτων για τις GPCR.

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς αποτελούνται από μία μοναδική πολυπεπτιδική αλυσίδα, συνήθως 350-400 δομικών μονάδων, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι μέχρι και 1.100 αμινοξέα. Η γενική δομή τους φαίνεται στο Σχήμα 3.3B. Η χαρακτηριστική δομή τους περιλαμβάνει επτά διαμεμβρανικές α έλικες, όμοιες με τις έλικες των καναλιών ιόντων που περιγράφηκαν παραπάνω, με μια εξωκυττάρια αμινοτελική περιοχή ποικίλου μήκους και μια ενδοκυττάρια καρβοξυτελική περιοχή.

Οι GPCR χωρίζονται σε τρεις διακριτές οικογένειες. Παρατηρείται σημαντική ομολογία στην αλληλουχία των μελών κάθε οικογένειας, αλλά καθόλου ομολογία μεταξύ των διαφόρων οικογενειών. Έχουν την ίδια δομή επτά ελίκων, αλλά διαφέρουν σε άλλα σημεία, και ιδίως στο μήκος της εξωκυττάριας αμινοτελικής περιοχής και στη θέση της περιοχής δέσμευσης αγωνιστών (Πίνακας 3.2). Η οικογένεια A είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από τις άλλες, καθώς περιλαμβάνει τους περισσότερους υποδοχείς μονοαμινών, νευροπεπτιδίων και χημειοκινών. Η οικογένεια B περιλαμβάνει υποδοχείς για ορισμένα άλλα πεπτιδία, όπως η καλσιτονίνη και η γλυκαγό-



Σχήμα 3.7 Η δομή του μουσκαρινικού υποδοχέα M_4 . Απεικόνιση υψηλής ανάλυσης της διαμόρφωσης του μουσκαρινικού υποδοχέα M_4 δεσμευμένου με έναν αγωνιστή (ορθοστερικό) και έναν θετικό αλλοστερικό τροποποιητή. Οι κύλινδροι αντιπροσωπεύουν τις διαμεμβρανικές δομές. Δεν απεικονίζεται η πλήρης δομή των N- και C-τερματικών περιοχών καθώς και ο τρίτος ενδοκυττάριας βρόγχος. (Με την ευγενική άδεια του *A. Christopoulos*).

Πίνακας 3.2 Οικογένειες υποδοχέων συζευγμένων με G-πρωτεΐνες^α

Οικογένεια	Υποδοχείς ^β	Δομικά χαρακτηριστικά
A: οικογένεια ροδοψίνης	Η μεγαλύτερη ομάδα. Υποδοχείς για τους περισσότερους αμινοκίτους νευροδιαβιβαστές, πολλά νευροπεπτίδια, πουρίνες, προσταννοειδή, κανναβινοειδή κ.λπ.	Μικρή εξωκυττάρια (αμινοτελική) ουρά. Το πρόσδεμα δεσμεύεται σε διαμεμβρανικές έλικες (αμίνες) ή σε εξωκυττάρια βρόχους (πεπτίδια)
B: οικογένεια υποδοχέων σεκρετίνης/γλυκαγόνης	Υποδοχείς για πεπτιδικές ορμόνες, όπως σεκρετίνη, γλυκαγόνη, καλσιτονίνη	Ενδιάμεση εξωκυττάρια ουρά που περιλαμβάνει την περιοχή δέσμευσης προσδέματος
Γ: οικογένεια μεταβολοτρόπου υποδοχέα γλουταμινικού/αίσθητήρα ασβεστίου	Μικρή ομάδα. Μεταβολοτρόποι υποδοχείς γλουταμινικού, υποδοχείς GABA _B , υποδοχείς αίσθησης Ca ²⁺	Μακριά εξωκυττάρια ουρά που περιλαμβάνει την περιοχή δέσμευσης προσδέματος

^α Μια τέταρτη χωριστή οικογένεια περιλαμβάνει πολλούς υποδοχείς φερομονών αλλά κανέναν φαρμακολογικό υποδοχέα.

^β Για ένα πλήρη κατάλογο, <http://www.iuphar-db.org>.

νη. Η οικογένεια Γ είναι η μικρότερη: τα σημαντικότερα μέλη της είναι οι μεταβολοτρόποι υποδοχείς γλουταμινικού και GABA (Κεφ. 39) και οι υποδοχείς αίσθησης Ca²⁺ (Κεφ. 36).⁸

Η κατανόηση της λειτουργίας των υποδοχέων αυτού του τύπου βελτιώθηκε σημαντικά χάρη στη μελέτη μιας συγγενικής πρωτεΐνης, της *ροδοψίνης*, η οποία εκτελεί τη μετάδοση σημάτων στα ραβδία του αμφιβληστροειδούς. Αυτή η πρωτεΐνη αφθονεί στον αμφιβληστροειδή και μπορεί να μελετηθεί πολύ ευκολότερα απ' ό,τι οι πρωτεϊνικοί υποδοχείς (οι οποίοι σπανίζουν): συντίθεται με το ίδιο πρότυπο όπως αυτό που φαίνεται στο Σχήμα 3.3 και προκαλεί και αυτή την απόκριση των ραβδίων (υπερπόλωση που συνοδεύεται από αναστολή της αγωγιμότητας μέσω Na⁺) με έναν μηχανισμό στον οποίο συμμετέχει μια G-πρωτεΐνη (σελ. 35, Σχ. 3.9). Η πιο εμφανής διαφορά είναι το γεγονός ότι η απόκριση πυροδοτείται από ένα φωτόνιο και όχι από ένα μόριο αγωνιστή. Στην πράξη, μπορεί κανείς να θεωρήσει ότι η ροδοψίνη φέρει ενσωματωμένο το μόριο του αγωνιστή της, τη *ρετινάλη*, η οποία ισομερίζεται από τη μορφή *trans* (αδρανής) στη μορφή *cis* (ενεργή) όταν απορροφήσει ένα φωτόνιο.

Πειράματα κατευθυνόμενης μεταλλαξιογένεσης δείχνουν ότι ο μακρός τρίτος κυτταροπλασματικός βρόχος είναι η περιοχή του μορίου που συζεύγνυται με την G-πρωτεΐνη, επειδή μια έλλειψη ή τροποποίηση αυτής της περιοχής παράγει υποδοχείς που μπορούν να δεσμεύσουν το πρόσδεμα, αλλά δεν μπορούν να συζευχθούν με G-πρωτεΐνες ή να προκαλέσουν απόκριση. Συνήθως, ένας ορισμένος υποτύπος υποδοχέα συζεύγνυται εκλεκτικά με μια ορισμένη G-πρωτεΐνη και η αντικατάσταση τμημάτων του κυτταροπλασματικού βρόχου με τμήματα από έναν άλλο υποδοχέα τροποποιεί την εκλεκτικότητα του υποδοχέα ως προς τις G-πρωτεΐνες. Η φωσφορυλίωση μορίων σερίνης και θρεονίνης, από ενδοκυττάρια κινάσες, στο καρβοξυτελικό άκρο και σε άλλες ενδοκυττάρια περιοχές μπορεί να οδηγήσει σε απευαισθητοποίηση των υποδοχέων (σελ. 36).

Για τα μικρά μόρια, όπως η νοραδρεναλίνη, η περιοχή δέσμευσης προσδέματος των υποδοχέων κατηγορίας A βρίσκεται «θαμμένη» στην αύλακα μεταξύ των τμημάτων α

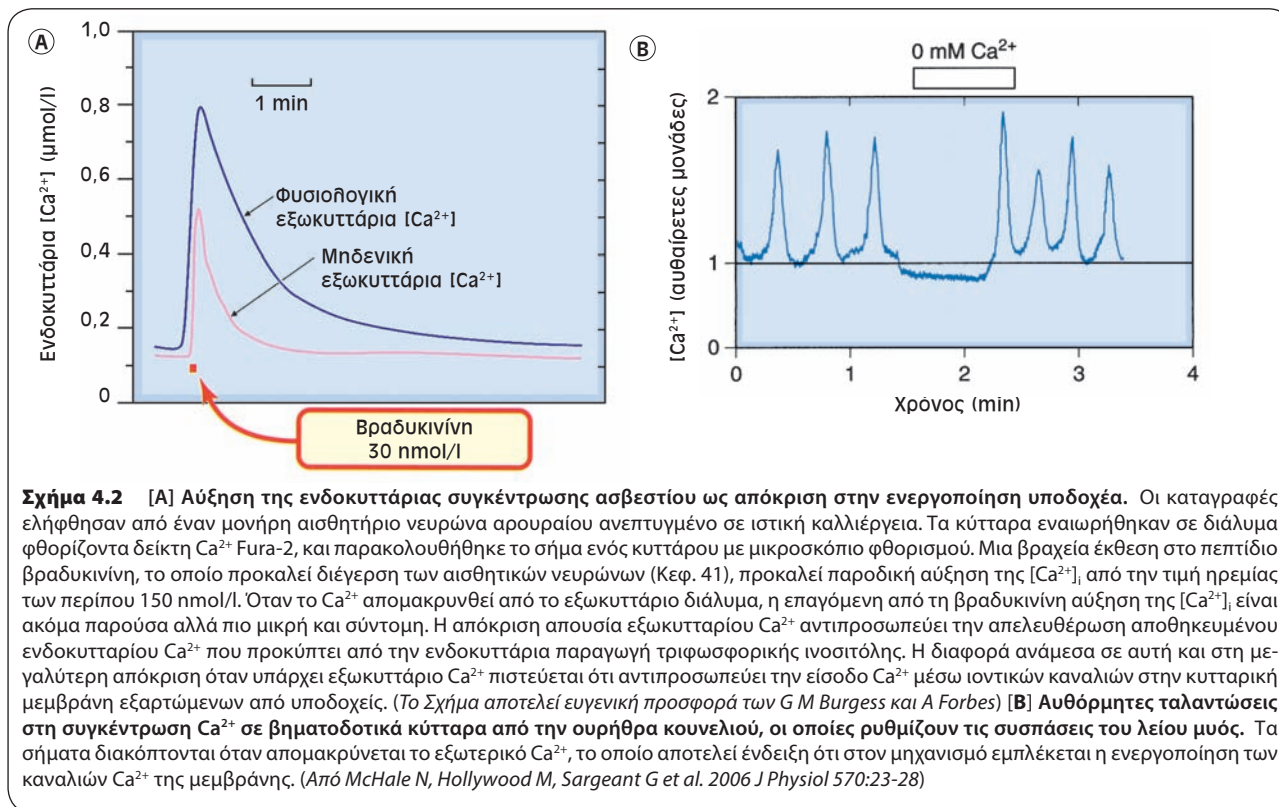
έλικας εντός της μεμβράνης (Σχ. 3.3B και 3.7), παρόμοια με τη σχισμή που καταλαμβάνει η ρετινάλη στο μόριο της ροδοψίνης. Τα πεπτιδικά προσδέματα, όπως η ουσία P (Κεφ. 19), δεσμεύονται πιο επιφανειακά στους εξωκυττάρια βρόχους, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.3B. Μέσω πειραμάτων σηματικής μεταλλαξιογένεσης μπορούμε να χαρτογραφήσουμε την περιοχή δέσμευσης προσδέματος σε αυτούς τους υποδοχείς, και ίσως να μπορούμε σύντομα να σχεδιάσουμε συνθετικά προσδέματα βάσει των γνώσεών μας για τη δομή της θέσης του υποδοχέα –ένα σημαντικό ορόσημο για τη φαρμακοβιομηχανία, η οποία μέχρι σήμερα στηρίζεται κυρίως στη δομή ενδογενών διαμεσολαβητών (όπως η ισταμίνη) ή φυτικών αλκαλοειδών (όπως η μορφίνη) για καινοτόμα φάρμακα⁹ υποδοχέων GPCR τύπου A, γεγονός που επέτρεψε τη χρήση της ισχυρής τεχνικής της κρυσταλλογραφίας ακτίνων X για τη λεπτομερή μελέτη της μοριακής δομής αυτών των υποδοχέων (Weis & Kobilka, 2008). Επίσης, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι φθορισμού για τη μελέτη της κινητικής της δέσμευσης προσδέματος και των επακόλουθων μεταβολών στη στερεοδιάταξη του υποδοχέα μετά την ενεργοποίηση (Lohse et al., 2008). Από τέτοιες μελέτες αναμένεται να κατανοήσουμε καλύτερα τον μηχανισμό ενεργοποίησης των GPCR και τους παράγοντες που καθορίζουν τη δραστηριότητα των αγωνιστών, καθώς και να αποκτήσουμε μια καλύτερη βάση για τη σχεδίαση νέων προσδεμάτων GPCR.

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΑΣΗ

Η ενεργοποίηση των GPCR είναι συνήθως συνέπεια ενός διαχεόμενου αγωνιστή, αλλά μπορεί να προκύψει και μετά από ενεργοποίηση με πρωτεάση. Έχουν αναγνωριστεί τέσσερις τύποι υποδοχέων ενεργοποιούμενων από πρωτεάση (protease-activated receptors, PAR) (Ramachandran & Hollenberg, 2008). Πολλές πρωτεάσες, όπως η θρομβίνη (μια πρωτεάση που συμμετέχει στη διαδικασία πήξης του αίματος, Κεφ. 24), ενεργοποιούν τους PAR αποκόπτοντας το άκρο του εξωκυττάρια αμινοτελικού άκρου του υποδοχέα (Σχ. 3.8) για να αποκαλυφθούν πέντε ή έξι αμινοτελικά αμινοξέα που δεσμεύονται σε θέσεις των εξωκυττάρια βρόχων και λειτουργούν ως «προσδεμένο αγωνιστή». Υποδοχείς τέτοιου τύπου απαντούν σε πολλούς ιστούς (Ramachandran & Hollenberg, 2008) και φαίνεται ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη φλεγμονή και άλλες αποκρίσεις στην ιστική βλάβη κατά την οποία εκλύονται

⁸Ο υποδοχέας αίσθησης Ca²⁺ (Conigrave et al., 2000) είναι ένας ασυνήθιστος υποδοχέας GPCR που δεν ενεργοποιείται από συμβατικούς διαμεσολαβητές, αλλά από εξωκυττάρια συγκεντρώσεις Ca²⁺ εντός της κλίμακας 1–10 mM, τιμές που αντιστοιχούν σε εξαιρετικά χαμηλή συγγένεια σε σύγκριση με άλλους αγωνιστές GPCR. Εκφράζεται σε κύτταρα του παραθυρεοειδούς αδένου και βοηθά στη ρύθμιση της εξωκυττάρια συγκέντρωσης Ca²⁺ μέσω ελέγχου της έκκρισης παραθυρεοειδούς ορμόνης (Κεφ. 36). Αυτός ο ομοιοστατικός μηχανισμός διαφέρει σαφώς από τους μηχανισμούς ρύθμισης του εξωκυττάρια Ca²⁺ που περιγράφονται στο Κεφάλαιο 4.

⁹Πολλές πρόδρομες ουσίες που αναπτύχθηκαν τα τελευταία χρόνια προήλθαν από μαζικό έλεγχο τεράστιων βιβλιοθηκών χημικών ουσιών (Κεφ. 60). Αυτό δεν χρειάζεται εμπνευση, αλλά ισχυρές μεθόδους ανάλυσης, ισχυρούς υπολογιστές και ρομποτικά συστήματα υψηλής απόδοσης. Σήμερα, με την απεικόνιση κρυσταλλικών δομών προχωρούμε σε πιο εξελιγμένες μεθόδους ανάπτυξης φαρμάκων.



ποίηση ενός συζευγμένου με G-πρωτεΐνη υποδοχέα απεικονίζεται στο Σχήμα 4.2. Η απόκριση που προκαλείται απουσία εξωκυττάρια Ca^{2+} αντιπροσωπεύει την απελευθέρωση ενδοκυττάρια Ca^{2+} . Η ισχυρότερη και πιο παρατεταμένη απόκριση παρουσία εξωκυττάρια Ca^{2+} δείχνει τη συνεισφορά της διαμεσολαβούμενης από SOC εισόδου Ca^{2+} . Οι διάφοροι θετικοί και αρνητικοί παλίνδρομοι μηχανισμοί ελέγχου της $[\text{Ca}^{2+}]_i$ οδηγούν σε χωροχρονικά μοτίβα ταλαντώσεων που είναι υπεύθυνα για την αυθόρμητη ρυθμική δραστηριότητα στα λεία μυϊκά και νευρικά κύτταρα (Berridge, 2009).

ΑΛΛΟΙ ΔΕΥΤΕΡΟΙ ΑΓΓΕΛΙΑΦΟΡΟΙ

Δύο ενδοκυττάρια μεταβολίτες, η κυκλική ADP-ριβόζη (cADPR) και το δινουκλεοτίδιο του φωσφορικού νικοτινικού οξέος (NAADP, Fliegert et al., 2007), το οποίο σχηματίζεται από τα εν αφθονία απαντώμενα συνένζυμα νουκλεοτίδιο του νικοτιναμίδου-αδενίνης (NAD) και φωσφορικού NAD, επίσης επηρεάζουν τη σηματοδότηση Ca^{2+} . Το cADPR δρα αυξάνοντας την ευαισθησία των RyR στο Ca^{2+} , και έτσι ενισχύει το φαινόμενο CICR. Το NAADP απελευθερώνει Ca^{2+} από τα λυσοσώματα ενεργοποιώντας κανάλια ασβεστίου δύο πόρων.

Τα επίπεδα αυτών των αγγελιαφόρων στα κύτταρα των θηλαστικών ρυθμίζονται κυρίως από την κατάσταση μεταβολισμού του κυττάρου, αλλά οι λεπτομέρειες δεν είναι ακόμη γνωστές. Η μη-φυσιολογική σηματοδότηση του Ca^{2+} ευθύνεται για αρκετές παθολογικές καταστάσεις, όπως η ισχαιμία, ο κυτταρικός θάνατος, οι ενδοκρινολογικές διαταραχές και οι καρδιακές δυσρυθμίες, όπου ο ρόλος των cADPR και NAADP και η αλληλεπίδρασή τους με άλλους μηχανισμούς που ελέγχουν την $[\text{Ca}^{2+}]_i$ αποτελούν πεδίο εντατικής έρευνας (Morgan et al., 2011).

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΩΝ

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα μιτοχόνδρια συσσωρεύουν Ca^{2+} παθητικά, ως αποτέλεσμα του ενδομιτοχονδριακού δυναμικού, το οποίο είναι ισχυρά αρνητικό σε σχέση με το κυτταρόπλασμα. Αυτή η

διαφορά δυναμικού διατηρείται με ενεργό εκροή πρωτονίων και χάνεται όταν εξαντλούνται τα αποθέματα ATP του κυττάρου, όπως, π.χ., σε συνθήκες υποξίας, γεγονός που οδηγεί σε απελευθέρωση Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα. Αυτό παρατηρείται μόνο σε ακραίες καταστάσεις, και η προκαλούμενη απελευθέρωση Ca^{2+} συμβάλλει στην κυτταροτοξικότητα που σχετίζεται με μεταβολικές διαταραχές. Ο κυτταρικός θάνατος που προκαλείται από εγκεφαλική ή καρδιακή ισχαιμία (Κεφ. 21 και 40) περιλαμβάνει τον ανωτέρω μηχανισμό, ταυτόχρονα με άλλους που συμβάλλουν σε υπέρμετρη αύξηση της $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

ΚΑΛΜΟΔΟΥΛΙΝΗ

Το ασβέστιο ασκεί τον έλεγχο του στις κυτταρικές λειτουργίες χάρη στην ικανότητά του να ρυθμίζει τη δραστηριότητα πολλών διαφορετικών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων ενζύμων (ιδίως κινασών και φωσφατασών), καναλιών, μεταφορέων, παραγόντων μεταγραφής κ.λπ. Στις περισσότερες περιπτώσεις, μια πρωτεΐνη που προσδένεται με Ca^{2+} χρησιμεύει ως διαμεσολαβής ανάμεσα στο Ca^{2+} και στη ρυθμιζόμενη λειτουργική πρωτεΐνη. Η πλέον γνωστή τέτοια δεσμευτική πρωτεΐνη είναι η πανταχού παρούσα *καλμοδουλίνη* (Clapham, 2007), η οποία αποτελεί έναν σημαντικό ρυθμιστή, γιατί έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τουλάχιστον 40 διαφορετικές λειτουργικές πρωτεΐνες. Είναι διμερής πρωτεΐνη, με τέσσερις θέσεις πρόσδεσης Ca^{2+} . Όταν καταλαμβάνονται όλες, υπόκειται σε μια δομική μεταβολή, εκθέτοντας μια υδροφοβή περιοχή «συγκόλλησης» που έχει την ικανότητα να συνδέεται με πολλές πρωτεΐνες, επηρεάζοντας, έτσι, τις λειτουργικές τους ιδιότητες.

ΔΙΕΓΕΡΣΗ

Η διεγερσιμότητα (excitability) περιγράφει την ικανότητα ενός κυττάρου να εμφανίσει μια αναγεννώμενη ηλεκτρική, τύπου όλου-ή-ουδενός, απόκριση στην εκπόλωση της μεμ-

Ρύθμιση ασβεστίου



Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου, $[Ca^{2+}]_i$, έχει κρίσιμο ρόλο ως ρυθμιστής της κυτταρικής λειτουργίας.

- Το ενδοκυττάριο Ca^{2+} καθορίζεται από (α) την είσοδο Ca^{2+} , (β) την αποβολή Ca^{2+} και (γ) την ανταλλαγή Ca^{2+} ανάμεσα στο κυτταρόπλασμα, στο ενδοπλασματικό (ΕΔ) ή σαρκοπλασματικό (ΣΔ) δίκτυο και στα μιτοχόνδρια.
- Η είσοδος Ca^{2+} επιτελείται μέσω διαφόρων οδών, συμπεριλαμβανομένων των καναλιών Ca^{2+} που εξαρτώνται από το δυναμικό ενέργειας ή το πρόσδεμα και της ανταλλαγής Ca^{2+}/Na^+ .
- Η αποβολή Ca^{2+} εξαρτάται κυρίως από μια αντλία Ca^{2+} εαρτώμενη από την ATP.
- Το Ca^{2+} απορροφάται ενεργητικά και αποθηκεύεται από το ΕΔ/ΣΔ από όπου εκκρίνεται σε ανταπόκριση διαφορετικών ερεθισμάτων.
- Το Ca^{2+} εκκρίνεται από τις αποθήκες του ΕΔ/ΣΔ υπό την επίδραση (α) του δευτέρου αγγελιαφόρου IP_3 που δρα στους υποδοχείς του IP_3 ή (β) αύξησης της ίδιας της $[Ca^{2+}]_i$, που δρα στους υποδοχείς του ρυανοδίνης, ενός μηχανισμού που είναι γνωστός ως έκκριση Ca^{2+} επαγόμενη από το Ca^{2+} .
- Άλλοι δευτέροι αγγελιαφόροι, όπως η cAMP-ριβόζη και το NADP, επίσης, απελευθερώνουν Ca^{2+} από τις αποθήκες Ca^{2+} .
- Εξάντληση των αποθεμάτων Ca^{2+} από τις αποθήκες του ΕΔ/ΣΔ επάγει την είσοδο Ca^{2+} από την κυτταρική μεμβράνη μέσω καναλιών που ελέγχονται από τα αποθέματα.
- Το Ca^{2+} επηρεάζει πολλές πτυχές της κυτταρικής λειτουργίας προσδεδεμένο σε πρωτεΐνες όπως η καλμοδουλίνη, οι οποίες με τη σειρά τους προσδένονται σε άλλες πρωτεΐνες και ρυθμίζουν τη λειτουργία τους.

βράνης του, η οποία μεμβρανική απόκριση είναι γνωστή ως *δυναμικό ενέργειας*. Αυτό είναι ένα χαρακτηριστικό των περισσότερων νευρώνων και μυϊκών κυττάρων (συμπεριλαμβανομένων των γραμμωτών, των καρδιακών και των λείων μυών) και πολλών κυττάρων ενδοκρινών αδένων. Στους νευρώνες και στα μυϊκά κύτταρα η ικανότητα του δυναμικού ενέργειας να διαδίδεται, αφού ξεκινήσει, σε όλα τα μέρη της κυτταρικής μεμβράνης και συχνά να εξαπλώνεται σε γειτονικά κύτταρα εξηγεί τη σημασία τη μεμβρανικής διέγερσης στην ενδο- και διακυτταρική μετάδοση σημάτων. Στο νευρικό σύστημα και στους γραμμωτούς μύες η διάδοση του δυναμικού ενέργειας είναι ο υπεύθυνος μηχανισμός για την επικοινωνία σε μεγάλες αποστάσεις με υψηλή ταχύτητα, αναντικατάστατος για μεγάλωσους, ταχυκίνητους οργανισμούς. Στον καρδιακό και λείο μυϊκό ιστό, καθώς και σε κάποιους κεντρικούς νευρώνες, εμφανίζεται αυθόρμητη ρυθμική δραστηριότητα. Στα κύτταρα των αδένων, το δυναμικό ενέργειας, όπου αυτό εμφανίζεται, δεν χρησιμεύει τόσο για να μεταδώσει, όσο για να ενισχύσει το σήμα που διεγείρει τα κύτταρα να εκκρίνουν. Σε κάθε τύπο ιστού, οι διαδικασίες διέγερσης αντανακλούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των καναλιών ιόντων που υποστηρίζουν τη διαδικασία. Η μοριακή φύση των καναλιών ιόντων και η σημασία τους ως στόχων φαρμάκων αναφέρθηκαν στο Κεφάλαιο 3. Στο κεφάλαιο αυτό συζητούνται οι κυτταρικές διαδικασίες που εξαρτώνται πρωταρχικά από τη λειτουργία των καναλιών ιόντων.

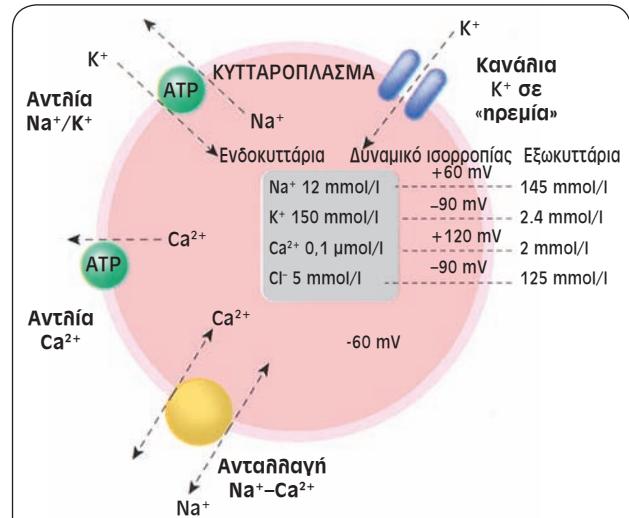
ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ «ΕΝ ΗΡΕΜΙΑ»

Το κύτταρο «εν ηρεμία» στην πραγματικότητα δεν ηρεμεί καθόλου, αλλά είναι διαρκώς απασχολημένο με τον έλεγχο της κατάστασης του εσωτερικού του, γεγονός που απαιτεί

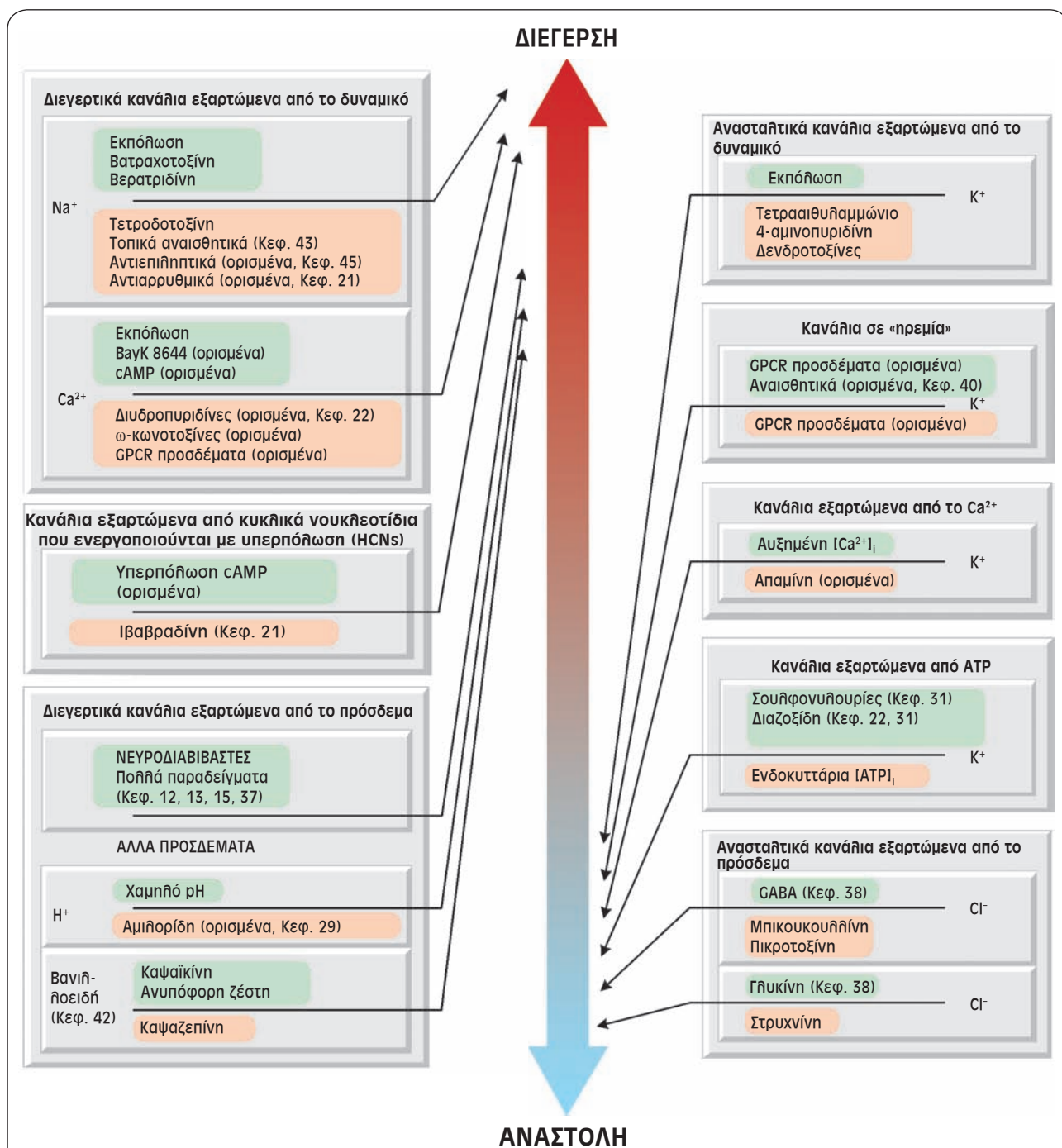
συνεχή παροχή ενέργειας. Σε σχέση με τα θέματα που συζητούνται σε αυτό το κεφάλαιο, είναι ιδιαίτερα σημαντικές οι ακόλουθες παράμετροι:

- μεμβρανικό δυναμικό
- διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης για τα διάφορα ιόντα
- ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις ιόντων, ιδίως η $[Ca^{2+}]_i$.

Υπό συνθήκες «ηρεμίας», όλα τα κύτταρα διατηρούν ένα αρνητικό εσωτερικό δυναμικό μεταξύ -30 και -80 mV περίπου, ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου. Αυτό προκύπτει επειδή (α) η μεμβράνη είναι σχετικά μη διαπερατή για το Na^+ και (β) το Na^+ αποβάλλεται ενεργητικά από το κύτταρο ανταλλάσσόμενο με K^+ μέσω ενός μεταφορέα που απαιτεί ενέργεια, της αντλίας Na^+ (ή $Na^+-K^+-ATPάση$). Το αποτέλεσμα είναι η ενδοκυττάρια συγκέντρωση K^+ ($[K^+]_i$) να είναι υψηλότερη, και η $[Na^+]_i$ να είναι χαμηλότερη από τις αντίστοιχες εξωκυττάρια συγκεντρώσεις. Σε πολλά κύτταρα, άλλα ιόντα, ιδίως το Cl^- , μεταφέρονται, επίσης, ενεργητικά και διανέμονται άνισα εκατέρωθεν της μεμβράνης. Σε πολλές περιπτώσεις (π.χ., στους νευρώνες) η διαπερατότητα της μεμβράνης για το K^+ είναι σχετικά υψηλή, και το μεμβρανικό δυναμικό σταθεροποιείται σε μια τιμή από -60 έως -80 mV, κοντά στο δυναμικό ισορροπίας για το K^+ (Σχ. 4.3). Σε άλλα κύτταρα (π.χ., των λείων μυών), τα ανιόντα παίζουν μεγαλύτερο ρόλο, και το δυναμικό της μεμβράνης είναι γενικά χαμηλότερο (-30 έως -50 mV) και εξαρτάται λιγότερο από το K^+ .



Σχήμα 4.3 Απλοποιημένο διάγραμμα που απεικονίζει την ιοντική ισορροπία σε ένα τυπικό κύτταρο σε «ηρεμία». Οι κύριοι μηχανισμοί μεταφοράς που διατηρούν τις ιοντικές κλίσεις εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης είναι οι αντλίες Na^+/K^+ και Ca^{2+} που εξαρτώνται από ATP και ο μεταφορέας ανταλλαγής Na^+/Ca^{2+} . Η μεμβράνη είναι σχετικά διαπερατή για το K^+ , επειδή τα κανάλια K^+ είναι ανοικτά στην ηρεμία, αλλά δεν είναι διαπερατά για τα άλλα κατιόντα. Οι άνισες συγκεντρώσεις ιόντων εκατέρωθεν της μεμβράνης γεννούν τα «δυναμικά ισορροπίας» που φαίνονται στο σχήμα. Το μεμβρανικό δυναμικό ηρεμίας, τυπικά περίπου στα -60 mV, αλλά που διαφέρει ανάμεσα στους διάφορους τύπους κυττάρων, καθορίζεται από τα δυναμικά ισορροπίας και τις διαπερατότητες των διαφόρων ιόντων που εμπλέκονται, και από την «ηλεκτρογόνου» δράση των μεταφορέων. Χάρην απλότητας, τα ανιόντα και τα άλλα ιόντα, όπως τα πρωτόνια, δεν εμφανίζονται, αν και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλούς τύπους κυττάρων.



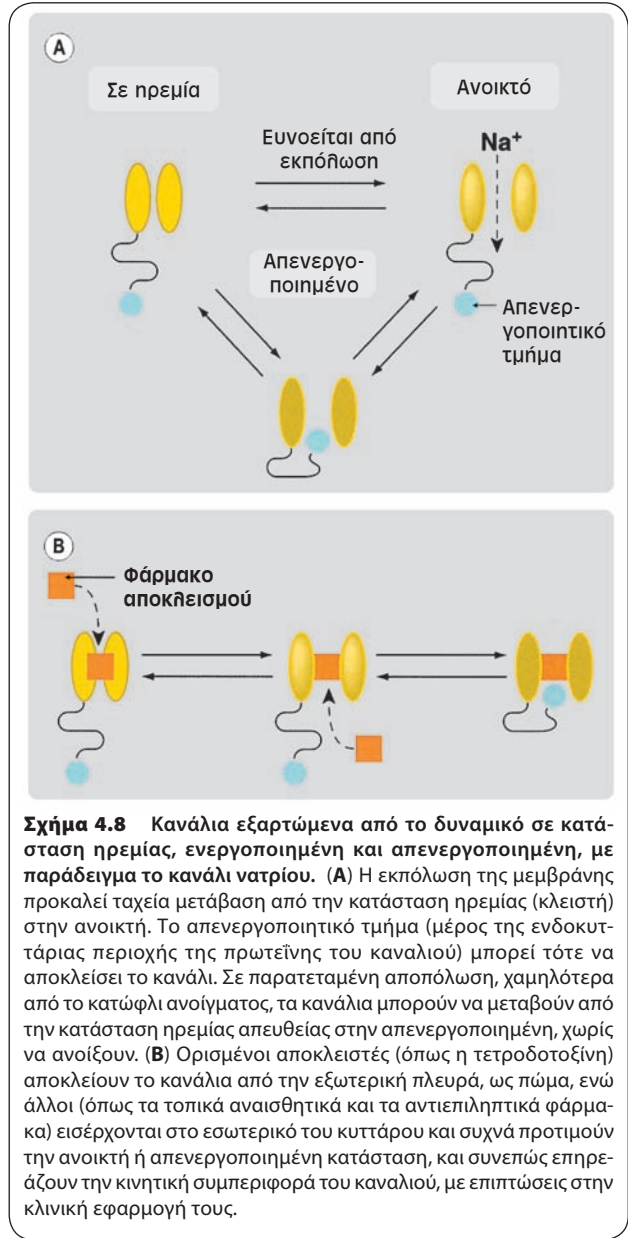
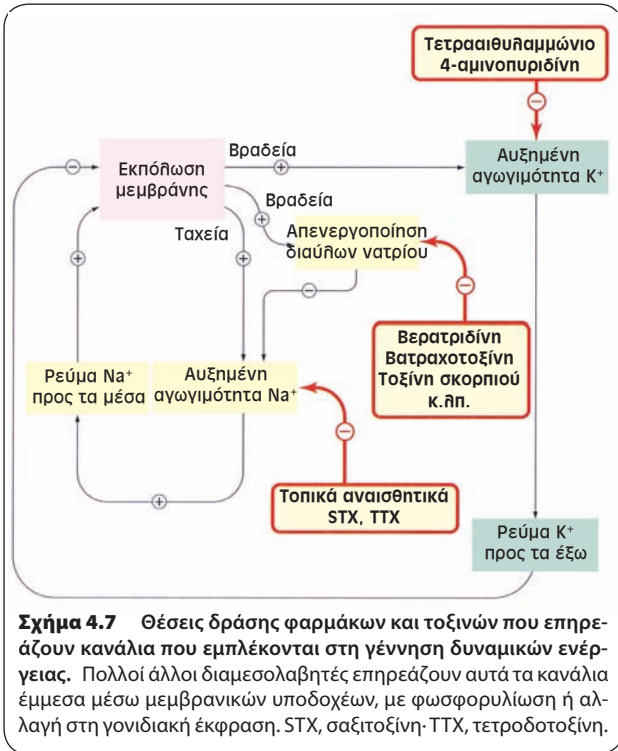
Σχήμα 4.6 Κανάλια ιόντων που συσχετίζονται με διεγερτικές και ανασταλτικές επιδράσεις της μεμβράνης, και ορισμένα φάρμακα και άλλοι προσδέτες που τα επηρεάζουν. Οι ουσίες που ενεργοποιούν τα κανάλια είναι σε πράσινα πλαίσια, οι ουσίες που λειτουργούν ως αποκλειστές και οι αναστολείς είναι σε πορτοκαλί πλαίσια. Κανάλια Na⁺/K⁺ που ενεργοποιούνται με υπερπόλωση είναι γνωστά ως κανάλια εξαρτώμενα από κυκλικά νουκλεοτίδια που ενεργοποιούνται με υπερπόλωση (HCNs). Ενεργοποιημένα κανάλια H⁺ είναι γνωστά ως κανάλια ιόντων ανίχνευσης οξέων (ASIC). GPCR, υποδοχέας συζευγμένος με G-πρωτεΐνη.

Επιπρόσθετα των ουσιών που αποκλείουν τα κανάλια, όπως η TTX, η διάνοιξη καναλιών επηρεάζεται και από άλλες ενώσεις. Π.χ., το φυτικό αλκαλοειδές βερατριδίνη και η τοξίνη του δέρματος του βατράχου βατραχοτοξίνη προκαλούν παρατεταμένη ενεργοποίηση, ενώ άλλες τοξίνες που απομονώνονται από τον σκορπιό αναστέλλουν τους μηχανι-

σμούς απενεργοποίησης, προκαλώντας αυξημένη νευρωνική διεγερσιμότητα.

ΚΑΝΑΛΙΑ ΚΑΛΙΟΥ

Σε ένα τυπικό κύτταρο σε ηρεμία (σελ. 61, Σχ. 4.3), η μεμβράνη είναι εκλεκτικά διαπερατή για το K⁺ και το μεμβρανικό



δυναμικό (περίπου -60 mV) είναι σχετικά θετικό ως προς την ισορροπία K^+ (περίπου -90 mV). Αυτή η διαπερατότητα ηρεμίας υπάρχει επειδή παραμένουν ανοικτά ορισμένα κανάλια K^+ . Αν ανοίξουν περισσότερα κανάλια K^+ , η μεμβράνη υπερπολώνεται και το κύτταρο καταστέλλεται, ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν κλείνουν τα κανάλια K^+ . Εκτός από το να επηρεάζουν με αυτόν τον τρόπο τη διεγερσιμότητα, τα κανάλια K^+ διαδραματίζουν, επίσης, σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διάρκειας του δυναμικού ενέργειας και τα χρονικά μοτίβα των εκλύσεων των δυναμικών ενέργειας. Συνολικά, αυτά τα κανάλια παίζουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας. Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 3, ο αριθμός και η ποικιλία των υποτύπων των καναλιών K^+ είναι τεράστιος, υπονοώντας ότι η εξέλιξη κατευθύνθηκε από τη σκοπιμότητα του βιολογικού πλεονεκτημένου που μπορεί να ανακύψει από ανεπαίσθητες διαφοροποιήσεις στις λειτουργικές ιδιότητες των καναλιών αυτών. Μια πρόσφατη καταγραφή αναφέρει περισσότερες από 60 διαφορετικές υπομονάδες για τον σχηματισμό πόρων, συν περίπου άλλες 20 βοηθητικές υπομονάδες, δηλαδή μια εντυπωσιακή εξελικτική επίδειξη, δύσκολα όμως κατανοητή για τους μη ειδικούς. Εδώ παρουσιάζουμε σε γενικές γραμμές τους κύριους τύπους που είναι σημαντικοί από φαρμακολογική άποψη. Για περισσότερες λεπτομέρειες και πληροφορίες για τα κανάλια K^+ και τα διάφορα φάρμακα και τοξίνες που τα επηρεάζουν, βλέπε Shieh et al., 2000 και Jenkinson, 2006, Alexander et al., 2013.

Τα κανάλια K^+ εμπίπτουν σε τρεις κύριες κατηγορίες (Πίνακας 4.2),³ οι δομές των οποίων φαίνονται στο Σχήμα 3.20.

³Υπάρχει μεγάλη σύγχυση όσον αφορά στην ορολογία των καναλιών K^+ . Η ορολογία των ηλεκτροφυσιολόγων για τα ρεύματα των καναλιών K^+ είναι πεζή και βασίζεται στις λειτουργικές τους ιδιότητες (π.χ., IKV, IKCa, IKATP, IKIR, κ.λπ.), των γενετιστών είναι κάπως φανταχτερή, προσαρμοσμένη στον φαινότυπο που σχετίζεται με μεταλλάξεις (π.χ., shaker, ether-a-go-go, κ.λπ.), ενώ οι μοριακοί βιολόγοι δίνουν ορθο-

- Κανάλια K^+ που εξαρτώνται από το δυναμικό. Διαθέτουν έξι έλικες που διασχίζουν τη μεμβράνη, μία από τις οποίες χρησιμεύει ως αισθητήρας διαφοράς δυναμικού, προκαλώντας τη διάνοιξη του καναλιού όταν εκπολώνεται η μεμβράνη. Σε αυτήν την ομάδα συμπεριλαμβάνονται τα κανάλια της οικογένειας των ανακινήτων (shaker) που είναι υπεύθυνα για τα περισσότερα ρεύματα K^+ που εξαρτώνται από το δυναμικό και είναι γνωστά στους ηλεκτροφυσιολόγους και τους υπόλοιπους επιστήμονες, όπως τα κανάλια K^+ που ενεργοποιούνται από το Ca^{2+} και δύο υποτύποι που είναι σημαντικοί για την καρδιά, τα κανάλια HERG και LQT. Πολλά από αυτά τα κανάλια αποκλείονται από φάρμακα, όπως το **τετρααιθυλαμμώνιο** και η **4-αμινοπυριδίνη**.

λογική, αλλά μη απομνημονεύσιμη ορολογία βασισμένη σε δεδομένα αλληλουχίας (π.χ., KCNK, KCNQ, κ.λπ., με αριθμητικούς δείκτες). Σε υπόλοιποι εξ ημών θα προσπαθήσουμε να πορευθούμε με τη συχνά αυτή ακαταλαβίστικη ορολογία, όπως HERG (που σημαίνει: Human Ether-a-go-go Related Gene), TWIK, TREK, TASK, κ.λπ.

Η φυσική ανοσοαπόκριση



- Η φυσική απόκριση εκδηλώνεται αμέσως μετά από τραυματισμό ή μόλυνση. Περιλαμβάνει αγγειακά και κυτταρικά στοιχεία, διαμεσολαβήτες που παράγονται από κύτταρα ή από το πλάσμα τροποποιούν και ρυθμίζουν την έκταση της απόκρισης.
- Χρησιμοποιώντας Toll και άλλους υποδοχείς, κύτταρα-φρουροί στους σωματικούς ιστούς (π.χ., μακροφάγα, σιτευτικά και δενδριτικά κύτταρα) αναγνωρίζουν ειδικά μοριακά πρότυπα που συνδέονται με τα παθογόνα. Ξεκινά τότε η έκλυση κυτταροκινών, και ιδίως ιντερλευκίνης 1 (IL-1) και ογκονεκρωτικού παράγοντα α (TNF-α), καθώς και διάφορων χημειοκινών.
- Η IL-1 και ο TNF-α επιδρούν στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τοπικών μετατριχοειδίων φλεβιδίων, προκαλώντας:
 - αγγειοδιαστολή και εξίδρωση υγρού
 - έκφραση μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια των κυττάρων.
- Το εξίδρωμα περιέχει ένζυμα που συμμετέχουν σε αντιδράσεις (καταρράκτες) παραγωγής βραδυκινίνης (από κινινογόνο) και παραγόντων C5a και C3a (από το συμπλήρωμα). Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος προκαλεί λύση των βακτηρίων.
- Ο C5a και ο C3a διεγείρουν τα σιτευτικά κύτταρα ώστε να παραχθεί ισταμίνη, η οποία προκαλεί διαστολή των τοπικών αρτηριδίων.
- Ως συνέπεια της ιστικής βλάβης και των κυτταροκινών εκλύονται οι προσταγλανδίνες PGI₂ και PGE₂ (αγγειοδιαστολείς), καθώς και λευκοτριένιο B₄ (LTB₄, μια χημειοταξίνη).
- Οι κυτταροκίνες διεγείρουν τη σύνθεση του αγγειοδιαστολέα μονοξειδίου του αζώτου, ο οποίος αυξάνει τη διαπερατότητα του τοιχώματος των αγγείων.
- Χρησιμοποιώντας μόρια προσκόλλησης, τα λευκοκύτταρα κυλούν, προσκολλώνται και τελικά διασχίζουν το ενεργοποιημένο αγγειακό ενδοθήλιο και μετακινούνται προς το παθογόνο (προσελκύονται από τις χημειοκίνες, την IL-8, τον C5a και το LTB₄) για να το φαγοκυτταρώσουν και να το καταστρέψουν.

οικογένειες που ελέγχουν αυτές τις αποκρίσεις στα θηλαστικά ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά σε φυτά και έντομα.

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ

Μία από τις σημαντικότερες λειτουργίες οποιουδήποτε συστήματος ασφαλείας είναι η εξακρίβωση ταυτότητας. Πώς μπορεί ένας οργανισμός να διαπιστώσει εάν κάποιο κύτταρο είναι όντως «πολίτης της χώρας» και όχι παθογόνος εισβολέας; Το σύστημα φυσικής απόκρισης επιτυγχάνει τον στόχο αυτό μέσω ενός δικτύου *υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων* (pattern recognition receptors, PRR), το οποίο βρίσκεται σε όλους σχεδόν τους οργανισμούς. Οι υποδοχείς αυτοί αναγνωρίζουν *μοριακά πρότυπα σχετιζόμενα με παθογόνα* (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), που περιέχονται σε κοινά προϊόντα βακτηρίων, μυκήτων, ιών κ.λπ. και μάλιστα προϊόντα τα οποία οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν εύκολα να τροποποιήσουν για να διαφύγουν την αναγνώριση. Στους υποδοχείς PRR περιλαμβάνονται υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνες όπως η οικογένεια *FPR* (υποδοχείς φορμυλοπεπτιδίων) η οποία αναγνωρίζει τα N-φορμυλιωμένα πεπτιδία που είναι χαρακτηριστικά της πρωτεϊνοσύνθεσης των βακτηρίων (αν και τέτοια πεπτιδία ελευθερώνονται και από τα μιτοχόνδρια μετά από θάνατο των κυττάρων του ξενιστή), αλλά και κυτταροπλασματικοί υποδοχείς όπως οι *υποδοχείς τύπου NOD* (nucleotide-binding oligomerization domain: πε-

ριοχή ολιγομερισμού/δέσμευσης νουκλεοτιδίων) – μια μεγάλη οικογένεια ενδοκυττάρων πρωτεϊνών που αναγνωρίζουν θραύσματα των βακτηριακών πρωτεογλυκανών.

Οι πιο καλά μελετημένοι PRR είναι οι *υποδοχείς τύπου Toll* (Toll-like receptors, TLR). Το γονίδιο *TollP* εντοπίστηκε αρχικά στα μέσα της δεκαετίας του 1990 στη *Drosophila*. Σύμφωνα βρέθηκαν ανάλογα γονίδια στα σπονδυλωτά και διαπιστώθηκε ότι ο κύριος ρόλος των υποδοχέων της οικογένειας αυτής είναι να αναγνωρίζουν έντονα συντηρημένα στοιχεία των παθογόνων και να σηματοδοτούν την παρουσία τους στα διάφορα συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος.

Περίπου 10 TLR απαντούν στα θηλαστικά. Ανήκουν στην κατηγορία των *υποδοχέων τυροσινικής κινάσης* (Κεφ. 3) και είναι φυλογενετικά υψηλά συντηρημένες. Σε αντίθεση με τους υποδοχείς αντιγόνων στα T και τα B κύτταρα, οι οποίοι δημιουργούνται κατά σωματικό τρόπο στην πορεία της ανάπτυξης των κυττάρων, με αποτέλεσμα κάθε κλώνος τέτοιων λεμφοκυττάρων να διαθέτει δομικά πανομοιότυπους υποδοχείς, οι TLR κωδικοποιούνται στο DNA του ξενιστή. Στον Πίνακα 6.1 αναφέρονται αυτοί οι υποδοχείς μαζί με τα προϊόντα των παθογόνων που αναγνωρίζουν, όπου αυτά είναι γνωστά. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι TLR, που εντοπίζονται στην επιφάνεια και στα ενδοσώματα αντιστοίχως. Ο δεύτερος τύπος υποδοχέων αναγνωρίζει κατά κανόνα το RNA/DNA των παθογόνων (προφανώς διότι αυτό βρίσκεται μέσα στα φαγοσώματα), ενώ ο πρώτος τύπους αναγνωρίζει άλλα συστατικά των παθογόνων όπως τα υλικά του κυτταρικού τοιχώματος, οι ενδοτοξίνες κ.λπ. Ορισμένοι TLR αναγνωρίζουν επίσης προσδέματα που ελευθερώνονται εάν υψοστούν βλάβη τα κύτταρα του ξενιστή (π.χ., πρωτεΐνες θερμικού σοκ). Αυτό αποτελεί προφανώς έναν ακόμη τρόπο να διαπιστωθεί τυχόν εσωτερική βλάβη

Δεν έχει διαλευκανθεί ακόμη το μυστήριο του τρόπου με τον οποίον μια μόνο οικογένεια υποδοχέων μπορεί να αναγνωρίσει ένα τόσο μεγάλο φάσμα χημικών ουσιών. Κάποιες φορές, το πρόβλημα λύνεται με τη στρατολόγηση πρόσθετων «βοηθητικών» πρωτεϊνών δέσμευσης που υποβοηθούν τη διαδικασία αυτή. Αφού ενεργοποιηθούν, οι υποδοχείς Toll διμερίζονται και ξεκινούν μια πολύπλοκη οδό σηματοδότησης που ενεργοποιεί γονίδια τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες και παράγοντες κρίσιμης σημασίας για την ανάπτυξη της φλεγμονώδους απόκρισης – πολλοί από αυτούς θα συζητηθούν ακολούθως. Από φαρμακολογική άποψη, έχει ενδιαφέρον το γεγονός ότι ο TLR 7 αναγνωρίζει, επίσης, ορισμένες συνθετικές αντιικές ενώσεις όπως οι *ιμιδαζολινολόνες*. Η ικανότητα αυτών των φαρμάκων να ενεργοποιούν τους TLR αποτελεί πιθανότατα τη βάση για την κλινική αποτελεσματικότητά τους (Κεφ. 52).

Οι TLR έχουν στρατηγική θέση: εντοπίζονται σε εκείνα τα κύτταρα-φρουρούς που έχουν τις περισσότερες πιθανότητες να έρθουν πρώτα σε επαφή με τα παθογόνα. Αυτά περιλαμβάνουν τα *μακροφάγα*, καθώς και τα *σιτευτικά κύτταρα* και τα *δενδριτικά κύτταρα*, που ευρέως απαντούν στο δέρμα και σε άλλους ιστούς της έσω-έξω διεπιφάνειας, αλλά και ορισμένα *εντερικά επιθηλιακά κύτταρα*, τα οποία εκτίθενται στα παθογόνα που περιέχονται στις τροφές. Έχουν παρατηρηθεί γενετικές διαταραχές στο σύστημα των TLR, που μπορούν να οδηγήσουν σε ανικανότητα για έναρξη μιας αποτελεσματικής αμυντικής απόκρισης του ξενιστή, ή σε πιο ήπια μορφή, σε μια συνεχώς ενεργή αντιφλεγμονώδη απόκριση.

²Το όνομα προήλθε από μια γερμανική λέξη που σημαίνει «Θαυμάσια!» ή «Εύρηκα!», και έχει συνδεθεί πλέον αναπόσπαστα με την οικογένεια αυτή.

Πίνακας 6.1 Η οικογένεια υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PRR) TLR

PRR	Αναγνωριζόμενο παθογόνο	Πρόσδεμα	Τύπος κυττάρου ξενιστή	Εντόπιση
TLR 1	Βακτήρια	Λιποπρωτεΐνες	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα B λεμφοκύτταρα	Επιφανειακός
TLR 2	Βακτήρια Βακτήρια (Gm+) Παράσιτα Ζυμομύκητας Κατεστραμμένα κύτταρα ξενιστή	Λιποπρωτεΐνες Λιποτειχοϊκό οξύ Άγκυρες GPI Υδατάνθρακες κυτταρικού τοιχώματος Πρωτεΐνες θερμικού σοκ	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα Σιτευτικά κύτταρα	Επιφανειακός
TLR 3	Ιός	dsRNA	Δενδριτικά κύτταρα B λεμφοκύτταρα	Ενδοκυττάριος
TLR 4	Βακτήρια (Gm-) Ιός Κατεστραμμένα κύτταρα ξενιστή	Λιποπολυσακχαρίτες Ορισμένες ιικές πρωτεΐνες Πρωτεΐνες θερμικού σοκ Ινωδογόνο Υαλουρονικό οξύ	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα Σιτευτικά κύτταρα Εντερικό επιθήλιο	Επιφανειακός
TLR 5	Βακτήρια	Φλαγγελίνη	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα Εντερικό επιθήλιο	Επιφανειακός
TLR 6	Μυκόπλασμα Παράσιτα Ζυμομύκητας	Λιποπρωτεΐνες Άγκυρες GPI Υδατάνθρακες κυτταρικού τοιχώματος	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Σιτευτικά κύτταρα B λεμφοκύτταρα	Επιφανειακός
TLR 7	Ιός	ssRNA Ορισμένα συνθετικά φάρμακα	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Σιτευτικά κύτταρα B λεμφοκύτταρα	Ενδοκυττάριος
TLR 8	Ιός	ssRNA	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα Σιτευτικά κύτταρα	Ενδοκυττάριος
TLR 9	Ιός/βακτήρια	CpG DNA	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ορισμένα δενδριτικά κύτταρα B λεμφοκύτταρα	Ενδοκυττάριος
TLR 10	Άγνωστο	Άγνωστο	Μονοκύτταρα/μακροφάγα B λεμφοκύτταρα	Επιφανειακός
TLR 11 ^a	Τοξόπλασμα	Προφιλίνη	Μονοκύτταρα/μακροφάγα Ηπατικά κύτταρα Νεφρός	Επιφανειακός

^a Ο TLR 11 απαντά στον ποντικό αλλά όχι στον άνθρωπο. Οι TLR 12–15 δεν περιλαμβάνονται γιατί δεν γνωρίζουμε πολλά για τη λειτουργία τους. CpG DNA, μη μεθυλωμένο δινοκλεοτιδίο CG- dsRNA, δίκλωνο RNA- Gm +/-, βακτήρια θετικά/αρνητικά κατά Gram- GPI, πρωτεΐνες αγκύρωσης γλυκοζυλοφωσφατιδυλοϊνοσιτόλης- ssRNA: μονόκλωνο RNA.

Αφού περιγράψαμε τον τρόπο με τον οποίο ανιχνεύονται τα ξένα παθογόνα από το σύστημα φυσικής ανοσίας, θα περιγράψουμε ακολούθως τα γεγονότα που ακολουθούν αφού «σημάνει ο συναγερμός».

ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

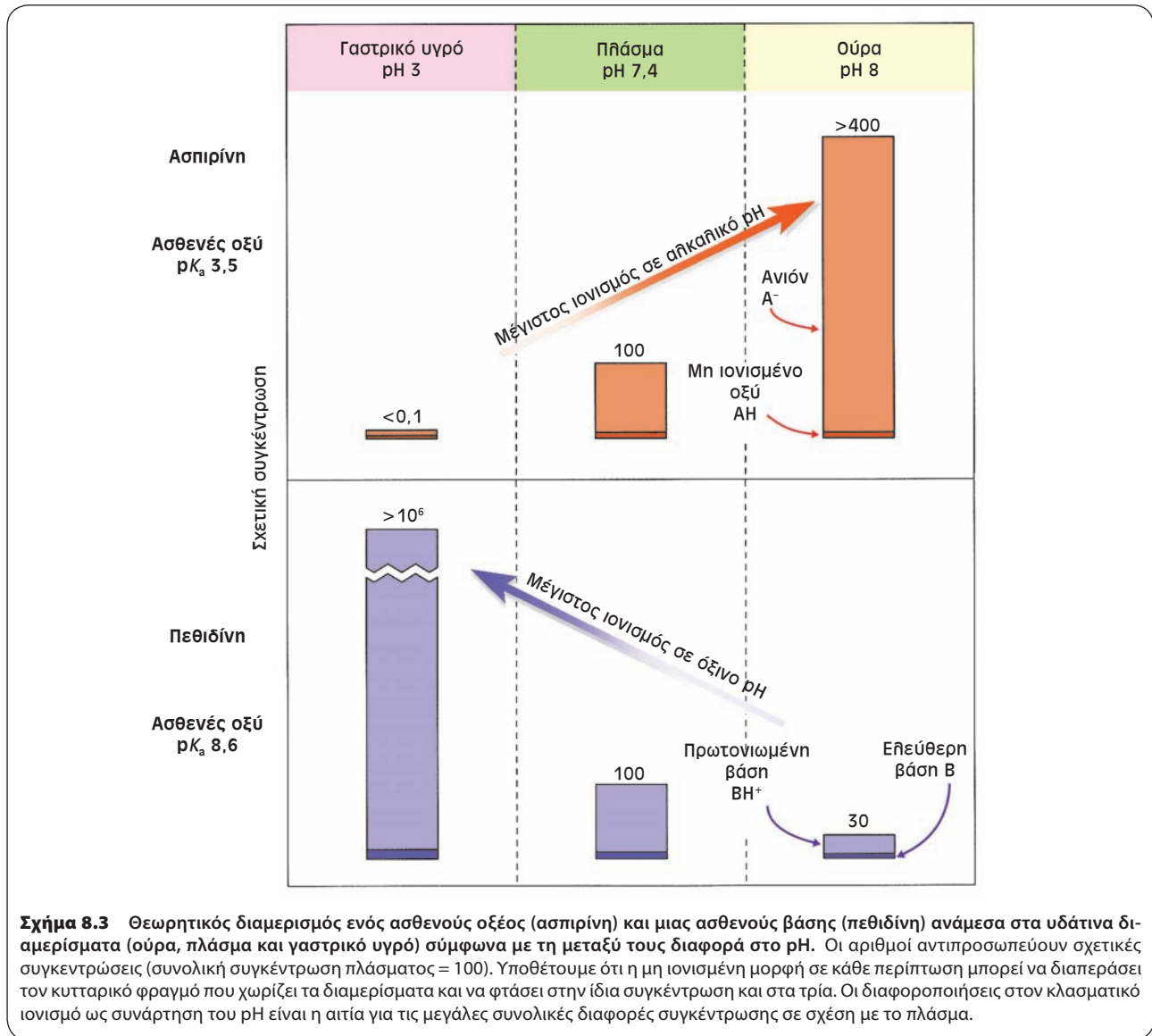
Αγγειακές δράσεις

Η αλληλεπίδραση ενός PAMP με τους TLR διεγείρει τα κύτταρα-φρουρούς, τα οποία αντιδρούν αμέσως με την παραγωγή μιας σειράς προ-φλεγμονωδών πολυπεπτιδίων που καλούνται *κυτοκίνες*, και περιλαμβάνουν τον *παράγοντα νέκρωσης όγκων* (TNF) α και την *ιντερλευκίνη* (IL) 1. Η ωρίμανση και η επεξεργασία της IL-1 ελέγχεται από τα *φλεγμονοσώματα* (*inflammasomes*), ενδοκυττάρια πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα που ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο του φλεγμονώδους ερεθίσματος. Το φλεγμονόσωμα έτσι εκκινεί μια ακριβώς

επεξεργασμένη φλεγμονώδη απόκριση κατάλληλη στην περίπτωση (Strowig et al., 2012).

Είτε ως άμεση συνέπεια της βλάβης του ιστού είτε κατόπιν ερεθισμού από κυτοκίνες, απελευθερώνονται επίσης κι άλλοι χαμηλού μοριακού βάρους διαμεσολαβητές (όπως οι προσταγλανδίνες και η ισταμίνη), οι οποίοι επιδρούν στα ενδοθηλιακά κύτταρα των μετατριχοειδών φλεβιδίων, προκαλώντας την έκφραση *μορίων προσκόλλησης* στην επιφάνεια του έσω χιτώνα και αυξάνοντας τη διαπερατότητα του αγγειακού τοιχώματος.

Τα λευκά αιμοσφαίρια προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ των *ιντεγκρινών* της κυτταρικής επιφάνειάς τους και των μορίων προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων, κι αυτό συγκρατεί την εξέλιξή τους μέσω της μικροκυκλοφορίας. Είναι ικανά να βγουν από τα αγγεία καθώς προσελκύνονται από τις *χημειοτακτίνες* που



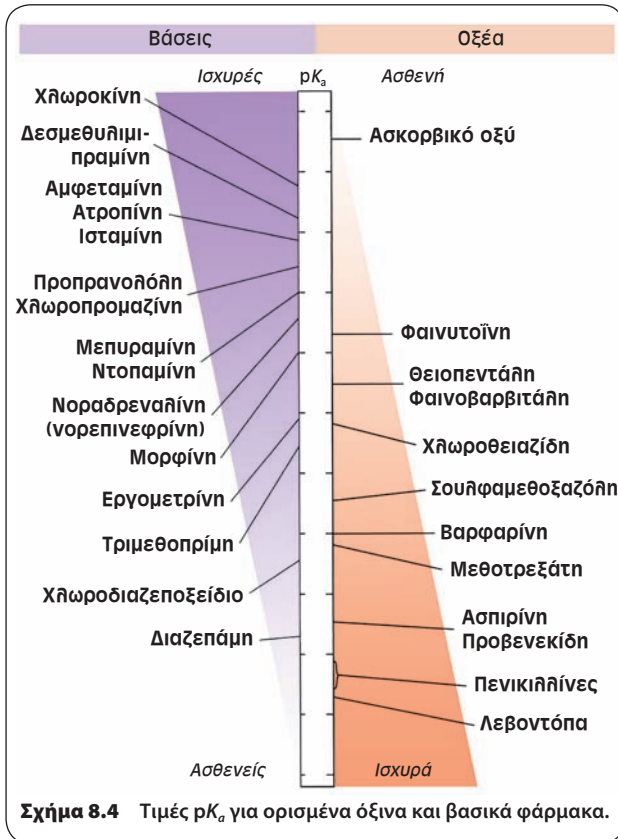
ράσης της αίμης, τα οποία αποτελούν τη βάση της τοξικότητας των φαρμάκων επί του παρασίτου.

- Η οξινποίηση των ούρων επιταχύνει την απέκκριση των ασθενών βάσεων και επιβραδύνει αυτήν των ασθενών οξέων (Κεφ. 9).
- Η αλκαλοποίηση των ούρων έχει τα αντίθετα αποτελέσματα: μειώνει την απέκκριση των ασθενών βάσεων και αυξάνει την απέκκριση των ασθενών οξέων.
- Η αύξηση του pH του πλάσματος (π.χ., με χορήγηση διττανθρακικού νατρίου) προκαλεί την έξοδο ασθενώς όξινων φαρμάκων από το ΚΝΣ προς το πλάσμα. Αντίστοιχα, η μείωση του pH του πλάσματος (π.χ., με χορήγηση ενός αναστολέα της καρβονικής ανυδράσης, όπως η **ακεταζολαμίδη**) επάγει τη συσσώρευση ασθενώς όξινων φαρμάκων στο ΚΝΣ, αυξάνοντας τη νευροτοξικότητά τους. Αυτό έχει πρακτικές συνέπειες στην επιλογή μέσων για την αλκαλοποίηση των ούρων κατά την αντιμετώπιση της υπερβολικής δόσης ασπιρίνης: τα διττανθρακικά και η ακεταζολαμίδη αυξάνουν το pH των ούρων, αυξάνοντας, έτσι, την αποβολή του σαλικυλικού, αλλά τα διττανθρακι-

κά μειώνουν ενώ η ακεταζολαμίδη αυξάνει την κατανομή του σαλικυλικού στο ΚΝΣ.

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΦΟΡΕΑ

Πολλές κυτταρικές μεμβράνες διαθέτουν εξειδικευμένους μηχανισμούς μεταφοράς που ρυθμίζουν την είσοδο και την έξοδο σημαντικών για τη φυσιολογία μορίων, όπως τα σάκχαρα, τα αμινοξέα, οι νευροδιαβιβαστές και τα ιόντα μετάλλων. Γενικά, διαιρούνται σε *μεταφορείς διαλυτών ουσιών* (solute carrier, SLC) και στην *υπεροικογένεια των δεσμευμένων με ATP μεταφορών* (ATP-binding cassette transporters, ABC). Οι πρώτοι διαμεσολαβούν την παθητική μεταφορά διαλυτών ουσιών καθοδικά της ηλεκτροχημικής τους βαθμίδωσης, ενώ οι δεύτεροι αποτελούν ενεργητικές αντλίες που τροφοδοτούνται με ενέργεια από την ATP. Πιστεύεται ότι στον άνθρωπο περισσότερα από 300 γονίδια κωδικοποιούν αυτούς τους μεταφορείς, οι περισσότεροι από τους οποίους μεταφέρουν κυρίως ενδογενείς ουσίες, αλλά ορισμένοι μεταφέρουν, επίσης, εξωγενείς ουσίες («ξеноβιοτικά»), συμπεριλαμβανομένων των φαρμάκων (Hediger et al., 2004). Ο ρόλος αυτών των μετα-



Σχήμα 8.4 Τιμές pK_a για ορισμένα όξινα και βασικά φάρμακα.

φορέων στη λειτουργία των νεφροδιαβιβαστών περιγράφεται στα Κεφάλαια 13, 14 και 37.

Μεταφορείς οργανικών κατιόντων και ανιόντων

Στην απορρόφηση και κατανομή των φαρμάκων, δύο δομικά παρόμοιοι SLC που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο είναι οι μεταφορείς οργανικών κατιόντων (OCT) και οι μεταφορείς οργανικών ανιόντων (OAT). Γενικά, αυτά τα συστήματα μεταφοράς αποτελούνται από ένα μόριο φορέα, δηλαδή μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που προσδένει ένα ή περισσότερα μόρια ή ιόντα, αλλάζει στερεοδιάταξη και τα απελευθερώνει στην άλλη πλευρά της μεμβράνης. Τέτοια συστήματα μπορεί να λειτουργούν αποκλειστικά παθητικά, χωρίς κάποια πηγή ενέργειας. Σε αυτήν την περίπτωση, απλώς διευκολύνουν τη διαδικασία της διαμεμβρανικής εξισορρόπησης ενός μεταφερόμενου μορίου προς την κατεύθυνση της ηλεκτροχημικής του βαθμίδωσης. Ο μηχανισμός καλείται υποβοηθούμενη διάχυση και ο φορέας είναι ένας «μονο-φορέας». Οι OCT μονο-φορείς μετατοπίζουν την ντοπαμίνη, τη χολίνη και διάφορα φάρμακα, όπως το **βεκουρόνιο**, την **κινίνη** και την **προκαϊναμίδη**. Ο OCT2 βρίσκεται στους νεφρούς, στα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια και συμβάλλει στη συσσώρευση φαρμάκων, όπως η **σισπλατίνη** (σημαντικό αντικαρκινικό φάρμακο, Κεφ. 56), γεγονός που εξηγεί την εκλεκτική νεφροτοξικότητα του φαρμάκου. Παρόμοια φάρμακα, (όπως π.χ., η καρβοπλατίνη και η **οξαλιπλάτίνη**) δεν μεταφέρονται από τον OCT2 και είναι λιγότερο νεφροτοξικά. Η **σιμετιδίνη** ανταγωνίζεται για την κατάληψη των OCT2 και, συγχρηγούμενη, μπορεί να προστατεύσει από τη νεφροτοξικότητα της σισπλατίνης (Σχ. 8.5). Διαφορετικά SLC είναι συζευγμένα με την ηλεκτροχημική βαθμίδωση του Na^+ ή άλλων ιόντων εκατέρωθεν της μεμβράνης, η οποία δημιουργείται από αντλίες ιόντων που εξαρτώνται από

την ATP (Κεφ. 4). Σε αυτήν την περίπτωση, η μεταφορά μπορεί να γίνει αντίθετα προς μια ηλεκτροχημική βαθμίδωση. Μπορεί να αφορά στην ανταλλαγή ενός μορίου με ένα άλλο («αντι-μεταφορά»), ή την ταυτόχρονη μεταφορά δύο μορίων προς την ίδια κατεύθυνση («συμμεταφορά»). Οι OAT είναι υπεύθυνοι για τη νεφρική απέκκριση του ουρικού οξέος, των προσταγλανδινών, διαφόρων βιταμινών και του *p*-αμινο ιππουρικού οξέος, και φαρμάκων όπως της **προβενεκίδης**, καθώς και πολλών αντιβιοτικών, αντικών, μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών και αντικαρκινικών φαρμάκων, μεταξύ άλλων. Η πρόσληψη ωθείται από την ανταλλαγή ενδοκυττάρων δικαρβοξυλικών οξέων (κυρίως α -κετογλουταρικού, το οποίο προκύπτει μερικώς από τον κυτταρικό μεταβολισμό και μερικώς κατά τη συμμεταφορά του με Na^+ καθώς αυτό εισέρχεται στο κύτταρο καθοδικά της βαθμίδωσης της συγκέντρωσής του). Η μεταβολική ενέργεια παρέχεται από την ATP για την ανταλλαγή Na^+/K^+ . Η μεταφορά με φορείς εμφανίζει χαρακτηριστικά κορεσμού, επειδή εμπιρέχει μια διαδικασία δέσμευσης.

Φορείς αυτού του τύπου υπάρχουν παντού, και η αναστολή της δράσης τους εξηγεί πολλά φαρμακολογικά φαινόμενα. Π.χ., οι νευρικές απολήξεις έχουν μηχανισμούς μεταφοράς για να συσσωρεύουν συγκεκριμένους νευροδιαβιβαστές και πολλά φάρμακα δρουν αναστέλλοντας αυτούς τους μηχανισμούς μεταφοράς (Κεφ. 13, 14, 37, 47 και 48). Από φαρμακοκινητική άποψη, τα κύρια σημεία όπου εκφράζονται οι SLC, συμπεριλαμβανομένων των OCT και OAT, όπου η μεσολαβούμενη από φορέα μεταφορά φαρμάκων είναι σημαντική είναι:

- ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός
- η γαστρεντερική οδός
- τα νεφρικά σωληνάκια
- η χοληφόρος οδός
- ο πλακούντας.

Μεταφορείς P-γλυκοπρωτεΐνης

Οι P-γλυκοπρωτεΐνες (permeability glycoproteins, P-gp), οι οποίες ανήκουν στην υπεροικογένεια των μεταφορέων ABC, αποτελούν τη δεύτερη σημαντική κατηγορία μεταφορέων και ευθύνονται για την πολυφαρμακευτική ανοχή των καρκινικών κυττάρων. Βρίσκονται στις μεμβράνες της ψηκτροειδούς παρυφής των νεφρικών σωληναρίων, στα χοληφόρα τριχοειδή, στις προσεκβολές των ποδίσκων των αστροκυττάρων στα μικροαγγεία του εγκεφάλου, και στη γαστρεντερική οδό. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση, στην κατανομή και στην απέκκριση πολλών φαρμάκων, και συχνά ανιχνεύονται στις ίδιες ανατομικές περιοχές με τους SLC, ώστε ένα φάρμακο που έχει συσσωρευτεί, π.χ., με OAT στη βασεοπλευρική μεμβράνη ενός κυττάρου των νεφρικών σωληναρίων, ακολούθως εξωθείται από το κύτταρο από μια P-gp της μεμβράνης προς τον αυλό του σωληναρίου.

Οι πολυμορφισμοί των γονιδίων που κωδικοποιούν τους SLC και τις P-gp συμβάλλουν στη γενετική ποικιλομορφία και στην ανταπόκριση σε διάφορα φάρμακα. Οι OCT1 μεταφέρουν διάφορα φάρμακα, όπως, π.χ., τη **μετφορμίνη** (που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του διαβήτη, Κεφ. 31) στα ηπατοκύτταρα (σε αντίθεση με τους OCT2, οι οποίοι, όπως ήδη αναφέρθηκε, βρίσκονται στα νεφρικά κύτταρα των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων). Η μετφορμίνη δρα εν μέρει μέσω ενδοκυττάρων μηχανισμών στα ηπατοκύτταρα. Πολυμορφισμοί σε μεμονωμένα νουκλεοτίδια (SNP) που αποδιοργανώνουν τη λειτουργία των OCT1 επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της μετφορμίνης (Σχ. 8.6). Αυτό είναι ένα από τα πολλά παραδείγματα της γονιδιακής επίδρασης στην αποτελεσματικότητα και τοξικότητα των φαρμάκων μέσω με-

Διαβιβαστές του αυτόνομου νευρικού συστήματος



- Οι κύριοι διαβιβαστές είναι η **ακετυλοχολίνη (ACh)** και η **νοραδρεναλίνη**.
- Οι προγαγγλιακοί νευρώνες είναι χολινεργικοί, και η γαγγλιακή νευροδιαβίβαση πραγματοποιείται μέσω νικοτινικών ακετυλοχολινεργικών υποδοχέων (παρότι διεγερτικοί μουσκαρινικοί υποδοχείς επίσης βρίσκονται στα γάγγλια).
- Οι μεταγαγγλιακοί παρασυμπαθητικοί νευρώνες είναι χολινεργικοί και δρουν σε μουσκαρινικούς υποδοχείς στα όργανα-στόχους.
- Οι μεταγαγγλιακοί συμπαθητικοί νευρώνες είναι κυρίως νοραδρενεργικοί, αν και ορισμένοι είναι χολινεργικοί (π.χ., ιδρωτοποιοί αδένες).
- Υπάρχουν και άλλοι διαβιβαστές, εκτός της ακετυλοχολίνης και της νοραδρεναλίνης στο αυτόνομο νευρικό σύστημα (NANC διαβιβαστές). Οι κύριοι NANC διαβιβαστές είναι το μονοξειδίο του αζώτου και το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτιδίο (παρασυμπαθητική δράση), η ATP και το νευροπεπτιδίο Υ (συμπαθητική δράση). Άλλοι διαβιβαστές, όπως η 5-υδροξυτρυπταμίνη (5-HT ή σεροτονίνη), το GABA και η ντοπαμίνη, επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο.
- Η συν-διαβίβαση είναι ένα γενικό φαινόμενο.

ΥΠΕΡΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΝΕΥΡΩΣΗΣ

Είναι γνωστό, κυρίως από τις μελέτες του Cannon επί του συμπαθητικού συστήματος, ότι αν ένα νεύρο κοπεί και οι απολήξεις του εκφυλιστούν, η δομή που νευρώνεται από αυτό θα καταστεί υπερευαίσθητη στη διαβιβαστική ουσία που υπό κανονικές συνθήκες απελευθερώνεται από τις απολήξεις. Π.χ., ο σκελετικός μυς, ο οποίος συνήθως αποκρίνεται μόνο σε υψηλή δόση ακετυλοχολίνης όταν χορηγείται στην αρτηριακή παροχή, θα καταστεί υπερευαίσθητος σε πολύ μικρότερες ποσότητες μετά την απονεύρωση. Άλλα όργανα, όπως οι σιελογόνοι αδένες και τα αιμοφόρα αγγεία, παρουσιάζουν παρόμοια υπερευαίσθησία στην ακετυλοχολίνη και στη νοραδρεναλίνη όταν απονευρώνονται από τα μεταγαγγλιακά νεύρα, ενώ υπάρχουν ενδείξεις και για ανάλογα φαινόμενα στο ΚΝΣ.

Είναι γνωστοί αρκετοί μηχανισμοί για τη συμβολή τους στην υπερευαίσθησία της απονεύρωσης, ενώ η έκταση και ο μηχανισμός του φαινομένου διαφέρει από όργανο σε όργανο. Ανάμεσα στους μηχανισμούς που έχουν αναφερθεί συμπεριλαμβάνονται και οι ακόλουθοι (Luis & Noel, 2009).

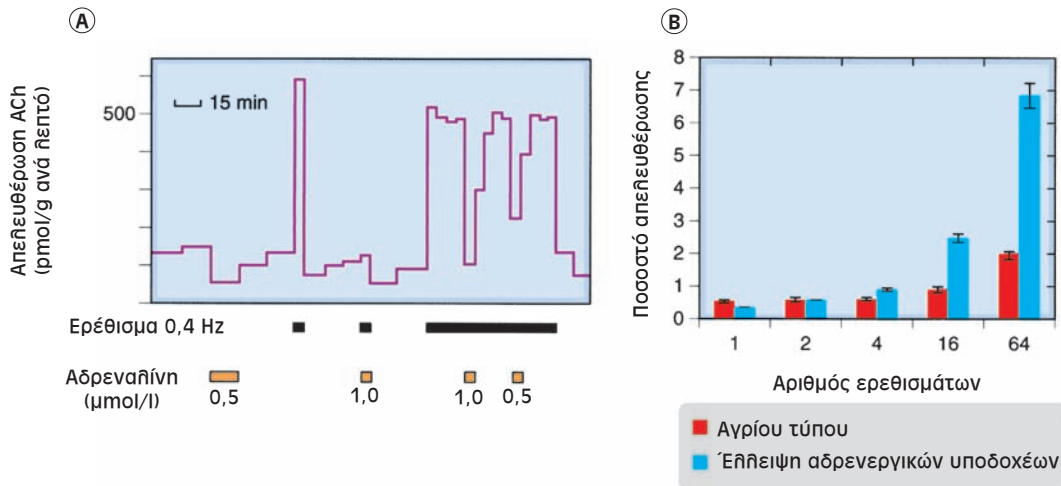
- **Πολλαπλασιασμός των υποδοχέων.** Αυτό παρατηρείται εντόνως στους σκελετικούς μύες, όπου ο αριθμός των υποδοχέων ακετυλοχολίνης αυξάνεται 20 φορές ή και περισσότερο μετά από απονεύρωση- οι υποδοχείς, που φυσιολογικά ανευρίσκονται στις τελικές πλάκες των ινών, διαχέονται σε όλη την επιφάνεια. Αλλού, αναφέρονται συχνά πολύ μικρότερες αυξήσεις στον αριθμό των υποδοχέων, αλλά υπάρχουν και παραδείγματα όπου δεν αναφέρονται μεταβολές.
- **Απώλεια μηχανισμών τερματισμού της δράσης του διαβιβαστή.** Στις νοραδρενεργικές συνάψεις, η απώλεια της νευρωνικής επαναπρόσληψης της νοραδρεναλίνης (Κεφ. 14) συμβάλλει σημαντικά στην υπερευαίσθησία της απονεύρωσης. Στις χολινεργικές συνάψεις, το αντίστοιχο φαινόμενο οφείλεται σε μερική απώλεια της χολινεστεράσης (Κεφ. 13).
- **Αυξημένη μετασυναπτική απόκριση.** Τα κύτταρα των λείων μυών εκπολώνονται εν μέρει και υπερδιεγείρονται μετά την απονεύρωση (οφειλόμενο κυρίως σε μειωμένη Na^+ - K^+ -ATPάση-Κεφ. 4) και το φαινόμενο αυτό συμβάλλει σημαντικά στην

υπερευαίσθησία τους. Επίσης, μπορεί να συμβεί αύξηση της σύζευξης διεγερσιμότητας-σύσπασης λόγω της αυξημένης σηματοδότησης των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}).

Η υπερευαίσθησία μπορεί επίσης να προκύψει, αλλά είναι λιγότερο εμφανής, όταν η διαβίβαση διακόπτεται από διεργασίες εκτός της νευρικής τομής. Π.χ., αν η φαρμακολογική αναστολή της γαγγλιακής διαβίβασης παραταθεί για μερικές ημέρες, προκαλεί κάποιου βαθμού υπερευαίσθησία στα όργανα-στόχους. Επίσης, η επί μακρόν αναστολή των μετασυναπτικών υποδοχέων προκαλεί πολλαπλασιασμό των υποδοχέων, καθιστώντας το κύτταρο υπερευαίσθητο όταν ο ανασταλτικός παράγοντας απομακρυνθεί. Φαινόμενα όπως αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικά για το ΚΝΣ, όπου η προκαλούμενη υπερευαίσθησία μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα «επανεμφάνισης συμπτωμάτων» (rebound) όταν φάρμακα που αναστέλλουν τη συναπτική διαβίβαση χορηγούνται για μικρό διάστημα και μετά διακόπτονται.

ΠΡΟΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ

Οι προσυναπτικές απολήξεις που συνθέτουν και απελευθερώνουν διαβιβαστές σε απόκριση της ηλεκτρικής δραστηριότητας της νευρικής ίνας είναι συχνά οι ίδιες ευαίσθητες σε διαβιβαστικές ουσίες και σε άλλες ουσίες που μπορεί να παραχθούν τοπικά από τους ιστούς (Boehm & Kubista, 2002). Οι προσυναπτικές αυτές επιδράσεις συχνά δρουν αναστέλλοντας την απελευθέρωση του διαβιβαστή, αλλά ίσως και να την ενισχύουν. Το Σχήμα 12.3Α παρουσιάζει την ανασταλτική δράση της αδρεναλίνης στην απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης (που διεγείρεται από ηλεκτρικό ερέθισμα) από τις μεταγαγγλιακές νευρικές απολήξεις του εντέρου. Η απελευθέρωση της νοραδρεναλίνης από τις γειτονικές νευρικές απολήξεις του συμπαθητικού μπορούν, επίσης, να αναστείλουν την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης. Οι νοραδρενεργικές και χολινεργικές απολήξεις συχνά γειτνιάζουν στα μυεντερικά πλέγματα, συνεπώς οι αντίθετες δράσεις μεταξύ συμπαθητικού και παρασυμπαθητικού συστήματος δεν οφείλονται μόνο στις επιδράσεις των δύο διαβιβαστών επί των κυττάρων του λείου μύος, αλλά και στην αναστολή της απελευθέρωσης της ακετυλοχολίνης από τη νοραδρεναλίνη που δρα στις παρασυμπαθητικές νευρικές απολήξεις. Μία παρόμοια κατάσταση αμοιβαίας προσυναπτικής αναστολής υπάρχει και στην καρδιά, όπου η νοραδρεναλίνη αναστέλλει την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης, όπως στο μυεντερικό πλέγμα, αλλά και η ακετυλοχολίνη αναστέλλει την απελευθέρωση της νοραδρεναλίνης. Αυτά είναι παραδείγματα *ετερότροπων αλληλεπιδράσεων*, όπου ένας νευροδιαβιβαστής επηρεάζει την απελευθέρωση ενός άλλου. *Ομότροπες αλληλεπιδράσεις* μπορούν, επίσης, να προκύψουν όταν ο διαβιβαστής, με σύνδεση σε προσυναπτικούς υποδοχείς, επηρεάζει τις νευρικές απολήξεις από τις οποίες και απελευθερώνεται. Αυτού του τύπου η *αυτοανασταλτική ανατροφοδότηση* είναι σημαντική επί των νοραδρενεργικών νευρικών απολήξεων (Starke et al., 1989). Στο Σχήμα 12.3B απεικονίζεται ότι σε φυσιολογικούς μύες, η απελευθέρωση νοραδρεναλίνης από τον ιππόκαμπο αυξάνεται ελάχιστα καθώς ο αριθμός των ερεθισμάτων αυξάνεται από το 1 στο 64. Σε διαγωνιδιακούς μύς, οι οποίοι στερούνται έναν συγκεκριμένο τύπο προσυναπτικών α_2 αδρενεργικών υποδοχέων (Κεφ. 14), η ποσότητα που απελευθερώνεται από τη μεγαλύτερη σε διάρκεια ακολουθία ερεθισμάτων αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό, μολονότι η ποσότητα που απελευθερώνεται από ένα και μόνο ερέθισμα δεν επηρεάζεται. Το γεγονός αυτό συμβαίνει γιατί με ένα ή



Σχήμα 12.3 Παραδείγματα προσυναπτικής αναστολής. [A] Ανασταλτική δράση της αδρεναλίνης στην απελευθέρωση ακετυλοχολίνης (ACh) από μεταγαγγλιακά παρασυμπαθητικά νεύρα σε ειλεό ινδικού χοιριδίου. Τα εσωτερικά νεύρα ερεθίστηκαν ηλεκτρικά, όπου υποδεικνύεται, και η ACh απελευθερώθηκε στο διάλυμα, όπως προσδιορίστηκε από βιοανάλυση. Η αδρεναλίνη αναστέλλει ισχυρά την απελευθέρωση ACh. [B] Απελευθέρωση νοραδρεναλίνης από τομές ιπποκάμπου μύος ως απάντηση σε ακολουθίες ηλεκτρικών ερεθισμάτων. Οι μπλε ράβδοι απεικονίζουν τους φυσιολογικούς (αγρίου τύπου) μύες. Οι κόκκινες ράβδοι απεικονίζουν τους διαγονιδιακούς μύες που στερούνται τους α_2 αδρενεργικούς υποδοχείς. Η έλλειψη προσυναπτικής αυτοαναστολής στους διαγονιδιακούς μύες έχει ως αποτέλεσμα τη μεγάλη αύξηση της απελευθέρωσης νοραδρεναλίνης ως απάντηση σε μια μεγάλη ακολουθία ερεθισμάτων, αλλά δεν επηρεάζει την απελευθέρωση από λιγότερα των τεσσάρων ερεθίσματα, καθώς απαιτούνται μερικά δευτερόλεπτα μέχρι να αναπτυχθεί η αυτοαναστολή. ([A] Από *Vizi E S 1979 Prog Neurobiol* 12: 181, [B] Επανασχεδιασμός από *Trendelenburg και συν. 2001 Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 364: 117-130)

μερικά ερεθίσματα, δεν υπάρχει καμία ευκαιρία ανάπτυξης αυτοανασταλτικής ανατροφοδότησης, ενώ με μεγαλύτερες ακολουθίες η αναστολή λειτουργεί σθεναρά. Παρόμοια αυτοανασταλτική ανατροφοδότηση παρατηρείται με πολλούς διαβιαστές, συμπεριλαμβανομένων της ακετυλοχολίνης και της 5-υδροξυτρυπταμίνης.

Τόσο στο νοραδρενεργικό όσο και στο χολινεργικό σύστημα, οι προσυναπτικοί υποδοχείς είναι φαρμακολογικά διακριτοί από τους μετασυναπτικούς υποδοχείς (Κεφ. 13 και 14), και υπάρχουν φάρμακα που δρουν εκλεκτικά, ως αγωνιστές και ανταγωνιστές, στους προ- και μετασυναπτικούς υποδοχείς.

Οι χολινεργικές και νοραδρενεργικές απολήξεις αποκρίνονται όχι μόνο στην ακετυλοχολίνη και στη νοραδρεναλίνη, όπως περιγράφεται ανωτέρω, αλλά και σε άλλες ουσίες που απελευθερώνονται ως συν-διαβιαστές, όπως η ATP και το νευροπεπτίδιο Υ (NPΥ), ή προέρχονται από άλλες τοποθεσίες, όπως το μονοξειδίο του αζώτου, οι προσταγλανδίνες, η αδενοσίνη, η ντοπαμίνη, η 5-HT, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), τα οπιοειδή πεπτίδια, τα ενδοκανναβινοειδή και πολλές άλλες ουσίες. Ο φυσιολογικός ρόλος και η φαρμακολογική σημασία των διαφόρων αλληλεπιδράσεων που προκύπτουν παραμένουν ασαφείς (Vizi, 2001), και η περιγραφή του αυτόνομου νευρικού συστήματος όπως αποδίδεται στο Σχήμα 12.2 είναι αδιαμφισβήτητα υπεραπλουστευμένη. Το Σχήμα 12.4 παρουσιάζει μερικά από τις κύριες προσυναπτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ νευρώνων του αυτόνομου νευρικού συστήματος και τις χημικές επιρροές που ρυθμίζουν την απελευθέρωση του διαβιαστή στους νοραδρενεργικούς νευρώνες.

Οι προσυναπτικοί υποδοχείς ρυθμίζουν την απελευθέρωση του διαβιαστή κυρίως επηρεάζοντας την είσοδο Ca^{2+} στη νευρική απόληξη (Κεφ. 4) καθώς και μέσω άλλων μηχανισμών (Kubista & Boehm, 2006). Οι περισσότεροι προσυναπτικοί υποδοχείς συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες (Κεφ. 3) και

ελέγχουν τη λειτουργία των καναλιών ασβεστίου και καλίου είτε μέσω δευτέρων αγγελιαφόρων που ρυθμίζουν την κατάσταση της φωσφορύλιωσης των πρωτεϊνών των καναλιών, είτε με άμεση αλληλεπίδραση των G-πρωτεϊνών με τα κανάλια. Η απελευθέρωση του διαβιαστή αναστέλλεται όταν αναστέλλονται τα κανάλια ασβεστίου, ή όταν διεγείρονται τα κανάλια καλίου (Κεφ. 4). Σε πολλές περιπτώσεις, οι δύο μηχανισμοί δρουν ταυτόχρονα. Επίσης, υπάρχει προσυναπτική ρύθμιση μέσω υποδοχέων που συνδέονται άμεσα με τα ιοντικά κανάλια (ιοντοτρόποι υποδοχείς, Κεφ. 3), παρά μέσω G-πρωτεϊνών (Kubista και Boehm, 2006). Οι νικοτινικοί υποδοχείς ακετυλοχολίνης (nAChR) είναι πολύ σημαντικοί στην προσυναπτική ρύθμιση και διευκολύνουν ή αναστέλλουν την απελευθέρωση άλλων διαβιαστών, όπως το γλουταμινικό (Κεφ. 36). Οι περισσότεροι νικοτινικοί υποδοχείς που εκφράζονται στο ΚΝΣ εντοπίζονται προσυναπτικά. Ένα άλλο παράδειγμα είναι οι υποδοχείς GABA_{A} , οι οποίοι δρουν αναστέλλοντας την απελευθέρωση άλλων διαβιαστών (Κεφ. 4 και 37). Άλλοι ιοντοτροπικοί υποδοχείς, όπως αυτοί που ενεργοποιούνται από την ATP και την 5-υδροξυτρυπταμίνη (Κεφ. 15 και 16), μπορεί να έχουν παρόμοιες δράσεις στην απελευθέρωση διαβιαστή.

ΜΕΤΑΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ

Οι χημικοί διαμεσολαβητές συχνά δρουν επί μετασυναπτικών δομών, συμπεριλαμβανομένων των νευρώνων, λείων μυϊκών κυττάρων, καρδιακών μυϊκών κυττάρων κ.λπ., ώστε να μεταβάλλουν τη διεγερσιμότητα ή την άμεση απόκρισή τους. Σε πολλές περιπτώσεις, όπως και στην προσυναπτική ρύθμιση, οι μηχανισμοί φαίνεται να ενέχουν αλλαγές στη λειτουργία των καναλιών ασβεστίου ή/και καλίου μέσω ενός δευτέρου αγγελιαφόρου. Ακολούθως αναφέρονται μερικά παραδείγματα.