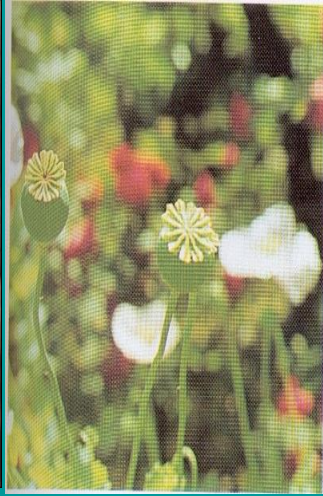


Farmacologia Cellulare e Molecolare

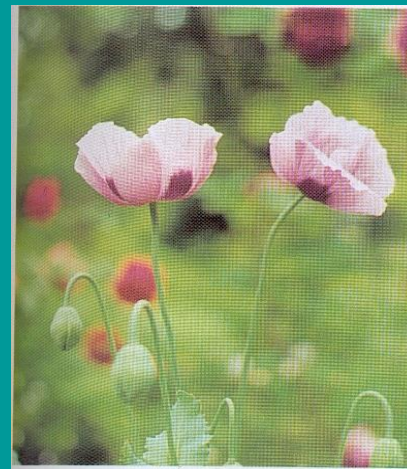
2023

Prof.ssa Patrizia Romualdi



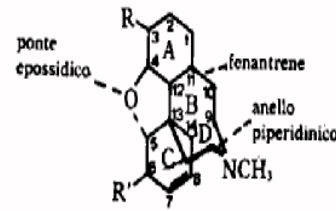
Il sistema oppioide

Patrizia Romualdi



Cosa sono gli oppiacei?

Morfina
Metadone
Idromorfone
Ossicodone
Fentanil
Tapentadolo



R	R'	Composto
OH	OH	morfina
OCH ₃	OH	codeina
OCH ₃	OCH ₃	tebaina
OC ₂ H ₅	OH	etilmorfina (dionina)
OCOCH ₃	OCOCH ₃	diacilmorfina (eroina)
OCH ₃	= O ⁽¹⁾	diidrocodeinone (dicodid)

⁽¹⁾ Con saturazione del doppio legame 7-8.

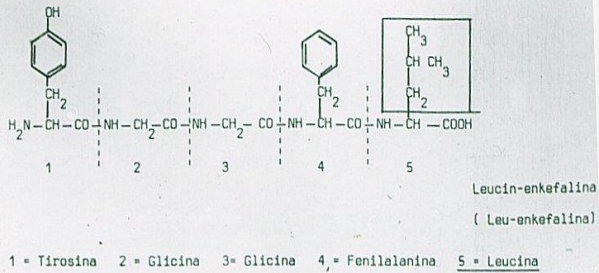


Buprenorfina
Codeina
Tramadolo
Pentazocina
Naloxone

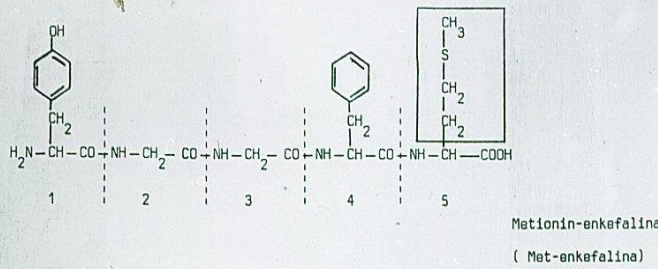
Gli **Oppiacei** sono farmaci naturali e di sintesi, che interagiscono con i recettori oppioidi.

Gli **Oppioidi** sono sostanze peptidergiche endogene, naturali ligandi dei recettori oppioidi.

Gli oppioidi si legano ad almeno 3 tipi recettoriali altamente specifici : μ (MOP, MOR), κ (KOP, KOR), e δ (DOP, DOR).

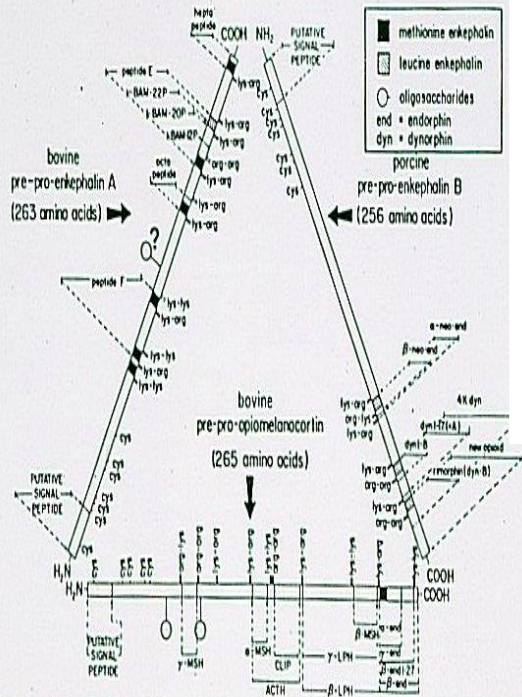


1 = Tirosina 2 = Glicina 3 = Glicina 4 = Fenilalanina 5 = Leucina

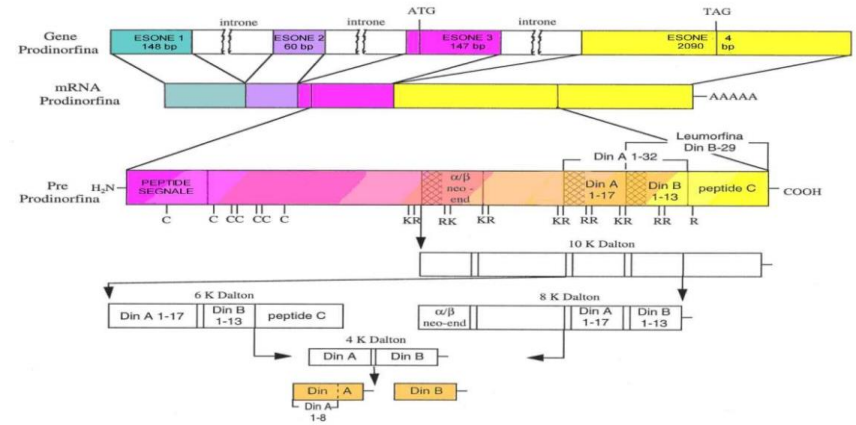
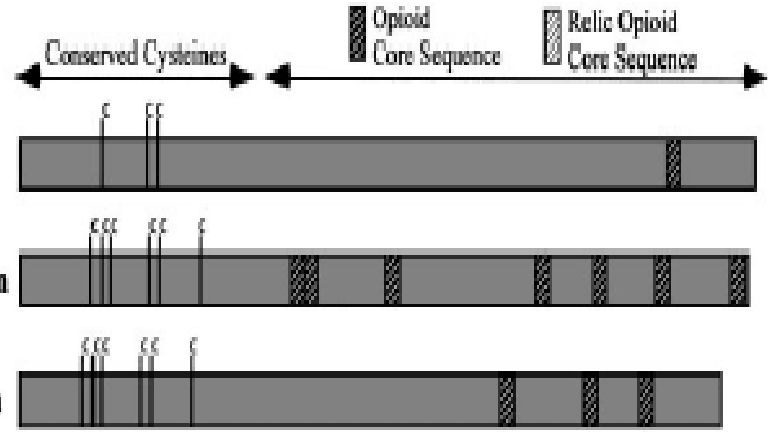


1 = Tirosina 2 = Glicina 3 = Glicina 4 = Fenilalanina 5 = Metionina

Gli oppioidi = molecole endogene

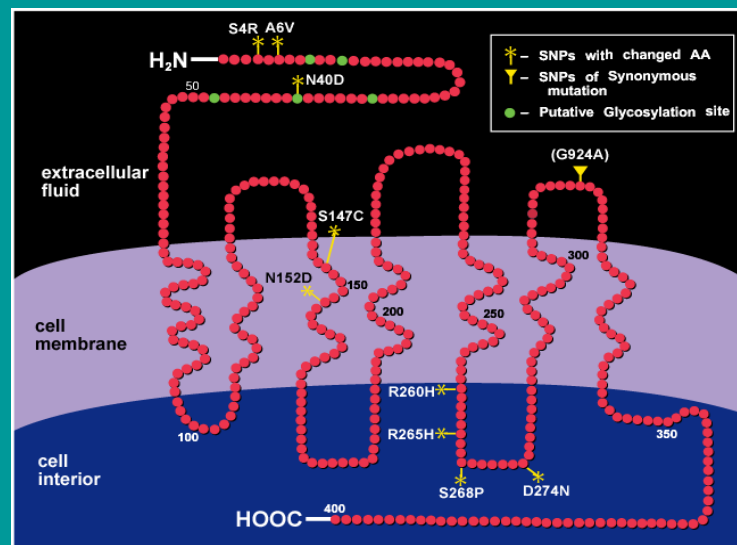
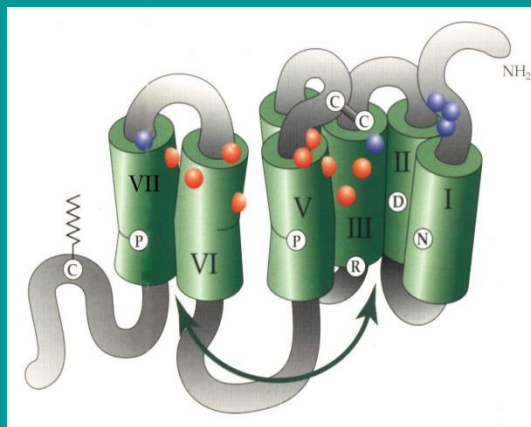
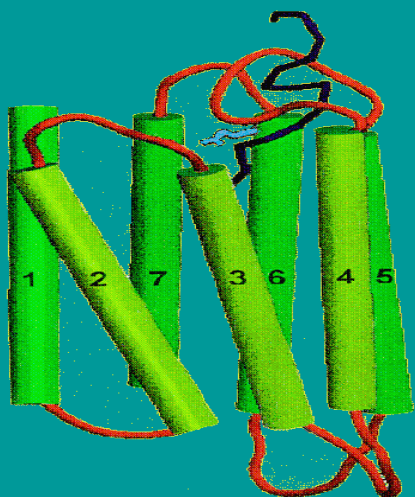


Schematic representation of bovine pre-pro-opiomelanocortin, bovine pre-pro-enkephalin A and porcine pre-pro-enkephalin B. The figure is based on the data from Refs 11, 20 and 22. The heptapeptide is Met-enkephalin-Arg⁷-Phe⁸; the octapeptide is Met-enkephalin-Arg⁷-Gly⁸-Leu⁹; BAM-P = bovine adrenal medulla peptides (see Ref. 19).

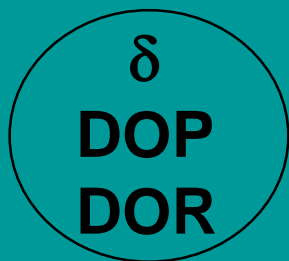


I RECETTORI OPIOIDI

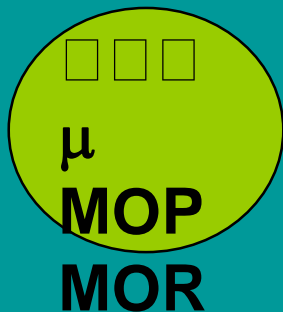
I recettori oppioidi appartengono alla superfamiglia GPCR a 7TM, accoppiati prevalentemente a Proteine G α i/o



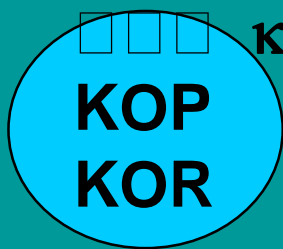
hMOP, Kreek et al, 2005



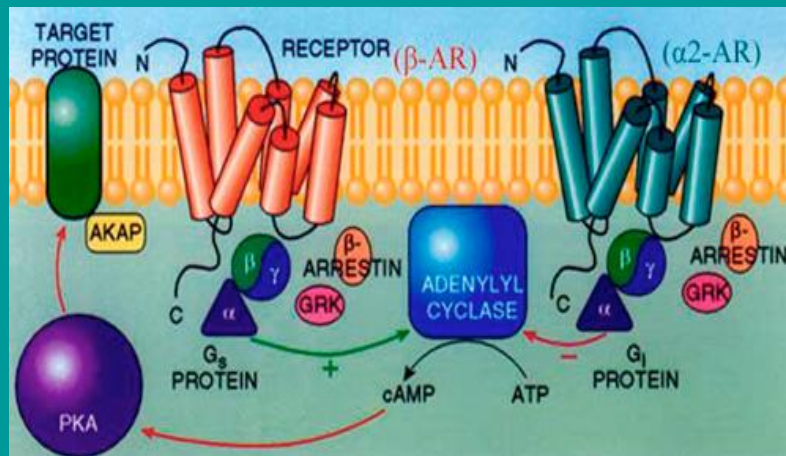
Enkefaline



Beta
Endorfina



Dinorfine



- L'inibizione della adenilato ciclastasi diminuisce il livello di AMP ciclico e quindi dell'attivazione cellulare
- L'attivazione dei canali K induce iperpolarizzazione (K esce dalla cellula)
- La soppressione di correnti di Ca^{++} , canali di tipo L postsinaptici, e di tipo N presinaptici inibisce il rilascio di neurotrasmettitori



- Tutti questi meccanismi contribuiscono all'inibizione della trasmissione degli stimoli nocicettivi in varie vie neuronali

Il neuropeptide nocicettina o orfanina FQ

Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln

dinorfina A
 γ-endorfina
 met-enkefalina

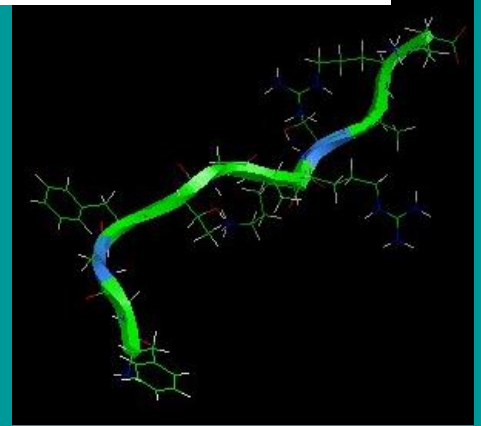
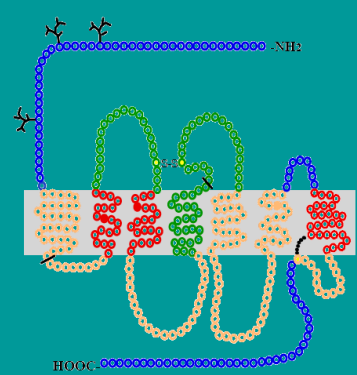
Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln
 Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu
 Tyr-Gly-Gly-Phe-Met

Mouse	MKILFCDVLLLSLLSSVFSSCPDCLTCQEKLHPAPDSFNLKTCILQCEEKVPFRPLWTVCTKVM	
Rat	MKILFCDVLLLSLLSSVFSSCPEDCLTCQERLHPAPGFSFNLKLCILQCEEKVPFRPLWTLCTKAM	
Human	MKVLLCDL LLLSLFSSVFSSCQRDCLTCQEKLHPALDSFDLEVCILECEEKVPFSPPLWTPCTKVM	
		Nocistatin
Mouse	ASGSGQLSPADPELVSAALYQPKASEMQHLKRM PRVRS LVQVRDAEPGADAEPGADDAE	
Rat	ASDSEQLSPADPELTSAAALYQSKASEMQHLKRM PRVRS VVQARDAEPEA-----DAPVDAEAD	
Human	ARSSWQLSPAAPPEHVAAALYQPRASEMQHLRRM PRVRS LFQEQEE-PEP-----GMEEAG	
		OFQ/N OFQ2/NocII
Mouse	EVEQKQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFSEFMRQYLVL SMQSSQR RRTLHONGNV	187
Rat	EVEQKQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFSEFMRQYLVL SMQSSQR RRTLHONGNV	181
Human	EME Q KQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFSEFMRQYLVL SMQSSQR RRTLHONGNV	176
		OFQ/N₁₆₀₋₁₈₇

Fig. 3. Schematic of the prepro-OFQ/N gene.



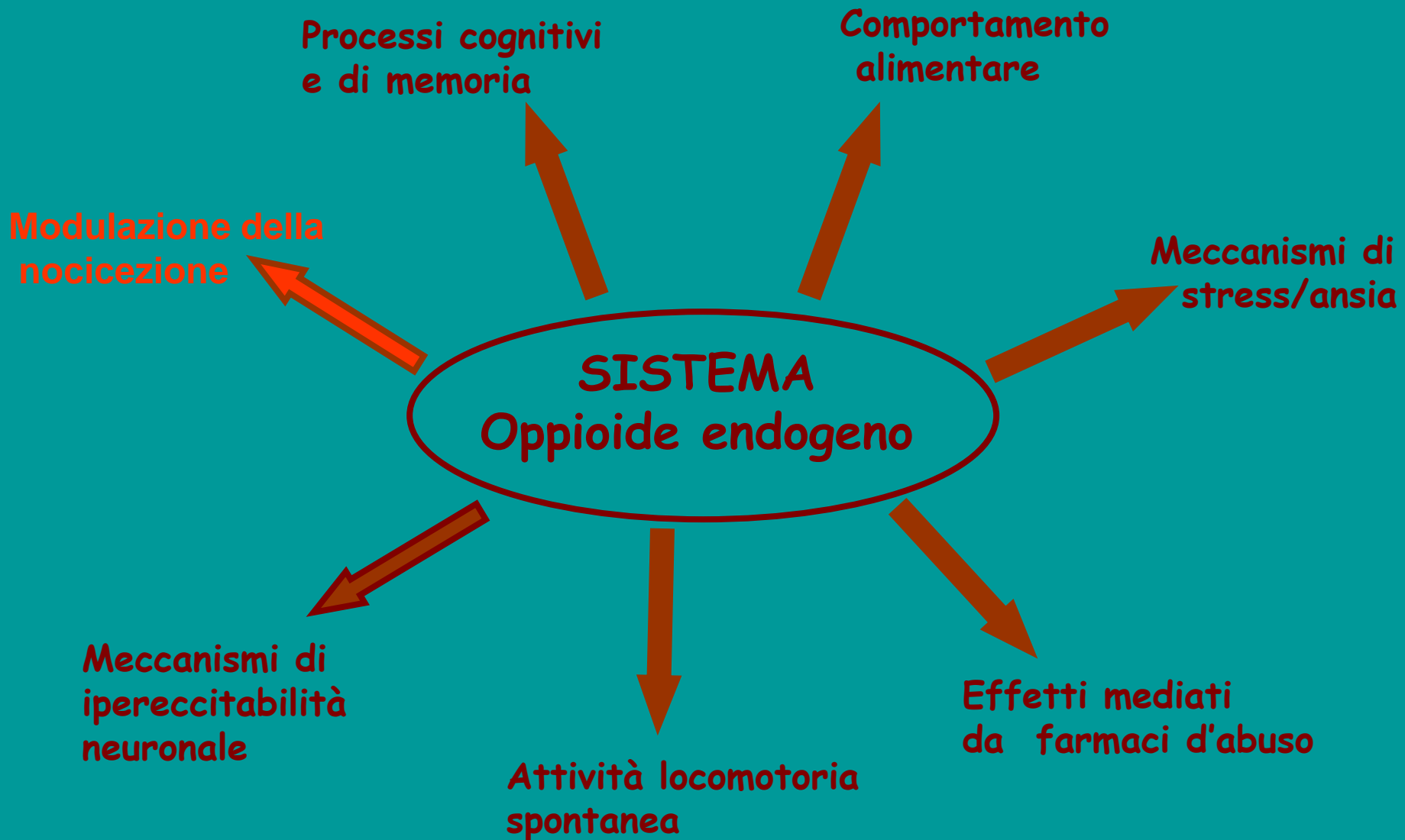
Il recettore NOP (ex-ORL-1, XOR1, LC132, KOR3)



Meunier J.C. et al., Nature, 377, 532, 1995

Reinscheid R. et al., Science, 270,792, 1995

RUOLO BIOLOGICO



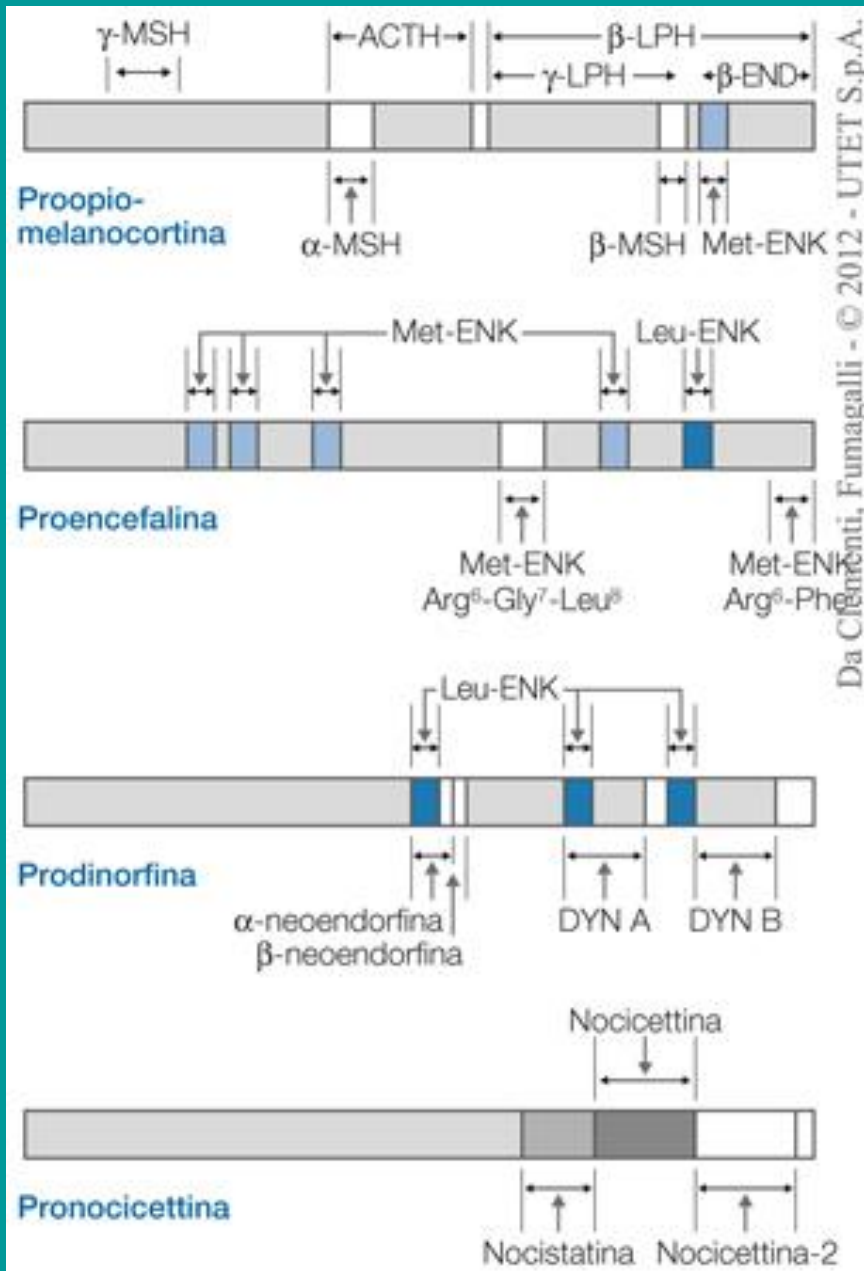


Figura 41.1 Rappresentazione schematica dei quattro precursori dei peptidi oppioidi: la prooppiomelanocortina, la proencefalina, la prodinorfina e la pronocicettina. Coppie di amminoacidi basici lisina e arginina rappresentano i punti di attacco da parte di enzimi litici che tagliano i precursori fino a ottenere i peptidi biologicamente attivi.

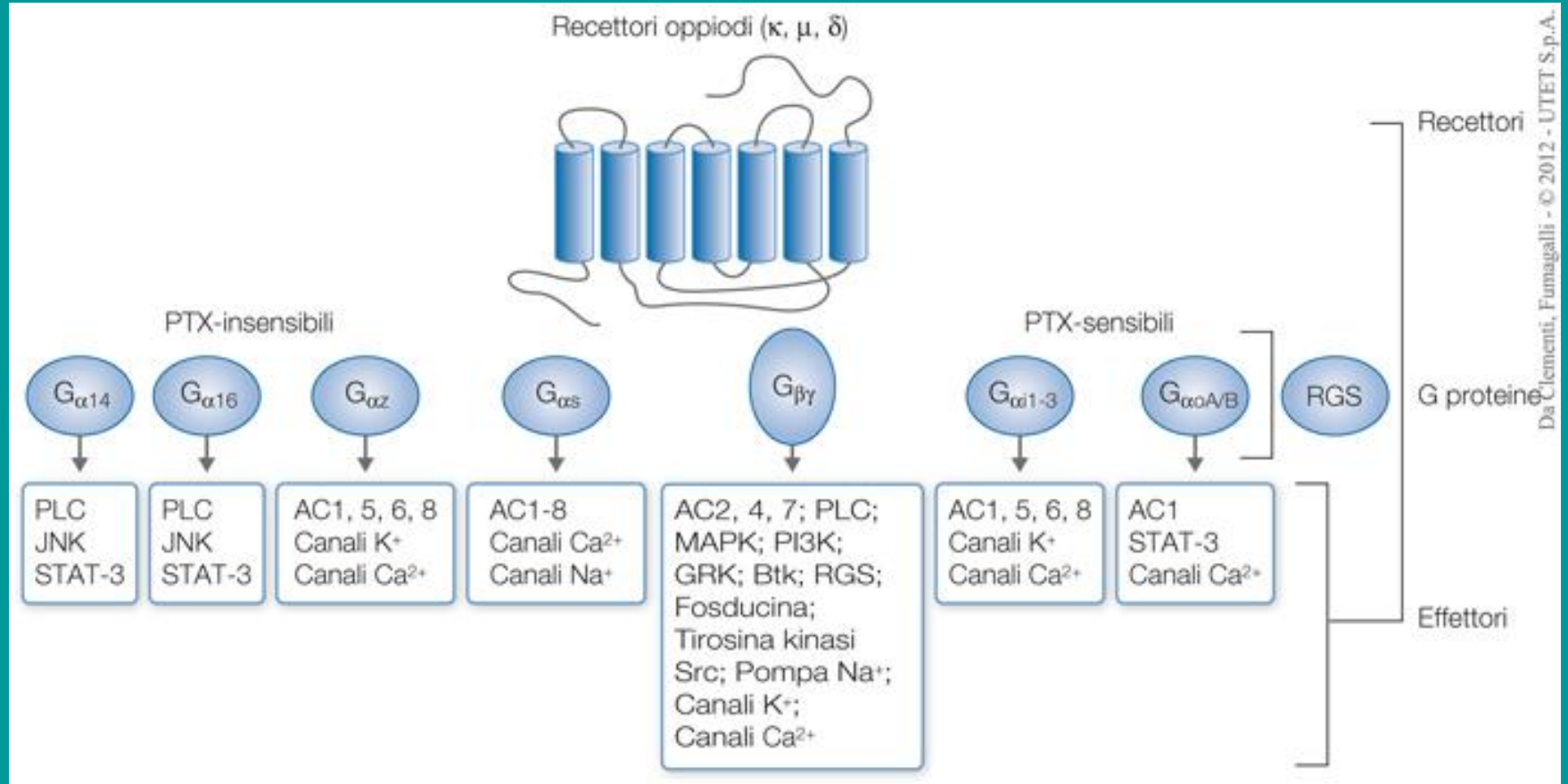


Figura 41.2 Differenti vie di trasduzione del segnale attivate dai recettori oppioidi. I recettori oppioidi sono accoppiati a proteine G sensibili o insensibili alla tossina della pertosse (PTX). L'attività GTPasica di $G_{\alpha i}$, $G_{\alpha o}$ e $G_{\alpha z}$ viene modulata da proteine RGS (*Regulators of G-protein Signalling*). AC: adenilato ciclasi; STAT-3: *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*; PLC: fosfolipasi C; MAPK: *Mitogen Activated Protein Kinase*; PI3K: *Phospho Inositide 3-Kinase*; GRK: *G-protein-coupled Protein Kinase*; Btk: *Burton's tyrosine kinase*; JNK: *c-Jun N-terminal Kinase*.

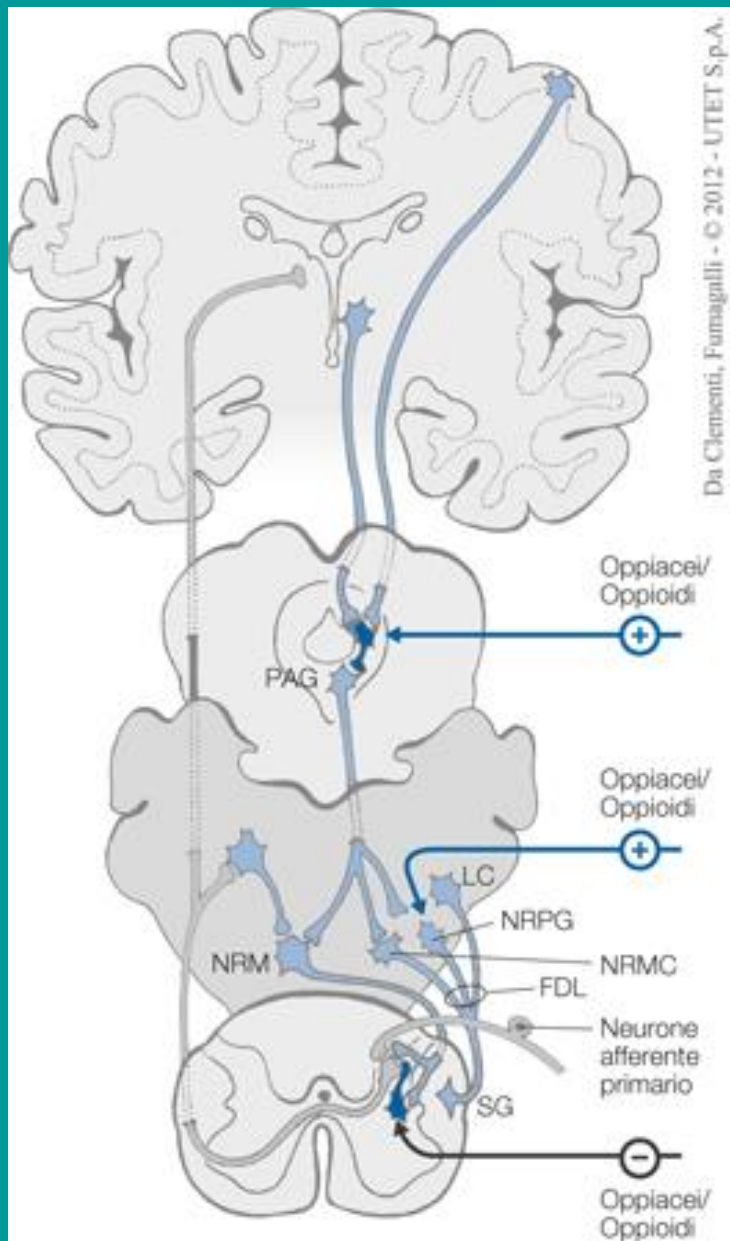


Figura 41.3 Illustrazione schematica delle vie inibitorie discendenti deputate al controllo delle afferenze nocicettive. I neuroni della sostanza grigia periacqueduttale (PAG) ricevono impulsi di controllo dalla corteccia (+/-), dal talamo (+) e dall'ipotalamo (+/-). I neuroni della PAG proiettano, nel midollo allungato, sul nucleo magno del rafe (NRM) e sul nucleo reticolare magnocellulare (NRMC). Da qui originano fibre discendenti che giungono alla sostanza gelatinosa (SG) del midollo spinale attraverso il funicolo dorso-laterale (FDL). Altre proiezioni spinali rilevanti ai fini del controllo del dolore partono dal nucleo reticolare paraventricolare (NRPG), a sua volta controllato dalla PAG, e da gruppi di cellule noradrenergiche pontomidollari (locus coeruleus, LC). L'NRM riceve segnali di attivazione dall'adiacente NRPG che a sua volta viene attivato da impulsi portati attraverso i fasci ascendenti spino-talamici. I neuroni nocicettivi spinali subiscono quindi il controllo inibitorio delle vie discendenti per afferenza sia diretta sia per afferenza mediata da interneuroni della SG. In azzurro: sistema inibitore discendente; in grigio: neuroni ascendenti spino-talamici; in blu: interneuroni contenenti peptidi oppioidi.

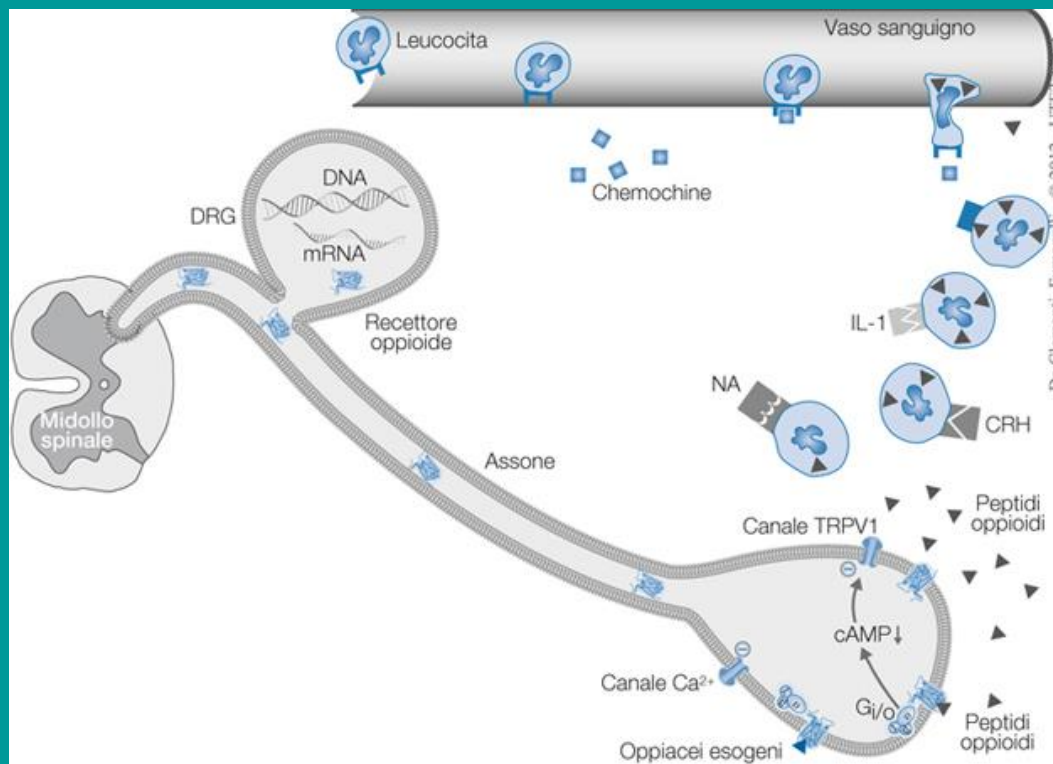
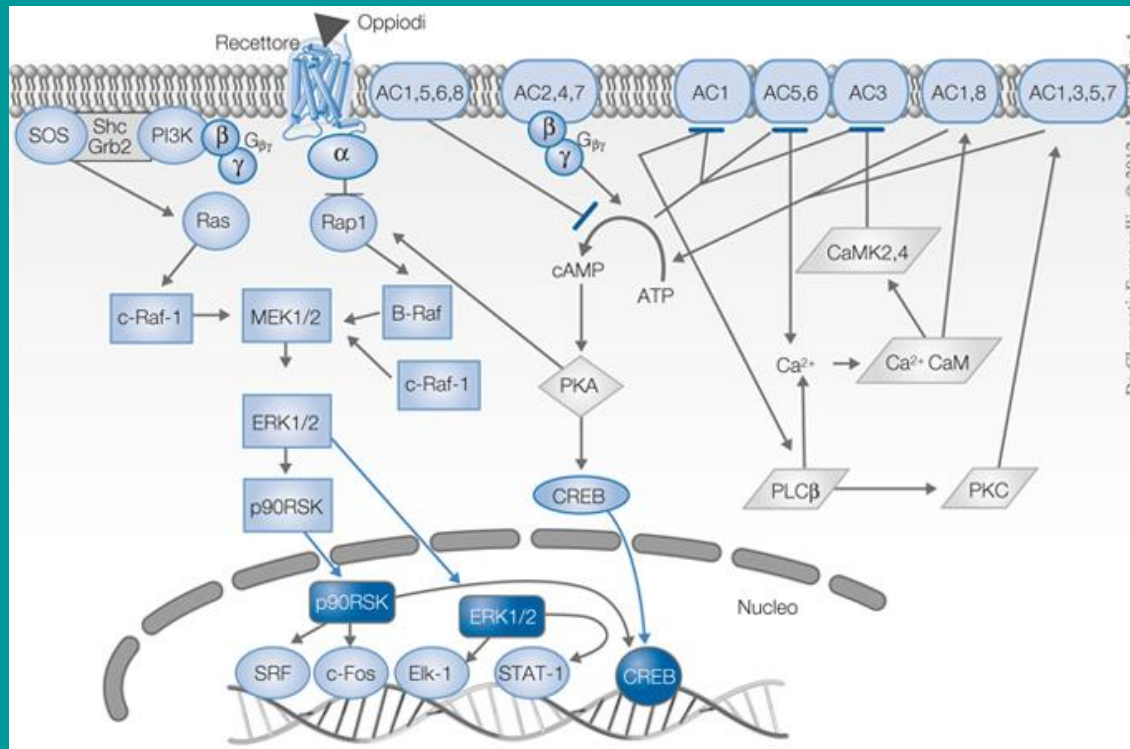


Figura 41.4 Rappresentazione schematica di strutture e molecole coinvolte nell'analgesia periferica mediata dal sistema oppioidi. Leucociti contenenti peptidi oppioidi migrano dal vaso al tessuto infiammato dove liberano peptidi sotto lo stimolo di numerosi fattori quali chemochine, CRH e noradrenalina. Recettori oppioidi, sintetizzati nel ganglio delle radici dorsali e trasportati sia verso il corno posteriore del midollo spinale sia verso la terminazione periferica del neurone afferente primario, in condizioni di infiammazione aumentano la loro espressione e sono disponibili per il legame sia con i peptidi oppioidi liberati sia con molecole esogene applicate in periferia. (Da: Busch-Dienstfert M, Stein C. Brain Behav Immun 2010;24:683-94, modificata)



Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - U.S.P.A.

Figura 41.5 Vie di trasduzione del segnale che collegano i recettori oppioidi ad AC (adenilato cilclasi), CREB (*cAMP Responsive Element-Binding protein*), MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) e differenti fattori di trascrizione. Le proteine G α i/osopprimono la PKA (*cAMP-dependent Protein Kinase*) inibendo AC1, 5, 6 e 8. Il complesso G $\beta\gamma$ stimola direttamente AC2, 4 e 7, ma inibisce AC1. Inoltre, G $\beta\gamma$ inibisce AC1, 3, 5 e 6 attraverso la mobilizzazione di Ca²⁺ mediata da fosfolipasi C β (PLC β) e attivazione di calmodulin-kinase 2,4 (CaMK2,4), ma stimola AC1 e 8 attraverso Ca²⁺/calmodulina attivata dalla PLC β e stimola AC1-3, 5 e 7 attraverso la PKC. L'attività di CREB è regolata dalla cascata delle MAPK attraverso β -Raf o c-Raf-1. I recettori oppioidi possono modulare la cascata delle MAPK e diversi eventi trascrizionali non solo attraverso le proteine G α i/o, ma anche attraverso G $\beta\gamma$ in seguito al reclutamento di PI3K (fosfatidilinositolo 3-kinasi), Shc, Grb2 e SOS.

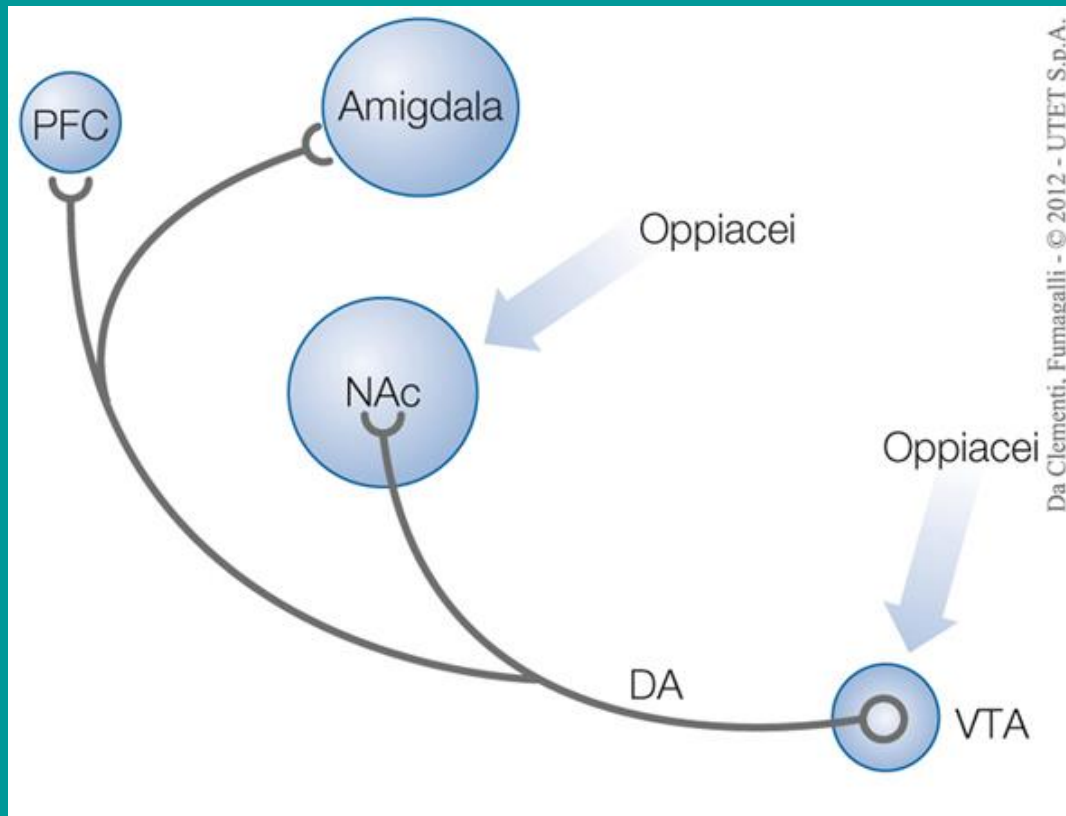
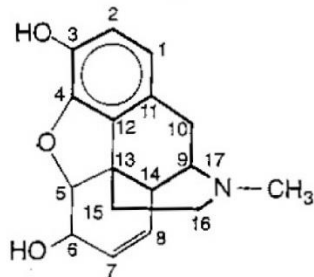


Figura 41.6 Schema del sistema mesolimbicocorticale. Neuroni di natura dopaminergica (DA) proiettano dall'area ventrale tegmentale (VTA) al nucleo accumbens (NAc), alla corteccia prefrontale (PFC) e all'amigdala.



TABELLA 41.1 Peptidi oppioidi endogeni, selettività recettoriale e sequenze amminoacidiche (codice a una lettera)*

		Recettori	Sequenza amminoacidica
Peptidi oppioidi endogeni	Met-enkefalina	$\delta \mu$	Y-G-G-F-M
	Leu-enkefalina	$\delta \mu$	Y-G-G-F-L
	β -Endorfina	$\mu \delta$	Y-G-G-F-M-Y-S-E-K-S-Q-T-P-L-V-T-L-F-K-N-A-I-I-K-N-A-Y-K-K-G-E
	Dinorfina A	$\kappa \mu$	Y-G-G-F-L-R-R-I-R-P-K-L-K-W-D-N-Q
	Dinorfina B	κ	Y-G-G-F-L-R-R-Q-F-K-V-V-T
	α -Neoendorfina	κ	Y-G-G-F-L-R-K-Y-P-K
	β -Neoendorfina	κ	Y-G-G-F-L-R-K-Y-P
Nuovi peptidi endogeni correlati agli oppioidi	Nocicettina/Orfanina FQ	NOP	F-G-G-F-T-G-A-R-K-S-A-R-K-L-A-N-Q
	Endomorfina-1	μ	Y-P-W-F-NH ₂
	Endomorfina-2	μ	Y-P-F-F-NH ₂

*Il requisito necessario per il legame ai recettori oppioidi consiste nella presenza dell'amminoacido tirosina (Y) in posizione 1, seguita a distanza sterica critica (posizione 3 o 4) dalla fenilalanina (F). La nocicettina manca della Y in posizione 1 e non si lega ai recettori oppioidi classici.



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

NOME	POSIZIONE			
	3	6	17	
Morfina	—OH	—OH	—CH ₃	altra
Eroina	—OCOCH ₃	—OCOCH ₃	—CH ₃	
Idromorfone	—OH	=O	—CH ₃	a
Ossimorfone	—OH	=O	—CH ₃	a, b
Levorfanolo	—OH	—H	—CH ₃	a, c
Codeina	—OCH ₃	—OH	—CH ₃	
Idrocodone	—OCH ₃	=O	—CH ₃	a
Ossicodone	—OCH ₃	=O	—CH ₃	
Naloxone	—OH	=O	—CH ₂ CH=CH ₂	a, b
Naltrexone	—OH	=O	—CH ₂ — 	a, b
Buprenorfina	—OH	—OCH ₃	—CH ₂ — 	a, d

a: legame singolo tra C7 e C8

b: OH su C14

c: manca l'atomo di O tra C4 e C5

d: ponte endoetenico tra C6 e C14; 1-OH-1,2,2-trimetilpropile su C7.

Figura 41.1.1 Struttura di agonisti e antagonisti oppiacei correlati alla morfina.

Tabella 41.1.1 Attività e selettività di alcuni oppiacei nei confronti dei differenti recettori oppioidi

Oppiacei	Recettori		
	μ	δ	κ
Morfina	+++		+
Metadone	+++		
Etorfina	+++	+++	+++
Levorfanolo	+++		
Fentanil	+++		
Sufentanil	+++	+	+
Butorfanolo	A.P.		+++
Buprenorfina	A.P.		--
Naloxone	---	-	--
Pentazocina	A.P.		++
Bremazocina	+++	++	+++

+: attività agonista; -: attività antagonista; A.P.: agonista parziale; il numero dei simboli è un indicatore della potenza ottenuta da studi in vivo

Approfondimento 41.1

Tabella 41.1.1

Attività e selettività di alcuni oppiacei nei confronti dei differenti recettori oppioidi.

Tabella 41.3.1 Effetti prodotti dall'attivazione dei recettori oppioidi e loro localizzazione nel SNC

Effetti	Tipo recettoriale	Localizzazione recettori
Analgesia spinale sopraspinale	μ, κ, δ	Lamine I e II del midollo spinale, sostanza grigia periacqueduttale, nuclei talamici mediali, nucleo talamico intralaminare, nuclei del rafe
Inibizione della tosse Ipotensione ortostatica Inibizione della secrezione gastrica	μ	Nucleo del tratto solitario, nucleo commissurale, nucleo ambiguo, locus coeruleus, nuclei ipotalamici
Depressione respiratoria	μ	Sostanza reticolare pontobulbare, nucleo del tratto solitario, nucleo motore dorsale del vago
Nausea e vomito	μ, δ	Area postrema (CTZ)
Miosi	μ, δ	Nucleo di Edinger-Westphal, area pretettale, collicolo superiore
Inibizione della secrezione di vasopressina	μ	Ipotalamo, ipofisi posteriore
Altri effetti endocrini	μ, δ	Infundibolo ipotalamico, eminenza mediana, sistema ottico accessorio, amigdala
Comportamento, affettività, memoria	μ, κ, δ	Amigdala, sistema settoippocampale, corteccia, talamo mediale, VTA, nucleo accumbens
Attività motoria	μ	
Catalessia Acinesia	μ	Nucleo accumbens
Rigidità muscolare	μ	Nucleo caudato