Farmacologia

La farmacologia si occupa di come i farmaci interagiscano sull'organismo vivente. Il termine "farmaco" ha assunto nel tempo significati diversi: dal greco "principio attivo", il farmaco è tutt'oggi considerato il principio attivo all'interno di un medicinale, ovvero quella componente che manca nel prodotto placebo. L'OMS nel 1966 definisce il farmaco come una sostanza o un prodotto utilizzato per modificare o esaminare funzioni fisiologiche o stati patologici a beneficio del paziente; nella Farmacopea (codice su cui sono riportati informazioni sui vari principi attivi disponibili e su metodi di analisi chimica e di preparazione di medicinali) la definizione di farmaco assume il significato di medicamento e mezzo diagnostico. Quello che utilizziamo per la terapia è un composto più complesso del farmaco che è il medicinale, che si trova sotto forma di specialità medicinale o galenico (medicinale che il farmacista può preparare utilizzando le indicazioni della Farmacopea e del medico curante, risultando quindi un medicinale ad hoc). La farmacodinamica è una branca della farmacologia che studia gli effetti biochimici e fisiologici dei farmaci, ovvero i loro meccanismi d'azione e le relazioni dose-effetto o concentrazione-effetto, mentre la farmacocinetica studia il destino del farmaco nell'organismo, ovvero i processi di assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione, nonché l'andamento temporale delle concentrazioni di farmaco all'interno di un organismo. Con ADME si indica assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione, sono le 4 fasi della farmacocinetica: l'assorbimento è il processo che porta il sangue dal sito di somministrazione al circolo sistemico, poi abbiamo la distribuzione del farmaco e il suo metabolismo che riguarda la biotrasformazione del farmaco, infine l'escrezione con cui il farmaco modificato viene allontanato dall'organismo.

Altre branche della farmacologia sono la farmacogenetico e la farmacogenomica, che si occupano di come le differenze genetiche tra gli individui causino diversa risposta ai farmaci, la farmacoantropologia e la farmacologia clinica: quest'ultima in particolare è una scienza applicativa per un uso razionale del farmaco in ambiente sanitario, ovvero è la scienza che studia nell'uomo sano e in quello malato l'effetto dei farmaci e la loro tollerabilità, la farmacocinetica ed ogni effetto utile o indesiderato; le fasi di sperimentazione clinica sono tre e devono essere superate per approvare il farmaco (AIC: autorizzazzione di immissione al commercio). La fase che può essere definita quattro è la farmacovigilanza, che studia gli effetti collaterali o tossici dei farmaci dopo la messa in commercio; altre branche della farmacologia clinica sono la farmacoepidemiologia, che studia la distribuzione nella popolazione di parametri relativi ai singoli farmaci o categorie di farmaci, e la farmacoeconomica, che studia i rapporti costo-beneficio dei farmaci.

I farmaci sono per lo più molecole organiche di natura solida, liquida o gassosa; sono per lo più elettroliyi deboli di dimensioni variabili nel range di 100-1000 Da: il fatto che siano acidi o basi deboli implica che il loro comportamento nell'organismo cambia a seconda che si trovino nel loro stato ionizzato o non ionizzato, dettaglio importante per la faramcocinetica, in particolare per la distribuzione e talvolta anche per l'assorbimento e la funzionalità del farmaco. L'origine dei farmaci può essere naturale (insulina, GH, penicillina G e V) sintetica, semisintetica e biotecnologica: in particolare i biofarmaci, che spesso sono più grandi dei farmaci tradizionali (fino a decine di kDa) ed hanno effetto extracellulare in quanto difficilmente riescono a entrare nella cellula proprio per via delle dimensioni, hanno generalmente come principio attivo proteine o acidi nucleici, in generale sono la riproduzione di molecole endogene la cui carenza può essere causa di patologie, e sono prodotti da fonti biologiche ingegnerizzate.

Il primo biofarmaco introdotto sul mercato è stata l'insulina.

- Molto **più complessi** dei tradizionali, mimano le sostanze prodotte dal corpo umano come enzimi, ormoni e anticorpi, acidi nucleici
- I farmaci biotecnologici sono realizzati **sfruttando cellule vive in coltura** all'interno di bioreattori, oppure sono prodotti direttamente in organismi modificati (transgenici). Vengono poi purificati e devono quasi sempre essere somministrati tramite iniezione
- Data la complessità dei farmaci biotecnologici, la loro produzione richiede un alto monitoraggio e un notevole **controllo qualità**: in media per ogni prodotto biotecnologico sono richiesti 250 test
- Il materiale di partenza ed il complesso processo produttivo comportano una **maggiore difficoltà nella riproduzione** esatta di una molecola biologica

Farmaci biotecnologici

Un medicinale generico è il medicinale prodotto quando scade il brevetto del principio attivo del primo medicinale immesso sul mercato, che è quindi quello originale. Un farmaco biosimilare è un prodotto biotecnologico simile al medicinale originale prodotto dopo la scadenza del brevetto, ed è quindi il corrispondente del generico per i farmaci tradizionale: il biosimilare si ottiene però, a differenza del generico, da un processo produttivo che presenta un certo grado di variabilità tale per cui non è una copia esatta del prodotto originale, mentre il generico è il frutto di un processo standardizzato e costantemente riproducibile grazie alle metodiche analitiche attualmente disponibili; la variabilità dei biosimilari dipende dal fatto che partendo da una matrice vivente, le condizioni in cui queste cellule vengono mantenute in laboratorio, che possono essere leggermente variabili, possono produrre colture cellulari leggermente diverse che quindi danno origine a biofarmaci non perfettamente identici l'uno all'altro.

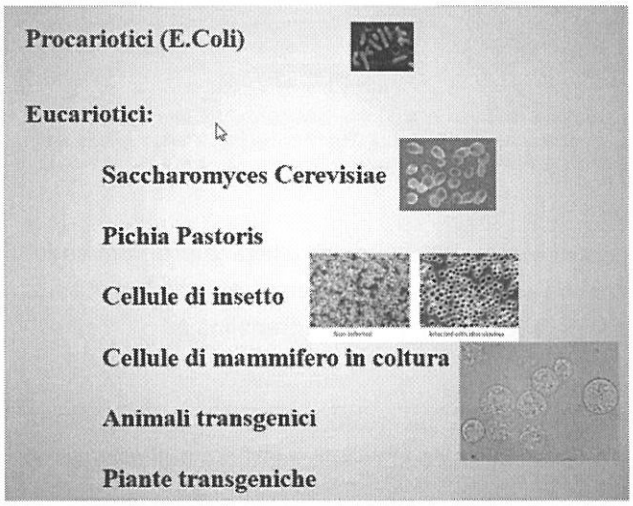
Vantaggi offerti nell'ambito dei farmaci di natura proteica

- superamento del problema della **disponibilità** (per esempio interferoni e interleuchine)
- superamento del problema della **sicurezza** (grazie all'alternativa alla estrazione da fonte potenzialmente pericolosa o possibile fonte di reazioni immunitarie (per esempio l'FSH dalle urine, oppure il GH da ipofisi umane e l'insulina da pancreas animale)
- produzione di **proteine modificate** con vantaggi rispetto alla proteina nativa (attraverso la tecnica della mutagenesi sito-diretta oppure attraverso la realizzazione di proteine chimeriche; per es. insuline che agiscono rapidamente e insuline che agiscono in maniera ritardata oppure anticorpi chimerici o umanizzati oppure ancora, proteine di fusione che uniscono una tossina con una struttura veicolante).

Uno dei primi biofarmaci è stata appunto l'insulina: prima si realizzava la terapia con insulina di animale (es. erano necessari 70 maiali per paziente in un anno), ma c'era il rischio di reazioni allergiche; oggi viene prodotta insulina identica a quella umana (o modificata in modo vantaggioso, come visto sopra) nei batteri. Una delle difficoltà consiste nel fatto che le cellule procariotiche hanno caratteristiche diverse da quelle eucariotiche, e nella produzione dell'insulina non si può quindi partire dal gene dell'insulina umana perché esso codifica per un precursore che deve andare incontro a modifiche post-traduzionali non realizzabili dal batterio: l'insulina è stata quindi realizzata sfruttando DNA ricombinanti che codificano per la catena a e la catena b dell'insulina, utilizzati per transfettare DNA plasmidici.

La prima proteina prodotta per via ricombinante è stata il growth hormon in E.coli; il GH da animali non era efficace sull'uomo ed erano necessarie 80 ipofisi di cadaveri umani per paziente in un anno, col rischio però di contrarre infezioni e malattie come la sindrome di Creutzfeldt-Jakob.

I vantaggi che hanno offerto i procarioti, che sono stati il sistema di espressione più utilizzato per le proteine ricombinanti, sono il fatto che si replichino senza problemi e velocemente e che siano anche organismi molto semplici; inoltre, il costo è basso ed è basso anche il rischio di infezioni virali, perché i batteriofagi non sono patogeni per l'uomo. Tuttavia, i procarioti non sono in grado di determinare il folding corretto delle proteine come viene determinato a livello di cellula eucariotica, e mancano inoltre di meccanismi di modificazione post-traduzionale come glicosilazione e tagli proteolitici (come avviene per l'insulina). Ultimamente si sono iniziati a utilizzare anche sistemi eucariotici.



Sistemi di espressione

L'effetto farmacologico che ci aspettiamo, quello di interesse, per cui il farmaco viene somministrato, è quello terapeutico, detto anche primario; esistono tuttavia anche effetti secondari o collaterali, che possono essere nocivi scatenando una cosiddetta reazione avversa.

<u>Come agiscono i farmaci?</u>

La maggior parte dei farmaci agisce legandosi a una componente molecolare nel nostro organismo, che sono principalmente macromolecole proteiche, lipiche, oppure carboidrati o acidi nucleici; qualsiasi molecola a cui il farmaco si lega per indurre la sua azione farmacologica è da considerarsi come un recettore in senso lato, anche se ci sono farmaci che non necessitano di questo tipo di interazione, ma di meccanismi chimici o fisici di base come un'azione osmotica, antiacida, chelante, acidificante..

Gli accettori non sono responsabili di un meccanismo con cui il farmaco agisce, ma sono molecole a cui il farmaco si può legare senza dare alcun effetto: risultano quindi una fonte di deposito del farmaco, importanti per la farmacocinetica.

Alcuni recettori in senso lato possono essere canali, enzimi, trasportatori..

Inizialmente si effettuano studi di binding a diverse concentrazioni per verificare la capacità del farmaco di legarsi al recettore, isolando le cellule e incubandole con il farmaco radioattivo (se non è possibile rendere il farmaco radioattivo è possibile utilizzare un farmaco che si lega allo stesso recettore ma che si può rendere radioattivo, poi si valuta quanto il nuovo farmaco è in grado di spiazzare quello radioattivo), misurando poi con uno scintillatore la radioattività legata. LEGGE DI AZIONE DI MASSA: SLIDE

La curva di legame ci permette di ricavare i parametri sull'interazione farmaco-recettore; su Y abbiamo il complesso farmaco-recettore, mentre su X la concentrazione del farmaco; il plateau corrisponde a un numero di legami massimo. In grafico semilogaritmico la curva iperbolica diventa una sigmoide.

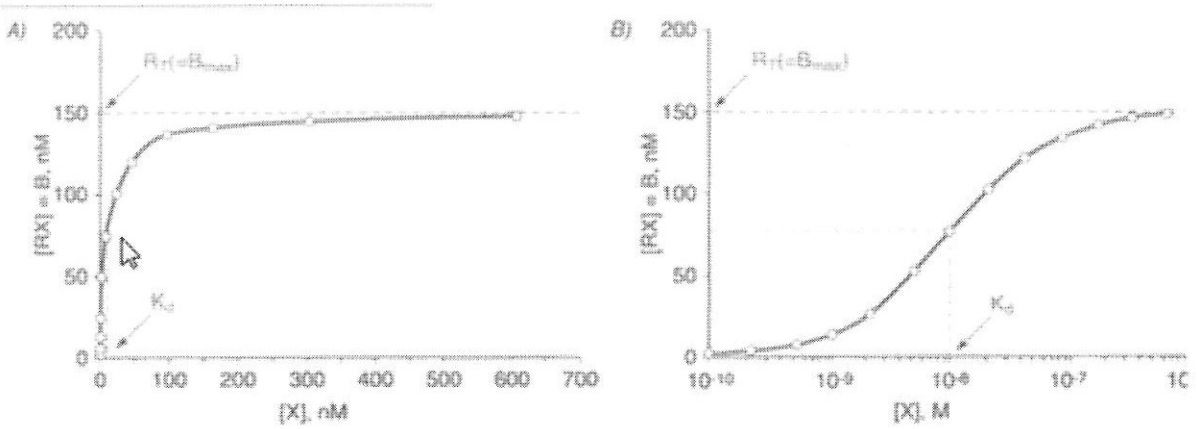
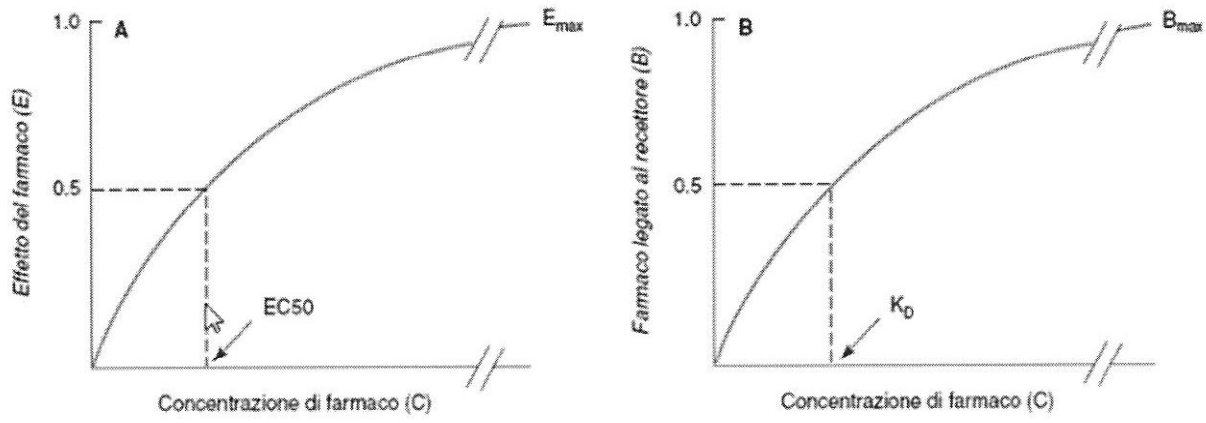


Fig. 4.2. Isoterma di legame: concentrazione del complesso farmaco-recettore (RX o B) in funzione della concentrazione del farmaco libero (X). In questo esempio, K_D = 10 nM e $R_T = B_{max}$ = 150 nM. B_{max} si ottiene dal valore del *plateau* a cui la curva tende asintoticamente. K_D è pari alla concentrazione di farmaco che provoca la saturazione del 50% dei recettori presenti. In *A*): grafico in scala aritmetica; in *B*): gli stessi dati di *A*) in scala semilogaritmica.

I farmaci che si legano a un recettore possono essere agonisti o antagonisti: i primi si legano promuovendo una cascata di eventi intracellulari, i secondi non promuovono alcuna cascata di eventi intracellulari ma si legano a scapito del ligando endogeno, riducendone la risposta (es. antagonisti di adrenalina e noradrenalina contro l'ipertensione).

Gli studi di binding non ci possono dire cosa segue all'interazione con il recettore, per questo si effettuano degli studi detti funzionali, che sono atti a rilevare un effetto del farmaco in cellule, tessuti o nell'organismo in toto.

Per un farmaco possiamo disegnare la curva concentrazione/effetto e la curva di legame.



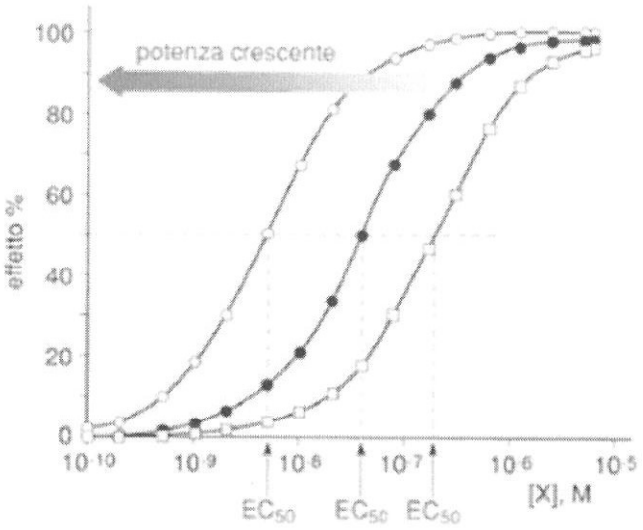
Prendendo come riferimento il punto dell'asse Y a livello di cui individuiamo che il farmaco ha il 50% dell'effetto massimo, chiamiamo EC50 la corrispondente concentrazione, che prende il nome di potenza, che è in relazione alla risposta del farmaco e alla concentrazione necessaria per ottenerla: il farmaco più potente se agisce a concentrazioni inferiori. C'è spesso corrispondenza tra le due curve: Clark elaborò una teoria sostenendo che l'effetto è direttamente proporzionale alla quota di recettori occupati; più recettori sono occupati maggiore è l'effetto del farmaco fino a saturazione dei recettori, ciò significa c'è spesso una corrispondenza tra Kd e EC50 (in realtà è la seconda che è strettamente influenzata dalla prima)

$Kd \sim EC50 \qquad Ka = 1/Kd$

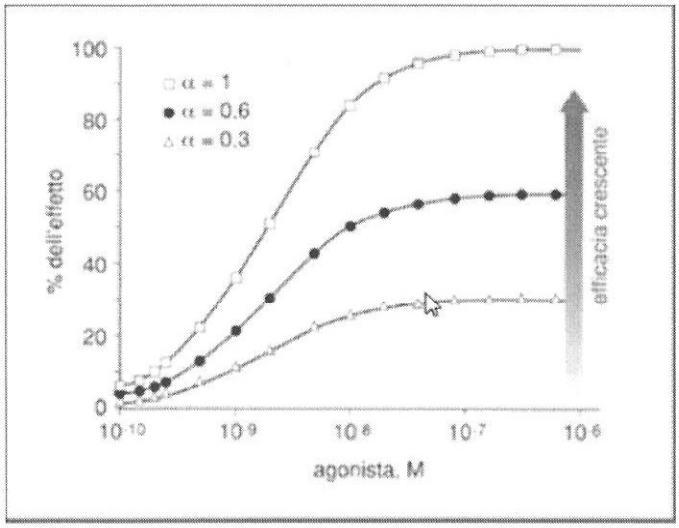
$Log\ Ka \sim -Log\ EC50$

$-Log\ EC50 = pD2$

È pD2 che esprime la potenza di un farmaco. La costante di dissociazione (Kd) è l'inverso della costante di associazione.



Un farmaco è più potente se la sua curva sigmoide è spostata verso sinistra; la curva deriva dai dati che hanno dato la curva iperbolica ma in scala logaritmica.



Studiando molecole che hanno mostrato di interagire con gli stessi recettori si è capito che c'era qualche mancanza nella teoria di Clark: vediamo che si arriva a saturare i recettori con tutti e tre i farmaci ma in maniera differente, ovvero si osserva che non tutti i farmaci danno lo stesso effetto massimale, soltanto uno dei tre ha il 100% dell'effetto. Non si parla di potenza ma di efficacia, che è in relazione all'effetto che si può raggiungere con quel farmaco (ovvero il farmaco migliore non si può definire più potente ma più efficace). La teoria di Clark non è valida perché tutti e tre i farmaci hanno stessa occupazione recettoriale ma effetto diverso.