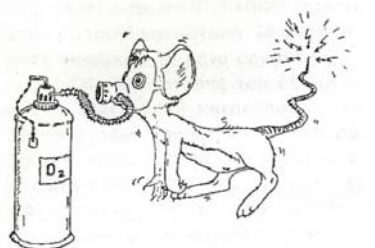


ΕΛΕΝΗ Α. ΡΕΚΚΑ
ΠΑΝΟΣ Ν. ΚΟΥΡΟΥΝΑΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ
ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΟΧΗΜΕΙΑΣ – ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΦΑΡΜΑΚΩΝ





1. ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Ο κυριότερος στόχος της σύγχρονης Φαρμακοχημείας είναι η ανακάλυψη νέων ή βελτιωμένων φαρμάκων, σε σχέση με τα υπάρχοντα, δηλαδή δραστικότερων, λιγότερο τοξικών, αλλά και φθηνότερων. Στη διαδικασία της ανακάλυψης νέων φαρμακομορίων, το αποφασιστικότερο βήμα είναι η ανεύρεση της «**οδηγού ένωσης**». Ακολουθούν δομικές τροποποιήσεις στο μόριο της οδηγού ένωσης, συνήθως αποικοδομητικές (βαθμιαία απομάκρυνση ομάδων ή τμημάτων του μορίου), για να ληφθεί μόριο απλούστερο της οδηγού ένωσης, το οποίο όμως θα διατηρεί την αρχική βιολογική ιδιότητά της. Με τον τρόπο αυτό προκύπτει η «**φαρμακοφόρος δομή**». Δηλαδή, η φαρμακοφόρος δομή είναι η απλούστερη χημική δομή που διατηρεί τη βιολογική δράση και περιέχει τις ελάχιστες δυνατές χημικές ομάδες στην κατάλληλη θέση τόσο μεταξύ τους όσο και στο χώρο, στις οποίες βασίζεται η δράση αυτή. Ακολουθούν μελέτες των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των ενώσεων που συντίθενται και συσχέτιση δομής – φυσικοχημικών ιδιοτήτων – βιολογικής δραστικότητας. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στη φάση της βελτιστοποίησης, δηλαδή σε μοριακές τροποποιήσεις στη φαρμακοφόρο δομή (π.χ. αντικατάσταση χημικών ομάδων, ατόμων ή άλλων τμημάτων του μορίου, όπως δακτυλίων) με συγκεκριμένο σκοπό. Παραδείγματος χάριν, με την αύξηση της λιποφιλικότητας ή του πολικού χαρακτήρα μιας ένωσης, ή με την ελάττωση του όγκου κάποιου υποκαταστάτη είναι δυνατό να επιτευχθεί αύξηση της βιολογικής δράσης. Με τον τρόπο αυτό επιδιώκεται να σχεδιαστούν μόρια με αυξημένη πιθανότητα να κατέχουν τις επιθυμητές βιολογικές ιδιότητες, δηλαδή επιτελείται ο «**ορθολογικός σχεδιασμός φαρμακομορίων**».

Από τις αρκετές προσεγγίσεις στον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων, αναφέρονται οι σπουδαιότερες:

- Μελέτη του μοριακού μηχανισμού της δράσης των φαρμάκων. Με τον όρο «μοριακός μηχανισμός» εννοείται η αλληλεπίδραση του φαρμακομορίου με ένζυμα, υποδοχείς φαρμάκων ή ενδογενών βιοδραστικών μορίων (π.χ. σεροτονίνης, νοραδρεναλίνης), δηλαδή με ορισμένες περιοχές μεγαλομοριακών ενώσεων του οργανισμού, συνήθως πρωτεϊνών, αλλά και νουκλεϊνικών οξέων. Η αλληλεπίδραση αυτή όχι μόνο ρυθμίζει τη βιολογική δράση, αλλά, κυρίως, τη φύση της χημικής αντίδρασης που λαμβάνει χώρα, π.χ. τον τύπο δεσμού που αναπτύσσεται, εάν πρόκειται για πυρηνόφιλη υποκατάσταση, πρώτης ή δεύτερης τάξης, το ρόλο του φορτίου μίας ένωσης στην αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα, την επίπτωση της

αύξησης του όγκου ενός υποκαταστάτη στην αλληλεπίδραση του φαρμακομορίου με το ενεργό κέντρο ενζύμου. Ως παράδειγμα υπενθυμίζεται ο μοριακός μηχανισμός της εκτόπισης ενός οργανοφωσφορικού εστέρα, από το ενεργό κέντρο της ακετυλοχολινεστεράσης, από την πραλιδοξίμη. Ο οργανοφωσφορικός εστέρας φωσφορυλιώνει το υδροξύλιο της σερίνης στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Με το παράδειγμα αυτό φαίνεται και ο ρόλος της ομάδας του οργανοφωσφορικού εστέρα με ισχυρή ηλεκτρονιοελκτική επίδραση (-I, -R), καθώς και η σημασία του μονίμου θετικού φορτίου της πραλιδοξίμης.

- ☑ Μελέτη των δομικών αλλαγών που υφίσταται το φαρμακομόριο μέσα στον οργανισμό. Τα φάρμακα, κατά το μεγαλύτερο ποσοστό, δρουν αλληλεπιδρώντας με σχετικούς υποδοχείς, προκαλώντας τη βιολογική δράση τους, δηλαδή, στην ουσία «δρουν χημικά» επί του οργανισμού. Αυτή είναι όμως η μισή ιστορία, διότι και ο οργανισμός επιδρά χημικά επί του φαρμακομορίου, μέσω του μεταβολισμού των ξενοβιοτικών. Οι μεταβολικές αυτές αλλαγές επί της δομής τους επηρεάζουν τόσο την κινητική όσο και τη δυναμική των φαρμάκων. Ως παράδειγμα αναφέρεται η διαφορά στην αντιαρρυθμική ικανότητα μεταξύ προκαϊνης και προκαϊναμίδιου.
- ☑ Μελέτη της παθοβιοχημείας της νόσου. Μελετάται η βιοχημική εκτροπή από το φυσιολογικό κατά την παθολογική κατάσταση και, εφ' όσον αυτή εντοπιστεί (π.χ. ελάττωση κάποιου νευρομεταβιαστή στον εγκέφαλο), η νόσος μπορεί να αντιμετωπιστεί, π.χ. με σύνθεση ένωσης η οποία θα στοχεύει τον εγκέφαλο και θα ελευθερώνει εκεί τον ελλείποντα νευρομεταβιαστή, ή θα περιορίζει το ρυθμό απομάκρυνσής του. Παράδειγμα είναι η Levo-DOPA στην περίπτωση της νόσου του Parkinson.
- ☑ Σύγχρονη προσέγγιση σε σχεδιασμό και ανάπτυξη φαρμάκων είναι η έναρξη από ενώσεις οι οποίες προέρχονται από βιβλιοθήκες – τράπεζες δεδομένων. Λαμβάνονται δομές, φυσικοχημικές ιδιότητες, βιολογική δράση, επιλέγονται λίγες από αυτές και ακολούθως εφαρμόζονται οι στρατηγικές που προαναφέρθηκαν. Γίνεται αντιληπτό ότι η προσέγγιση αυτή, παρ' όλον ότι δεν είναι ορθολογική, μπορεί να οδηγήσει, με τη βοήθεια των άλλων προσεγγίσεων, στην ανακάλυψη σωστών φαρμακομορίων.

Η νόσος αποτελεί απόκλιση της χημείας - βιοχημείας του οργανισμού από το φυσιολογικό, άρα είναι πολύ λογικό να αναμένεται να αναταχθεί η βλάβη, να θεραπευθεί η νόσος με χημικά μέσα, δηλαδή με τα φάρμακα.



2. Ο ΚΥΡΙΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΗΝ ΑΕΡΟΒΙΑ ΖΩΗ

Στην αερόβια ζωή το οξυγόνο χρησιμοποιείται από τους οργανισμούς ως ο τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων σχεδόν σε όλες τις μεταβολικές διαδικασίες.

Οι συνθήκες της ζωής την περίοδο που αυτή εμφανίστηκε στη γη, πριν από περίπου 3,5 δισεκατομμύρια έτη, είναι σχεδόν βέβαιο ότι ήταν πολύ διαφορετικές από τις σημερινές. Η ατμόσφαιρα της γης, καθώς και η επιφάνεια αυτής αποτελούνταν κυρίως από μεθάνιο, αμμωνία, διοξείδιο του άνθρακα και νερό, ήταν δηλαδή μάλλον αναγωγικές, με ελάχιστο οξυγόνο. Από αυτό συνάγεται ότι οι πρώτοι οργανισμοί ήταν αναερόβιοι, και μόνο μετά από πολλά εκατομμύρια έτη, με την εμφάνιση, ανάπτυξη και επέκταση των φωτοσυνθετικών οργανισμών των φυτών, η σύσταση της ατμόσφαιρας άλλαξε, με μείωση του διοξειδίου του άνθρακα και αντίστοιχη αύξηση του οξυγόνου, οπότε δημιουργήθηκαν κατάλληλες συνθήκες για την αερόβια ζωή, ενώ η ατμόσφαιρα της γης έγινε περισσότερο διαπερατή από το φως, στοιχείο απαραίτητο για τη φωτοσυνθετική λειτουργία.

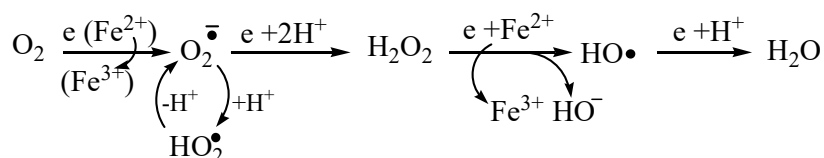
Η σύζευξη των οξειδωτικών διαδικασιών στην αναπνευστική αλυσίδα με τη φωσφορυλίωση του ADP προς ATP αποτελεί την πηγή ενέργειας για τη διατήρηση της ζωής. Στις περισσότερες περιπτώσεις, το καταναλισκόμενο οξυγόνο ανάγεται με μεταφορά τεσσάρων ηλεκτρονίων σε νερό, με τη βοήθεια της κυτοχρωμικής οξειδάσης (μιτοχονδριακό ένζυμο). Οξυγόνο επίσης καταναλίσκεται από την ενζυμική υπεροξεικογένεια του κυτοχρώματος P450. Ο κύριος ρόλος αυτού, αλλά όχι ο μόνος, είναι η απομάκρυνση των λιπόφιλων, στο φυσιολογικό pH και γενικότερα στο φυσιολογικό περιβάλλον, φαρμάκων και άλλων ξενοβιοτικών από τον οργανισμό. Στο ενζυμικό σύστημα του P450 χρησιμοποιείται οξυγόνο για βιομετατροπές προς οξειδωμένα ξενοβιοτικά και νερό, σε δύο διαδοχικές αντιδράσεις αναγωγής ενός ηλεκτρονίου η κάθε μία. Τελικά, κατά τις οξειδώσεις αυτές, το ένα άτομο του μοριακού οξυγόνου ευρίσκεται στο μεταβολίτη του φαρμάκου (οξειδωμένο φάρμακο-μεταβολίτη) και το δεύτερο στο μόριο του νερού.



3. ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΣΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Στον οργανισμό των θηλαστικών, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ένα μέρος, περίπου 1-2%, του χρησιμοποιούμενου οξυγόνου ανάγεται μερικώς. Η αναγωγή αυτή διεκπεραιώνεται από

το σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων, από τα ενζυμικά συστήματα του κυτοχρώματος P450, της ξανθοξειδάσης, της προσταγλανδινικής συνθετάσης και της μονοαμινοξειδάσης, με τη συμμετοχή μεταβατικών μετάλλων, όπως σιδήρου και χαλκού (άλλα μεταβατικά μέταλλα είναι το κοβάλτιο και το νικέλιο). Έτσι δημιουργούνται δραστικές μορφές οξυγόνου (δηλαδή μερικώς ανηγμένο οξυγόνο), όπως ρίζα ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), ρίζα υδροϋπεροξειδίου (HO_2^{\cdot}), ρίζα υδροξυλίου (HO^{\cdot}) και υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα: Παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου στο βιολογικά σύστημα. Φαίνεται η είσοδος ενός ηλεκτρονίου κάθε φορά (μερική αναγωγή του οξυγόνου)

Σημείωση: Το μοριακό οξυγόνο («οξυγόνο βασικής κατάστασης») είναι **ρίζα**, διότι το μόριο αυτό έχει δύο **ασύζευκτα** ηλεκτρόνια. Το κάθε ασύζευκτο ηλεκτρόνιο καταλαμβάνει διαφορετικό π^* αντιδεσμικό τροχιακό και έχουν ίδιο κβαντικό αριθμό spin, δηλαδή έχουν παράλληλο spin. Η ηλεκτρονική διαμόρφωση μοριακού οξυγόνου βασικής κατάστασης είναι: $\sigma 1s \uparrow\downarrow, \sigma^* 1s \uparrow\downarrow, \sigma 2s \uparrow\downarrow, \sigma^* 2s \uparrow\downarrow, \sigma 2p \uparrow\downarrow, \pi 2p \uparrow\downarrow, \uparrow\downarrow, \pi^* 2p \uparrow, \uparrow, \sigma^* 2p -$. Συνολικά υπάρχουν 16 ηλεκτρόνια. Τα δύο της εξωτερικής στοιβάδας έχουν παράλληλο spin, και η σταθερότητα του μορίου του οξυγόνου οφείλεται σ' αυτό. Η είσοδος δύο ηλεκτρονίων δεν γίνεται παρά μόνο διαδοχικά, διότι η ταυτόχρονη είσοδος αυτών αντιβαίνει στην απαγορευτική αρχή του Pauli («ζεύγος ηλεκτρονίων στο ίδιο τροχιακό έχει **αντίθετο** spin»). Δηλαδή το μοριακό οξυγόνο προσλαμβάνει **μόνο** ένα ηλεκτρόνιο κάθε φορά, οπότε προκύπτουν και ελεύθερες ρίζες. Ελεύθερη ρίζα, ως γνωστόν, είναι κάθε αυθύπαρκτο χημικό είδος το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι ελεύθερες ρίζες είναι παραμαγνητικά σώματα (έλκονται από μαγνητικό πεδίο) και συχνά είναι χημικώς δραστικές, συνεπώς τοξικές ενώσεις. Σχηματίζονται με απώλεια ή πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου από μη ρίζες, π.χ. με ομολυτική σχάση ομοιοπολικού δεσμού. Για να γίνει αυτό, απαιτείται κατανάλωση ενέργειας, προερχόμενη από θερμότητα ή ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. (Θυμίζουμε ότι ομολυτική σχάση συμβαίνει όταν το ένα από τα δύο ηλεκτρόνια ενός ομοιοπολικού δεσμού μεταβαίνει στο ένα από τα δύο άτομα, ενώ το άλλο ηλεκτρόνιο μεταβαίνει στο δεύτερο άτομο, σε αντίθεση προς την ετερολυτική σχάση, στην οποία και τα δύο ηλεκτρόνια μεταβαίνουν στο ίδιο άτομο).



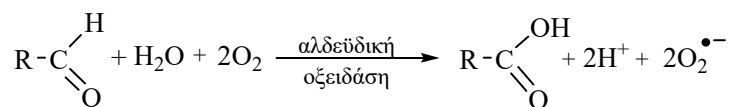
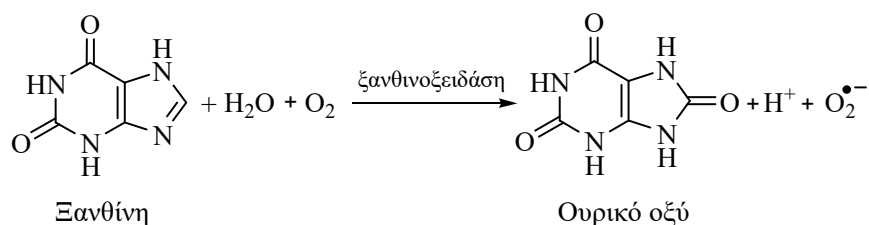
4. ΕΝΕΡΓΕΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Μερικώς ανηγμένο οξυγόνο – Ελεύθερες ρίζες

4.1 Ρίζα ανιόντος υπεροξειδίου (Ρίζα υπεροξειδικού ανιόντος), $O_2^{\bullet-}$

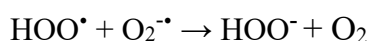
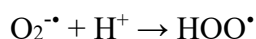
Ρίζα υδροϋπεροξειδίου, HO_2^{\bullet}

Το $O_2^{\bullet-}$ σε βιολογικά συστήματα σχηματίζεται από το οξυγόνο βασικής κατάστασης μέσω αναγωγής ενός ηλεκτρονίου, με συμμετοχή ενζύμων όπως της οξειδάσης της ξανθίνης (η οποία προέρχεται από την αφυδρογονάση της ξανθίνης σε περιπτώσεις αρχομένης κυτταρικής βλάβης), ή της αλδεϋδικής οξειδάσης.

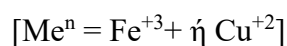
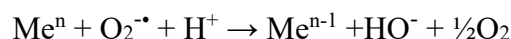


Το $O_2^{\bullet-}$, λόγω της ηλεκτρονικής του διαμόρφωσης και αναλόγως των συνθηκών, μπορεί να συμπεριφέρεται ως **ελεύθερη ρίζα**, ως ασθενές **πυρηνόφιλο** και ως **οξειδωτικό** ενός ηλεκτρονίου. Δρα **αναγωγικά**, κυρίως σε υδατικό περιβάλλον, αλλά **οξειδωτικά** σε υδρόφοβο περιβάλλον (π.χ. στις βιολογικές μεμβράνες), οπότε το ίδιο ανάγεται, αυθορμήτως ή καταλυτικά, προς H_2O_2 :

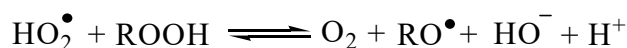
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ



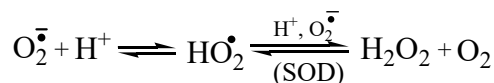
ΑΝΑΓΩΓΙΚΟ



Η ρίζα υδροϋπεροξειδίου (HOO^{\bullet}) που σχηματίζεται από το $O_2^{\bullet-}$ σε όξινο περιβάλλον είναι πολύ τοξικότερη του $O_2^{\bullet-}$. Έχει επικίνδυνη κυτοτοξική δράση.

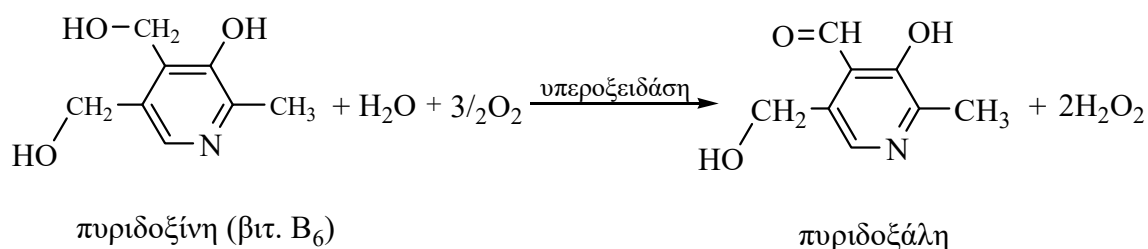


Η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD) την διασπά προς υπεροξείδιο του υδρογόνου

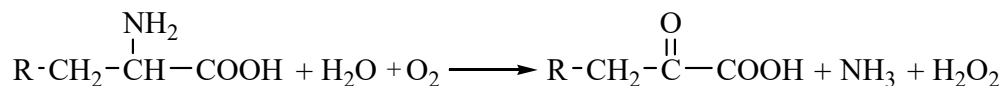


4.2 Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)

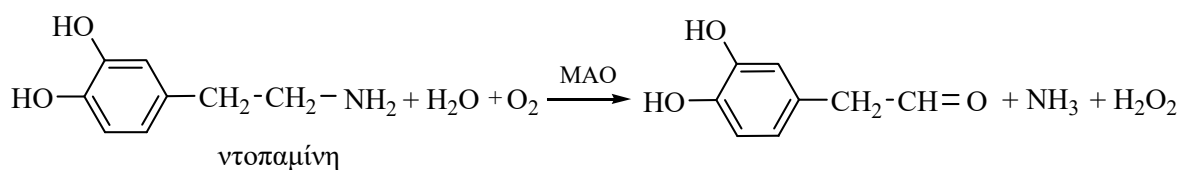
Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται με τη δράση υπεροξειδασών στο ήπαρ και στον εγκέφαλο. Οι υπεροξειδάσες είναι ένζυμα τα οποία δεν περιέχουν μέταλλο και στην ενεργό τους περιοχή φέρουν φλαβίνες (FMN, FAD). Ως παράδειγμα αναφέρεται η μετατροπή της πυριδοξίνης (βιταμίνης B₆) σε πυριδοξάλη:



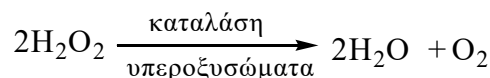
Υπεροξειδάσες αμινοξέων που βρίσκονται στο ΚΝΣ μετατρέπουν τα αμινοξέα σε κετο-οξέα, με ταυτόχρονο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου:



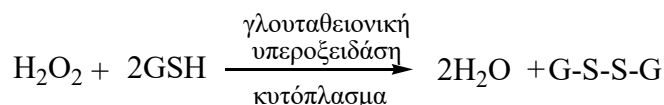
Πολύ σημαντικές οξειδάσες στον εγκέφαλο είναι η οικογένεια των μονοαμινοξειδασών (MAO), οι οποίες καταλύουν την οξειδωτική απαμίνωση (βιογενών) αμινών:



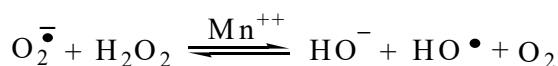
Το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι αρκετά τοξικό και καλό αντιμικροβιακό. Διασπάται εύκολα από την καταλάση:



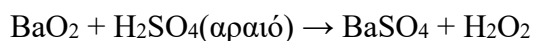
Επίσης οξειδώνει τη γλουταθειόνη:



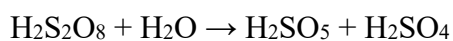
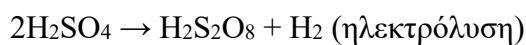
Ακόμη, αντιδρά με $\text{O}_2^{\bullet-}$ παρουσία μεταλλικών ιόντων (Mn^{2+}) εκφράζοντας την αναγωγική δράση του $\text{O}_2^{\bullet-}$:



Το υπεροξείδιο του υδρογόνου δεν είναι ρίζα. Είναι ιξώδες υγρό που, όπως και το νερό, κυανίζει όταν ευρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα. Σημείο ζέσεως 84-85° (68mm Hg). Όταν θερμανθεί στους 151°, θερμοκρασία ζέσεως στην ατμοσφαιρική πίεση, εκρήγνυται. Παρασκευάζεται εργαστηριακά ως εξής:



Βιομηχανικά παρασκευάζεται με ηλεκτρόλυση H_2SO_4 50%, ή μίγματος H_2SO_4 και $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, και συνήθως ακολουθεί απόσταξη σε πίεση 40mm Hg, οπότε λαμβάνεται υπεροξείδιο του υδρογόνου 30%, το οποίο στη συνέχεια με κλασματική απόσταξη μπορεί να δώσει 90% H_2O_2 :



Το eau oxygénée είναι υδατικό διάλυμα H_2O_2 10 όγκων, 3%. Το πυκνό, εμπορικό perhydrol είναι 30% και 100 όγκων (1 όγκος διαλύματος δίνει 10 όγκους O_2). Με απόσταξη του διαλύματος 30% με ξυλένιο (: διμεθυλοβενζόλιο) απομακρύνεται αζεοτροπικά το περισσότερο νερό. Με ακόλουθη κλασματική απόσταξη και επαναπόσταξη σε 65 mm Hg λαμβάνεται κλάσμα σ.ζ. 84-85° C, που περιέχει 99,1% H_2O_2 .

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου:

1) Αποσυντίθεται καταλυτικά:

$\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (+23 kcal). Η αντίδραση σε διάλυμα καταλύεται από ίχνη αλκάλειος, σταθεροποιείται από οξύ, αλκοόλη, γλυκερόλη, βαρβιτουρικό οξύ. Σκόνη μετάλλων ή κολλοειδή μέταλλα όπως Pt, Ag, MnO_2 , OsO_4 διασπούν το H_2O_2 .

2) Σχηματίζει ενώσεις προσθήκης:

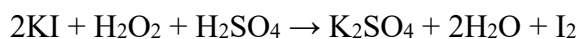
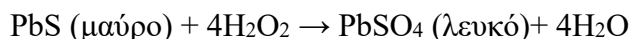
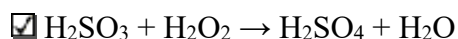
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ (30%) $\rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ (κρυσταλλικό). Το προϊόν, αποσταζόμενο υπό κενό, δίνει πολύ πυκνό H_2O_2 .

$\text{NH}_2\text{CONH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{NH}_2\text{CONH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$. Σταθεροποιείται με ίχνη κιτρικού οξέος και ονομάζεται hyperol.

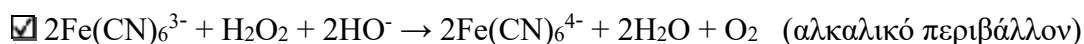
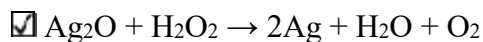
Με αμμωνία: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{NH}_4\text{OOH} \rightarrow \text{NH}_4\text{OONH}_4$

3) Οξειδωτικές αντιδράσεις:

$\text{H}_3\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_3\text{AsO}_4 + \text{H}_2\text{O}$

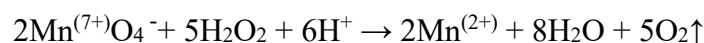


4) Αναγωγικές αντιδράσεις:



5) Ανίχνευση (εκτός της αντίδρασης με I^- προς I_2 (που δίνει βαθύ κυανούν χρώμα με άμυλο):

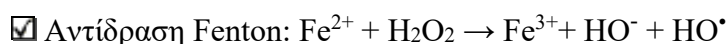
\checkmark Αποχρωματίζει διάλυμα υπερμαγγανικού καλίου:



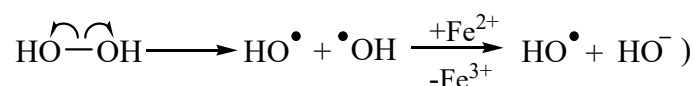
\checkmark Με H_2CrO_4 ($\text{K}_2\text{CrO}_4 + 2\text{H}^+$, σε αιθέρα) το υπεροξείδιο του υδρογόνου δίνει βαθέως κυανή χροιά στη στιβάδα του αιθέρα, λόγω του εκχυλιζομένου σ' αυτήν υπερχρωμικού οξέος [$\text{H}_3\text{CrO}_8 \cdot 2\text{HO}$ ή $(\text{HO})_4\text{Cr}(\text{OOH})_3$]

4.3 Ρίζα υδροξυλίου ($\text{HO}\cdot$)

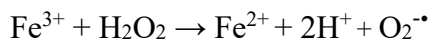
Η ρίζα αυτή σχηματίζεται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου, εφόσον αυτό δεν διασπασθεί από την καταλάση (και επομένως αποτοξινωθεί ο οργανισμός), μετά από αναγωγή ενός ηλεκτρονίου:



(Η αντίδραση με τα ενδιάμεσα στάδια φαίνεται παρακάτω:



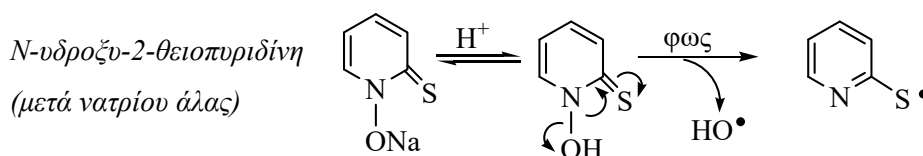
Αλλά το υπεροξείδιο του υδρογόνου διασπάται βραδέως και με παρουσία Fe^{3+} :



Στο βιολογικό περιβάλλον, ρίζες υδροξυλίου σχηματίζονται και κατά τους ακόλουθους τρόπους:



Εργαστηριακός τρόπος παραγωγής $\text{HO}\cdot$:



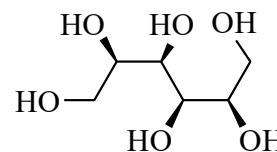
Μίγμα υπεροξειδίου του υδρογόνου και Fe^{2+} αντιδρά με πολλές οργανικές ενώσεις με επακόλουθο οργανική βλάβη. Ας ληφθεί υπ' όψιν ότι σίδηρος υπάρχει σε όλα τα βιολογικά συστήματα, ως εκ τούτου εύκολα μπορούν να προκληθούν βλάβες λόγω της δημιουργίας και δράσης ελευθέρων ριζών. Εφόσον ο μεταλλικός αυτός καταλύτης είναι συναρμοσμένος σε μακρομόρια (π.χ. πρωτεΐνες, κυτταρικές μεμβράνες), τότε εκλεκτικά η ρίζα υδροξυλίου καταστρέφει το μακρομόριο ή τις δομές εκείνες πλησίον των οποίων δημιουργείται, δηλαδή στον τόπο όπου ο σίδηρος είναι συνδεδεμένος. Η ρίζα υδροξυλίου θεωρείται η περισσότερο δραστική μορφή οξυγόνου, με ενδοκυτταρική βιολογική ημιπερίοδο ($t_{1/2}$) 10^{-9} sec.

Η μεγάλης ενέργειας ακτινοβολία, η γ-ακτινοβολία, καθώς και, σε πάρα πολύ μικρότερο βαθμό, η υπεριώδης διασπών εμμέσως το νερό παράγοντας ρίζες υδροξυλίου (ραδιόλυση). Στις ρίζες αυτές οφείλεται κυρίως η προκαλούμενη μετά από ακτινοβολία βλάβη στα νουκλεϊνικά οξέα (στη διπλή έλικα), αλλά και σε πρωτεΐνες και λιπίδια. Η κατάσταση επιδεινώνεται και λόγω της φυσιολογικής αφθονίας οξυγόνου στα αερόβια βιολογικά συστήματα.

Οι υπέρηχοι (σε λιθοτριψία και σε λυοφιλοποίηση), σε υδατικό περιβάλλον, έχει δειχθεί ότι μπορεί να παράγουν ρίζες υδροξυλίου και άτομα H^{\bullet} . Οι υπέρηχοι προκαλούν το σχηματισμό, την ανάπτυξη και την κατάρρευση φυσσαλίδων αερίων. Κατά τη στιγμιαία εμφάνιση του φαινομένου και τη στιγμή της κατάρρευσης των φυσσαλίδων, εμφανίζονται οι «θερμές κηλίδες», με θερμοκρασία αρκετών χιλιάδων βαθμών και πίεση εκατοντάδων ατμοσφαιρών, που προκαλούν την ομολυτική σχάση του νερού. Πάντως, δεν είναι γνωστό εάν κατά τη χρήση υπερήχων στη λιθοτριψία και στη λυοφιλοποίηση οι παραγόμενες συγκεντρώσεις ριζών είναι σημαντικές και εάν έτσι υπάρχει κίνδυνος απ' αυτές κατά τις αντίστοιχες διεργασίες.

Η ρίζα υδροξυλίου είναι τόσο δραστικό σώμα, ώστε σχεδόν αμέσως μετά τη δημιουργία της αντιδρά πρακτικώς με όλα τα συστατικά του κυττάρου, νουκλεϊνικά οξέα, πρωτεΐνες, λιπίδια.

Ως ένωση αναφοράς ικανή να δεσμεύει τη ρίζα υδροξυλίου χρησιμοποιείται η μαννιτόλη, και για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ρίζας υδροξυλίου ο ανταγωνισμός της με το διμεθυλοσουλφοξείδιο $[(\text{CH}_3)_2\text{SO}]$, το οποίο οξειδώνεται απ' αυτή προς φορμαλδεΰδη (HCHO), που τελικώς προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά.

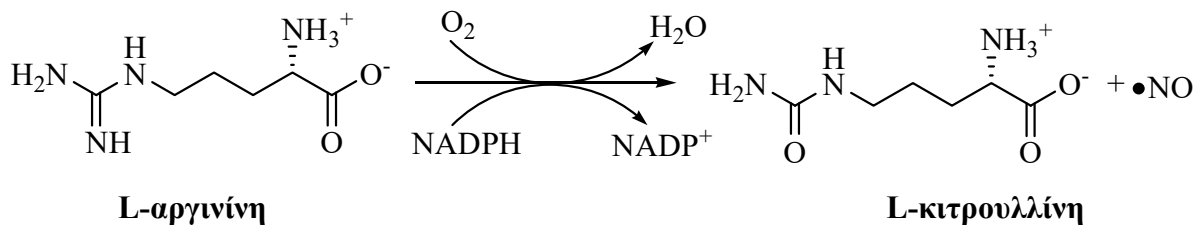


Μαννιτόλη

Οι αντιδράσεις που δίνει η HO^{\bullet} κατατάσσονται στις: α) απόσπασης υδρογόνου, β) προσθήκης υδρογόνου, και γ) μεταφοράς ηλεκτρονίων.

4.4 Ρίζα μονοξειδίου του αζώτου ($\bullet\text{NO}$)

Το αέριο μονοξείδιο του αζώτου είναι ρίζα. Είναι όμως και φυσιολογικό συστατικό του οργανισμού, διαδραματίζοντας σημαντικότατο ρόλο στη λειτουργία του, με κυριότερη δράση τη ρύθμιση του τόνου των τοιχωμάτων των αγγείων. Παράγεται με τη επίδραση ομάδας ισοενζύμων της συνθετάσης του NO (NOS) επί της L-αργινίνης, η οποία μετατρέπεται σε L-κιτρουλλίνη. Στην αντίδραση αυτή συμμετέχει επίσης μοριακό οξυγόνο και η μεταφορά ηλεκτρονίων γίνεται από το NADPH. Η εξακρίβωση των παραπάνω έγινε σχετικά προσφάτως και οι επιστήμονες που τα ανακάλυψαν βραβεύθηκαν με το βραβείο Nobel (R.F. Furchgott, L.J. Ignarro, F. Murad, Nobel Ιατρικής 1998).



(Ενδιαμέσως σχηματίζεται N-υδροξυ-αργινίνη)

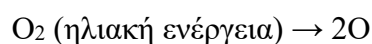
Το NO είναι αέριο, αντιδρά ταχύτατα με $\text{O}_2^{\bullet-}$ δίνοντας το πολύ τοξικό υπεροξυντρώδες ανιόν: $\text{O}_2^{\bullet-} + \bullet\text{NO} \rightarrow \text{ONOO}^-$

4.5 Οξυγόνο απλής κατάστασης

Είναι μοριακό οξυγόνο το οποίο απαντάται σε δύο ενεργειακά διαφορετικές μορφές. Η μία, $^1\Delta\text{gO}_2$, με ενέργεια 22,4kcal πάνω από αυτή της βασικής κατάστασης, έχει τα δύο μονήρη ηλεκτρόνια της βασικής κατάστασης στο ίδιο τροχιακό, φυσικά με αντιπαράλληλο spin. Η άλλη μορφή, $^1\Sigma\text{g}^+\text{O}_2$, είναι ακόμη δραστικότερη, με ενέργεια κατά 37,5 kcal περισσότερη από αυτή της βασικής κατάστασης. Στη μορφή αυτή τα δύο ηλεκτρόνια ευρίσκονται σε διαφορετικό τροχιακό μεν, αλλά με αντιπαράλληλο spin. Επειδή και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις ο περιορισμός του spin έχει αρθεί (απαγορευτική αρχή του Pauli), οι μορφές αυτές του οξυγόνου είναι πολύ ασταθείς, και γι' αυτό η οξειδωτική τους ικανότητα είναι πολύ αυξημένη.

4.6 Οζόν (O_3)

Αυτό υπάρχει σε σχετικά μεγάλα ποσά στα ανώτερα στρώματα της ατμόσφαιρας, προερχόμενο από την φωτολυτική διάσπαση του μοριακού (βασικής κατάστασης) οξυγόνου, λόγω της ηλιακής ακτινοβολίας, και την αντίδραση του σχηματιζομένου ατομικού οξυγόνου με ένα δεύτερο μόριο οξυγόνου:



Είναι αέριο κυανίζον, με ισχυρή οσμή σκόρδου, ισχυρό οξειδωτικό μέσο. Το μήκος δεσμού μεταξύ των τριών ατόμων οξυγόνου είναι μεταξύ απλού και διπλού δεσμού. Είναι διαμαγνητικό σώμα (δηλ. απωθείται από μαγνητικό πεδίο), και φυσικά δεν είναι ρίζα. Το όζον είναι καλός ηθμός της υπεριώδους ακτινοβολίας του ηλίου. Όζον μερικές φορές σχηματίζεται, ακόμη και σε μεγάλα ποσά, στην ατμόσφαιρα πόλεων λόγω ρύπανσης, μετά από πολύπλοκες φωτοχημικές αντιδράσεις. Ανησυχία εκφράζεται για τη διάσπαση του όζοντος των ανωτέρων στρωμάτων της ατμόσφαιρας από πολυφθοριωμένους υδρογονάνθρακες. Ενώσεις όπως CClF_3 και CCl_2F_2 , μετά από ομολυτική σχάση δίνουν ατομικό χλώριο, που διασπά το όζον: $\text{Cl} + \text{O}_3 \rightarrow \text{O}_2 + \text{ClO}$



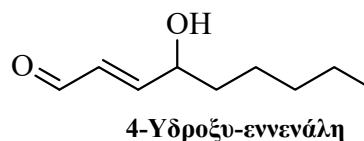
5. ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΥΤΩΝ

Θεμελιώδεις κυτταρικές και μοριακές δομές, όπως βιομεμβράνες, πρωτεΐνες και νουκλεϊνικά οξέα (DNA πυρήνα και μιτοχονδρίων), περιέχουν στα μόριά τους περιοχές πολύ ευαίσθητες σε προσβολή από ελεύθερες ρίζες.

5.1 Λιπιδική υπεροξείδωση

Γενικά, γίνεται παραδεκτό ότι οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να δράσουν είτε άμεσα, με ομοιοπολική σύνδεση με λιπίδια βιομεμβρανών και πρωτεΐνες, με πιθανή ανενεργοποίησή τους (αν πρόκειται για ένζυμα ή υποδοχείς), είτε έμμεσα, με αλληλεπίδρασή τους με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα βιομεμβρανών, με αποτέλεσμα την εκκίνηση αλυσιδωτών αντιδράσεων «**λιπιδικής υπεροξείδωσης**». Αυτή είναι χαρακτηριστική οξειδωτική βλάβη λιπιδίων που οφείλεται στη δράση ελευθέρων ριζών. Είναι πολύπλοκη οξειδωτική διαδικασία αλυσιδωτών αντιδράσεων των πολυακορέστων λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων.

Η λιπιδική υπεροξείδωση αρχίζει με την επίδραση δραστικών μορφών οξυγόνου επί ακορέστου λιπαρού οξέος, και την απόσπαση ενός δισ-αλλυλικού υδρογόνου από αυτό. Ακολουθεί πολύπλοκη σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων, με παραγωγή πλήθους αλκυλοϋπεροξυ-, αλκοξυ-, αλκυλο-ριζών, καθώς και υδροϋπεροξειδίων, ως ενδιάμεσων και τελικών προϊόντων. Ακόμη, σχηματίζονται *μηλονική διαλδεϋδη* ($\text{O}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{O}$) και *4-υδροξυ-εννενάλη*, αλκάνια και συζευγμένα διένια.

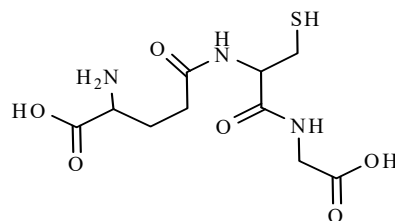


Η υπεροξειδωση των πολυακορέστων λιπαρών οξέων των βιολογικών μεμβρανών, που εκκινεί με την απόσπαση του αλλυλικού υδρογόνου, τροποποιεί τη ρευστότητα των μεμβρανών, σημαντική ιδιότητα αυτών για τη φυσιολογική τους λειτουργία. Επί πλέον, ο σχηματισμός υπεροξειδίων σε υδρόφοβες περιοχές φωσφολιπιδίων οδηγεί στη δημιουργία υδροφίλων κέντρων, με αποτέλεσμα να αλλάζουν οι αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών – συναρμοτών (ligands). Μεταξύ των κυριότερων προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης είναι η δικαρβονυλική ένωση *μηλονική διαλδεΰδη*. Αυτή, είτε στο άμεσο περιβάλλον του σχηματισμού της, είτε μετά από μεταφορά της σε άλλες περιοχές, μπορεί να γεφυρώσει διαμοριακά (να συνδέσει εγκαρσίως), μετά από αντίδραση του καρβονυλίου της με πρωτοταγή αμινομάδα πρωτεϊνών (αντίδραση τύπου Schiff), ενδογενή πρωτεϊνικά μόρια, με σοβαρότατες συνέπειες στη δομή και στη λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών.

Περαιτέρω συνέπειες της λιπιδικής υπεροξειδωσης, οι οποίες οδηγούν σε κυτταρική εκφύλιση, είναι οι αλλαγές στην ομοιόσταση Ca^{2+} : αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} , που προκαλεί και την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A_2 (PLA₂), με αποτέλεσμα παραπέρα διαταραχές στις βιομεμβράνες, επαγωγή παραγόντων φλεγμονής και μετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης.

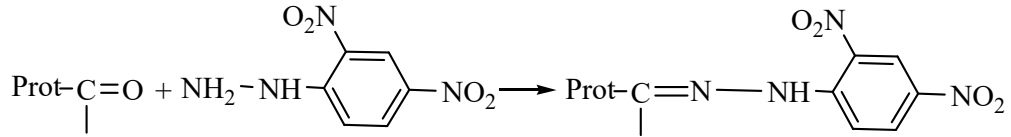
Μερικές από τις παραπάνω αλλαγές προκαλούν ενεργοποίηση καλπαϊνών, με συνέπεια αλλοιώσεις του κυτταρικού σκελετού. (Οι καλπαΐνες είναι ασβεστιοεξαρτώμενες πρωτεάσες, οι οποίες συμμετέχουν στην κυτταρική κινητικότητα και διαφοροποίηση).

Ενεργές μορφές οξυγόνου, αλλά και ενδιάμεσα ή τελικά προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης, αλληλεπιδρούν με λειτουργικές σουλφυδρυλικές ομάδες, μεταξύ των οποίων και αυτή της γλουταθειόνης (GSH), αδρανοποιώντας έτσι ένα κύριο αμυντικό σύστημα του οργανισμού.



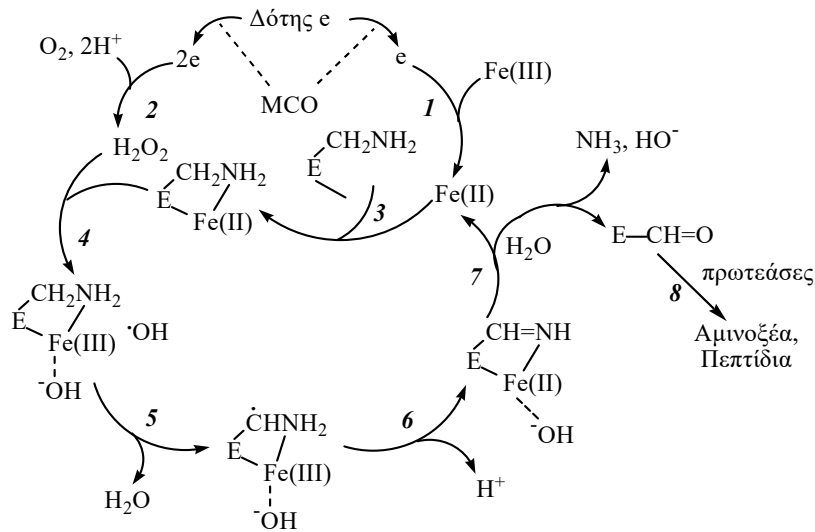
Γλουταθειόνη (GSH, Γλουταμυλο-κυστεϊνυλο-γλυκίνη)

ποσοτικό έλεγχο οξειδωμένων πρωτεϊνών, μέσω του σχηματισμού εγχρώμων παραγώγων φαιλυλδραζίνης, μετά από αντίδραση με τη 2,4-δινιτροφαιλυλδραζίνη:



Οξειδωτικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών μπορεί να προέρχονται λόγω δράσης ενζύμων που καταλύουν αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Η πρωτεϊνική οξείδωση συμβάλλει στην εμφάνιση αλλοιωμένων πρωτεϊνών, η οποία αυξάνεται κατά τη γήρανση. Έχει βρεθεί ότι η οξείδωση πρωτεϊνών, η οποία καταλύεται από μεταλλικά ιόντα, είναι σημαντικό στάδιο της ανακύκλωσης πρωτεϊνών και ότι η συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών εμπλέκεται σε διαδικασίες γήρανσης.

Το ακόλουθο σχήμα δείχνει συνοπτικά την οξείδωση πρωτεϊνών μετά από ενεργοποίηση του οξυγόνου με τη συμμετοχή μεταλλικών ιόντων (π.χ. Fe^{2+}).



Σχήμα: Μηχανισμός οξείδωσης πρωτεϊνών από οξειδωτικό ενζυμικό σύστημα καταλυόμενο από μέταλλα (MCO, metal catalysing oxidases).

Το ενζυμικό σύστημα MCO καταλύει την αναγωγή Fe(III) προς Fe(II) (αντίδραση 1) και την αναγωγή του οξυγόνου προς H_2O_2 (αντίδραση 2). δεσμεύεται ο Fe(II) (αντίδραση 3). Οξείδωση του συνδεδεμένου με την πρωτεΐνη Fe(II) από το H_2O_2 οδηγεί στην παραγωγή κατιόντων υδροξυλίου και ριζών υδροξυλίου (αντίδραση 4). Η ρίζα υδροξυλίου αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από τον άνθρακα της ομάδας $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ για να σχηματιστεί αλκυλο-ρίζα (αντίδραση 5). Μεταφορά του μονήρους ηλεκτρονίου της αλκυλο-ρίζας στο Fe(III) στο σύμπλοκο οδηγεί στην αναγέννηση του Fe(II) και στο σχηματισμό ιμινο-παραγώγου της ε-αμινομάδας (αντίδραση 6). Αυθόρμητη υδρόλυση αυτής της ιμινο-ομάδας οδηγεί στην απελευθέρωση του Fe(II) και στον σχηματισμό αλδεϋδικού παραγώγου της πλευρικής λυσιλικής αλυσίδας (αντίδραση 7). Τελικά, η τροποποιημένη πρωτεΐνη αποικοδομείται από ενδοκυτταρικές πρωτεάσες (αντίδραση 8).

5.3 Οξείδωση DNA

Το DNA είναι η τρίτη από τις σημαντικές κυτταρικές δομές η οποία οξειδώνεται από τις δραστικές μορφές οξυγόνου. Οξείδωση μπορεί να υποστεί το DNA και του πυρήνα και των μιτοχονδρίων, ευκολότερα, πάντως, το τελευταίο, τόσο διότι είναι λιγότερο αποτελεσματικά προστατευμένο από τις πρωτεΐνες (ιστόνες) με τις οποίες είναι συνδεδεμένο, όσο και διότι το μιτοχόνδριο είναι ο τόπος των οξειδοαναγωγικών διαδικασιών και παραγωγής μερικώς ανηγμένων μορφών οξυγόνου. Η οξείδωση μπορεί να λάβει χώρα και στις βάσεις, π.χ. στη θέση 7 της πουρίνης, αλλά και στην πεντόζη. Οι συνέπειες αυτών των οξειδωτικών αλλαγών, όπως γίνεται αντιληπτό, είναι σοβαρότατες.

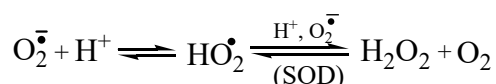


6. ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ – ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.

Η ομοιότητα είναι θεμελιώδης ιδιότητα του ζωντανού κυττάρου και γενικά όλων των οργανισμών (Claude Bernard). Αυτό το έχουν επιτύχει οι οργανισμοί με την ικανότητά τους για προσαρμογή, κατά τη μακρά διαδρομή από τη στιγμή της εμφάνισης της ζωής μέχρι σήμερα. Έτσι, τα (αερόβια) κύτταρα, με την τεράστια ικανότητα προσαρμογής, ανέπτυξαν μηχανισμούς για να αντισταθούν στις βλαπτικές επιδράσεις του οξυγόνου. Μερικοί από αυτούς είναι:

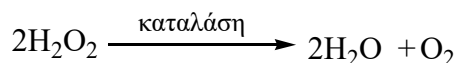
☑ Ένζυμα που σαρώνουν ελεύθερες ρίζες:

Δισμουτάσες της ρίζας ανιόντος υπεροξειδίου (SOD): Καταλύουν την αντίδραση:



Είναι ένζυμα που περιέχουν μέταλλα (Cu Zn SOD, Mn SOD και Fe SOD)

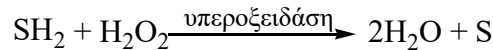
Καταλάσες: Διασπούν το H₂O₂ αμέσως:



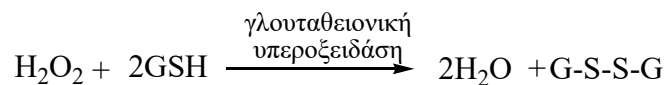
Το ένζυμο φέρει τέσσερις πρωτεϊνικές μονάδες. Κάθε μια περιέχει αίμη με Fe(III). Και οι τέσσερις μονάδες αίμης βρίσκονται πλησίον λιπόφιλης περιοχής. Ενδοκυτταρικά, οι καταλάσες

βρίσκονται στα υπεροξυσώματα. (Τα υπεροξυσώματα είναι υποκυτταρικά οργανίδια τα οποία προκαλούν β-οξειδωση των λιπαρών οξέων, οδηγώντας σε βράχυνση της αλειτουργικής αλυσίδας αυτών).

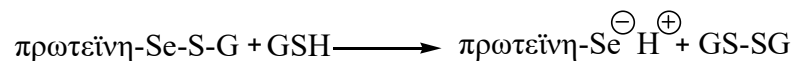
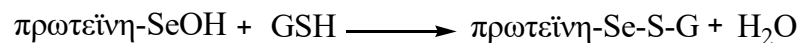
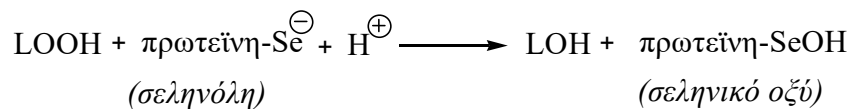
Οξειδάσες: Αυτές απομακρύνουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, χρησιμοποιώντας αυτό για την οξείδωση άλλων αναγωγικών υποστρωμάτων (τα οποία σημειώνονται ως SH₂ στην ακόλουθη αντίδραση):



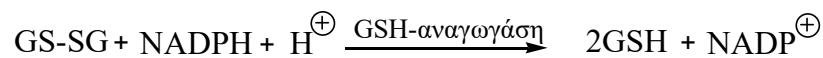
Η **γλουταθειονική υπεροξειδάση** ανάγει το υπεροξείδιο του υδρογόνου (και άλλα υπεροξείδια, LOOH) οξειδώνοντας γλουταθειόνη (GSH) προς το δισουλφίδιο αυτής:



Η γλουταθειονική υπεροξειδάση αποτελείται από τέσσερις πρωτεϊνικές υπομονάδες, κάθε μια από αυτές έχει ένα άτομο σεληνίου στο ενεργό κέντρο, με τη μορφή σεληνιοκυστεΐνης («κυστεΐνη» στην οποία το S έχει αντικατασταθεί από Se). Δίδεται παράδειγμα μηχανισμού δράσης της γλουταθειονικής υπεροξειδάσης («πρωτεΐνη-Se») στη συνέχεια:



Η οξειδωμένη γλουταθειόνη ανάγεται από ένα άλλο ένζυμο, τη γλουταθειονική αναγωγή, ώστε αναγεννάται η γλουταθειόνη:



Οι περιέχουσες Se γλουταθειονικές υπεροξειδάσες είναι ενζυμική οικογένεια που αποτελείται από τουλάχιστον τέσσερις τύπους ενζύμων.

Υπάρχουν επίσης ένζυμα που επιδιορθώνουν οξειδωτική βλάβη, καθώς και ενδογενή αντιοξειδωτικά, για τον έλεγχο και την πρόληψη αντιδράσεων ελευθέρων ριζών. Στο βιολογικό σύστημα, ως φυσιολογικά αντιοξειδωτικά δρουν η γλουταθειόνη, η κυστεΐνη, η τοκοφερόλη, το ασκορβικό οξύ και άλλες ενώσεις, όπως φλαβονοειδή, κατεχόλες, βιταμίνη A, καροτινοειδή. Συνθετικές αντιοξειδωτικές ενώσεις είναι το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο, η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη, ο γαλλικός προπυλεστεράς, η προμεθαζίνη, και άλλες.

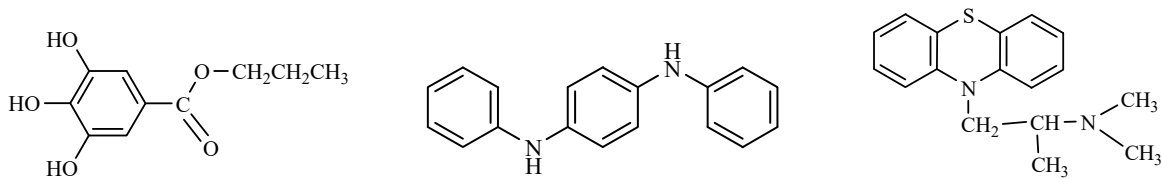
Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνονται οι δομές αντιοξειδωτικών μικρού μοριακού βάρους.

Ο ακριβής μηχανισμός της αντιοξειδωτικής δράσης ποικίλλει με την κατά περίπτωση αντίδραση. Μπορεί να περιλαμβάνει: ► Παρεμπόδιση απόσπασης αλλυλικού υδρογόνου από το μεθυlenικό άτομο άνθρακα ► Παρεμπόδιση διάσπασης υδροϋπεροξειδίου ► Σάρωση ελευθέρων ριζών ► Χηλική σύνδεση (δέσμευση) μεταβατικού μετάλλου, ή συνδυασμό των παραπάνω.

Τα αντιοξειδωτικά προστατεύουν τον οργανισμό από ελεύθερες ρίζες, διότι: ► οξειδώνονται τα ίδια προς σταθερές ελεύθερες ρίζες, διακόπτοντας την αλυσιδωτή αντίδραση ► παγιδεύουν ελεύθερες ρίζες ► δεσμεύουν μέταλλα (χηλικά). Έτσι, αντιοξειδωτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως: ► θεραπευτικά ► προστατευτικά ► συντηρητικά (σε φαρμακευτικά σκευάσματα ή σε τρόφιμα).

Είναι προφανές, λοιπόν, ότι υπό κανονικές, φυσιολογικές συνθήκες, στον οργανισμό υπάρχουν δύο ομάδες αντιτιθεμένων μεταξύ τους διαδικασιών, μια «οξειδωτική» και μια «αντιοξειδωτική», οι οποίες βρίσκονται σε ισορροπία. Η διατάραξη της ισορροπίας αυτής προς όφελος της «οξειδωτικής» αποτελεί την κατάσταση που αποκαλείται «οξειδωτικό στρες» («οξειδωτική καταπόνηση»). Η εγκατάσταση «οξειδωτικού στρες» μπορεί να οδηγήσει σε «οξειδωτική βλάβη». Υπάρχει αλληλεξάρτηση μεταξύ «οξειδωτικού» και «βιολογικού στρες». (Ως «βιολογικό στρες» ορίζεται η «μη ειδική απόκριση του οργανισμού σε κάθε απαίτηση», όπως αναπτύσσεται σε επόμενο κεφάλαιο.)

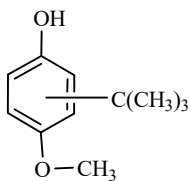
Οι συνέπειες καθώς και η προστασία από τη δράση ελευθέρων ριζών, όπως και η πρόληψη του οξειδωτικού στρες αποτελούν αντικείμενο εκτενούς έρευνας κατά τα τελευταία έτη.



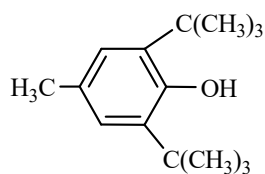
Γαλλικός προπυλεστέρας

***N,N'*-Διφαινυλο-*p*-φαινυλενοδιαμίνη**

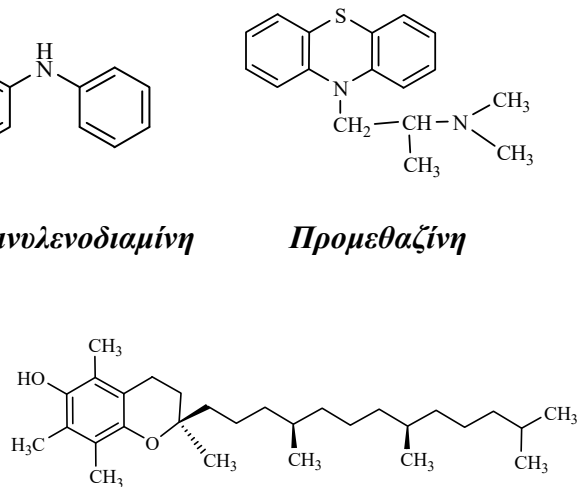
Προμεθαζίνη



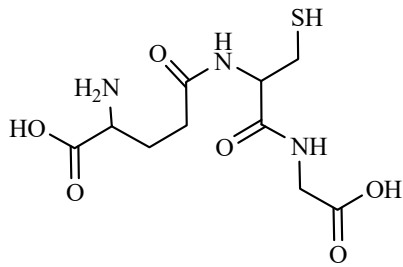
BHA
Βουτυλιωμένη
υδροξυανισόλη



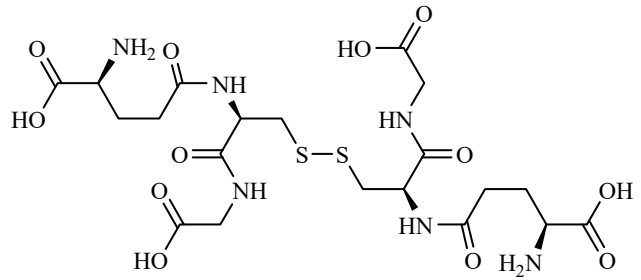
BHT
Βουτυλιωμένο
υδροξυτολουόλιο



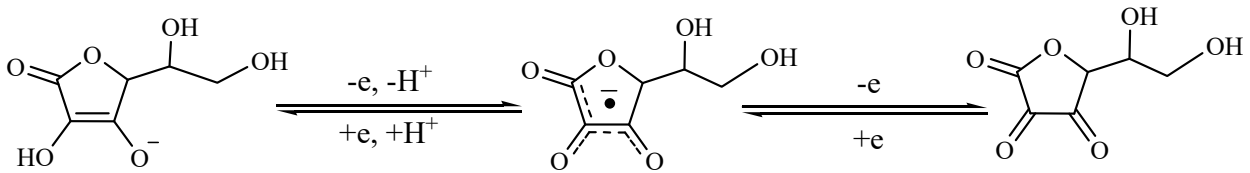
Βιταμίνη E
α-Τοκοφερόλη

**GSH**

Γλουταθειόνη (ανηγμένη)

**GSSG**

Οξειδωμένη Γλουταθειόνη (Δισουλφίδιο)

**Ασκορβικό οξύ (Βιταμίνη C)****Ρίζα
δεϋδροασκορβικού οξέος****Δεϋδροασκορβικό οξύ**

Σχήμα: Αντιοξειδωτικά μικρού μοριακού βάρους. Δίδεται και ο μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης του ασκορβικού οξέος (Σε φυσιολογικό pH, 7,4, το ασκορβικό οξύ βρίσκεται σε μεγάλο ποσοστό ιονισμένο, εφ' όσον έχει τιμή $pK_{a(1)}$ 4,25).



7. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ Η ΣΥΝΔΕΟΜΕΝΗ ΜΕ ΑΥΤΟ.

Η τοξικότητα του οξυγόνου λόγω της δημιουργίας ελευθέρων ριζών, αμέσως ή εμμέσως, και οι χημικές βλάβες οι οποίες οδηγούν σε κυτταρική εκφύλιση προσελκύουν προσφάτως αξιοσημείωτο ενδιαφέρον. Πολλά φάρμακα και άλλα ξеноβιοτικά ενεργοποιούν το οξυγόνο κατά τον οξειδοαναγωγικό κύκλο κυρίως του κυτοχρώματος P450, αλλά και άλλων ενζυμικών συστημάτων, όπως της ξανθινοξειδάσης, της προσταγλανδινικής συνθετάσης, της λιποξυγονάσης, της αμινοξειδάσης.

Είναι μακρύς και σταθερά αυξανόμενος ο κατάλογος φαρμάκων, αγροχημικών, προϊόντων χημικής βιομηχανίας, περιβαλλοντικών ρύπων που μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτική βλάβη.

Εάν εξαντληθεί το κυτταρικό αμυντικό, ενζυμικό ή άλλο, σύστημα εναντίον των ελευθέρων ριζών, η ενεργοποίηση του οξυγόνου προκαλεί άμεση κυτταροτοξικότητα και κυτταρική εκφύλιση (ήπατος, μυοκαρδίου, νεφρών, μυελού οστών, εγκεφάλου). Αυτό αποτελεί τη βάση του μοριακού μηχανισμού τοξικότητας και, σε μερικές περιπτώσεις, της θεραπευτικής δράσης φαρμάκων. Ακόμη, η βλάβη μπορεί να προκληθεί χωρίς την παρέμβαση εξωγενούς χημικής ένωσης για το σχηματισμό ελευθέρων ριζών, αλλά από την επίδραση ακτινοβολίας (ακτινοβολία γ, υπεριώδες φως), ακόμη και από υπερήχους.

Τα καρδιομυοκύτταρα είναι ιδιαιτέρως ευαίσθητα σε προσβολή από ελεύθερες ρίζες κατά τη μυοκαρδιακή βλάβη. Καταστροφή του σαρκοπλάσματος λόγω προσβολής από ελεύθερες ρίζες είναι μια από τις κυτταρικές διαδικασίες που συναντώνται στις αρρυθμίες κατά τη διάρκεια μυοκαρδιακής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Υπεροξειδία λιπιδίων εμπλέκονται στην αρτηριοσκλήρυνση και σε βλάβες αγγείων. Η μικροαγγειοπάθεια, που συνδέεται με τις επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη, συνοδεύεται από υψηλότερες των φυσιολογικών συγκεντρώσεις λιποϋπεροξειδίων στο πλάσμα. Η ενεργοποίηση του οξυγόνου είναι σημαντικός παράγοντας για τη γήρανση και τις καταστάσεις που σχετίζονται μ' αυτή. Επίσης καρκίνος, μεταλλαξιογενέσεις, καρδιαγγειακές παθήσεις, νόσοι Parkinson και Alzheimer, άλλες ανωμαλίες νόησης, ρευματοειδείς και άλλες αυτοάνοσοι νόσοι, όπως σκλήρυνση κατά πλάκας, ψωρίαση, ερυθρηματώδης λύκος σχετίζονται με τη δράση ελευθέρων ριζών. Ακόμη, κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, τραυματισμοί σπονδυλικής στήλης – νωτιαίου μυελού, ισχαιμικά και αιμορραγικά επεισόδια, σηπτικό και αιμορραγικό shock, εγκαύματα και επιπλοκές τους, βλάβες εγκεφάλου νεογνών λόγω άπνοιας αμέσως μετά τον τοκετό, απόρριψη μοσχευμάτων, γαστρεντερικό έλκος λόγω λήψης μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, αλλά και χωρίς λήψη αυτών είναι συνδεδεμένα επίσης με δημιουργία και δράση ελευθέρων ριζών.

Το οξειδωτικό στρες, ακόμη κι αν είναι εξαιρετικά έντονο, δεν βλάπτει αμέσως το κύτταρο, διότι αντιμετωπίζεται με τις υπάρχουσες αντιοξειδωτικές εφεδρείες του οργανισμού. Ακολουθεί περίοδος προσαρμογής, κατά την οποία το κύτταρο επάγει συστήματα για την αντιοξειδωτική προστασία, π.χ. ένζυμα, παραγωγή γλουταθειόνης, ώστε να επιτευχθεί μια νέα κατάσταση ομοιόστασης, η οποία είχε διαταραχθεί κατά την οξειδωτική προσβολή. Αν η ένταση του οξειδωτικού στρες δεν είναι μεγάλη, η καινούργια κατάσταση ομοιόστασης («κυτταρική

προσαρμογή») μπορεί να διαρκέσει αρκετό χρόνο.¹ Αν όμως η ένταση του οξειδωτικού στρες είναι μεγάλη, η προκαλούμενη βλάβη δεν μπορεί να διορθωθεί, και το κύτταρο καταλήγει στο θάνατο. Ανάλογα με την προκληθείσα βλάβη, έχουμε **νέκρωση** ή **απόπτωση** του κυττάρου. Στην πρώτη περίπτωση, η βλάβη είναι εξαιρετικά μεγάλη, το κύτταρο διογκώνεται και διαρρηγνύεται, ελευθερώνοντας το υλικό του στο κυτταρικό περιβάλλον. Έτσι, μπορούν να υποστούν βλάβη και γειτονικά κύτταρα, π.χ. από οξειδωτικά, πρωτεολυτικά ένζυμα και μέταλλα όπως Fe^{+++} και Cu^{++} που ελευθερώνονται. Όταν η βλάβη είναι μικρότερη, τότε ο θάνατος επέρχεται μέσω απόπτωσης (δηλ. προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου), ενός γενετικά προκαθορισμένου είδους κυτταρικής αυτοκτονίας. Τα βλαπτικά ένζυμα (πρωτεολυτικά, υδρολυτικά, οξειδωτικά) και τα μέταλλα δεν απελευθερώνονται στο κυτταρικό περιβάλλον κατά την απόπτωση, και έτσι προστατεύονται τα γειτονικά κύτταρα.

Συνολικά, από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι σε πλήθος καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από κυτταρική εκφύλιση, η συμμετοχή των ελευθέρων ριζών και το προκαλούμενο οξειδωτικό στρες διαδραματίζουν αποφασιστικό ρόλο. Στην προσπάθεια για ορθολογικό σχεδιασμό φαρμακομορίων, η μελέτη της μοριακής βάσης του παθογόνου αιτίου, εδώ των ελευθέρων ριζών, και της μοριακής βάσης της δράσης του φαρμάκου φαίνεται να είναι μια από τις ασφαλέστερες οδούς για επιτυχή σχεδιασμό καλύτερων φαρμάκων.

7.1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Όταν επιδράσουν επί των κυττάρων διάφοροι βλαπτικοί παράγοντες, όπως ακτινοβολία (ιονίζουσα, αλλά και υπεριώδης), βακτήρια, ιοί, δηλητήρια ορισμένων αραχνών ή φιδιών, θερμότητα (έγκαυμα), κυτταροστατικά και ποικίλα άλλα ξеноβιοτικά, δραστικές μορφές οξυγόνου, stress, αναλόγως προς την ένταση και το χρόνο έκθεσης στους βλαπτικούς παράγοντες, τα κύτταρα βλάπτονται και μπορεί να λάβει χώρα κυτταρικός θάνατος. Διακρίνονται δύο βασικά είδη κυτταρικού θανάτου, η κυτταρική νέκρωση, στην οποία επέρχεται κυτταρική λύση, και η απόπτωση, ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.

Νέκρωση: Κατά την κυτταρική νέκρωση εμφανίζονται κυτταρική και οργανδιακή διόγκωση, πέψη χρωματίνης, απώλεια ακεραιότητας μεμβρανών κυττάρου, μιτοχονδρίων,

¹ Κατά τη βλάβη του DNA από οξειδωτικό στρες μπορεί να επιτευχθεί επιδιόρθωση αυτού. Όταν η βλάβη είναι μεγαλύτερη, τότε παρεμβαίνει το επί της χρωματίνης συνδεδεμένο ένζυμο «πολύ(ADP-ριβοζο)πολυμεράση» (PARP) και, αποσπώντας το νικοτιναμίδιο από το NAD^+ , μεταφέρει το υπόλοιπο, δηλ. το τμήμα ADP-ριβόζη, σε πυρηνικές πρωτεΐνες (η διαδικασία αυτή της ADP-ριβοζυλίωσης πυρηνικών πρωτεϊνών θεωρείται ότι διευκολύνει την επιδιόρθωση του DNA). Σε συνθήκες όμως ακόμη εντονότερου οξειδωτικού στρες, άρα και υπερβολικής δραστηριότητας της PARP, το κύτταρο στερείται NAD^+ , το οποίο συντελεί στη σύνθεση ATP και αποθνήσκει. Το φαινόμενο καλείται «απόκριση αυτοκτονίας». Δηλαδή, όταν η βλάβη στο DNA δεν μπορεί να αποκατασταθεί πλήρως, το κύτταρο αυτοκτονεί, προκειμένου να ωφεληθεί ο οργανισμός, αφού υπάρχει κίνδυνος το προσβληθέν κύτταρο να εξελιχθεί σε καρκινικό. Υπάρχουν ουσίες οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν στο σημείο αυτό, διότι έχουν την ικανότητα να αναστείλουν τη δράση της PARP. Τέτοιες ουσίες είναι η θεοφυλλίνη, η θεοβρωμίνη και το 3-υδροξυβενζαμίδιο (αμίδιο του 3-υδροξυβενζοϊκού οξέος).

υπεροξυσωμάτων και λυσοσωμάτων. Αποτελέσματα αυτών είναι υδρόλυση του DNA, θραύση οργανιδίων και κυτταρική λύση, που οδηγεί σε απελευθέρωση του περιεχομένου του κυττάρου στην περιβάλλουσα περιοχή. Έτσι, ελευθερώνονται υδρολυτικά, πρωτεολυτικά και οξειδωτικά ένζυμα, μεταλλικά ιόντα όπως $Fe^{++(+)}$, Cu^{++} , και αντιοξειδωτικά μέσα (καταλάση, δισμουτάση ανιόντος υπεροξειδίου, γλουταθειόνη). Οι παράγοντες αυτοί μπορούν, με τη σειρά τους, να οδηγήσουν στη νέκρωση και άλλων κυττάρων και ιστών, με συνέπεια ευρύτερη βλάβη της περιοχής.

Απόπτωση: Όταν το κύτταρο υποστεί σοβαρή, μεν, βλάβη, αλλά όχι τόσο βαρεία ώστε να επέλθει νέκρωση, λαμβάνει χώρα η απόπτωση. Αυτή είναι γονιδιακώς καθορισμένος θάνατος, προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, ώστε να προστατευθεί το κυτταρικό περιβάλλον. Η απόπτωση είναι διαδικασία η οποία απαιτεί ενέργεια. Κατά τα πρώτα στάδια της απόπτωσης παρατηρούνται συμπύκνωση του κυτταροπλάσματος, συρρίκνωση του κυττάρου, συμπύκνωση και κατακερματισμός της χρωματίνης, θραύση των κλώνων του DNA, ώστε το απομονωμένο DNA εμφανίζει εικόνα κλίμακας κατά την ηλεκτροφόρηση. Άλλα φαινόμενα είναι αποδόμηση του κυτταροσκελετού, δημιουργία επαρμάτων στην κυτταρική μεμβράνη (“blebbing”) που περιέχουν μέρος του κυτταροπλάσματος, τεμαχισμός του πυρήνα, τελικώς θραύση ολοκλήρου του κυττάρου προς σχηματισμό θραυσμάτων, των αποπτωτικών σωμάτων (αποπτωσωμάτων), χωρίς διάρρηξη της μιτοχονδριακής ή της λυσοσωμικής μεμβράνης, ή απελευθέρωση του περιεχομένου του κυττάρου. Επομένως, τα αποπίπτοντα κύτταρα δεν επηρεάζουν τα γειτονικά κύτταρα. Τα αποπτωσώματα τελικώς πέπτανται από φαγοκύτταρα.

Η απόπτωση μπορεί να επαχθεί από διάφορους στρεσογόνους παράγοντες, ιονίζουσα ακτινοβολία, παράγοντες που επηρεάζουν το μηχανισμό παραγωγής ενέργειας, οξειδωτικό στρες και πολλά αντικαρκινικά φάρμακα. Απόπτωση απαντάται σε πολλές νόσους, όμως ισχυρή παρεμπόδιση αυτής θα μπορούσε να οδηγήσει σε σοβαρότερες καταστάσεις, όπως κακοήθειες ή ψυχικές νόσους.

Η απόπτωση είναι φαινόμενο που παρατηρείται σε όλους τους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Στα κύτταρα των θηλαστικών, το γονίδιο *bcl-2* ασκεί αντι-αποπτωτική δράση. Κωδικοποιεί μια μεμβρανική πρωτεΐνη, τη Bcl-2, που βρίσκεται σε μιτοχόνδρια, ενδοπλασματικό δίκτυο και μεμβράνη του πυρήνα. Αυτή προστατεύει τα κύτταρα από απόπτωση προκαλούμενη από οξειδωτικούς παράγοντες(π.χ. H_2O_2) ή ιονίζουσα ακτινοβολία. Μια άλλη πρωτεΐνη, η Bax (Bcl-2-associated X protein) ασκεί δράση αντίθετη προς αυτή της Bcl-2, και η αναλογία Bax/Bcl-2 φαίνεται ότι είναι παράγοντας που καθορίζει εάν ένα κύτταρο θα υποστεί απόπτωση κάτω από την επίδραση οξειδωτικού στρες ή όχι.

Στα κύτταρα των θηλαστικών υπάρχει επίσης οικογένεια πρωτεολυτικών ενζύμων που περιέχουν κυστεΐνη, οι κασπάσες (caspase, από **c**ysteine-dependent **a**spartate-specific **p**rotease), οι οποίες καταλύουν τη διάσπαση αμιδικού δεσμού μετά από ασπαρτικό οξύ. Οι κασπάσες επάγονται κατά την απόπτωση.

Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απόπτωση. Βλάβη στα μιτοχόνδρια μπορεί να προκαλέσει απελευθέρωση στο κυτταρόπλασμα πρωτεϊνών που επάγουν απόπτωση, οπότε ακολουθεί ενεργοποίηση κασπασών. Μια τέτοια πρωτεΐνη είναι το κυτόχρωμα c. Εάν εισαχθεί στο κύτταρο προκαλεί απόπτωση. Η απώλεια, όπως, του κυτοχρώματος c από το μιτοχόνδριο σταματά τη ροή ηλεκτρονίων, και πιθανώς οδηγεί σε δημιουργία O_2^{\bullet} .

(Το κυτόχρωμα c είναι μικρή αιμοπρωτεΐνη, η οποία συνδέεται χαλαρά στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Είναι διαλυτή πρωτεΐνη και ουσιώδες συστατικό της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, μεταφέροντας ένα ηλεκτρόνιο. Υφίσταται οξείδωση και αναγωγή, αλλά δεν συνδέεται με οξυγόνο. Το κυτόχρωμα c λαμβάνει μέρος και στην απόπτωση κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του οργανισμού ή ως απόκριση σε κυτταρική βλάβη).



8. ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ. Η ΠΑΘΟΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΣΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΜΟΡΙΩΝ.

8.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

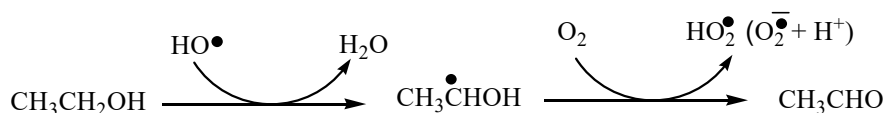
Στη συνέχεια θα εξετασθούν μερικές παθολογικές καταστάσεις που έχουν μεγάλη σημασία για τη σύγχρονη κοινωνία, αλλά και φαρμακοχημικό ενδιαφέρον. Θα γίνουν προτάσεις για το σχεδιασμό καλύτερων φαρμάκων βασιζόμενες και στο φαινόμενο του οξειδωτικού στρες. Στην αρχή όμως θα αναφερθεί η (τοξική) δράση ορισμένων φαρμάκων ή άλλων ξενοβιοτικών, που οφείλεται άμεσα ή έμμεσα στο φαινόμενο της ενεργοποίησης του οξυγόνου. Η χημεία της δράσης φαρμάκων και άλλων δραστικών χημικών ενώσεων είναι του αμέσου ενδιαφέροντος της φαρμακοχημείας, διότι θα μπορέσουν να εξηγηθούν χημικά οι δράσεις και να σχεδιαστούν αποτελεσματικότερα και ασφαλέστερα φάρμακα.

8.2. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ–ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΞΕΝΟΒΙΟΤΙΚΩΝ

Πολλά ξενοβιοτικά μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτικό στρες ενεργοποιώντας το οξυγόνο, είτε μέσω επαγωγής του κυτοχρώματος P450 (ιδιαίτερα των ισομορφών CYP2E και CYP1A),

εφ' όσον λειτουργούν ως ενζυμικοί επαγωγείς, είτε αφού ενεργοποιηθούν τα ίδια, υπό τη μορφή ενεργών μεταβολικών ενδιάμεσων. Με τον τρόπο αυτό προκαλούν εξάντληση των αντιοξειδωτικών αμυντικών αποθεμάτων του οργανισμού. Η κατάσταση αυτή οδηγεί εύκολα σε πολλές βλάβες, οι οποίες εντοπίζονται σε διάφορα όργανα. Η περιοχή στην οποία θα εκδηλωθεί η βλάβη εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, όπως η εκλεκτική συγκέντρωση του ξενοβιοτικού, η μερική πίεση του οξυγόνου, η αιμάτωση του οργάνου. Για παράδειγμα, η τοξική δράση του ζιζανιοκτόνου paraquat επικεντρώνεται στους πνεύμονες, της 1-μεθυλο-4-φαινυλο-τετραϋδροπυριδίνης (MPTP) στη μέλαινα ουσία του εγκεφάλου, Hg^{++} στους νεφρούς.

Αιθανόλη CH_3CH_2OH : Η κατάχρηση της αιθανόλης (υπό τη μορφή αλκοολούχων ποτών) συνιστά σημαντικό κλινικό και κοινωνικό πρόβλημα σε πολλές χώρες και αποτελεί αντικείμενο έρευνας για τη διευκρίνιση της μοριακής βάσης της προκαλούμενης δυσλειτουργίας. Κατά το μεταβολισμό της αιθανόλης στο ήπαρ σχηματίζεται, μεταξύ άλλων, και μια ελεύθερη ρίζα, η οποία θεωρείται ως ο τοξικός μεταβολίτης. Η ρίζα αυτή ($CH_3\dot{C}HOH$) αποτελεί δευτερεύοντα μεταβολίτη υπό κανονικές συνθήκες, ο οποίος δημιουργείται με τη δράση του ενζυμικού συστήματος του κυτοχρώματος P450 (CYP). Η αιθανόλη είναι επαγωγέας του κυτοχρώματος P450, και ειδικότερα της ισομορφής CYP2E1. Αυτό το ισοένζυμο ευθύνεται για την απ' ευθείας σύνδεση και ενεργοποίηση του οξυγόνου, χωρίς ακόλουθη σύνδεση με το υπόστρωμα-ξενοβιοτικό και, μέσω της «μάταιης ανακύκλισης» («futile turnover») προκαλείται δημιουργία μεγάλων ποσοτήτων ενεργού οξυγόνου. Έτσι, η κατάχρηση αιθανόλης οδηγεί όχι μόνο στο σχηματισμό της τοξικής υδροξυαιθυλο-ρίζας, αλλά, μέσω επαγωγής του CYP2E1, και στην παραγωγή αυξημένων ποσοτήτων δραστικών μορφών οξυγόνου, με τις γνωστές συνέπειες.



Ο μεταβολισμός της αιθανόλης αφορά αντιδράσεις ελευθέρων ριζών, και στο γεγονός αυτό οφείλεται μέρος της ηπατοτοξικότητας αυτής. Φυσικά, η σχηματιζόμενη ακεταλδεΐδη επίσης είναι πολύ τοξικό προϊόν, και σ' αυτήν αποδίδονται μερικές από τις τοξικές δράσεις της αιθανόλης.

Έχουμε δείξει ότι, με αγωγή με βιταμίνη E ή με συνδυασμό βιταμινών E και C, προστατεύεται το ήπαρ από βλάβη λόγω χορήγησης υψηλών δόσεων αιθανόλης: Μειώνεται η λιπιδική υπεροξείδωση και ανατάσσεται η μειωμένη, λόγω οξειδωτικής προσβολής, ικανότητα του ήπατος να μεταβολίζει φάρμακα.

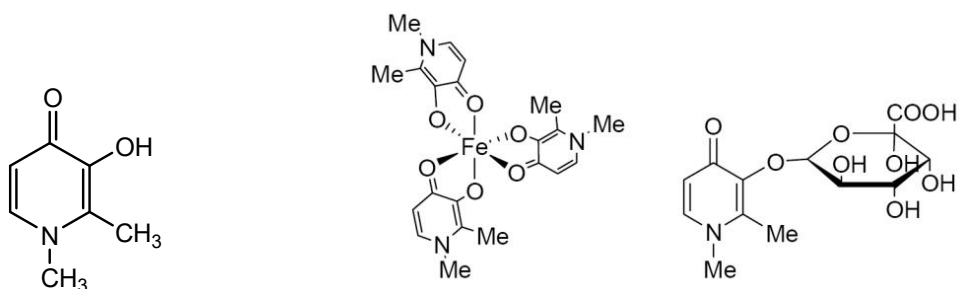
Ίοντα σιδήρου κα άλλων μεταβατικών μετάλλων: Η χρόνια παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων σιδήρου και άλλων μεταβατικών μετάλλων στο ηπατικό παρέγχυμα οδηγεί σε

κίρρωση και ενδεχομένως σε ηπατικά καρκινώματα. Οι βλάβες αυτές θα μπορούσαν να αποδοθούν και σε παραγωγή ελευθέρων ριζών, η οποία, όπως είδαμε, υποβοηθείται από ιόντα μεταβατικών μετάλλων, όπως ο σίδηρος.

Η αλόγιστη λήψη σκευασμάτων σιδήρου είναι επικίνδυνη. Ο σίδηρος στην αίμη (συνδεδεμένος με πορφυρίνη) είναι ισχυρά ενωμένος και δεν συντελεί σε σχηματισμό ελευθέρων ριζών. Ελεύθερες ρίζες γίνονται με τη δράση ελευθέρων $Fe^{++(+)}$, που υπάρχουν στα κύτταρα και στο αίμα. Η ανακάλυψη ισχυρών συμπλοκοποιητών σιδήρου, οι οποίοι μάλιστα θα απομακρύνουν αυτόν από τον οργανισμό με τα ούρα

, θα έλυνε πολλά προβλήματα συσσώρευσης σιδήρου στον οργανισμό, π.χ. σε πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς όπως τα άτομα με μεσογειακή αναιμία.

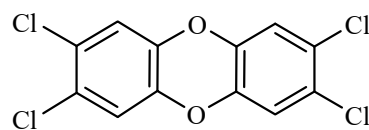
Ένα τέτοιο φάρμακο είναι η διφεριπρόνη, φάρμακο που λαμβάνεται από το στόμα και συμπλέκει το σίδηρο:



Δομή της διφεριπρόνης, του συμπλόκου της σε σίδηρο και του κύριου μεταβολίτη της

Πολυαλογονωμένοι αρωματικοί υδρογονάνθρακες: Στις ενώσεις αυτές περιλαμβάνονται εντομοκτόνα, βιομηχανικά προϊόντα όπως εξαχλωροβενζόλιο, πολυχλωριωμένα διφαινύλια και διοξίνη (2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζο-1,4-διοξίνη).

Αυτές οι ενώσεις, με την παρουσία σιδήρου, κυρίως με αυξημένες συγκεντρώσεις αυτού, στο ήπαρ, προκαλούν δημιουργία ελευθέρων ριζών και ακολούθως εμφάνιση ισχυρής ηπατικής βλάβης.

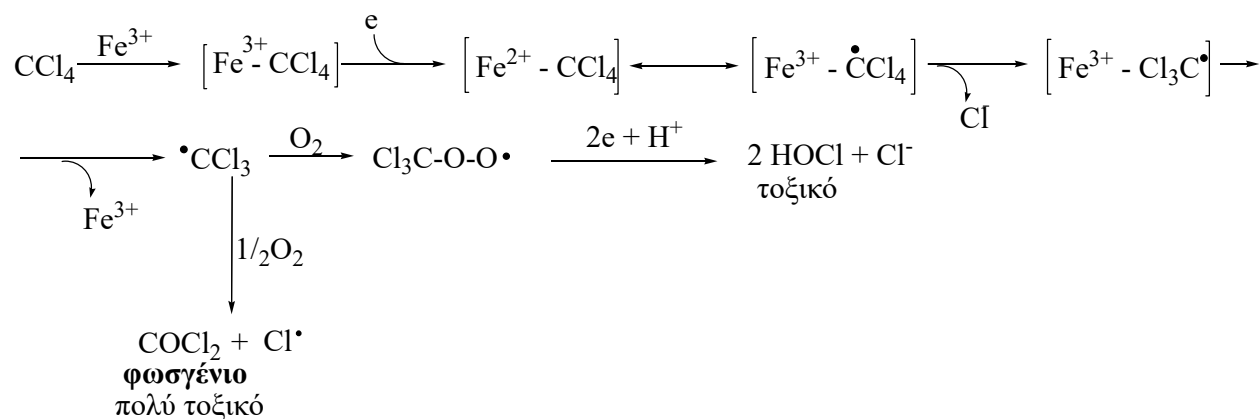


Διοξίνη

(2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζο-1,4-διοξίνη)

Μια σοβαρή πάθηση είναι η ηπατική πορφυρία (λόγω απώλειας δράσης της αποκαρβοξυλάσης του ουροπορφυρινογόνου, που οδηγεί σε συσσώρευση ουροπορφυρίνης). Η επαγωγή πολλών από τις «επικίνδυνες» ισομορφές του κυτοχρώματος P450 (π.χ. CYP1A2, CYP2E1) συμμετέχει σημαντικά στις προκαλούμενες από τα παράγωγα αυτά σοβαρές βλάβες.

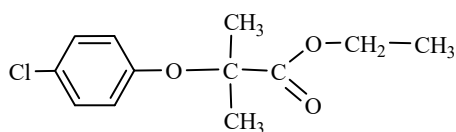
Τετραχλωράνθρακας CCl_4 : Παλαιότερα χρησιμοποιήθηκε ως ανθελμινθικό (κατά σκωλήκων του εντέρου), εδίδετο από το στόμα και ακολουθούσε χορήγηση ισχυρού αλατούχου καθαρτικού. Εγκαταλείφθηκε σύντομα, διότι είναι πολύ τοξικός [τότε, αντικαταστάθηκε από το 1,2-διχλωροαιθάνιο ($ClCH_2CH_2Cl$)]. Ακόμη και η χρήση του ως διαλύτη ή στους πυροσβεστήρες πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή.



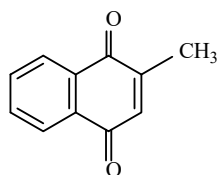
Μεταβολισμός του τετραχλωράνθρακα

Η τοξικότητα του τετραχλωράνθρακα οφείλεται σε μεταβολική ενεργοποίηση αυτού από το κυτόχρωμα P450 προς αρκετά τοξικά προϊόντα, όπως φαίνεται στο σχήμα. Στην περίπτωση αυτή, χορήγηση της ένωσης SKF525A, ενός ισχυρού αναστολέα του κυτοχρώματος P450, περιορίζει την τοξική δράση του τετραχλωράνθρακα.

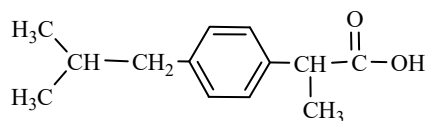
Κλοφιβράτη: Το υποχοληστερολαιμικό και, κυρίως, υπολιπιδαιμικό αυτό φάρμακο προκαλεί μεγάλη αύξηση υπεροξωσωμάτων. Τα υπεροξωσώματα προκαλούν β-οξειδωση (δηλ. στο β-άτομο άνθρακα σε σχέση με την καρβοξυλική ομάδα) των λιπαρών οξέων, με αποτέλεσμα βράχυνση της αλειφατικής αλυσίδας αυτών. Κατά τη δράση των υπεροξωσωμάτων παράγεται υπεροξειδίο του υδρογόνου. Αύξηση των υπεροξωσωμάτων οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή H_2O_2 , και από αυτό και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου.



Κλοφιβράτη



Μεναδιόνη

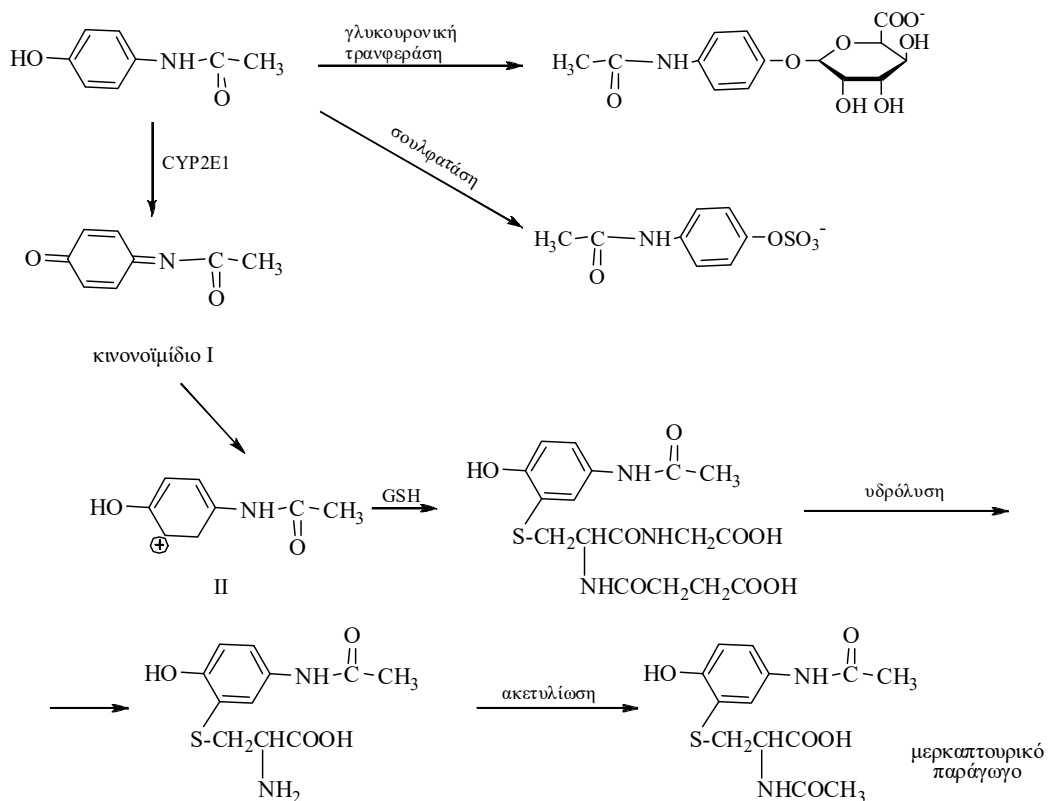


Ιβουπροφαίνη

Η εγκατάσταση οξειδωτικού στρες από υπεροξυσωμικούς επαγωγείς ευθύνεται για την ηπατοτοξικότητα και πιθανώς καρκινογένεση που συνοδεύουν τη χρόνια λήψη αυτών. Επίδραση ανάλογη προς αυτή της κλοφιβράτης επί των υπεροξυσωμάτων παρουσιάζουν η μεναδιόνη [έχει δράση βιταμίνης K, συντελεί στην πήξη του αίματος, αντίδοτο σε δηλητηρίαση από αντιπηκτικά, π.χ. από δισυδροξυκουμαρίνη, ή από σαπισμένο τριφύλλι (πρόβατα διατρεφόμενα με αυτό)], οργανικά υπεροξείδια και το αντιφλεγμονώδες ιβουπροφαίνη.

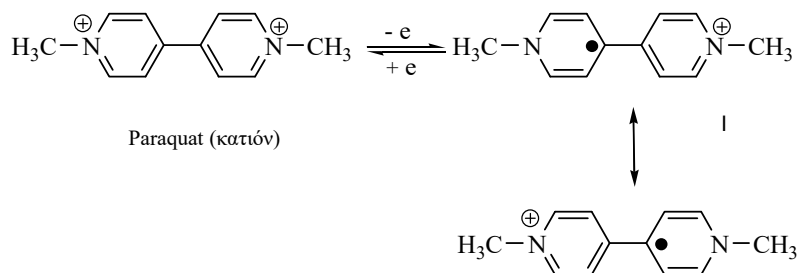
Παρακεταμόλη: Το ευρύτατα χρησιμοποιούμενο αυτό φάρμακο, κάτω από ορισμένες συνθήκες, μπορεί να προκαλέσει ηπατική νέκρωση και, σπάνια, καρκίνο. Υπεύθυνος για τη δράση αυτή είναι μεταβολίτης μετά από παρέμβαση του κυτοχρώματος P450. Στο ήπαρ η παρακεταμόλη ακολουθεί τις τρεις κυρίως μεταβολικές οδούς του παρακάτω σχήματος. Οι δύο μεταβολίτες (I και II) είναι πολύ τοξικοί, διότι, ο τελευταίος, ως ισχυρό ηλεκτρονιόφιλο, πολύ εύκολα μπορεί να αντιδράσει με πυρηνόφιλες ομάδες DNA ή πρωτεϊνών. Όταν τα ποσά του τοξικού μεταβολίτη δεν είναι μεγάλα, τότε η υπάρχουσα στο ήπαρ γλουταθειόνη μπορεί να τα αναλάβει. Όταν όμως η χρήση παρακεταμόλης είναι μακρά με σχετικά μεγάλες δόσεις, ή όταν η δόση είναι υπερβολική, π.χ. σε απόπειρα αυτοκτονίας, εξαντλείται η γλουταθειόνη, διότι οι ρυθμοί αναπλήρωσής της δεν είναι εξαιρετικά ταχείς. Τότε αρχίζει η καταστροφή του ηπατοκυττάρου, λόγω αντιδράσεων του ηλεκτρονιόφιλου μεταβολίτη με πυρηνόφιλες ομάδες ενδογενών ενώσεων.

Το κυριότερο ισοένζυμο του P450 που καταλύει το σχηματισμό του I (σχήμα) είναι το CYP2E1, το οποίο, όπως αναφέραμε, επάγεται και από την αιθανόλη (συμμετέχουν και άλλα ισοένζυμα, αλλά σε μικρότερο βαθμό). Για το λόγο αυτό, οι αλκοολικοί είναι ιδιαίτερος ευαίσθητοι στην παρακεταμόλη. Η ενισχυτική επί της τοξικότητας της παρακεταμόλης δράση της αιθανόλης είναι μικρότερη κατά την ταυτόχρονη λήψη των δύο αυτών ξενοβιοτικών, διότι, επειδή και τα δύο μεταβολίζονται από το CYP2E1, το μεταβολισμό της παρακεταμόλης ανταγωνίζεται η αιθανόλη.

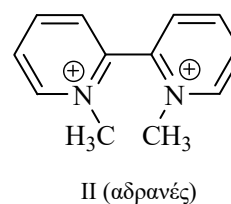
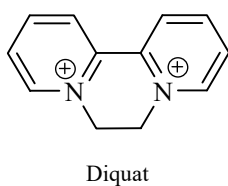


Μεταβολισμός της παρακεταμόλης

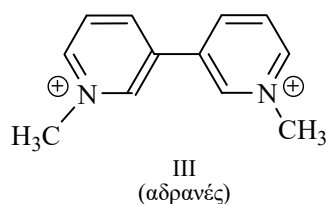
Diquat, Paraquat: Τα ζιζανιοκτόνα παράγωγα διπυριδυλίου βρέθηκε ότι δρουν με το σχηματισμό σταθερών ελευθέρων ριζών:



Το ζιζανιοκτόνο ανάγεται στον οργανισμό και δίνει τη ρίζα I, η οποία σταθεροποιείται λόγω συντονισμού. Για το λόγο αυτό, ενώ το δικουότ έχει δράση, το N-μεθυλο-συγγενές του II είναι αδρανές.



Η ένωση II είναι αδρανής διότι η από την αναγωγή κατά ένα ηλεκτρόνιο λαμβανόμενη ρίζα, για λόγους στερεοχημικούς (παρεμπόδιση ομοεπιπεδότητας των δακτυλίων από τις μεθυλικές ομάδες) δεν σταθεροποιείται με συντονισμό. Όμως, η ομοεπιπεδότητα του μορίου δεν είναι ο μόνος αναγκαίος παράγοντας για δράση, διότι αυτή σταθεροποιεί λόγω συντονισμού τη ρίζα. Αλλά, για να υπάρξει ρίζα χρειάζεται και κατάλληλη διάταξη του σθένους. Έτσι, το 3,3-διπυριδυλο παράγωγο III, λόγω μη ευνοϊκής διάταξης, παρ' όλον ότι υπάρχει ομοεπιπεδότητα, δεν παρουσιάζει ζιζανιοκτόνο δράση.



Το παρακουότ (άχρωμο), όταν το δυναμικό κατέβει στα -446 mV, δίνει την ελεύθερη ρίζα I (ιώδης).

Μετά την εφαρμογή τους, τα ζιζανιοκτόνα αυτά φθάνουν στους χλωροπλάστες. Θάνατος του ζιζανίου επέρχεται όταν επιτευχθεί αναλογία μορίων για φάρμακο/χλωροφύλλη ίση περίπου με 1/100. Ο θάνατος δεν επέρχεται αν αποκλεισθεί το φως ή το οξυγόνο.

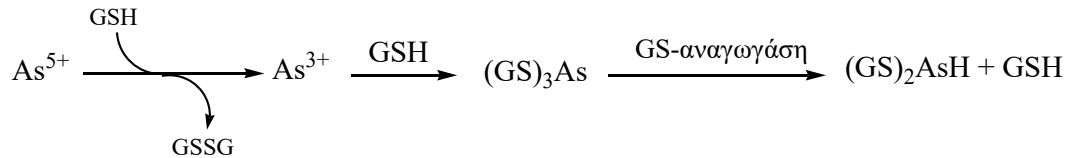
Η ρίζα I μέσα στο φυτό (στους χλωροπλάστες) συμμετέχει σε κύκλο οξειδοαναγωγικών διαδικασιών, με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό H_2O_2 , έτσι τα πραγματικά τοξικά μέσα είναι το H_2O_2 , καθώς και οι υπεροξυ- και οι υδροξυ-ρίζες που σχηματίζονται από αυτό. Η θανατηφόρος δράση των ζιζανιοκτόνων αυτών φαίνεται ότι επιτελείται μέσω παρεμπόδισης της αναγωγής του NADP, ή με την οξείδωση του NADPH.

Πολλές δηλητηριάσεις από τα ζιζανιοκτόνα του διπυριδυλίου λαμβάνουν χώρα σε γεωργικές περιοχές. Η τοξική δράση τους εμφανίζεται βαθμιαία και εντοπίζεται κυρίως στους πνεύμονες, όπου η παρουσία του οξυγόνου είναι εξαιρετικά μεγάλη. Η αντιμετώπιση γίνεται με άμεση πρόκληση εμέτου, πλύση στομάχου και χορήγηση βεντονίτη, καθώς και αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες.

Βαρέα μέταλλα: Πλην των Fe, Cu, Mn, Cr, Mo, V, μερικών από τα οποία ήδη επισημάνθηκε ο ρόλος στο σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου, πολλά ακόμη μέταλλα, όχι αναγκαστικά μεταβατικά, συμμετέχουν στην εγκατάσταση οξειδωτικού στρες, με διάφορους τρόπους, όπως διαταραχή στους μηχανισμούς παραγωγής ενέργειας, στη δομή βιομεμβρανών ή στις φυσιολογικές ομοιοστατικές λειτουργίες (π.χ. Cu^{2+}). Τέτοια μέταλλα είναι: Al, Hg, Cd, Pb, Ce. Επί πλέον, ο υδράργυρος και άλλα βαρέα μέταλλα συνδέονται με τη γλουταθειόνη και αναστέλλουν τη γλουταθειονική μεταφοράση, ελαττώνοντας έτσι τα φυσιολογικά αμυντικά

αποθέματα έναντι δυνητικά πολύ επικίνδυνων χημικών που δρουν μέσω δραστικότερων ηλεκτρονιοφίλων ή ελευθέρων ριζών.

Ακόμη, τα As^{5+} αντιδρούν με τη γλουταθειόνη και ανάγονται προς As^{3+} , ενώ σχηματίζεται $(GS)_3As$, που, με την παρέμβαση της αναγωγάσης της γλουταθειόνης, παράγει $(GS)_2AsH$ και GSH:



Ομοίως ανάγονται σεληνιούχες ενώσεις, που αποτοξινώνονται με σχηματισμό «συμπλόκου» GS-Se-SG, το οποίο παρέχει GS-SeH και GSH με τη δράση της γλουταθειονικής αναγωγάσης.

Αναφέρουμε τέλος την τόσο γνωστή δράση των βαρέων μετάλλων στο ήπαρ και στους νεφρούς, όργανα από την κανονική λειτουργία των οποίων επηρεάζεται πολύ σημαντικά ο μεταβολισμός και η απομάκρυνση φαρμάκων και μεταβολιτών τους.

Το ήπαρ είναι το πρώτο όργανο στο οποίο επιβεβαιώθηκε η σχέση ελευθέρων ριζών και βλάβης οργάνων. Ήδη από τη δεκαετία του 1970 είχε δειχθεί ο ρόλος των ενζύμων που μεταβολίζουν φάρμακα στην τοξικότητα της παρακεταμόλης και η προστατευτική δράση της γλουταθειόνης. Από την εποχή εκείνη, η N-ακετυλο-κυστεΐνη είχε καταστεί το φάρμακο εκλογής για την αντιμετώπιση της τοξικής επίδρασης της παρακεταμόλης, λόγω υπέρβασης της δόσης. Έχουμε δείξει ότι και αντιοξειδωτικά όπως τα συστατικά του «αιθερίου ελαίου» του χαμομηλιού χαμαζουλένιο και γαυαΐαζουλένιο προστατεύουν σημαντικά το ήπαρ επιμύων από την τοξική δράση της παρακεταμόλης.

Ο σχηματισμός ελευθέρων ριζών στο ήπαρ είναι συνέπεια:

- ▶ Της δράσης του ενζύμου NADPH-οξειδάση σε διηγευμένα πολυμορφοπύρηνα και μακροφάγα.
- ▶ Της δράσης του ενζύμου οξειδάση της ξανθίνης (που σχηματίζεται από την αφυδρογονάση της ξανθίνης) κατά την επανοξυγόνωση του ισχαιμικού ιστού.
- ▶ Της «διαρροής» ηλεκτρονίων προς το οξυγόνο από συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων, με κυριότερο αντιπρόσωπο την ενζυμική υπεροξειδογένεια του κυτοχρώματος P450.

Ήδη αναφέρθηκαν μερικά φάρμακα που δρουν ηπατοτοξικά μέσω ελευθέρων ριζών και πρόκλησης οξειδωτικού στρες. Επί πλέον, σημειώνουμε ότι, ιδιαιτέρως τα τελευταία χρόνια, ερευνάται έντονα ο ρόλος του μονοξειδίου του αζώτου σε ηπατικές παθήσεις. Πιθανολογείται ότι το NO μεσολαβεί στην παθογένεση της βλάβης του ιστού κατά την κίρρωση. Επίσης, τα ποσά

του κυκλικού GMP (cGMP), που αποτελεί το μέτρο της δράσης του μονοξειδίου του αζώτου, ευρίσκονται αυξημένα στα ούρα ασθενών με κίρρωση.

Στο σημείο αυτό επισημαίνεται η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην ικανότητα του ήπατος να μεταβολίζει φάρμακα και άλλα ξеноβιοτικά, και η προκαλούμενη τοξικότητα. Το τελευταίο, διότι:

- Ο μεταβολισμός των φαρμάκων αποτελεί τη σπουδαιότερη, ή τουλάχιστον, μια από τις κύριες «οδούς απώλειας» φαρμάκων στον οργανισμό.
- Μερικές φορές, όπως ήδη αναφέρθηκε, ο μεταβολισμός των ξеноβιοτικών οδηγεί σε προϊόντα δραστικότερα της αρχικής ένωσης. Αυτοί οι δραστικοί μεταβολίτες διακρίνονται σε:
 - ✓ Χημικά δραστικούς μεταβολίτες, με βιολογική δράση συνήθως παρόμοια αυτής της αρχικής ένωσης (βιοενεργοποίηση)
 - ✓ Χημικά πολύ δραστικά ηλεκτρονιόφιλα ενδιάμεσα ή ελεύθερες ρίζες (βιοτοξίνωση) με πολύ μικρή βιολογική ημιπερίοδο ζωής. Οι μεταβολίτες αυτοί είναι προϊόντα συνήθως οξείδωσης, σπανιότερα υδρόλυσης. Τα σώματα αυτά δρουν τοξικά με το σχηματισμό μονίμων, ομοιοπολικών δεσμών μετά από αντίδραση με πυρηνόφιλες ομάδες βιοπολυμερών (πρωτεϊνών, νουκλεϊνικών οξέων), προκαλώντας χημικές αλλοιώσεις, που μπορούν να έχουν σοβαρές συνέπειες, όπως μεταλλαξιογένεση, καρκινογένεση, τερατογένεση, επίσπευση γήρανσης, αλλεργική ευαισθητοποίηση, κυτταρική εκφύλιση – νέκρωση και φωτοευαισθητοποίηση.

Σήμερα γνωρίζουμε σε μεγάλο βαθμό ποιές ομάδες καθιστούν ιδιαιτέρως πιθανή την παρουσία των τοξικών αυτών μεταβολιτών. Αφού λοιπόν, για την τοξικότητα κάθε χημικής ένωσης, η πιθανή εμφάνιση αυτών των χημικά δραστικών μεταβολιτών έχει τόσο σοβαρές συνέπειες και τόσο μεγάλη σημασία, πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπ' όψη ο παράγοντας των πιθανών μεταβολιτών σε αρχικές φάσεις του σχεδιασμού φαρμάκων, Πρέπει όμως ακόμη να ενισχύονται οι αμυντικοί μηχανισμοί, όπως τα αντιοξειδωτικά αποθέματα, ώστε να μην οδηγείται ο οργανισμός σε οξειδωτικό στρες. Το κυριότερο, ίσως, από αυτά είναι το σύστημα γλουταθειόνης – γλουταθειονικής τρανσφεράσης, που συνδέει τα τοξικά ενδιάμεσα προϊόντα με γλουταθειόνη, ώστε στα ούρα να εμφανίζονται ως μη τοξικά μερκαπτουρικά παράγωγα. Θετικό μερκαπτο-τεστ σημαίνει επικίνδυνη έκθεση σε δυνητικά πολύ τοξικό παράγοντα ή και σε επικίνδυνο περιβάλλον.

Εκτός από την τοξικότητα που μερικές φορές οφείλεται στο μεταβολισμό, και παρ' όλη την αναμφισβήτητη μεγάλη χρησιμότητα του μεταβολισμού των φαρμάκων, αυτό εμφανίζει και μερικά ακόμη μειονεκτήματα, πλην της βιοτοξίνωσης που εμφανίζεται μερικές φορές. Τα σπουδαιότερα από αυτά είναι:

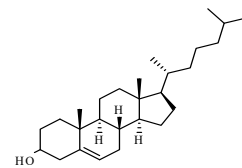
- Γρήγορη εξαφάνιση του φαρμάκου από τον οργανισμό, ενώ ακόμη το χρειάζεται.
- Απαιτήση για συνεχείς πολλές δόσεις
- Σπατάλη φαρμάκου
- Το φαινόμενο της πρώτης διάβασης (ή διόδου)
- Μερικές φορές, μεγάλες διαφορές από ασθενή σε ασθενή
- Αύξηση της συχνότητας φαρμακευτικών αλληλεπιδράσεων
- Ανάγκη για παρακολούθηση της συγκέντρωσης ορισμένων φαρμάκων στο αίμα (π.χ. καρδιοτονωτικοί γλυκοζίτες, Li^+ , φαινοτοΐνη)
- Μεγάλες διαφορές απόκρισης στα φάρμακα από ένα είδος ζώου σε άλλο και, συνεπώς, μεγάλη δυσκολία στη μεταφορά συμπερασμάτων για τη δράση τους από τα πειραματόζωα στον άνθρωπο.

8.3. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ–ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Υπερχοληστερολαιμία – Αγγειοπάθειες – Υπέρταση – Καρδιαγγειακά νοσήματα: Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η πρώτη αιτία θανάτου στο δυτικό κόσμο. Επομένως επιβάλλεται να αναφερθούν μερικά στοιχεία για τα κυριότερα αίτια της παθολογικής αυτής κατάστασης με κάποιες λεπτομέρειες, κυρίως σε σχέση με τις ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες, ώστε να χρησιμεύσουν ως βάση για τον σχεδιασμό βελτιωμένων φαρμάκων.

Μια από τις βασικότερες αιτίες της υπέρτασης και ακόλουθης καρδιακής βλάβης είναι η αλλοίωση των τοιχωμάτων των αγγείων. Η αθηρωμάτωση και η αρτηριοσκλήρυνση, χαρακτηριστικές της βλάβης των αγγειακών τοιχωμάτων, οφείλονται κυρίως σε **υπερχοληστερολαιμία**.

Η χοληστερόλη, λόγω της μεγάλης λιποφιλικότητάς της, δεν είναι δυνατό να κυκλοφορεί στο αίμα ελεύθερη. Έτσι, βρίσκεται υπό τη μορφή συσσωματωμάτων, συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες, κυρίως ως VLDL-, LDL- και HDL-χοληστερόλη.



Χοληστερόλη

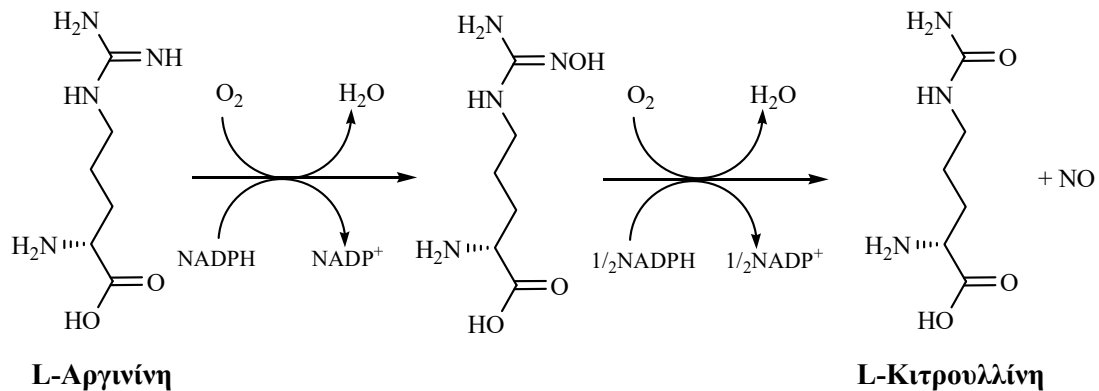
Η VLDL («πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη»), χάνοντας αρκετά τριγλυκερίδια, δίδει την LDL («χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη»), τη σημαντικότερη λιποπρωτεΐνη στο αίμα, από άποψη ποσότητας και βλαπτικότητας (πρόκλησης αθηρώματος). Εμφανίζεται υπό μορφή σφαιρικών σωματιδίων, διαμέτρου περίπου 22 nm, και περιέχει στον πυρήνα της κατά μέσο όρο 600 μόρια χοληστερόλης, 1600 μόρια εστεροποιημένης χοληστερόλης, κυρίως με λινελαϊκό οξύ, και 170 μόρια τριγλυκεριδίων. Ο υδατόφοβος αυτός πυρήνας περιβάλλεται από στρώμα 700 μορίων φωσφολιπιδίων, με το λιπόφιλο τμήμα προς τον πυρήνα και τις πολικές ομάδες προς την

περιφέρεια. Το σύνολο είναι ενωμένο με πρωτεΐνη. Η HDL, («υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη»), ευρίσκεται σε πολύ μικρότερα ποσά και θεωρείται ωφέλιμη, διότι διευκολύνει την απομάκρυνση της χοληστερόλης από το αίμα και την περιφέρεια. Η LDL υπό κανονικές συνθήκες φέρει ποσότητα βιταμίνης E, καροτινοειδών και λυκοπινίου.

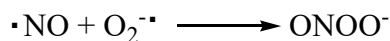
Στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης συμβαίνει είσοδος της LDL από το αίμα στο τοιχώματα των αγγείων. Υπάρχουν ειδικοί υποδοχείς της LDL-χοληστερόλης στα κύτταρα του ενδοθηλίου των αγγείων, αλλά και των μακροφάγων. Σε περίπτωση (οξειδωτικής) βλάβης του ενδοθηλίου, όταν η LDL βρεθεί στο ενδοθήλιο του αγγειακού τοιχώματος, οξειδώνεται προς οξειδωμένη LDL (oxLDL) από δραστικές μορφές οξυγόνου, που δημιουργούνται εξ αιτίας της βλάβης, από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα του αίματος. Αρχικά οξειδώνεται το λιπιδικό τμήμα της LDL (προς mmLDL «ελάχιστα τροποποιημένη LDL»), δηλαδή τα φωσφολιπίδια, τα τριγλυκερίδια αλλά και η χοληστερόλη, ακολούθως οξειδώνεται και το πρωτεϊνικό τμήμα αυτής και τελικά προκύπτει η oxLDL. Πιθανόν ο αθηρωματογόνος μηχανισμός αρχίζει με το σχηματισμό της oxLDL. Οι οξειδωμένες LDL δεν αναγνωρίζονται πλέον από τους υποδοχείς της φυσιολογικής LDL-χοληστερόλης στα κύτταρα του ενδοθηλίου, αλλά από τους υποδοχείς – παγίδες («scavenger receptors» ή «υποδοχείς – saboteur») των μακροφάγων. Η αλληλεπίδραση της oxLDL με τους υποδοχείς αυτούς έχει ως συνέπεια την παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων, παραγόντων φλεγμονής, κυτοκινών, αλλά και δραστικών μορφών οξυγόνου. Έτσι, προσελκύονται μακροφάγα και άλλα κύτταρα από τους γύρω ιστούς, π.χ. μυοκύτταρα, ακολουθεί φαγοκυττάρωση της oxLDL, κυρίως από τα μακροφάγα, τα οποία διογκώνονται, κατατρώγοντας την oxLDL, και μετατρέπονται σε «αφρώδη κύτταρα», που ονομάστηκαν έτσι λόγω της εμφάνισής τους. Όταν συσσωρευθούν πολλά αφρώδη κύτταρα στην υπενδοθηλιακή στιβάδα, σχηματίζονται σταδιακά οι «λιπώδεις γραμμώσεις». Στην αρχή δεν διακρίνονται με γυμνό οφθαλμό, αλλά με την πάροδο του χρόνου, τη συσσώρευση λιπιδίων ενδο- και εξω-κυτταρικά και την περαιτέρω μετανάστευση μονοκυττάρων και αφρωδών κυττάρων, καθίστανται σαφώς ορατές μακροσκοπικά. Τα αφρώδη κύτταρα υφίστανται ρήξη, λόγω της υπερβολικής εναπόθεσης λιπιδίων στο εσωτερικό τους, τα οποία, με την κυτταρική ρήξη, εξέρχονται και συσσωρεύονται στο άμεσο περιβάλλον εξωκυτταρικά. Ακολουθεί εκτεταμένη ρήξη αφρωδών κυττάρων, αύξηση των λιπιδίων, εξωκυτταρικά αύξηση της συγκόλλησης αιμοπεταλίων και άλλων εμμόρφων συστατικών του αίματος, σχηματισμός αιμοπεταλικού θρόμβου, ασβέστωση και σκλήρυνση της δημιουργούμενης «αθηρωματικής πλάκας». Στις αθηρωματικές πλάκες έχει βρεθεί αυξημένη δραστηριότητα της λιποξυγονάσης, ενός από τα κύρια ένζυμα της φλεγμονής. Εξ άλλου, γίνεται αντιληπτό ότι στην όλη διαδικασία της αθηρωμάτωσης σαφώς εμπλέκονται φαινόμενα φλεγμονής. Σημειώνεται επίσης ότι η οξείδωση της LDL επιτελείται κυρίως εντός του τοιχώματος των αγγείων, και μόνο

σε σοβαρές περιπτώσεις γενικευμένου οξειδωτικού στρες, η οξείδωση λαμβάνει χώρα και εντός του αίματος.

Στην υπερλιπιδαιμία, το διαθέσιμο μονοξείδιο του αζώτου είναι περιορισμένο. Θυμίζουμε ότι το NO είναι διατομική, επικεντρωμένη στο άτομο του αζώτου, ελεύθερη ρίζα, το οποίο παράγεται από την L-αργινίνη με την καταλυτική δράση των συνθετασών του NO:



Το NO, μεταξύ των άλλων, ρυθμίζει και τον τόνο των αγγείων, έτσι, σε περιορισμένη παρουσία του, παρατηρείται μειωμένη ικανότητα αγγειοδιαστολής, που επιδεινώνει την κατάσταση. Η LDL, κυρίως η oxLDL, μειώνει τα διαθέσιμα ποσά NO, διότι αντιδρά με τις παραγόμενες λόγω της οξειδωτικής βλάβης, ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου, σχηματίζοντας τα πολύ τοξικά υπεροξυνιτρώδη:



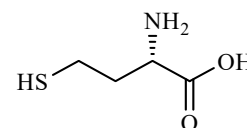
Η oxLDL προκαλεί διέγερση παραγωγή ενδοθηλίνης-1, η οποία δρα αγγειοσυσταλτικά. Το στρες και η υπέρταση συνδέονται και με αυξημένες συγκεντρώσεις κατεχολαμινών (π.χ. αδρεαλίνης) στο αίμα. Οξείδωση κατεχολαμινών οδηγεί σε παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Αυτές με τη σειρά τους, εκτός από τη λιπιδική υπεροξείδωση, ελαττώνουν περαιτέρω το NO, και επάγουν παραγωγή ενδοθηλίνης-1, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη αγγειοσυστολή. Επί πλέον, στη υπέρταση παρατηρείται αύξηση της προσταγλανδίνης H₂, η οποία επίσης προκαλεί αγγειοσυστολή και συντελεί στη συγκόλληση αιμοπεταλίων.

Ένα από τα αίτια του **σακχαρώδους διαβήτη** είναι και διαδικασίες οξειδωτικού στρες. Οι συνέπειες των υψηλών συγκεντρώσεων γλυκόζης με μειωμένες συγκεντρώσεις ινσουλίνης συζητούνται σε άλλο κεφάλαιο. Εδώ αναφέρεται μόνο ότι στα αγγεία των χρονίως υπεργλυκαιμικών ατόμων εμφανίζεται έντονη αθηρωμάτωση, καθώς και μικρο-, αλλά και μακροαγγειοπάθειες.

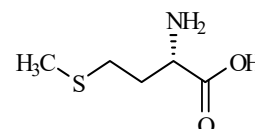
Η επίδραση της *γήρανσης* στην υπέρταση και στην αθηρωμάτωση είναι επίσης σημαντική, και σχετίζεται με τη δράση της ακετυλοχολίνης στο ενδοθήλιο. Η δράση της ακετυλοχολίνης είναι αγγειοδιασταλτική. Με την πρόοδο της ηλικίας όμως, παρατηρείται αναστροφή της αγγειοδιασταλτικής προς αγγειοσυσταλτική δράση. Ηλικία και αγγειοδιασταλτική δράση της ακετυλοχολίνης είναι μεγέθη αντιστρόφως ανάλογα. Η αλλαγή αυτή οφείλεται μάλλον σε βαθμιαία εξαφάνιση των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης στα τοιχώματα των αγγείων και όχι σε απώλεια της διασταλτικής ικανότητας των αγγείων, εφ' όσον η αγγειοδιασταλτική ικανότητα του νιτροπρωσσικού νατρίου $\{Na_2[Fe(CN)_5NO]$, που δρα έτσι, επειδή απελευθερώνει NO} παραμένει σταθερή με την πρόοδο της ηλικίας.

Το *κάπνισμα* βοηθά την αθηρωματογόνο διαδικασία, κυρίως μέσω των ελευθέρων ριζών του εισπνεομένου καπνού. Οι ελεύθερες ρίζες συντελούν στην αναστολή της δράσης του NO, λόγω της μείωσης των συγκεντρώσεών του. Παράλληλα, ελαττώνεται και η δράση της προστακυκλίνης, ενός παράγοντα που προκαλεί αγγειοδιαστολή και παρεμποδίζει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων.

Μεγάλες συγκεντρώσεις *ομοκυστεΐνης* στο αίμα είναι παράγοντας κινδύνου για αθηρωμάτωση και αρτηριοσκλήρυνση. Η ομοκυστεΐνη συντίθεται στον οργανισμό από τη μεθειονίνη. Η υπερομοκυστεϊναιμία μπορεί να οφείλεται σε γενετικό ελάττωμα ή σε έλλειψη παραγόντων όπως βιταμινών B₆, B₁₂, φυλλικού οξέος, απαραίτητων για το φυσιολογικό μεταβολισμό μεθειονίνης και ομοκυστεΐνης. Ο ακριβής μηχανισμός της δράσης της ομοκυστεΐνης στην αθηρωμάτωση δεν είναι γνωστός με βεβαιότητα.



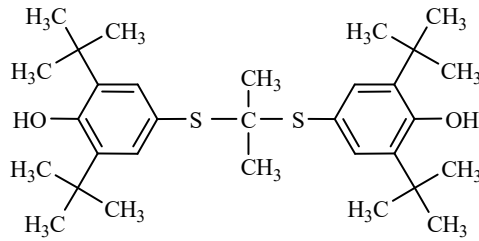
Ομοκυστεΐνη



Μεθειονίνη

Πάντως, *in vitro* η ομοκυστεΐνη, παρουσία μεταβατικών μετάλλων, δίνει ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου, υδροξυλίου, υπεροξειδίου του υδρογόνου και ρίζες επικεντρωμένες σε S. Δεν έχει δειχθεί αν αυτά συμβαίνουν στον άνθρωπο.

Ο περιορισμός και ο έλεγχος υπερχοληστερολαιμίας, αθηρωμάτωσης και υπέρτασης με την προσέγγιση της αγωγής με αντιοξειδωτικά κατακτά έδαφος. Η προβουκόλη είναι αντιδυσλιπιδαιμικό φάρμακο το οποίο θεωρείται ότι δρα λόγω της αντιοξειδωτικής του ικανότητας. Υπό έρευνα ευρίσκονται μόρια τα οποία έχουμε σχεδιάσει ως αντιοξειδωτικούς παράγοντες, δότες NO και αναστολείς της βιοσύνθεσης χοληστερόλης μέσω αναστολής της σύνθεσής του σκουαλενίου.



Προβουκόλη

Επίσης, για προφύλαξη από παρόμοια νοσήματα συνιστάται διατροφή πλούσια σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες (A, C, E) άλλα αντιοξειδωτικά πολυφαινολικά παράγωγα, καροτινοειδή, λυκοπίνιο. Μικρές ποσότητες κόκκινου κρασιού και πολυακορεστών λιπαρών οξέων θεωρούνται ότι ενισχύουν την HDL, που έχει αντι-αθηρωματογόνο δράση. Σε μεγάλες δόσεις πάντως, τόσο η αλκοόλη όσο και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα ενισχύουν οξειδωτικές διαδικασίες.

Μια μελλοντική προσέγγιση θα μπορούσε να είναι η παρεμπόδιση της σύνθεσης και της δράσης του mRNA του υπευθύνου για τους υποδοχείς της oxLDL, άρα και περιορισμός του σχηματισμού αφρωδών κυττάρων.

Φλεγμονή: Φλεγμονή, ένας αμυντικός μηχανισμός, είναι το σύνολο των τοπικών διεργασιών του συνδετικού ιστού και των αγγείων έναντι μηχανικού, χημικού, μικροβιακού ή μεταβολικού ερεθίσματος. Χαρακτηρίζεται ως δυναμική απόκριση του οργανισμού έναντι βλαπτικού παράγοντα, με σκοπό την προστασία των ζωτικών λειτουργιών του, αποτρέποντας την διατάραξη της ομοιόστασής του.

Η φλεγμονή θεωρείται αποτέλεσμα απελευθέρωσης σειράς μεταβιβαστών και χημειοτακτικών παραγόντων, οι οποίοι προσελκύουν κύτταρα της φλεγμονής (μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, T-κύτταρα, μακροφάγα) στην περιοχή της φλεγμονής και ακολούθως της βλάβης, όπου προκαλούν δευτερογενείς αλλοιώσεις. Η φλεγμονώδης απόκριση διακρίνεται σε τρεις φάσεις, που διεκπεραιώνονται με διαφορετικούς μηχανισμούς, οι οποίες με σειρά εμφάνισης είναι οι εξής:

α) *Οξεία, παροδική φάση*, η οποία χαρακτηρίζεται από τοπική αγγειοδιαστολή, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας, οίδημα, αύξηση της θερμοκρασίας τοπικά, και ερυθρότητα.

β) *Υποξεία φάση*, που χαρακτηρίζεται από τη μετακίνηση λευκοκυττάρων και φαγοκυττάρων στην περιοχή. Αυτό οφείλεται στη δράση χημειοτακτικών παραγόντων που ελευθερώνονται στον τόπο της φλεγμονής.

γ) *Χρόνια, εξελισσόμενη φάση*, η οποία χαρακτηρίζεται από μη αναστρέψιμη εκφύλιση ιστών.

Η όλη διαδικασία, από την παθοβιοχημική άποψη, είναι εξαιρετικά πολύπλοκη, οι παράγοντες φλεγμονής πολλοί με ασαφή χρονική εμφάνιση, με αλληλεπικαλύψεις, δημιουργία πολυαριθμών φαύλων κύκλων και συμμετοχή πολλών ειδών κυττάρων φλεγμονής (ανοσολογικό σύστημα). Έχουμε εμφάνιση χημικών και κυτταρικών διεργασιών.

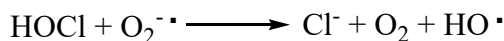
Μερικοί από τους συντελεστές φλεγμονής είναι: ισταμίνη, προσταγλανδίνες, θρομβοξάνια, λευκοτριένια, ιντερλευκίνη-1 (IL-1), ιντερλευκίνη-8 (IL-8), παράγοντας ογκονέκρωσης-α (TNF-α), αλλά και αρκετά πρωτεολυτικά και υδρολυτικά ένζυμα.

Κατά τη φλεγμονή εμφανίζονται μεγάλη σειρά δραστικών μορφών οξυγόνου και ενζύμων όπως πρωτεάσες να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη βλάβη. Υπάρχουν πολλές ενδείξεις γι' αυτό, όπως αυξημένη απέκκριση ισοπροστανοειδών F₂, που είναι δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης. Σε πολλές από τις αυτοανόσους νόσους (π.χ. ερυθρηματώδης λύκος, ρευματοειδής αρθρίτιδα) υπάρχουν παράγοντες «κλαστογονικοί», που προκαλούν χρωμοσωμικές βλάβες και θραύση DNA (μεταξύ των παραγόντων αυτών είναι η υδροξυ-εννεάλη, προϊόν λιπιδικής υπεροξειδωσης, και η δι- και τρι-φωσφορική ινοσιτόλη). Η χρήση υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) εμποδίζει τη δράση αυτών των «κλαστογονικών» παραγόντων *in vitro*.

Ρευματοειδής αρθρίτιδα (PA): Αναπτύσσεται εκτενέστερα η νόσος αυτή διότι είναι πολύ διαδεδομένη, αλλά και διότι μπορεί να αποτελέσει σε μεγάλο βαθμό ένα καλό αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αυτοανόσου νόσου. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή των αρθρώσεων, κυρίως των άκρων. Ενώ ο αιτιολογικός παράγοντας είναι άγνωστος, φαίνεται ότι τα T-λεμφοκύτταρα διαδραματίζουν αποφασιστικό ρόλο. Το αίμα και το αρθρικό υγρό των ατόμων με PA περιέχουν αντισώματα εναντίον της ανοσοσφαιρίνης G (IgG). Κάτι πρέπει να καθιστά την IgG αντιγονική κατά την PA, π.χ. αλλαγή στην υδρογονανθρακική αλυσίδα και/ή βλάβη της IgG από δραστικές μορφές οξυγόνου, που δημιουργήθηκαν κατά τη χρόνια φλεγμονώδη διαδικασία.

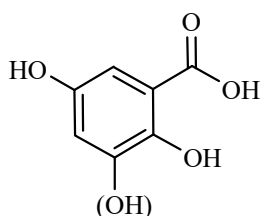
Η έναρξη της PA συνήθως είναι αργή. Η αρθρική επένδυση παχύνεται και αναδιπλώνεται, υπάρχει διείσδυση αιμοφόρων αγγείων και αρχίζει χρόνια φλεγμονή, με είσοδο κυττάρων φλεγμονής και αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων. Έτσι, περισσότερες πρωτεΐνες εισρέουν στην άρθρωση από το πλάσμα και αυξάνεται η ποσότητα σιδήρου στα αρθροκύτταρα. Τελικά, καταστρέφεται η άρθρωση, με αποτέλεσμα βλάβη των οστών της άρθρωσης, αφού η ισορροπία μεταξύ των λειτουργιών οστεοβλαστών – οστεοκλαστών διαταράσσεται και υπερισχύει η δράση των οστεοκλαστών. Χαρακτηριστική στην αλλοιωμένη από PA άρθρωση είναι η εμφάνιση του «rannus», ερυθρωπού ιστού που αναπτύσσεται από κύτταρα της εσωτερικής επένδυσης του αρθρικού θύλακα, αρχίζοντας από τα σημεία όπου αυτός συνδέεται με τον χόνδρο του οστού. Λαμβάνει χώρα ανάπτυξη αγγείων και βαθμιαία ίνωση. Αποτελείται από πλήθος ουδετεροφίλων, μονοκυττάρων του αίματος τα οποία έλκονται χημειοτακτικά από κυτταροκίνες όπως IL-1, IL-8, TNF-α που εμφανίζονται στην άρθρωση. Ο TNF-α επάγει και τον πυρηνικό παράγοντα κB (NF-κB). Το αρθρικό υγρό γεμίζει με ουδετερόφιλα, ενώ επέρχεται αλλαγή στη σύσταση του υαλουρονικού οξέος, το οποίο γίνεται μικρότερου μοριακού βάρους, άρα το αρθρικό υγρό

αποκτά χαμηλότερο ιξώδες, με αποτέλεσμα αύξηση ευαισθησίας σε μηχανικές βλάβες. Εν τω μεταξύ, έχουν αρχίσει διαδικασίες παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου από τον χόνδρινο και τον οστίτη ιστό. Έτσι, ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου, παρουσία σιδήρου δίνουν ρίζες υδροξυλίου. Ρίζες υδροξυλίου μπορεί να προέρχονται επίσης και από το υποχλωριώδες οξύ:

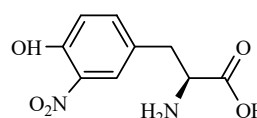


Καταστροφή ιστών γίνεται με τους παραπάνω μηχανισμούς από ελεύθερες ρίζες και από άλλα δραστικά ενδιάμεσα όπως υπερχλωρικά και υπεροξυνιτρώδη ιόντα.

Η παρουσία ριζών υδροξυλίου καθώς και μονοξειδίου του αζώτου (που ανιχνεύεται από την εμφάνιση NO_2^- και NO_3^-) στο αρθρικό υγρό ατόμων με ΡΑ αποδεικνύεται και από το γεγονός ότι αρθρικό υγρό ατόμων με ΡΑ in vitro με σαλικυλικά δίνει 2,3- ή 2,5 διυδροξυβενζοϊκό οξύ (ένδειξη ύπαρξης ριζών υδροξυλίου) και με φαινυλαλανίνη δίνει 3-νιτρο-4-υδροξυ-φαινυλαλανίνη (ένδειξη ύπαρξης και NO).



2,5 (ή 2,3) Δι-υδροξυβενζοϊκό οξύ



3-Νιτρο-4-υδροξυ-φαινυλαλανίνη

Ακόμη, έχουν διαπιστωθεί, σε τεστ άσκησης – ανάπαυσης σε άτομα με ΡΑ, φαινόμενα ισχαιμίας – επαναιμάτωσης με έξαρση παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου.

Φάρμακα χρησιμοποιούμενα σε καταστάσεις φλεγμονής

Γλυκοκορτικοειδή: Αυτά δρουν σε φλεγμονώδεις καταστάσεις μέσω της αναστολής της φωσφολιπάσης A_2 , ελαττώνοντας έτσι την ελευθέρωση αραχιδονικού οξέος, άρα ελαττώνοντας τη σύνθεση εικοσανοειδών, όπως οι προσταγλανδίνες. Ακόμη, ελαττώνουν την παραγωγή παραγόντων φλεγμονής όπως IL-1, IL-8 και TNF- α , καθώς και τη δραστηριότητα της επαγωγίσιμης συνθετάσης NO (πού επάγεται σημαντικά σε καταστάσεις φλεγμονής) στα μακροφάγα. Σημαντικότεροι αντιπρόσωποι της κατηγορίας αυτής είναι η πρεδνιζολόνη και η δεξαμεθαζόνη.

Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAID): Αυτά αποτελούν τα συνήθως χρησιμοποιούμενα φάρμακα στις περισσότερες ήπιες ή μετρίως σοβαρές φλεγμονώδεις καταστάσεις. Έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν τη δράση των κυκλοοξυγονασών (COX-1 και COX-2), άρα περιορίζεται η σύνθεση προστακυκλινών, θρομβοξανίων και προσταγλανδινών.

Η φλεγμονή συνδέεται με δράση ελευθέρων ριζών, με περισσότερους τρόπους, επισημαίνονται μόνο δύο:

(α) Μέσω της σύνθεσης μεσολαβητών φλεγμονής (λευκοτριενίων, θρομβοξανίων και προσταγλανδινών). Στις βιοσυνθετικές αυτές διαδικασίες εμπλέκεται σχηματισμός υπεροξειδίων και ελευθέρων ριζών. Ταυτοχρόνως, δύο από τα σημαντικότερα ένζυμα στις διαδικασίες αυτές, οι κυκλοοξυγονάσες και οι λιποξυγονάσες, όχι μόνο μπορούν να ενεργοποιήσουν το οξυγόνο απ' ευθείας, δίνοντας δραστικές μορφές αυτού, αλλά μπορούν να συμμετέχουν σε βιομετατροπές ξενοβιοτικών, παρέχοντας ενδιάμεσους δραστικούς μεταβολίτες, που μπορούν να ενεργοποιήσουν το οξυγόνο. Οι *κυκλοοξυγονάσες* (COX-1 και COX-2) είναι ένζυμα που περιέχουν σιδηροπορφυρίνη. Η πρώτη είναι δομικό ένζυμο, με έντονη παρουσία και στον στόμαχο, η δεύτερη είναι επαγωγήμη, με μικρότερη παρουσία στον στόμαχο. Προϊόντα της καταλυτικής τους δράσης είναι προστακυκλίνες, θρομβοξάνια και προσταγλανδίνες. Οι *λιποξυγονάσες* περιέχουν σίδηρο, όχι όμως με τη μορφή αίμης. Κυριότερα προϊόντα αυτών είναι τα λευκοτριένια.

(β) Κατά την κυτταρική φάση της φλεγμονής, φαγοκυττάρωση, κύτταρα όπως πολυμορφοπύρρηνα και μακροφάγα λευκοκύτταρα ανάγουν οξυγόνο σε ενεργές μορφές αυτού. Το φαινόμενο λέγεται «αναπνευστική έκρηξη». Αυτές οι δραστικές μορφές οξυγόνου καταστρέφουν το παθογόνο (π.χ. το μικρόβιο). Είναι όμως δυνατό να προκληθεί και εξωκυτταρική βλάβη στους γύρω ιστούς. Η διαδικασία αυτή συμβάλλει σε βλάβη ιστών, κακοήθεις ανωμαλίες που ακολουθούν τη φλεγμονή και άλλες αυτοανόσους νόσους.

Και οι δύο από τις παραπάνω διαδικασίες περιορίζονται από τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Πάντως, πολύ λίγα από τα φάρμακα αυτά έχουν βρεθεί να δεσμεύουν απ' ευθείας ελεύθερες ρίζες. Τα σαλικυλικά δεσμεύουν ρίζες υδροξυλίου δίνοντας 2,3-διυδροξυβενζοϊκό οξύ, το οποίο έχει βρεθεί στο αρθρικό υγρό. Πολλά από τα υπόλοιπα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη έχουν βρεθεί να δρουν με ανάλογο τρόπο έναντι των ριζών υδροξυλίου *in vitro*, αλλά σε συγκεντρώσεις που μάλλον δεν επιτυγχάνονται με τις θεραπευτικές δόσεις τους.

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα έχουν ως κυριότερο μειονέκτημα την τάση για πρόκληση γαστρεντερικού ερεθισμού, γαστρίτιδας και έλκους, καθώς και νεφροτοξικότητας. Η γαστρεντερική τοξικότητα οφείλεται στο συνδυασμό του μηχανισμού δράσης τους και στο γεγονός ότι τα περισσότερα έχουν όξινο χαρακτήρα. Έτσι, στο όξινο περιβάλλον του στομάχου ο ιονισμός τους είναι περιορισμένος και απορροφούνται εύκολα. Όταν όμως φθάσουν εντός των κυττάρων του γαστρικού επιθηλίου, όπου το (ενδοκυτταρικό) περιβάλλον είναι ελαφρώς βασικό, ένα μέρος τους ιονίζεται και παγιδεύεται εκεί, όπου μειώνεται η σύνθεση

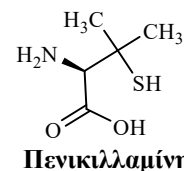
κυσταροπροστατευτικών προσταγλανδινών και ελαττώνεται η αντίσταση του γαστρικού επιθηλίου στα H^+ . Σήμερα γίνεται έντονη έρευνα για την ανακάλυψη μορίων με βασικό, όχι όξινο χαρακτήρα, ως αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Αυτά, ιονισμένα στο όξινο περιβάλλον του στομάχου, δεν θα απορροφούνται τοπικά, και η τοπική ερεθιστική δράση τους θα περιορίζεται. Ταυτόχρονα, ο γαστρικός ερεθισμός και το έλκος έχουν σημαντικό αίτιο διαδικασίες ελευθέρων ριζών και οξειδωτικού στρες. Ο ιστός γύρω από το έλκος παρουσιάζει υψηλές συγκεντρώσεις μηλονικής διαλδεύδης, ένδειξη λιπιδικής υπεροξειδωσης. Είναι λοιπόν επιθυμητός ο σχεδιασμός αντιφλεγμονωδών φαρμάκων που συνδυάζουν βασικό χαρακτήρα και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

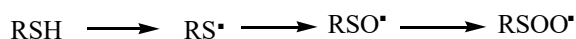
Αυτοάνοσοι νόσοι: Η φλεγμονή κανονικά είναι αυτοπεριοριζόμενο φαινόμενο και η ωφέλειά της συνήθως υπερिσχύει των μικρών βλαβών των ιστών που προκαλεί. Γενικότερα όμως, κάθε τι που προκαλεί ανώμαλη ενεργοποίηση του ανοσολογικού συστήματος έχει τη δυνατότητα να εκτραπεί προκαλώντας καταστροφικά αποτελέσματα.

Ο οργανισμός διαθέτει μηχανισμούς που εμποδίζουν την παραγωγή αντισωμάτων εναντίον των δικών του συστατικών. Κάθε αποτυχία αυτού του μηχανισμού επιτρέπει το σχηματισμό αυτοαντισωμάτων, που μπορούν να συνδεθούν με φυσιολογικά βιομόρια και να προκαλέσουν προσβολή από το ανοσολογικό σύστημα. Σε μερικές αυτοανόσους νόσους προσβάλλεται μόνο ένας ιστός. Για παράδειγμα, στη θυρεοειδίτιδα του Hashimoto, ο θυρεοειδής προσβάλλεται από λεμφοκύτταρα και φαγοκύτταρα, ακολουθεί βλάβη και ίνωση του αδένου. Στη βαρεία μυασθένεια (myasthenia gravis) συμβαίνει προσβολή από αντισώματα των νικοτινικών μετασυναπτικών υποδοχέων ακετυλοχολίνης στην τελική κινητική πλάκα.

Στις αυτοανόσους νόσους παρουσιάζονται οι πιο εντυπωσιακές συνέπειες ανώμαλης δράσης φαγοκυττάρων. Από αυτές οι περισσότερο διαδεδομένες είναι ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, το σκληρόδερμα, η αυτοάνοσος αγγειίτιδα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα. Ακόμη, μερικά φάρμακα επάγουν βλάβες που προσομοιάζουν με αυτές του ερυθματώδους λύκου. Τέτοια φάρμακα είναι η υδραλαζίνη, το ισονιαζίδιο, η χλωροπρομαζίνη, το προκαϊναμίδιο, αλλά και πενικιλλαμίνη, α-μεθυλο-ντόπα, διφαινυλοϋδαντοΐνη. Μεταβολίτες των φαρμάκων αυτών συνδέονται με πρωτεΐνες προς προϊόντα που συμπεριφέρονται ως «ξένα», δηλ. αντιγόνα. Στις περιπτώσεις υδραλαζίνης, α-μεθυλο-ντόπα, πενικιλλαμίνης και ισονιαζιδίου, η σύνδεση ίσως εμπλέκει και αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Είναι επίσης πιθανόν οξειδωτική τροποποίηση από δραστικές μορφές οξυγόνου να δημιουργεί νέα αντιγόνα.

Ας σημειωθεί ότι θειόλες όπως η πενικιλλαμίνη καταστέλλουν τη δράση του NF-κΒ και ελαττώνουν τη δράση της COX-2. Πάντως, μπορούν να δράσουν και οξειδωτικά, διότι δίνουν ρίζες επικεντρωμένες στο άτομο θείου:





Έτσι εξηγείται η σπανίως εμφανιζόμενη αυτοάνοσος αντίδραση στην πενικιλλαμίνη, οπότε μπορεί να τροποποιηθεί η αντιγονικότητα φυσιολογικής αρχικής πρωτεΐνης.

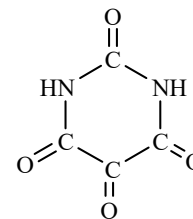
Επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη: Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι ομάδα συνδρόμων που χαρακτηρίζονται από υπεργλυκαιμία αλλά και τροποποιημένο μεταβολισμό λιπιδίων, υδατανθράκων και πρωτεϊνών, καθώς και αυξημένο κίνδυνο επιπλοκών από αγγεία, νεφρούς, περιφερικά νεύρα, αμφιβληστροειδή και φακό του οφθαλμού.

Οι περισσότεροι ασθενείς μπορούν κλινικώς να καταταγούν είτε σε πάσχοντες από ινσουλινεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (σακχαρώδη διαβήτη τύπου I), είτε σε πάσχοντες από διαβήτη που δεν εξαρτάται από την ινσουλίνη (σακχαρώδη διαβήτη τύπου II). Υπάρχουν και άλλοι τύποι σακχαρώδους διαβήτη, όμως πολύ σπανιότεροι, όπως της εγκυμοσύνης, δευτερογενής διαβήτη οφειλόμενος σε παγκρεατική λοίμωξη, εγχείρηση, σε διαιτητικούς λόγους, σε δράση τοξινών, κ.λ.π.

Στη χρόνια κατάσταση διαβήτη, οι πάσχοντες εμφανίζουν επιπλοκές από τα αγγεία, δηλ. χρόνια αγγειοπάθεια, που εξελίσσεται σε αθηρωμάτωση, αρτηριοσκλήρυνση και τελικά χρόνια καρδιαγγειακό πρόβλημα, βλάβη νεφρών που οδηγεί σε νεφρική ανεπάρκεια, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, κυρίως λόγω βλάβης των μικροαγγείων που αιματώνουν τον αμφιβληστροειδή, καταρράκτη και περιφερική νευροπάθεια. Οι προαναφερθέντες ιστοί δεν απαιτούν ινσουλίνη για την είσοδο γλυκόζης στα κύτταρα, δηλαδή, ο αμφιβληστροειδής, ο νεφρός και τα νεύρα είναι ελευθέρως διαπερατά από τη γλυκόζη. Αντιθέτως, απουσία ινσουλίνης, οι μύες, ο λιπώδης ιστός, καθώς και πολλοί άλλοι ιστοί δύσκολα προσλαμβάνουν γλυκόζη, ανεβάζοντας τη συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα. Είναι βέβαιο ότι οι χρονίως υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης είναι βλαπτικές για τους ιστούς, όπως θα εξηγηθεί στη συνέχεια. Ας σημειωθεί πάντως ότι δεν είναι αυτός ο μόνος αίτιος κυρίως της αγγειοπάθειας, διότι σε υπεργλυκαιμία παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις LDL- VLDL-χοληστερόλης, ενώ ελαττώνονται τα επίπεδα HDL-χοληστερόλης, γεγονότα που σαφώς συμβάλλουν στις βλάβες.

Μερικές περιπτώσεις (1-2% ή ακόμη λιγότερες) σακχαρώδους διαβήτη έχουν γενετικό χαρακτήρα, π.χ. παρουσιάζεται έλλειψη του ενζύμου γλυκοκινάση (ένζυμο που καταλύει τη μετατροπή της γλυκόζης σε 6-φωσφορική γλυκόζη). Άλλες έχουν ανοσολογική προέλευση, δηλαδή φαγοκύτταρα προσβάλλουν τα β-κύτταρα των νησίδων του παγκρέατος. Εδώ, φυσικά, έχουμε παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, π.χ. O_2^- και από αυτό ONOO^- , που προκαλούν κυτταρική βλάβη. Αρκετές περιπτώσεις σακχαρώδους διαβήτη τύπου I έχουν αυτή την αιτιολογία.

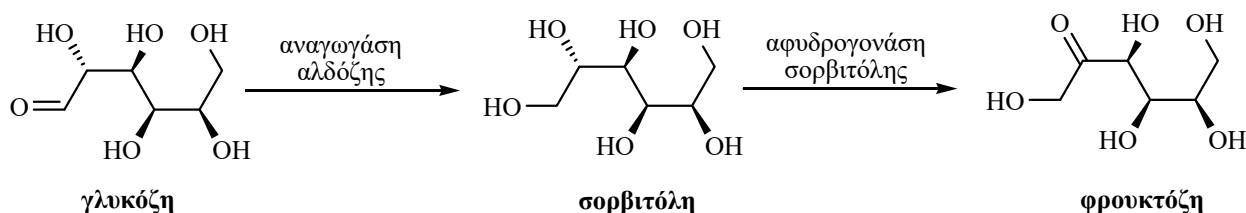
Το *αλλοξάνιο*, που προκαλεί πειραματικά σακχαρώδη διαβήτη, έχει βρεθεί ότι προκαλεί οξειδωτικό στρες στο πάγκρεας. Πάντως, ακόμη δεν είναι βέβαιο ότι το οξειδωτικό στρες είναι η αιτία του σακχαρώδους διαβήτη. Ακόμη και σε περιπτώσεις χρονίου σακχαρώδους διαβήτη δεν υπάρχει απόλυτη συμφωνία για την παρουσία ή όχι οξειδωτικού στρες, παρ' όλων ότι υπάρχουν συγκλίνουσες ενδείξεις για θετική απάντηση:



Αλλοξάνιο

- Σε διαβητικούς ασθενείς ή σε επίμυες (μετά από πρόκληση πειραματικού διαβήτη με στρεπτοζοτοκίνη) έχουν βρεθεί υψηλότερες των φυσιολογικών τιμές τελικών προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης όπως μηλονικής διαλδεϋδης, F₂-ισοπροστανίων, επίσης 2-υδροξυγουανωσίνης, και ενεργοποιημένος παράγοντας NF-kB (σε μονοκύτταρα του αίματος). Παρουσιάζεται επίσης ελάττωση των βιταμινών E και C, καθώς και της γλουταθειόνης.
- Κατά τον διαβήτη παρουσιάζεται αυξημένη λιπαιμία, που σημαίνει αυξημένη οξείδωση λιπιδίων, π.χ. β-οξείδωση λιπαρών οξέων στα υπεροξυσώματα, κατά την οποία παράγεται και H₂O₂.
- Χορήγηση με την τροφή υπεροξειδωμένων λιπών σε διαβητικούς επίμυες ακολουθείται από υψηλές τιμές αυτών στο αίμα, πράγμα που δεν παρατηρείται σε φυσιολογικούς επίμυες. Αυτό αποδεικνύει ότι οι διαβητικοί επίμυες έχουν στο εντερικό τους επιθήλιο εξαντλημένες τις αμυντικές αντιοξειδωτικές εφεδρείες.
- Διαβητικοί έγκυοι επίμυες γεννούν νεογνά με ελαττώματα, αν όμως τα πειραματόζωα αυτά είναι γενετικώς τροποποιημένα ώστε να συνθέτουν μεγάλες ποσότητες υπεροξειδικής δισμουτάσης, (που αδρανοποιεί O₂⁻) το ποσοστό των μη φυσιολογικών νεογνών ελαττώνεται. Ας εξετάσουμε πώς εξηγούνται χημικά οι επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη.

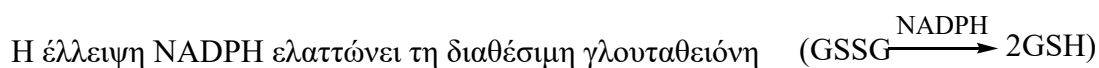
Κατά τον σακχαρώδη διαβήτη, οι υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης προκαλούν κορεσμό της εξοκινάσης, του κυρίως υπευθύνου ενζύμου για το μεταβολισμό της γλυκόζης. Η γλυκόζη λοιπόν εισρέει στα κύτταρα των ιστών που προαναφέρθηκαν π.χ. φακού, αγγείων, νεύρων, έτσι εκεί αυξάνεται η γλυκόζη. Τότε επιλαμβάνεται του μεταβολισμού της το ενζυμικό σύστημα των πολυολών, δηλαδή η αναγωγή της αλδόζης και η αφυδρογονάση της σορβιτόλης. Το πρώτο ένζυμο ανάγει τη γλυκόζη σε σορβιτόλη, και το δεύτερο οξειδώνει (με αφυδρογόνωση) τη σορβιτόλη προς φρουκτόζη:



Η δεύτερη μετατροπή είναι πολύ βραδύτερη της πρώτης, έτσι αυξάνεται πολύ η σορβιτόλη ενδοκυτταρικά, διότι αδυνατεί να διαβεί την κυτταρική μεμβράνη λόγω του πολύ ισχυρού πολικού χαρακτήρα της. Αυτό συντελεί σε οσμωτική είσοδο νερού στο κύτταρο, το οποίο με τον τρόπο αυτό διογκώνεται και βλάπτεται («οσμωτικό στρες»).

Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η επαγωγή του ενζυμικού αυτού συστήματος των πολυολών, δηλαδή ο οργανισμός, μέσω του αντιστοίχου mRNA, αρχίζει να εκφράζει ακόμη περισσότερο τις αντίστοιχες πρωτεΐνες, οπότε δημιουργείται φαύλος κύκλος.

Για να λάβει χώρα η αναγωγική δράση της αναγωγάσης της αλδόξης, το ένζυμο αυτό είναι συζευγμένο με NADPH. Έτσι, καθώς όλο και περισσότερη γλυκόζη ανάγεται προς σορβιτόλη, καταναλίσκεται όλο και περισσότερο NADPH και συσσωρεύεται NADP^+ ενδοκυτταρικά, γεγονότα που και αυτά οδηγούν σε οξειδωτικό στρες.



Εμφανίζονται ακόμη και άλλοι παράγοντες οι οποίοι έχουν άμεση ή έμμεση σχέση με οξειδωτικό στρες και προκαλούν κυτταρική βλάβη, όπως διαταραχή στην ομοιόσταση Ca^{++} μέσω της απελευθέρωση μυοϊνοσιτόλης, προβλήματα μετάδοσης μηνυμάτων μέσω δι- και τρι-φωσφορικής ινοσιτόλης, και επαγωγή της φωσφολιπάσης A_2 . Ακόμη, διαταραχή της φυσιολογικής σύνθεσης NO, το οποίο οξειδώνεται εύκολα προς τα πολύ τοξικά υπεροξυνιτρώδη, διότι τα υπεροξυνιτρώδη, σε όξινο περιβάλλον, δίνουν υπεροξυνιτρώδες οξύ, το οποίο διασπάται προς τοξικά προϊόντα:



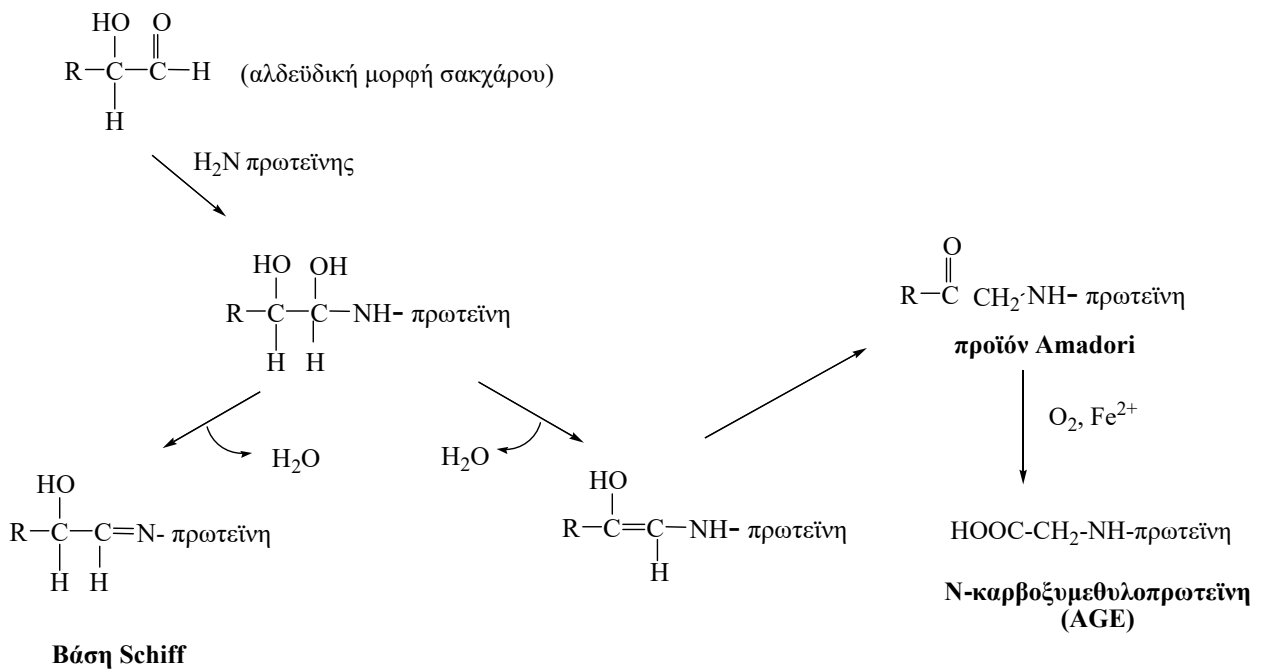
Αναφέρεται ότι τα αυξημένα ποσά της $\text{OCH-CH}_2\text{-CHO}$ (μηλονικής διαλδεϋδης) λόγω του οξειδωτικού στρες, καθώς και της CH_3COCHO (2-οξο-προπανάλης, ενδιάμεσου προϊόντος της γλυκόλυσης) είναι δυνατό να συνδέσουν διαμοριακώς πρωτεΐνες και πεπτίδια, με αντίδραση τύπου Schiff, αλλάζοντας έτσι τις ιδιότητές τους.

Η γλυκόζη, ως καρβονυλική ένωση, έχει την ικανότητα να αντιδρά εντός του οργανισμού με αμινο-ομάδες (DNA, φωσφολιπιδίων ή πρωτεϊνών) μη ενζυμικά, και να δίδει αρχικά ιμίνες (προϊόντα αντίδρασης Schiff) συνδέοντας το σάκχαρο με την πρωτεΐνη προς το μινοπαράγωγο.* Η αντίδραση αυτή, η «μη ενζυμική γλυκίδωση», περιγράφηκε πρώτα από τον L.C. Maillard και

* **Σημείωση:** Η σύνδεση αμινών (λευκωμάτων) με σάκχαρα εμφανίζεται κατά τη θέρμανση αυτών, π.χ. κατά το μαγείρεμα των τροφών. Η εμφάνιση καστανού χρώματος οφείλεται σε προϊόντα αντίδρασης Maillard, μερικά από τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερη γεύση και ευχάριστη οσμή, π.χ. κατά τη φρύξη («καβούρντισμα») του καφέ και του κακάο.

καλείται «φαίωση Maillard» (αλλοίωση προς καστανόχρωμα προϊόντα). Η αντίδραση αυτή είναι βραδεία στους 37° και αρχικά αντιστρεπτή. Δεν είναι πολύ σοβαρή για ιστούς που έχουν έντονη ανακύκλωση (δηλ. αναπλάσσονται γρήγορα), αλλά καθίσταται σοβαρή όταν η ανακύκλωση είναι βραδεία, π.χ. στο συνδετικό ιστό και στον κρύσταλλο του φακού του οφθαλμού. Η κατάσταση όμως αλλάζει εάν οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης είναι υψηλές, οπότε τροποποιούνται σε σημαντικό βαθμό πρωτεΐνες όπως αιμοσφαιρίνη, SOD, κερουλοπλασμίνη. Το προϊόν της σύνδεσης πρωτεΐνης με γλυκόζη αποτελεί το προϊόν Amadori.

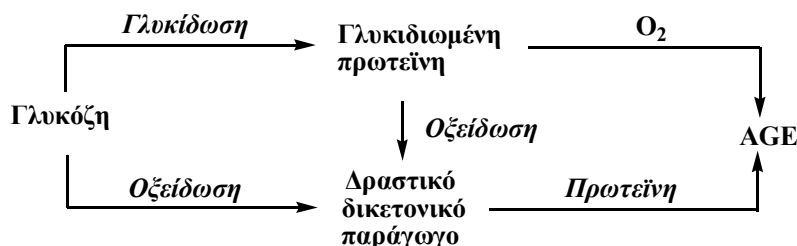
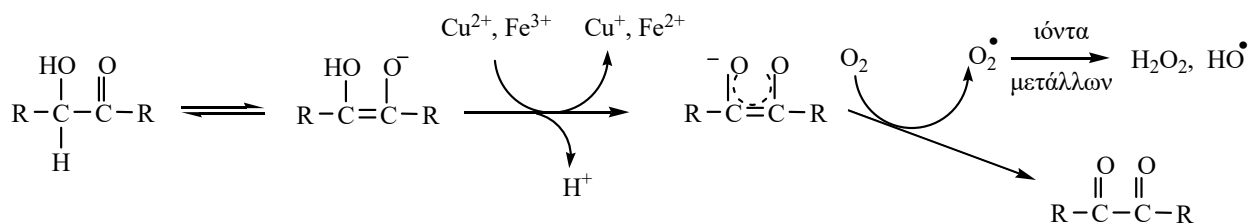
Τα προϊόντα γλυκίδωσης (Amadori) οξειδώνονται με την επίδραση δραστικών μορφών οξυγόνου προς τα καλούμενα «τελικά προϊόντα γλυκίδωσης» (AGE) και η αντίδραση γλυκόζης-πρωτεΐνης παύει πλέον να είναι αντιστρεπτή. Η αλλαγή αυτή χαρακτηρίζεται από καστανόχρωμη εμφάνιση, αυξημένο φθορισμό και εγκάρσιες διασυνδέσεις στην πρωτεΐνη. Η διαδικασία είναι μακρόχρονη και μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους ιστούς. Ελαττώνει την ελαστικότητα του κολλαγόνου σε όργανα όπως νεφροί και αγγεία, και τα AGE εμφανίζονται στην LDL-χοληστερόλη των διαβητικών, διευκολύνοντας περαιτέρω οξείδωση και εμφάνιση 4-υδροξυ-εννεάλης (τελικού προϊόντος λιπιδικής υπεροξειδωσης).



Αντιδράσεις μονοσακχαριτών με πρωτεΐνες. Πρόκειται για βραδείες αντιδράσεις, που καταλήγουν σε προϊόντα γλυκίδωσης.

Επί πλέον, υπάρχει και εναλλακτικός τρόπος σχηματισμού AGE: Πρώτα οξειδώνεται το σάκχαρο προς δικετονικά παράγωγα και ακολουθεί η σύνδεση με την πρωτεΐνη. Η οξείδωση

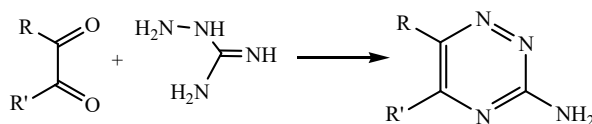
αυτή γίνεται εύκολα, διότι η γλυκόζη, παρουσία σιδήρου ή χαλκού, εύκολα δίνει ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου, υπεροξείδιο του υδρογόνου, ρίζες υδροξυλίου.



Συνδυασμός γλυκίδωσης και οξείδωσης γλυκόζης καταλήγει στο σχηματισμό AGE, που συμμετέχουν στη βλάβη ιστών κατά το σακχαρώδη διαβήτη

Τα AGE, δηλαδή αλλοιωμένες πρωτεΐνες, άχρηστες ή βλαβερές, αναγνωρίζονται από ειδικούς υποδοχείς των μακροφάγων, τους RAGE. Κατά τη διαδικασία αυτή αναπτύσσεται περαιτέρω οξειδωτικό στρες, εφ' όσον και δραστικές μορφές οξυγόνου ελευθερώνονται και η γλουταθειόνη καταναλίσκεται και ο NF-κB ενεργοποιείται λόγω της φαγοκυττάρωσης.

Η αμινογουανιδίνη [$\text{H}_2\text{N}-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$] δεσμεύει εύκολα τα δικαρβονυλικά παράγωγα που αναφέρθηκαν προηγουμένως, τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία AGE.



Η αμινογουανιδίνη ευρίσκεται σε κλινική δοκιμή για χρήση στον περιορισμό των επιπλοκών του σακχαρώδους διαβήτη. Επί πλέον, η παθοβιοχημεία των επιπλοκών του διαβήτη μπορεί να προσφέρει ιδέες για σχεδιασμό και σύνθεση αποτελεσματικότερων φαρμακομορίων για την κατάσταση αυτή. Ως παράδειγμα, σχεδιασμός ενώσεων που θα περιόριζαν τη βλάβη λόγω του οξειδωτικού στρες, μέσω αναστολής της αναγωγής της αλδόζης. Υπάρχουν σήμερα μερικά συνθετικά μόρια που φέρουν φαρμακοφόρο δομή για τη συγκεκριμένη δράση, καθώς και φυσικά προϊόντα με τη δράση αυτή. Η εμπλοκή του οξειδωτικού στρες στις επιπλοκές του σακχαρώδους διαβήτη επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το σχεδιασμό ενσωμάτωσης στο μόριο του αναστολέα της αναγωγής της αλδόζης ομάδας με πρόσθετη ιδιότητα, π.χ. ικανότητα σάρωσης ελευθέρων ριζών ή χηλικής σύνδεσης με σίδηρο ή χαλκό.

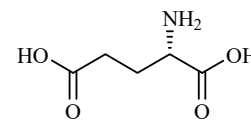
Νευρωνική εκφύλιση και οξειδωτικό στρες: Ο εγκέφαλος, ενώ αποτελεί μικρό ποσοστό (1,7%) του βάρους του ανθρωπίνου σώματος, καταναλίσκει το 20% του εισπνεομένου οξυγόνου. Δηλαδή, μια μικρή μάζα ιστού χρησιμοποιεί μεγάλο ποσό οξυγόνου. Άλλο χαρακτηριστικό του εγκεφάλου είναι ότι το ενδοθήλιο των αγγείων που αιματώνουν τον εγκέφαλο έχει τέτοια κατασκευή ώστε, ενώ αφήνει να το διαπεράσουν λίγα, ουσιώδη γι' αυτόν συστατικά (γλυκόζη, ασκορβικό οξύ), είναι αδιαπέραστο για πολλά, κυρίως πολικά σώματα. Αυτό αποτελεί τον καλούμενο αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Τα αγγεία στον εγκέφαλο έχουν σημαντικό, περισσότερο από άλλα αγγεία, ποσό μονοαμινοξειδάσης. Βέβαια, πολλές λιποδιαλυτές ενώσεις, όπως αιθανόλη, άλλοι οργανικοί διαλύτες και τα γενικά αναισθητικά, εισέρχονται στο ΚΝΣ εύκολα. Μεταξύ των πολλών συστατικών και ξеноβιοτικών που δεν εισέρχονται στον εγκέφαλο είναι τα φαγοκύτταρα της κυκλοφορίας.

Ο εγκέφαλος αποτελείται βασικά από δύο κατηγορίες κυττάρων: τους νευρώνες (περίπου 10^{12} κύτταρα), το σημαντικότερο και πλέον εξειδικευμένο είδος κυττάρων, και τη νευρογλοία, κύτταρα περίπου διπλάσια σε αριθμό των προηγούμενων, που έχουν σκοπό να υποστηρίξουν και να προστατεύουν τους νευρώνες. Περιλαμβάνουν τα κύτταρα της μικρογλοίας και τα αστροκύτταρα. Ακόμη, εδώ υπάγονται και τα ολιγοδενδροκύτταρα, τα οποία συνθέτουν τη μυελίνη του άξονα των νευρώνων. Κάθε νευρώνας αποτελείται από το κυτταρικό σώμα, τους δενδρίτες και τον άξονα, που καταλήγει στις νευρικές απολήξεις. Μέσω των τελευταίων σχηματίζεται ένα εξαιρετικά πολύπλοκο σύστημα διασύνδεσης των νευρώνων, που αριθμεί συνήθως δισεκατομμύρια συνδέσεων. Η διακίνηση θρεπτικών ουσιών, νευροτροφικών παραγόντων και νευρομεταβιβαστών γίνεται από το κέντρο προς την περιφέρεια, αλλά και αντιστρόφως. Διεγερτικοί παράγοντες ελαττώνουν το δυναμικό της μεμβράνης ενός κυττάρου-στόχου, και καθιστούν ευκολότερη την πυροδότηση αξονικής τάσης, ενώ οι κατασταλτικοί νευρομεταβιβαστές αυξάνουν το δυναμικό της μεμβράνης του κυτταρικού στόχου τους.

Η σύζευξη της οξειδωσης στην αναπνευστική αλυσίδα με τη φωσφορυλίωση του ADP αποτελεί την πηγή ενέργειας για τον εγκέφαλο. Για τη λειτουργία του απαιτούνται 4×10^{21} μόρια ATP/min. Χρησιμοποιεί σχεδόν αποκλειστικά, για την παραγωγή ενέργειας και λιγότερο για τη δομή του, γλυκόζη (από γλυκόλυση και κύκλο Krebs). Επομένως, ο εγκέφαλος είναι εξαιρετικά ευαίσθητος σε έλλειψη γλυκόζης και οξυγόνου. Η βασική λειτουργία του εγκεφάλου στηρίζεται αποκλειστικά σε διαδικασίες που απαιτούν ενέργεια, π.χ. διακίνηση Na^+ , Ca^{++} και νευρομεταβιβαστών.

Το γλουταμινικό οξύ είναι ο κύριος διεγερτικός μεταβιβαστής στις διεγερτικές συνάψεις του εγκεφάλου. Για να αρχίσει η διέγερση, το γλουταμινικό οξύ συνδέεται με τους υποδοχείς του.

Υπάρχουν τουλάχιστον τρία είδη ιονοφόρων υποδοχέων γλουταμινικού οξέος, οι NMDA, AMPA και KA, που διακρίνονται από τα μόρια που ειδικά τους ενεργοποιούν, δηλ. N-μεθυλο-D-ασπαρτικό οξύ, α-αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλ-4-ισοξαζολο-4-προπιονικό οξύ και καϊνικό οξύ, αντίστοιχα.



Γλουταμινικό οξύ

Σύνδεση με το υποδοχέα διανοίγει διαύλους Na^+ και Ca^{++} .

Άλλη κατηγορία υποδοχέων, οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς NMDA, είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες. Σε όλες τις διαδικασίες όλων των υποδοχέων έχουμε αύξηση των ενδοκυτταρικών ιόντων ασβεστίου.

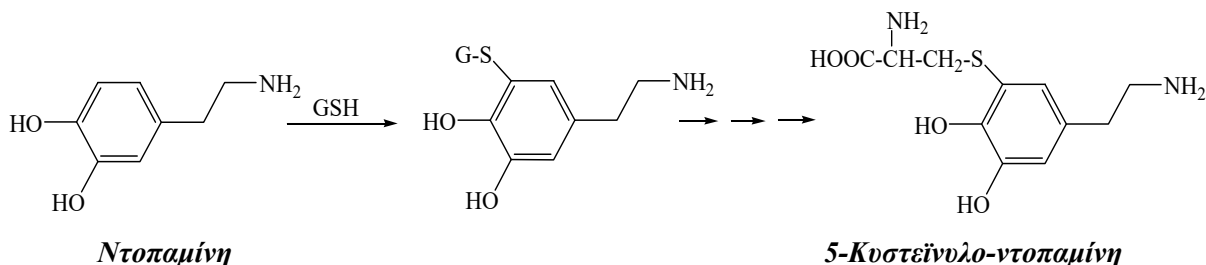
Το μονοξείδιο του αζώτου στα περιφερικά νεύρα λειτουργεί και ως νευρωνικός μεταβιβαστής. Μάλλον ανάλογα λειτουργεί και στον εγκέφαλο, αφού έχουν βρεθεί νευρώνες που περιέχουν τη νευρωνική ισομορφή της συνθετάσης του NO (nNOS). Πιθανόν διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα, δηλαδή στην ισχυροποίηση ή εξασθένηση των συναπτικών συνδέσεων αναλόγως της συχνότητας χρήσης τους. Τα ιόντα ασβεστίου συμβάλλουν στην ενεργοποίηση της NOS, αλλά και πολλών άλλων ενζύμων.

Η υπέρμετρη λειτουργία του γλουταμινεργικού συστήματος, δηλαδή η υπερβολική συχνότητα σύνδεσης αυτού με τους ποικίλους υποδοχείς του μέσω συνεχών πυροδοτήσεων, προκαλεί βλάβη στον εγκέφαλο, την καλούμενη διεγερσιμοτοξικότητα (excitotoxicity, τοξικότητα εκ διεγέρσεως), με αθρόα είσοδο Na^+ και Ca^{++} στους νευρώνες. Αυτό οφείλεται σε εξάντληση των αποθεμάτων ATP (πιθανόν και η κυτοτοξικότητα των αμινογλυκοζιτικών αντιβιοτικών να έχει την ίδια αιτία). Η υπερβολική ενδοκυτταρική παρουσία Ca^{++} είναι καταστροφική για το κύτταρο (διέγερση δράσης φωσφολιπάσης A_2 , NOS, ξανθοξειδάσης...). Η νευρωνική καταστροφή (λύση) ελευθερώνει και μεγάλο ποσό γλουταμινικού οξέος, αφού ενδοκυτταρικά το ποσό του γλουταμινικού οξέος είναι 1000 φορές μεγαλύτερο απ' όσο εξωκυτταρικά.

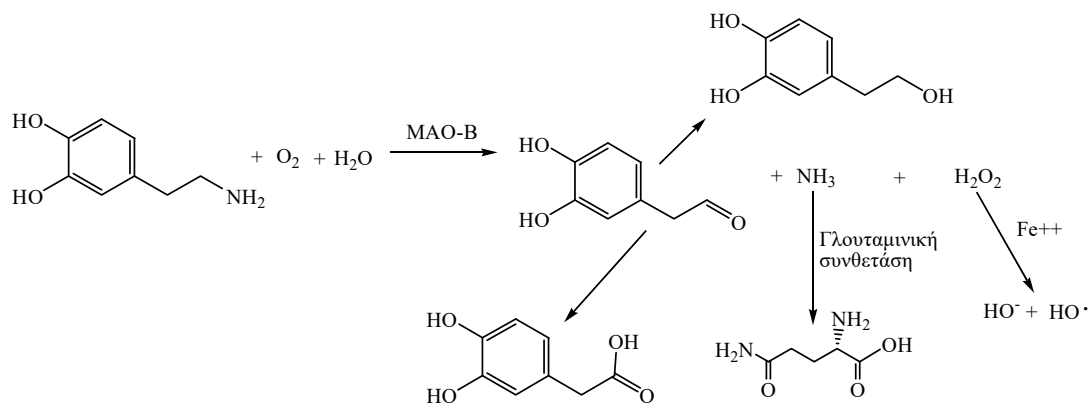
Ο εγκέφαλος είναι επιρρεπής στο οξειδωτικό στρες. Αυτό οφείλεται σε αρκετούς λόγους, οι σπουδαιότεροι από τους οποίους είναι:

- Η μεγάλη αναλογία καταναλισκόμενου οξυγόνου ανά μονάδα μάζας ιστού. Το μιτοχόνδριο παράγει O_2^- που, τουλάχιστον εμμέσως, με παραγωγή HO^\bullet , βλάπτει βάσεις DNA, με συνέπεια μεταλλάξεις.
- Η τοξικότητα εκ διεγέρσεως, λόγω της δράσης των διεγερτικών αμινοξέων, π.χ. γλουταμινικού οξέος.
- Μεγάλα ποσά διακίνησης Ca^{++} και εισόδου τους στους νευρώνες, αποδιοργάνωση μεταβολισμού ενέργειας.

- Πολλοί νευρομεταβιβαστές είναι αυτό-οξειδούμενα μόρια. Οι κατεχολαμίνες, παρουσία O_2 , O_2^- ή H_2O_2 , παράγουν δραστικές ημικινόνες, οι οποίες καταναλίσκουν γλουταθειόνη αλλά και δεσμεύουν γλουταθειόνη, δίνοντας προϊόν σύνδεσης, το οποίο, με τη δράση διπεπτιδασών, δίνει 5-κυστεΐνυλο-παράγωγα, π.χ. η ντοπαμίνη δίνει 5-κυστεΐνυλο-ντοπαμίνη:



- Σε όλο τον εγκέφαλο απαντούν σημαντικά ποσά σιδήρου, είτε υπό μορφή αίμης, είτε σε μόρια που περιέχουν σίδηρο όχι με τη μορφή αίμης, π.χ. φερριτίνη, τρανσφερίνη. Ο ρόλος του σιδήρου στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου έχει αναφερθεί. Ελεύθερος σίδηρος εμφανίζεται σε αυξημένα ποσά σε περίπτωση εγκεφαλικής αιμορραγίας. Η έξωθεν εισαγωγή σιδήρου στο ΚΝΣ πολλές φορές ακολουθείται από σπασμούς και νευρωνική καταστροφή. Η τρανσφερίνη είναι η ουσία που μεταφέρει σίδηρο στον εγκέφαλο διά μέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, χρησιμοποιώντας ειδικούς υποδοχείς των εγκεφαλικών μικροαγγείων.
- Η φύση των λιπιδίων στον εγκέφαλο. Οι βιολογικές μεμβράνες του εγκεφάλου είναι πολύ πλούσιες σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, εικοσι-πενταενοϊκό ($C_{20:5}$) και εικοσιδι-εξαενοϊκό ($C_{22:6}$) οξύ. Φυσικά, αυτά είναι πολύ ευαίσθητα σε λιπιδική υπεροξείδωση.
- Η παρουσία μονοαμινοξειδασών (MAO-A και MAO-B). Τα ένζυμα αυτά είναι φλαβοπρωτεΐνες συνδεδεμένες με την εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Καταλύουν την οξειδωτική απαμίνωση μονοαμινών, η MAO-A της σεροτονίνης, η MAO-B κυρίως των κατεχολαμινών (Σχήμα).
- Η αντιοξειδωτική άμυνα του εγκεφάλου είναι μέτρια. Υπάρχει καταλάση σε πολλές περιοχές αυτού, αλλά βρίσκεται εντοπισμένη στα λυσοσωμάτια, έτσι δεν απαντάται εκεί που εμφανίζεται H_2O_2 . Τόσο η SOD όσο και η MAO ευρίσκονται στα μιτοχόνδρια. Η βιταμίνη E δεν εισέρχεται ευχερώς στο ΚΝΣ, αυτό επιτυγχάνεται μόνο με σχετικά μεγάλες δόσεις χορηγούμενες επί μακρό χρονικό διάστημα.



Δράση της MAO-B επί της ντοπαμίνης και προϊόντα περαιτέρω βιομετατροπών

- Τα κύτταρα της μικρογλοίας είναι εντοπισμένα μακροφάγα, άρα παράγουν ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, και, ενεργοποιούμενα, παράγουν IL-1, IL-6 και TNF α . Ακολουθεί παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου. Σε ορισμένες λοιμώξεις, παράγεται και NO, το οποίο ίσως δρα αντιμικροβιακά.
- Τέλος, το κυτόχρωμα P450 υπάρχει σε μερικές περιοχές του εγκεφάλου, και μάλιστα, σε σχετικά μεγάλες ποσότητες, υπάρχει το CYP2E1, που επάγεται από αιθανόλη και κετονικά σώματα. Η isoμορφή αυτή είναι γνωστός μεταφορέας ηλεκτρονίων και μπορεί να παράγει δραστικές μορφές οξυγόνου. Η νευροτοξική δράση της αιθανόλης, αλλά και διαλυτών όπως τετραχλωράνθρακα και χλωροφορμίου πιθανώς οφείλεται μερικώς και στο μηχανισμό αυτό. Επομένως, λόγω αυτών, το οξειδωτικό στρες στον εγκέφαλο έχει ως συνέπειες:
 - ❖ Αύξηση λιπιδικής υπεροξειδωσης. Διατάραξη ακεραιότητας και λειτουργικότητας βιολογικών μεμβρανών, επί πλέον, η 9-υδροξυ-εννεάλη είναι νευροτοξική και τα F₂-ισοπροστανοειδή συσπών τα εγκεφαλικά αρτηριόλια.
 - ❖ Οξειδωτική βλάβη πρωτεϊνών. Οξειδωμένες πρωτεΐνες, εγκαρσίως συνδεδεμένες, αλλοιωμένες πρωτεΐνες.
 - ❖ Οξειδωτική βλάβη DNA. 6-Υδροξυλιωμένα παράγωγα των πουρινικών βάσεων, θραύση κλώνου, πιθανώς σοβαρή ελάττωση NAD⁺.
 - ❖ Επαγωγή απόπτωσης, πρόκληση νέκρωσης.
 - ❖ Δημιουργία τοξικών ONOO⁻ από αντίδραση NO με ρίζα ανιόντος υπεροξειδίου.
 - ❖ Έμμεση επαγωγή φωσφορυλίωσης με αποτέλεσμα τροποποίηση στη δομή και λειτουργία κυτοσκελετικών πρωτεϊνών.

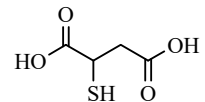
Πάντως, ήπιο έως μέτριο οξειδωτικό στρες είναι δυνατό να προκαλέσει αύξηση της σύνθεσης γλουταθειόνης και NGF.

Άμυνα του εγκεφάλου έναντι οξειδωτικού στρες: Επιτυγχάνεται κατ' αρχήν με την ειδική ανατομική κατασκευή του ενδοθηλίου των αγγείων που αιματώνουν τον εγκέφαλο. Έτσι, αφ' ενός δεν φθάνουν στον εγκέφαλο ήδη έτοιμες δραστικές μορφές οξυγόνου ή κάποια ξενοβιοτικά που μπορούν να δράσουν ως επαγωγείς της δημιουργίας τους. Έχει βρεθεί ότι το ενδοθήλιο των αγγείων αυτών είναι και άμεσος φραγμός σε οξειδωτικό στρες, διότι είναι πλούσιο σε γλουταθειόνη, υπεροξειδάση και αναγωγή της γλουταθειόνης και σε καταλάση. Το ενδοθήλιο είναι πλουσιότερο στους παραπάνω παράγοντες από το ίδιο το όργανο που προστατεύουν, τον εγκέφαλο.

Εφ' όσον οι δραστικές μορφές οξυγόνου παράγονται από το μοριακό οξυγόνο, αυτό δεν θα πρέπει να υπάρχει σε περίσσεια, σε συγκεντρώσεις δηλαδή μεγαλύτερες από αυτές που απαιτούν οι ανάγκες του εγκεφάλου. Πρέπει να διατηρείται η βέλτιστη συγκέντρωση, η οποία ούτε θα οδηγεί σε μερική αναγωγή του οξυγόνου, αλλά ούτε θα προκαλεί ανοξία.

Πολλές περιοχές του εγκεφάλου περιέχουν αποτελεσματικές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως SOD, υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, καταλάσης, αλλά και γλουταθειόνης.

Εγκέφαλος πειραματοζώων με μικρότερες των φυσιολογικών ποσότητες των παραγόντων αυτών, π.χ. της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, που προκαλείται με τη χορήγηση του αναστολέα αυτής μερκαπτοηλεκτρικού οξέος, εύκολα υφίσταται νευρωνικό θάνατο.



Μερκαπτοηλεκτρικό οξύ

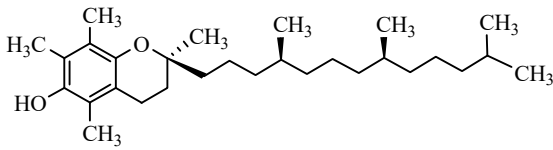
Η γλουταθειόνη και ο πρόδρομος αυτής, η κυστεΐνη, προστατεύουν αποτελεσματικά τον εγκέφαλο από οξειδωτική βλάβη. Η κυστεΐνη, πάντως, ίσως προκαλεί και μικρή βλάβη, διότι δίνειθειλικές ρίζες αλλά και διότι παρουσιάζει μικρή τάση πρόκλησης διεγερσιμοτοξικότητας.

Το ασκορβικό οξύ, καθώς και το δεϋδροασκορβικό οξύ συγκεντρώνονται στον εγκέφαλο πολύ αποτελεσματικά, στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό υπάρχει ασκορβικό οξύ σε συγκεντρώσεις πολύ ανώτερες αυτών του αίματος, στους νευρώνες και στη γλοία σε ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες. Φαίνεται πως υπάρχει ενεργός μηχανισμός μεταφοράς του. Το ασκορβικό οξύ, απουσία ιόντων μεταβατικών μετάλλων (Cu, Fe), είναι πολύ αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό, απαραίτητο για την αναγωγή της ρίζας της τοκοφερόλης, ώστε η βιταμίνη E να αναγεννηθεί και να επανεισαχθεί στον κύκλο της αντιοξειδωτικής της δράσης.

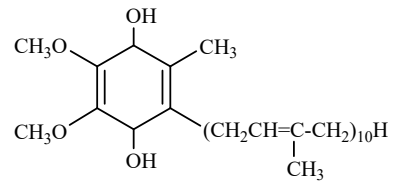
Πάντως, με παρουσία των παραπάνω ιόντων μετάλλων, το ασκορβικό οξύ επάγει λιπιδική υπεροξειδωση και μπορεί να καταστεί επικίνδυνο.

Η α-τοκοφερόλη και η ουβικινόλη είναι πολύ αποτελεσματικές στην προστασία από οξειδωτικό στρες. Πάντως, η είσοδος της βιταμίνης E στο ΚΝΣ είναι βραδεία και χρειάζονται μερικές εβδομάδες χορήγησης για να επιτευχθούν ικανές συγκεντρώσεις στον εγκέφαλο. Αλλά,

ακόμη δυσκολότερο είναι να προκληθεί, με ειδική διατροφή σε πειραματόζωα, σοβαρή απώλεια αυτής από το ΚΝΣ.



Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)



Ουβικινόλη

Σύνδεση του σιδήρου στον εγκέφαλο: Ο εγκέφαλος έχει αρκετό σίδηρο που είναι ενωμένος ως αιμοσφαιρίνη, αλλά και ως κερουλοπλασμίνη και μεταλλοθειονεΐνη. Στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ο ελευθερούμενος από την αιμοσφαιρίνη σίδηρος δεσμεύεται από τη απτογλοβίνη. Ικανά ποσά κερουλοπλασμίνης, μεταλλοθειονεΐνης και απτογλοβίνης φαίνεται ότι προστατεύουν τον νευρώνα από οξειδωτική βλάβη.

Γεροντική άνοια – Νόσος Alzheimer: Κατά τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, γεροντική άνοια – Νόσος Alzheimer ορίζεται ως επίκτητη, γενικευμένη βλάβη των ανωτέρων γνωσιακών λειτουργιών, περιλαμβανομένων της μνήμης, της ικανότητας αντιμετώπισης καθημερινών προβλημάτων της ζωής, της εκτέλεσης των κοινωνικών λειτουργιών, της γλωσσικής επικοινωνίας, του ελέγχου συγκινησιακών αντιδράσεων, χωρίς σημαντική ελάττωση της συνείδησης.

Σήμερα γίνεται εντατική έρευνα για τη νόσο αυτή και για την ανακάλυψη αποτελεσματικών φαρμάκων, για πολλούς λόγους:

- Τον πολύ μεγάλο αριθμό πασχόντων, κυρίως στις ανεπτυγμένες κοινωνίες, λόγω αύξησης της διάρκειας ζωής εκεί. Η επίπτωση της νόσου έχει ταχύτατη εξέλιξη.
- Με την πάροδο του χρόνου το ποσοστό των πασχόντων αυξάνεται. Στην ηλικία των 65 ετών, το 5% των ατόμων υποφέρουν από τη νόσο, κάθε 5 έτη μετά το εξηκοστό έτος της ηλικίας το ποσοστό διπλασιάζεται.
- Διότι η νόσος αυτή είναι η τρίτη αιτία θανάτου στις κοινωνίες αυτές.
- Επομένως, καθίσταται σοβαρό κοινωνικό και οικονομικό πρόβλημα.
- Τέλος, διότι η αντιμετώπιση της νόσου αποτελεί μια σπουδαία φαρμακοχημική πρόκληση.

Σπανίως η νόσος του Alzheimer εμφανίζεται στην 4^η ή 5^η δεκαετία της ζωής. Αυτή είναι η τυπική νόσος του Alzheimer. Όταν η νόσος εμφανίζεται μετά το 65^ο έτος, αποτελεί τη γεροντική άνοια. Νόσος του Alzheimer και γεροντική άνοια είναι σχεδόν ταυτόσημες παθολογικές καταστάσεις. Μετά τη σαφή διάγνωση της νόσου, προς το παρόν, το άτομο ζει ακόμη 8-10 έτη μόνο.

Παρατηρούνται τρεις φάσεις της νόσου, χωρίς σαφή διάκριση μεταξύ τους:

Αρχική φάση: Δεν παρατηρείται γνωσιακή έκπτωση. Το νοητικό έλλειμμα εξισορροπείται. Εμφανίζεται άγχος, ελαφρά κατάθλιψη και αίσθημα απογοήτευσης, αϋπνία, αλλαγή προσωπικότητας.

Ενδιάμεση φάση: Η γνωσιακή έκπτωση δεν μπορεί να εξισορροπηθεί, εμφανίζεται υποχώρηση της μνήμης, αρχικά της πρόσφατης, αργότερα της παλαιότερης, διαταράσσονται η ικανότητα κρίσης και η κοινωνική ζωή.

Υστερη φάση: Ανάπτυξη παρανοϊκών ιδεών, μη αναγνώριση των οικείων προσώπων, αδυναμία εκτέλεσης απλών δραστηριοτήτων, ελάττωση βάρους, ακράτεια. Τελικά επέρχεται θάνατος μετά την πάροδο το πολύ 10 ετών.

Παθοβιοχημεία της Νόσου Alzheimer: Τα πρώτα δύο παθολογο-ανατομικά ευρήματα, που ανακαλύφθηκαν από τον Alois Alzheimer, ήταν οι νευροϊνώδεις κόμβοι (NFT) και οι πλάκες άνοιας, ή αμυλοειδείς πλάκες (AP).

Νευροϊνώδεις κόμβοι είναι ενδονευρωνικοί σχηματισμοί, αποτελούμενοι κυρίως από πολυφωσφορυλιωμένη τ-πρωτεΐνη. Τα ινίδια αυτά είναι ανά ζεύγη ελικοειδώς περιεστραμμένα (PHF: paired helical filaments). Σύσσωματάματα αυτών αποτελούν τους νευροϊνώδεις κόμβους. Έχουν μεγάλη χημική σταθερότητα. Έτσι, διακόπτουν την ενδονευρωνική μεταφορά υλικών και τον κυτοσκελετικό μεταβολισμό. Μερικές φορές οι πρωτεΐνες αυτές εμπεριέχουν και τελικά προϊόντα γλυκίδωσης (AGE).

Έχει δειχθεί ότι η βαθμιαία άθροιση νευροϊνωδών κόμβων, καθώς και άλλες δομικές αλλαγές στους νευρώνες και στις προεκτάσεις τους συντελούν σε σταδιακή αποσύνδεση των νευρωνικών κυκλωμάτων τα οποία εξυπηρετούν τη μνήμη και την σκέψη. Με την πάροδο των ετών, το μαιχμακό σύστημα, που είναι ζωτικής σημασίας για την οργάνωση των νοητικών διαδικασιών, εμφανίζεται όλο και περισσότερο να χάνει την επαφή του με άλλες νευρωνικές περιοχές. Αυτή η αποσύνδεση συντελεί στην εξασθένηση και στην τελική καταστροφή διαδικασιών όπως μνήμης, κρίσης, αφηρημένης σκέψης και λόγου. Επειδή οι κινητικές και αισθητικές λειτουργίες διαφεύγουν της βλάβης μέχρι το τελικό στάδιο της νόσου, οι υπόλοιπες αλλαγές δημιουργούν την τραγική εικόνα του ατόμου που βαδίζει, τρώει, αλλά δεν αντιλαμβάνεται τον κόσμο.

Πλάκες άνοιας, ή αμυλοειδείς πλάκες είναι εξωκυτταρικοί σχηματισμοί, σφαιρικοί ή ωοειδείς, διαμέτρου περίπου 2 nm. Απαντούν κυρίως στον ιππόκαμπο, στην αμυγδαλή και στον μετωπιαίο φλοιό. Ευρίσκονται πλησίον κατεστραμμένων ή εξοιδημένων αξόνων και πάντα υπάρχουν κοντά κύτταρα μικρογλοίας. Περιέχουν πυρήνα από πεπτίδια (Aβ₁₋₄₂) κυρίως εκ 42 αμινοξέων. Ο πυρήνας αυτός περιβάλλεται από θραύσματα – ράκη κατεστραμμένων νευριτών, αξονικών απολήξεων καθώς και μικρογλοίας. Συχνά υπάρχουν στον πυρήνα μικρές ποσότητες μετάλλων και άλλων στοιχείων, όπως Al, Zn και Si. Η αμυλοειδής πρωτεΐνη προέρχεται από μια πρόδρομη,

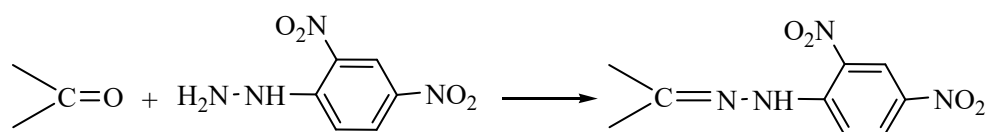
διαμεμβρανική πρωτεΐνη, την APP (amyloid pre-protein), της οποίας το καρβοξυ-τελικό άκρο ευρίσκεται ενδο- και το αμινο-τελικό άκρο εξω-κυτταρικά. Σχετικά με τη λειτουργία της APP, δεν μπορεί κανείς να πει πολλά, διότι λίγα στοιχεία είναι γνωστά. Λειτουργεί ως υποδοχέας κάποιου αγνώστου ακόμη ligand. Αναφέρεται ότι δρα προστατευτικά και συμβάλλει στη διατήρηση των νευρώνων. Διάφορες μορφές APP αποτελούνται από 563-770 αμινοξέα, η APP με 695 αμινοξέα ευρίσκεται σε μεγαλύτερα ποσά κυρίως στους νευρώνες (APP απαντάται και σε άλλα κύτταρα). Πεπτίδιο Αβ σχηματίζεται με τη δράση τριών ενζύμων, των εκκριτασών α, β και γ. Η γ-εκκριτάση είναι ενδομεμβρανικό ένζυμο και διασπά την APP εντός της κυτταρικής μεμβράνης. Η α- και η β-εκκριτάση κολοβώνουν την APP εξωκυτταρικά. Με τη συνδυασμένη δράση α- και γ-εκκριτάσης λαμβάνεται το Αβ₄₀, με αυτή της β- και γ-εκκριτάσης λαμβάνεται το Αβ₄₂ (πεπτίδια με 40 και 42 αμινοξέα, αντιστοίχως). Το τελευταίο αυτό πεπτίδιο είναι το επικίνδυνο, το οποίο συσσωματούμενο θα δώσει τις καταστροφικές για τους νευρώνες αμυλοειδείς πλάκες. Για να κατακρημνισθεί το πεπτίδιο Αβ θα πρέπει να δημιουργηθούν συσσωματώματα αυτού, αλλά ο ακριβής μηχανισμός της διαδικασίας αυτής δεν είναι γνωστός με λεπτομέρειες. Πάντως, από πειράματα in vitro συμπεραίνεται ότι εμφανίζονται ρίζες πεπτιδίων και αρχίζει διαδικασία σύνδεσης πολλών τέτοιων ριζών, ώστε τελικά να σχηματίζεται το κατακρημνιζόμενο συσσωμάτωμα. Ακόμη, το Αβ ή η ρίζα που προκύπτει απ' αυτό, προσβάλλουν την κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων, προκαλώντας καταστροφική ανοσολογική απόκριση. Επίσης, η ρίζα Αβ δεν αποκλείεται να προκαλεί ενεργοποίηση του οξυγόνου. Ενεργοποιούνται τα κύτταρα της μικρογλοίας, που αρχίζουν διαδικασία φαγοκυττάρωσης των αμυλοειδών πλακών, γεγονός που συνεπάγεται σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ριζών ανιόντος υπεροξειδίου και υδροξυλίου, υπεροξειδίου του υδρογόνου). Πλέον, έχει αρχίσει το οξειδωτικό στρες. Σχετικά με το βλαπτικό μηχανισμό των αμυλοειδών πλακών, αρχικά επιστεύετο ότι ήταν η παρεμπόδιση διακίνησης ύδατος και των διαλυμένων σ' αυτό θρεπτικών συστατικών. Σήμερα θεωρείται ότι άλλοι μηχανισμοί, όπως το οξειδωτικό στρες και κυρίως οι ανοσολογικές αποκρίσεις στο Αβ₄₂ είναι πολύ σημαντικότερες αιτίες της νευρωνικής βλάβης. Σημειώνεται όμως ότι και σε άλλες σοβαρές νόσους, όχι αναγκαστικά του ΚΝΣ, όπως σε φυματίωση, πολλαπλό μυέλωμα, ρευματοειδή αρθρίτιδα, αλλά κυρίως στη σπάνια νόσο του οικογενούς μεσογειακού πυρετού (κυρίως σε Εβραίους και Αρμενίους), εμφανίζονται αμυλοειδείς πλάκες σε άλλα όργανα ή σημεία του σώματος, όπως έντερο και τοιχώματα αγγείων.

Η σκέψη, η κρίση, η μνήμη, όπως και άλλες λειτουργίες του ΚΝΣ βασίζονται στον τέλειο και πλήρη συντονισμό της βιοχημικής, και εξ αυτής, της ηλεκτρικής λειτουργίας του εγκεφάλου, η οποία επιτυγχάνεται με τον συντονισμό στην ελευθέρωση νευρομεταβιβαστών στην κατάλληλη νευρωνική σύναψη, στην ακόλουθη επαναπρόσληψη ή με άλλο τρόπο απομάκρυνση αυτών,

καθώς και στη διακίνηση ιόντων (Ca^{++} , Na^+ , K^+ , Cl^-). Έτσι, φθάνουμε στο ζήτημα των νευρομεταβιβαστών στη νόσο του Alzheimer. Σχεδόν όλοι παίζουν το ρόλο τους: Ελάττωση της αδρεναλίνης στον ιππόκαμπο (η νοραδρεναλίνη διευκολύνει τη συνειρμική σκέψη), ανωμαλίες στο σεροτονινεργικό σύστημα, ενώ δεν έχουν ανιχνευθεί αλλαγές στο GABA του εγκεφάλου, παρ' όλο που παρατηρείται ελαττωμένη αποκαρβοξυλίωση του γλουταμινικού οξέος. Ο ρόλος των διεγερτικών αμινοξέων, που έχουν ανιχνευθεί σε μεγάλες ποσότητες σε περιοχές μεγάλης σημασίας για τη σκέψη και τη μνήμη (ιππόκαμπος, νεοφλοιός), φαίνεται ότι είναι σημαντικός. Νευροπεπτίδια όπως εγκεφαλίνες και ενδορφίνες, σαφώς παίζουν σπουδαίο ρόλο. Αυτό μπορεί να δειχθεί μετά από εξέταση της δράσης της ναλοξόνης. Ευνοϊκό ρόλο στο ζήτημα των ανωτέρων λειτουργιών του εγκεφάλου διαδραματίζουν η ουσία P και η σωματοστατίνη. Διάφορα πεπτίδια παρουσιάζουν νευροτροφική προστατευτική δράση, όπως ο παράγοντας ανάπτυξης νευρώνων (NGF). Συντίθενται κυρίως από τη νευρογλοία και τα αστροκύτταρα, και έχουν σκοπό την προστασία και την ανάπτυξη των νευρώνων, εντός των οποίων εισέρχονται. Οι παράγοντες αυτοί ελαττώνονται με την πρόοδο της ηλικίας κατά τη νόσο Alzheimer.

Πάντως, χωρίς αμφιβολία, το σημαντικότερο ρόλο στη νόσο Alzheimer έχει η ακετυλοχολίνη (ACh), και η σημαντικότερη αλλαγή παρατηρείται στην χολινεργική νευρομεταβίβαση. Επέρχεται σοβαρή ελάττωση της δράσης της, και η μείωση του ενζύμου ακετυλοτρανσφεράση της χολίνης μπορεί να φθάσει το 70%. Η ελάττωση της ACh μπορεί να είναι και 90%. Επιβεβαίωση της διαπίστωσης αυτής είναι ότι αντιχολινεργικές ενώσεις, όπως η σκοπολαμίνη, εμποδίζουν παροδικά τη νοητική λειτουργία και επιδεινώνουν τη σύγχυση που εμφανίζεται στους ανοϊκούς, ενώ η κατάσταση βελτιώνεται παροδικά με φυσοστιγμίνη, μέσω της αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης. Το χολινεργικό σύστημα είναι αυτό που κυρίως εκφυλίζεται κατά τη νόσο Alzheimer, και είναι δυνατό ακόμη και το 90% των χολινεργικών νευρώνων να εξαφανισθεί στις βαρείες περιπτώσεις νόσου Alzheimer.

Προϊόντα οξείδωσης στον εγκέφαλο ατόμων που υποφέρουν από νόσο Alzheimer ευρίσκονται σταθερά και πολύ αυξημένα. Οξειδώνονται *πρωτεΐνες και πεπτίδια*. Πολλά αμινοξέα μπορούν να οξειδωθούν εύκολα, με τελικό αποτέλεσμα εμφάνιση καρβονυλικών ομάδων στις πρωτεΐνες, που είναι δυνατό να ταυτοποιηθούν, με αντίδραση με την 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη, προς έγχρωμα παράγωγα υδραζόνης, που προσδιορίζονται χρωματομετρικά:



Οι πρωτεΐνες μπορεί να είναι λειτουργικές ή σκελετικές, οι οξειδωμένη πρωτεΐνη έχει τροποποιημένες φυσικοχημικές ιδιότητες, με ελάττωση ή απώλεια της δράσης της.

Λίπη υφίστανται λιπιδική υπεροξειδωση, με δημιουργία αλκυλοϋπεροξειδίων, μηλονικής διαλδεϋδης και υδροξυεννεάλης, μεταξύ των πολλών κυτταροτοξικών παραγόντων. Οξειδωση των πουρινικών βάσεων του DNA, καθώς και της πεντόζης, θραύση του DNA, όχι πάντα επιτυχής επιδιόρθωση αυτού, επίσης παρατηρούνται. Το μιτοχονδριακό DNA είναι πιο ευαίσθητο σε οξειδωση από αυτό του πυρήνα. *Σάκχαρα* επίσης οξειδώνονται, εμφανίζοντας προϊόντα γλυκίδωσης. Αναγωγικοί – αντιοξειδωτικοί παράγοντες εμφανίζονται ελαττωμένοι, όπως γλουταθειόνη, SOD και άλλα αντιοξειδωτικά ένζυμα, π.χ. καταλάση. Ατυχώς, και περιέργως, εμφανίζεται αυξημένη η MAO-B, η οποία, με τη δράση επί των μονοαμινών, συντελεί στη δημιουργία υπεροξειδίου του υδρογόνου και αμμωνίας, παραγόντων βλαπτικών, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

Ο εγκέφαλος ατόμων με νόσο Alzheimer ευρίσκεται σε κατάσταση *φλεγμονής*. Πολλά από τα κύτταρα της μικρογλοίας είναι ενεργοποιημένα, παράγοντες φλεγμονής απαντούν σε μεγάλες συγκεντρώσεις, όπως IL-1, TNF-α, και δραστηριοποιούνται ένζυμα όπως κυκλοξυγονάση και λιποξυγονάση.

Κυτταρικός θάνατος στη Νόσο του Alzheimer: Λαμβάνει χώρα *απόπτωση* (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) όταν η κυτταρική βλάβη είναι αρκετή ώστε ο νευρώνας να μη μπορεί να λειτουργήσει φυσιολογικά, αλλά του απομένει ακόμη ενέργεια για να βάλει σε δράση το μηχανισμό απόπτωσης. Η απόπτωση απαιτεί ενέργεια, ο θάνατος αυτός προστατεύει τα γειτονικά προς το νευρώνα κύτταρα, και η όλη διαδικασία συμβαίνει για να μη επέλθει χειρότερη κατάσταση στον εγκέφαλο, όπως κάποια ψυχική νόσος ή καρκίνος. Αν όμως η βλάβη του νευρώνα είναι πολύ μεγάλη και δεν είναι δυνατόν να λάβει χώρα απόπτωση σύντομα, το κύτταρο διογκώνεται και ακολούθως λύεται, ελευθερώνοντας στο κυτταρικό περιβάλλον πρωτεολυτικά και οξειδωτικά ένζυμα και επέρχεται βλάβη πολύ μεγαλύτερων περιοχών του εγκεφάλου. Στη νόσο του Alzheimer συνήθως συμβαίνει απόπτωση, η οποία όμως συχνά δεν καταφέρνει να ολοκληρωθεί (“*abortosis*”). Η εξαφάνιση του νευρώνα τώρα πια είναι βέβαιη, ενώ αμφίβολο είναι αν θα διασωθούν, έστω και με περιορισμένη βλάβη, οι γειτονικοί νευρώνες.

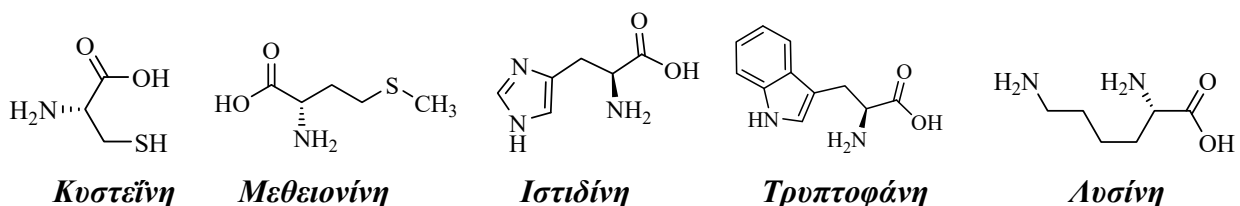
Κυτταρική βλάβη στη Νόσο του Alzheimer: Δεν υπάρχει πια αμφιβολία ότι η δημιουργία και παρουσία αμυλοειδών πλακών προκαλεί μεγάλη σειρά διαδικασιών οι οποίες αλληλοεπηρεάζονται και δημιουργούν πολλούς φαύλους κύκλους. Η παρουσία των πλακών προκαλεί οξειδωτικό στρες, μέσω πολλών μηχανισμών, προκαλεί όμως και φλεγμονή, και η φλεγμονή προκαλεί οξειδωτικό στρες. Χωρίς να είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός, το πεπτίδιο Αβ δίνει πεπτιδικές ρίζες, οι οποίες είτε συσσωματώνονται και κατακρημνίζονται προς σχηματισμό πλακών, είτε αντιδρούν ανοσολογικά με τις κυτταρικές μεμβράνες των νευρώνων. Και οι δύο αυτές διαδικασίες παρεμποδίζονται σημαντικά με τη χρήση σαρωτών ελευθέρων

ριζών. Η παρουσία των πλακών προσελκύει κύτταρα μικρογλοίας, τα οποία ενεργοποιούνται, έτσι και στη φάση αυτή εγκαθίσταται οξειδωτικό στρες και εμφανίζονται δραστικές μορφές οξυγόνου. Στόχοι των τελευταίων είναι φωσφολιπίδια βιομεμβρανών: έναρξη λιπιδικής υπεροξειδωσης με απόσπαση αλλυλικού υδρογόνου από αυτά, εμφάνιση ριζών λιποϋπεροξειδίων, οξειδίων λιπιδίων και λιπιδίων, μηλονικής διαλδεϋδης και υδροξυεννεάλης. Η μεμβράνη βλάπτεται, και, αν δεν διορθωθεί σύντομα, χάνεται η φυσιολογική λειτουργικότητά της. Τότε, εισέρχονται στο κύτταρο ιόντα ασβεστίου, όπως συμβαίνει και στην υπερλειτουργία κατά τη δράση των διεγερτικών αμινοξέων λόγω της ελάττωσης της ενέργειας του κυττάρου (δηλ. του ATP, το οποίο έχει καταναλωθεί με τις συνεχείς πυροδοτήσεις). Η αθρόα είσοδος Ca^{2+} στο κύτταρο είναι καταστροφική, διότι διεγείρονται ένζυμα όπως η φωσφολιπάση A_2 αλλά και πρωτεάσες και φωσφοκινάσες.

Από θεωρητικές μελέτες έχουν συναχθεί τα ακόλουθα σχετικά με τη λιπιδική υπεροξειδωση στο κύτταρο:

- Η συγκέντρωση των λιπιδίων στην περιοχή της μεμβράνης προάγει τη διάδοση των αλυσιδωτών αντιδράσεων.
- Με την απουσία αντιοξειδωτικών, όταν υπάρχει οξειδωτικό στρες, οι υπολογιζόμενες συγκεντρώσεις λιποϋπεροξειδίων (LOOH) αυξάνονται γραμμικά με ταχύτητα 40 $\mu M/min$.
- Η λιπιδική υπεροξειδωση εξαρτάται αποφασιστικά από τις συγκεντρώσεις οξυγόνου, και η εξάρτηση υπολογίζεται ότι είναι παρόμοια με την ευρισκόμενη πειραματικά.
- Η λιπιδική υπεροξειδωση ελαττώνεται γρήγορα με την παρουσία α -τοκοφερόλης και άλλων αντιοξειδωτικών, όπως SOD ή καταλάσης.
- Μικρά μόνο ποσά (1-50 μM) ελευθέρων $Fe^{++(+)}$ αρκούν για να εκκινήσουν λιπιδική υπεροξειδωση.
- Σημαντικής έκτασης λιπιδική υπεροξειδωση συμβαίνει μόνον όταν οι κυτταρικοί αμυντικοί μηχανισμοί έχουν εξασθενήσει ή εξαντληθεί, ή όταν το οξειδωτικό στρες είναι πολύ μεγάλο για να το αντιμετωπίσουν.

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου οξειδώνουν εύκολα διάφορα αμινοξέα, ελεύθερα ή ενωμένα σε πρωτεΐνες. Οξειδούμενα αμινοξέα είναι: κυστεΐνη, μεθειονίνη, ιστιδίνη, τρυπτοφάνη και λυσίνη.



Μηλονική διαλδεΰδη και υδροξυεννεάλη αντιδρούν με την ελεύθερη αμινομάδα της λυσίνης, προκαλώντας δια- ή ενδο-μοριακές διασυνδέσεις αλυσσίδων πεπτιδίων. Η σύνδεση της αμινομάδας της λυσίνης με καρβονυλική ένωση έχει αναφερθεί προηγουμένως, όπως αναφέρθηκε και ότι παρουσία ιόντων χαλκού ή σιδήρου προκαλούν οξείδωση των πρωτεϊνών με εμφάνιση καρβονυλικών ομάδων σ' αυτές. Επίσης, τόσο στους νευροϊνώδεις κόμβους όσο και στις αμυλοειδείς πλάκες έχουν ανιχνευθεί AGE.

Κατά το οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται στη νόσο Alzheimer, κυρίως λόγω της δράσης ριζών υδροξυλίου, επέρχεται οξείδωση DNA, τόσο στις βάσεις (γουανίνη, θυμίνη) όσο και στην πεντόζη. Εάν η βλάβη του DNA είναι περιορισμένη, μπορεί να διορθωθεί, εάν όχι, οι συνέπειες είναι σοβαρές.

Άλλες δραστηριότητες του εγκεφάλου που μπορεί να συντελούν σε οξειδωτικό στρες και άνοια, περιλαμβάνουν τη δράση του κυτοχρώματος P450, και από τα ισοένζυμα αυτού κυρίως του CYP2E1. Στα μιτοχόνδρια λαμβάνουν χώρα εντατικές διαδικασίες προς παραγωγή ενέργειας, με τη συμμετοχή μιτοχονδριακών ενζύμων που περιέχουν NADH ή FADH₂. Κατά τις διαδικασίες αυτές των μιτοχονδρίων ενεργοποιείται το οξυγόνο, μικρά ποσά του οποίου μπορεί να διαχέονται και θα ανέμενε κανείς ότι θα μπορούσαν να προκαλέσουν τοπικά καταστροφικό οξειδωτικό στρες. Αυτό σε φυσιολογικές συνθήκες δεν συμβαίνει, διότι το μιτοχόνδριο είναι εφοδιασμένο με υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η οποία το προστατεύει. Κατά την γήρανση, όμως, είναι περιορισμένη η αντιοξειδωτική ισχύς και των μιτοχονδρίων.

Η δράση των διεγερτικών αμινοξέων αποτελεί ακόμη μια από τις δραστηριότητες του εγκεφάλου που συντελεί, μέσω της διεγερσιμοτοξικότητας, στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες και εγκεφαλικής βλάβης.

Η παρουσία σιδήρου στον εγκέφαλο είναι αποφασιστική για την εμφάνιση οξειδωτικού στρες. Στον εγκέφαλο, η συγκέντρωση ελευθέρων ιόντων σιδήρου είναι μικρή, πλην των περιπτώσεων τραυματισμού ή αιμορραγίας. Φαίνεται όμως ότι ακόμη και μικρά ποσά ιόντων σιδήρου είναι ικανά να συμμετέχουν σε βλαπτικές καταστάσεις. Ο σίδηρος, πλην της βλάβης λόγω οξειδωτικών διαδικασιών, φαίνεται ότι συνδέεται με την είσοδο ιόντων ασβεστίου στο κύτταρο, οπότε επέρχεται ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A₂. Εκτός της πρόκλησης φλεγμονής, το λυσοφωσφολιπίδιο, αν δεν διορθωθεί σύντομα η βλάβη, επηρεάζει τη βιολογική μεμβράνη. Συνολικά, δυσλειτουργία στην ομοιόσταση Fe⁺⁺⁽⁺⁾/Ca⁺⁺ οδηγεί σε αλλοίωση της δομής και λειτουργίας νευρωνικών μεμβρανών και ενδοσκελετικών συστατικών.

Πιθανά αίτια της Νόσου του Alzheimer: Κατά καιρούς έχουν εμφανιστεί πολλές απόψεις για τα αίτια της νόσου Alzheimer. Μερικά είναι πολύ πιθανόν να έχουν ελάχιστη συμβολή στη νόσο,

ενώ άλλα πολύ μεγάλη. Φαίνεται ότι η νόσος είναι πολυαιτιολογική, γι' αυτό και η παθοβιοχημεία της αρκετά πολύπλοκη.

- ❖ Εγκεφαλική ισχαιμία λόγω απόφραξης από αθηρωμάτωση ορισμένων περιοχών του εγκεφάλου.
- ❖ Ισχαιμία λόγω μικρών ή μεγαλύτερων εμβολών και θρόμβων, ή λόγω σύσπασης και σπασμού των αγγείων . Στην περίπτωση αυτή εξαιρετικά βλαπτικότερη είναι η φάση της επαναιμάτωσης κατά τη λύση του σπασμού.
- ❖ Τοξικότητα εκ διεγέρσεως, λόγω υπέρμετρης δραστηριότητας των διεγερτικών αμινοξέων.
- ❖ Διαταραχή ομοιόστασης ασβεστίου και/ή σιδήρου στον εγκέφαλο.
- ❖ Οξειδωτικό στρες από διάφορα αίτια προκαλεί εμφάνιση πλακών άνοιας λόγω οξειδωσης πολυακορεστών λιπαρών οξέων, DNA, πρωτεϊνών και σακχάρων.
- ❖ Η υπερχοληστερολαιμία πιστεύεται ότι είναι συνδεδεμένη με τη νόσο Alzheimer, όχι μόνο λόγω βαθμιαίας βλάβης των αγγείων, που προκαλεί φλεγμονή και μερική ή ολική απόφραξη των αγγείων που αιματώνουν τον εγκέφαλο. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η υπερχοληστερολαιμία επάγει το σχηματισμό των πλακών. Η απολιποπρωτεΐνη E, και ειδικότερα η ισομορφή E₄, η οποία στερείται μιας κυστεΐνης στο μόριό της, και δεν είναι σε θέση να σχηματίζει ομοπολυμερή, κωδικοποιείται από γονίδιο του χρωμοσώματος 19. Η ApoE₄ έχει ενοχοποιηθεί για την άνοια στη νόσο του Alzheimer και μάλιστα σήμερα θεωρείται ένας από τους αξιόπιστους διαγνωστικούς δείκτες γι' αυτή. Φαίνεται ότι διευκολύνει το σχηματισμό των αμυλοειδών πλακών ή/και διεγείρει την ενεργοποίηση της μικρογλοίας από τις αμυλοειδείς πλάκες.
- ❖ Διαιτητικοί παράγοντες, π.χ. λήψη μεγάλων ποσοτήτων πολυακορεστών λιπαρών οξέων, ελαττωμένη πρόσληψη βιταμινών A, E, C.
- ❖ Βεβαρυμένο από ρύπους περιβάλλον.
- ❖ Η μείωση της νευρωνικής πλαστικότητας, ιδιότητας που παρουσιάζει ο νευρώνας.
- ❖ Κληρονομικότητα: Μόνο το 1% περίπου του πληθυσμού των περιπτώσεων νόσου του Alzheimer, η οικογενής νόσος, έχει σαφές αίτιο την κληρονομικότητα. Στη σποραδική νόσο ο ρόλος της κληρονομικότητας είναι πολύ μικρός. Πάντως, βρίσκεται γονίδιο στο χρωμόσωμα 21 που, αν υπερεκφρασθεί, συντίθενται μεγάλα ποσά APP. Ορισμένες περιπτώσεις της νόσου του Alzheimer είχαν αποδοθεί και σε «βραδείς ιούς» (prions). Αυτοί είναι σειρά από παθογόνους πρωτεΐνες που μεταδίδουν λοιμώδεις νόσους, με δυνατότητα και κληρονομικής μετάδοσης. Πάντως, υπάρχουν σημαντικές αντιρρήσεις για το αίτιο αυτό.

- ❖ Φλεγμονή: Ήδη έχουν αναφερθεί περί αυτής. Η δυσκολία εδώ, όπως και σε πολλούς άλλους παράγοντες, είναι αν πρόκειται για αίτιο ή αποτέλεσμα, υπάρχουν ενδείξεις ότι πρόκειται και για τα δύο.
- ❖ Αργίλιο: Έχει ενοχοποιηθεί κατά το παρελθόν, και επειδή υπάρχουν στοιχεία για την παρέμβασή του σε νευροεκφυλιστικές καταστάσεις, αναλύεται εκτενέστερα.

Το αργίλιο αποτελεί το μέταλλο που απαντά σε μεγαλύτερο ποσοστό από κάθε άλλο στο φλοιό της γης και ο ανθρώπινος οργανισμός είναι συνεχώς εκτεθειμένος σ' αυτό. Μεταφέρεται σταδιακά στον άνθρωπο από μαγειρικά σκεύη, δοχεία διαφόρων αναψυκτικών, ποτών, επεξεργασμένης τροφής, αποσμητικών, αντι-ιδρωτικών, ή ενίεται με ορισμένα εμβόλια, στην παρασκευή των οποίων χρησιμοποιείται, και τέλος, καταναλίσκεται μερικές φορές σε μεγάλες ποσότητες, ως $Al(OH)_3$ ως αντιόξινο φάρμακο. Το αργίλιο έχει σταθερό σθένος 3, έτσι ενώσεις του σε υδατικά διαλύματα και μέσα στο στομάχο δίνουν Al^{+++} , $AlOH^{++}$, $Al(OH)_2^+$. Ο γαστρεντερικός σωλήνας αποτελεί πολύ αποτελεσματικό φραγμό, ένα ανυπέρβλητο εμπόδιο στην είσοδο του αργιλίου στον οργανισμό. Πειράματα σε μύες και ανθρώπους έδειξαν όμως ότι αργίλιο, χορηγούμενο σε πολύ μεγάλα ποσά, προκαλεί αύξηση αυτού στους ιστούς και στα ούρα, πράγμα που σημαίνει ότι ο γαστρεντερικός σωλήνας δεν είναι πλήρως αδιαπέραστος από τα ιόντα αυτά. Ακόμη, έχει συζητηθεί η περίπτωση της εισόδου στους οσφρητικούς αισθητικούς νευρώνες μέσω του ρινικού επιθηλίου και η μεταφορά του στον εγκέφαλο από τη χρήση αποσμητικού που έχει εισπνευσθεί. Μερικά φυτικά οργανικά οξέα, όπως το κιτρικό, φαίνεται ότι επιταχύνουν την απορρόφηση του αργιλίου από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Το αργίλιο που έχει απορροφηθεί μπορεί να συνδεθεί με τη μεταφέρουσα τον σίδηρο τρανσφερίνη. Τα ιόντα αργιλίου μπορούν επίσης να εναποτεθούν στην αποθηκευτική για τον σίδηρο φερίτινη. Η τοξική δράση του αργιλίου ανεκαλύφθη μόνο μετά την ανάπτυξη και εφαρμογή της μακροχρόνιας αιμοκάθαρσης σε ασθενείς με σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια. Βρέθηκε ότι πολλοί ασθενείς που διατηρούνταν στη ζωή με αιμοκάθαρση ανέπτυσσαν σοβαρό νευρολογικό σύνδρομο, την «εγκεφαλοπάθεια από αιμοδιαπίδυση» («dialysis encephalopathy»). Το γεγονός ότι αυξημένες ποσότητες αργιλίου βρέθηκαν στη φαιά ουσία του εγκεφάλου, σε ασθενείς που απεβίωσαν από την εγκεφαλοπάθεια από αιμοδιαπίδυση, οδήγησε στην απόδοση της νόσου αυτής στην τοξική δράση του αργιλίου. Τα άτομα αυτά, όμως, δεν εμφανίζουν αμυλοειδείς πλάκες. Βρέθηκε ακολούθως ότι το αργίλιο προκαλεί απομάκρυνση των Ca^{++} από τους ιστούς. Δεν υπάρχει σήμερα αμφιβολία για την ενοχή του αργιλίου στην εγκεφαλοπάθεια από διαπίδυση και σε άλλες συνοδούς καταστάσεις απασβέστωσης των οστών. Το μέταλλο αυτό αποτελεί προς το παρόν σοβαρό κίνδυνο για τους υφισταμένους αιμοδιαπιδυτική κάθαρση νεφροπαθείς σε

μερικά μέρη του κόσμου. Το ενδιαφέρον για τον πιθανό ρόλο του αργιλίου στη νόσο του Alzheimer άρχισε όταν διαπιστώθηκε ότι οι πυρήνες των πλακών άνοιας παρουσίαζαν αυξημένη περιεκτικότητα σε αργίλιο και πυρίτιο. Σε άλλη περίπτωση, στην άνοια των ιθαγενών της Guam, βρέθηκαν αυξημένα ποσά ασβεστίου, πυριτίου και αργιλίου στους νευρώνες. Παρ' όλα αυτά, δεν έχειδειχθεί ότι μακρά έκθεση σε αργίλιο προκαλεί νόσο του Alzheimer, αν και παρεντερικά χορηγούμενο αργίλιο σε γάτες, κουνέλια και ικτίδες προκαλεί εμφάνιση νευροϊνωδών κόμβων στους νευρώνες, με εμφάνιση ίδια με αυτή των κόμβων στη νόσο του Alzheimer. Πάντως, δεν εμφανίζονται μετά από χορήγηση με τον ίδιο τρόπο σε ανθρωποειδείς πιθήκους, και δεν εμφανίζουν αυξημένα ποσά ασθενείς εργαζόμενοι σε ορυχεία ή μεταλλουργεία αργιλίου. Πιθανόν η νόσος του Alzheimer να ελαττώνει την παρεμπόδιση της διάβασης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού από το αργίλιο, και έτσι να φθάνει αυτό σε μεγαλύτερα ποσά στον εγκέφαλο.

Η διαπιστωμένη νευροτοξικότητα του αργιλίου, αν και δεν προκαλεί νόσο του Alzheimer, εν τούτοις, σαφώς επιδεινώνει την ήδη υπάρχουσα νευρολογική βλάβη. Επομένως, θεραπεία με στόχο την απομάκρυνση του αργιλίου από τον οργανισμό θα μπορούσε να αποδειχθεί χρήσιμη. Η δεσφериοξαμίνη, πολύ καλός συναρμοτής σιδήρου, δεσμεύει επίσης και το αργίλιο, και έχει χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό επί αιμοδιαπιδυτικής εγκεφαλοπάθειας. Παρόλα αυτά, η σταθερά σταθερότητας του συμπλόκου με το αργίλιο είναι πολύ μικρότερη από αυτή του συμπλόκου δεσφериοξαμίνη-σίδηρος. Έτσι, σε μακράς διάρκειας χρήση, παρατηρείται απώλεια Fe^{3+} . Ευρίσκονται σε ανάπτυξη περισσότερο εξειδικευμένα μέσα δέσμευσης του αργιλίου.

Ιδέες για τον Ορθολογικό Σχεδιασμό Φαρμάκων κατά της Νόσου του Alzheimer: Με βάση όλα τα παραπάνω, θα μπορούσε να ισχυρισθεί κανείς ότι μόριο με μεγάλη πιθανότητα δράσης κατά της νόσου αυτής θα πρέπει:

- ✓ Να έχει αντιοξειδωτική δράση
- ✓ Να έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, για παράδειγμα, να αναστέλλει κυκλοξυγονάσες και λιποξυγονάσες.
- ✓ Να έχει υποχοληστερολαιμική δράση.
- ✓ Να έχει είτε άμεση χολινεργική δράση, ή να αναστέλλει την ακετυλοχολινεστεράση.
- ✓ Να επάγει τροφικούς παράγοντες στον εγκέφαλο, όπως τον NGF.
- ✓ Να μην είναι τοξικό χορηγούμενο και για μακρά χρονικά διαστήματα.
- ✓ Να διαβαίνει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να φθάνει σε ικανές συγκεντρώσεις στο ΚΝΣ.

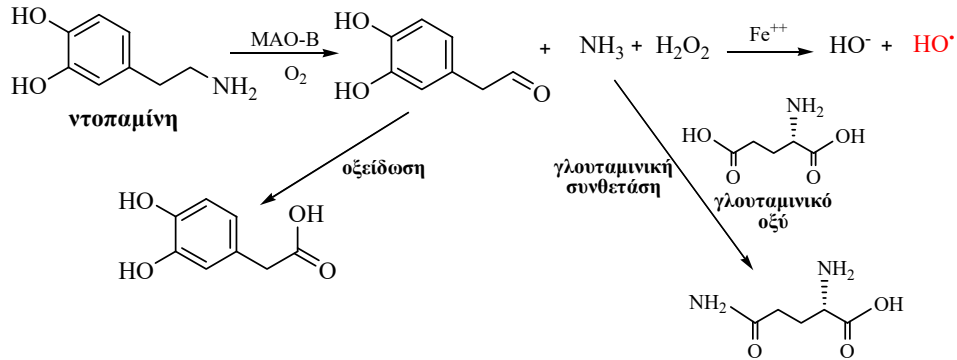
- ✓ Θα μπορούσε να προσθέσει κανείς και παρέμβαση στο DNA, στα γονίδια που εκφράζουν την APP ή την ApoE4. Η σύνθεση παραγόντων που θα καταστέλλουν τη δράση των γονιδίων αυτών φαίνεται εφικτή στο προβλέψιμο μέλλον. Η σύνθεση παραγόντων που θα αναστέλλουν τη δράση ενζύμων όπως των εκκριτασών γ, ή β, ή θα επάγουν τη δράση της εκκριτάσης α φαίνονται λίγο περισσότερο πιθανές. Αυτού του είδους οι παρεμβάσεις, πάντως, πρέπει να γίνονται με μεγάλη προσοχή, διότι δεν είναι σήμερα γνωστά όλα τα υποστρώματα, π.χ. της εκκριτάσης-γ.

Ένα φαρμακομόριο είναι δύσκολο να περιέχει στο φάσμα των βιολογικών ιδιοτήτων του όλες τις παραπάνω ικανότητες. Θα μπορούσε να γίνει προσπάθεια για το σχεδιασμό μορίων με συνδυασμό όσο το δυνατόν περισσότερων από τις ιδιότητες αυτές. Η μέχρι σήμερα καλύτερη προσέγγιση για νοοτρόπα φάρμακα, αυτή των αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης, δεν ικανοποιεί, διότι:

- Τα περισσότερα από τα καλύτερα γνωστά φάρμακα είναι αρκετά τοξικά.
- Έστω και αν αυξηθεί η συγκέντρωση της ακετυλοχολίνης, αυτό έχει μέτρια δράση μόνο στην αρχή, ενώ σε προχωρημένα στάδια η παρουσία των αναστολέων αυτών είναι μάταιη, εφόσον, με τη νευρωνική εκφύλιση, δεν είναι η ακετυλοχολίνη μόνο που ελαττώνεται, αλλά εξαφανίζονται οι μετασυναπτικοί υποδοχείς της, μαζί με τις εκφυλιζόμενες νευρικές απολήξεις.

Νόσος του Parkinson: Είναι νευρολογική νόσος αρκετά διαδεδομένη σε άτομα μεγάλης ηλικίας, συνήθως μετά το 60^ο έτος. Η ασθένεια έχει βραδεία, προοδευτική εξέλιξη, εκτείνεται σε ποσοστό 10% των ατόμων μετά το 65^ο έτος της ηλικίας. Προσβάλλει τους *νευρώνες της μέλαινας ουσίας*, οι οποίοι εκφυλίζονται και βαθμιαία εξαφανίζονται, συνήθως μετά από απόπτωση. Οι νευρώνες της μέλαινας ουσίας κυρίως παράγουν ντοπαμίνη, η οποία ελευθερώνεται στις συνάψεις με νευρώνες του ραβδωτού σώματος. Το ραβδωτό σώμα τροφοδοτεί το φλοιό, έτσι ελέγχονται οι κινήσεις και ο μυϊκός τόνος. Κατά τη νόσο του Parkinson επέρχεται δυσκολία στην εκκίνηση για κίνηση των μυών, ακολουθεί ο χαρακτηριστικός τρόμος στα άκρα και η μυϊκή δυσκαμψία.

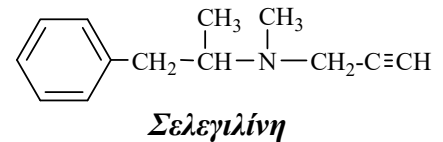
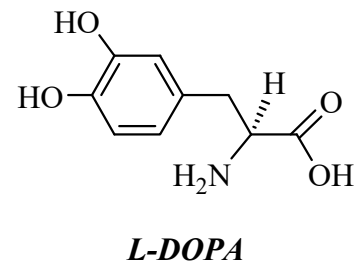
Η βλάβη των νευρώνων της μέλαινας ουσίας οφείλεται πιθανότατα σε οξειδωτικό στρες, λόγω της δράσης της MAO-B επί της ντοπαμίνης, αλλά και της MAO-A, που οδηγεί στην παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου:



Έχει βρεθεί επίσης ότι στη νόσο του Parkinson οι νευρώνες παρουσιάζουν και προβλήματα παραγωγής ενέργειας στα μιτοχόνδρια.

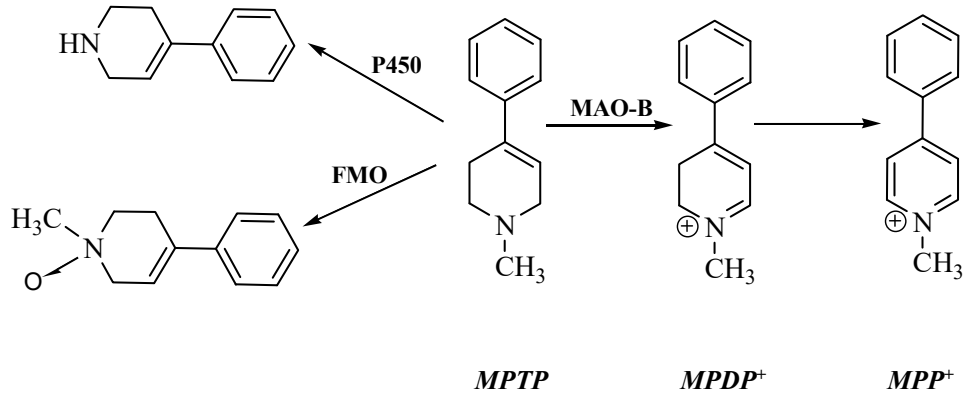
Αφού η χρήσιμη ντοπαμίνη καταστρέφεται, οι νευρώνες την αντικαθιστούν, αυξάνοντας τη σύνθεσή της, οπότε η συνεχιζόμενη καταστροφή της νέας ποσότητας οδηγεί σε νέα παραγωγή H₂O₂, με εγκατάσταση φαύλου κύκλου, με αποτέλεσμα την εκφύλιση των νευρώνων της μέλαινας ουσίας.

Η κυριότερη θεραπευτική αγωγή της νόσου του Parkinson σήμερα γίνεται με χορήγηση L-DOPA και σύγχρονη χορήγηση αναστολέα της (περιφερικής) DOPA-αποκαρβοξυλάσης, ώστε, αφού η L-DOPA εισαχθεί στον εγκέφαλο, με μηχανισμό εισόδου αμινοξέων, να αποκαρβοξυλιωθεί δίνοντας την ελλείπουσα ντοπαμίνη. Πάντως, υπάρχει ο κίνδυνος να επαναληφθεί το παραπάνω φαινόμενο εγκατάστασης φαύλου κύκλου.



Το οξειδωτικό στρες είναι μάλλον ο κυριότερος λόγος της βλάβης και εκφύλισης των νευρώνων της μέλαινας ουσίας. Έχει βρεθεί ότι η μηλονική διαλδεϋδη αυξάνεται, ενώ ελαττώνονται τα ποσά της SOD και της γλουταθειόνης. Εμφανίζεται και 6-υδροξυ-ντοπαμίνη, ένδειξη για την επίδραση ριζών υδροξυλίου επί της ντοπαμίνης. Τελευταίως έχει εισαχθεί στη θεραπευτική της νόσου του Parkinson η σελεγιλίνη (deprenyl, προπαργυλομεθαμφεταμίνη). Η ένωση αυτή είναι αναστολέας της MAO-B, ώστε διατηρεί τις συγκεντρώσεις της ντοπαμίνης σε υψηλότερα επίπεδα, εμποδίζει ή περιορίζει το σχηματισμό H₂O₂, άρα και οξειδωτικού στρες. Μακρά χρήση της ένωσης αυξάνει τη συγκέντρωση της SOD στη μέλαινα ουσία, αλλά και σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου, σε μικρότερο βαθμό. Ακόμη, αυξάνει τη συγκέντρωση γλουταθειόνης στον εγκέφαλο, και προστατεύει αυτόν από διάφορες τοξικές ουσίες, μεταξύ των οποίων και της MPP⁺.

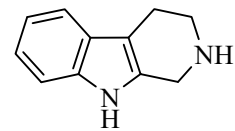
Αίτια της νόσου του Parkinson: Παρ' όλων ότι ενοχοποιείται το οξειδωτικό στρες για τη νόσο, δεν είναι γνωστά τα ακριβή αίτια αυτής. Στη μελέτη της νόσου έχει βοηθήσει σημαντικά η παρατήρηση ότι η 1-μεθυλο-4-φαινυλο-1,2,3,6-τετραϋδρο-πυριδίνη (MPTP), εντός του οργανισμού, προκαλεί σύντομα Parkinson, λόγω του μεταβολισμού της από τη MAO-B, πιθανώς στα γλοιοκύτταρα:



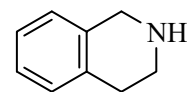
Αρχικά η MPTP περνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και προσλαμβάνεται από τα γλοιοκύτταρα, τα οποία τη μετατρέπουν σε MPP⁺, που ακολούθως βρίσκεται στους νευρώνες της μέλαινας ουσίας. Διαταράσσεται η λειτουργία των μιτοχονδρίων, ανεβαίνουν οι συγκεντρώσεις ιόντων ασβεστίου, ενεργοποιούνται διάφορα ένζυμα και γρήγορα επέρχεται κυτταρική καταστροφή. (Η MPTP παράγεται σε πολύ μικρή ποσότητα ως μεταβολίτης της πεθιδίνης. Κυρίως όμως εισέρχεται στον οργανισμό ως πρόσμιξη - ακαθαρσία του αναλγητικού αυτού, σε κακής ποιότητας πεθιδίνη, που παρασκευάζεται για μη θεραπευτικούς σκοπούς. Έχει χορηγηθεί ως υποκατάστατο της ηρωίνης και προκάλεσε «πανδημία Parkinson» σε χρήστες.)

Η δράση της MPTP στη μέλαινα ουσία έγινε αφορμή να ερευνηθεί αν τοξικές ουσίες στο περιβάλλον ή εντός του οργανισμού είναι τα αίτια της νόσου του Parkinson. Πράγματι, υπάρχουν στο επιβαρημένο περιβάλλον τοξικές ουσίες που μοιάζουν δομικά με το MPTP, π.χ. το paraquat, οι οποίες μάλλον προκαλούν νόσο του Parkinson.

Συγγενείς κάπως με το MPTP είναι ουσίες παράγωγα τετραϋδρο-ισοκινολίνης ή τετραϋδρο-β-καρβολίνης, οι οποίες, σε μακρόχρονη χορήγηση σε πειραματόζωα μπορούν να προκαλέσουν νόσο του Parkinson. Παράγωγα των ενώσεων αυτών ανευρίσκονται σε μερικά τρόφιμα, π.χ. τυρί, σκόνη σοκολάτας, κρασί. Ακόμη, μπορούν να συντεθούν ενδογενώς, όπως η σαλσολινόλη, παράγωγο της τετραϋδρο-ισοκινολίνης, που θα μπορούσε να προέλθει από τη ντοπαμίνη. Αλλά και άλλα ενζυμικά συστήματα ίσως θα μπορούσαν να προκαλέσουν αλλαγές που θα οδηγούσαν σε νόσο του Parkinson,

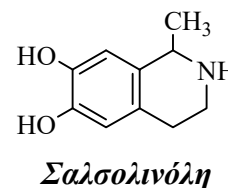


Τετραϋδρο-β-καρβολίνη



Τετραϋδρο-ισοκινολίνη

όπως το κυτόχρωμα P450, ένζυμα του μεταβολισμού θειούχων ενώσεων, ακόμη και διαλύτες όπως το εξάνιο. Αυτό χρησιμοποιείται ως καύσιμο και ως διαλύτης σε κόλλες και βερνίκια. Το εξάνιο οξειδούμενο δίνει διάφορες τοξικές αλκοόλες και κετόνες.



Για τα παραπάνω έχει γίνει αρκετή έρευνα χωρίς όμως πολλά να είναι ακόμη βέβαια.



9. ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΣΤΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.

9.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απόκριση του οργανισμού στα φάρμακα, η φαρμακο- και η τοξικο-δυναμική τους, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την προηγούμενη φάση, την φαρμακο- και τοξικο-κινητική τους, δηλ. απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό και απέκκριση. Στο κεφάλαιο αυτό θα ασχοληθούμε κυρίως με την επίδραση του βιολογικού στρες στο μεταβολισμό των ξενοβιοτικών και στις προεκτάσεις του φαινομένου στη δυναμική αυτών.

Βιολογικό στρες και μεταβολισμός φαρμάκων είναι δύο διαφορετικά φαινόμενα, τα οποία όμως βασίζονται στην ίδια χαρακτηριστική ιδιότητα του ζώντος οργανισμού, την προσαρμοστικότητα. Επί πλέον, και στο στρες και στην απόκριση και αντίσταση του οργανισμού στα φάρμακα, αποφασιστικός είναι ο ρόλος των στεροειδών. Ως εκ τούτου, τα δύο φαινόμενα σχετίζονται στενά και κάνουν τη μελέτη τους ενδιαφέρουσα, τόσο από θεωρητική όσο και από πρακτική άποψη. Τέλος, το βιολογικό στρες σχετίζεται άμεσα και με το οξειδωτικό στρες.

Η διευκρίνιση των μοριακών μηχανισμών των παραπάνω φαινομένων θα μπορούσε να βοηθήσει στην αποτελεσματικότερη και ασφαλέστερη αντιμετώπισή τους καθώς και στην ανακάλυψη, σχεδιασμό και σύνθεση καλύτερων φαρμάκων.

9.2. ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ

Η σταθερότητα του εσωτερικού περιβάλλοντος (milieu interieur) αποτελεί απαραίτητη συνθήκη της αυτόνομης και ανεξάρτητης ζωής (Claude Bernard). Η σταθερότητα αυτή διασφαλίζεται μόνον όταν ο οργανισμός είναι ικανός να προσαρμόζει τις αντιδράσεις του στα εξωτερικά ερεθίσματα. Οι συντονισμένες διαδικασίες προσαρμογής που αναπτύσσονται από τον οργανισμό για τη διατήρηση της σταθεράς κατάστασης αυτού αποτελούν το φαινόμενο της ομοιόστασης. Οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί ποικίλλουν από πολύ ειδικούς έως πολύ γενικούς.

Πολυάριθμοι ομοιοστατικοί μηχανισμοί προστατεύουν τον οργανισμό από πείνα, δίψα, διατηρούν σταθερές τις τιμές pH του αίματος, καθώς και τις συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, λίπους, ιόντων ασβεστίου στο αίμα. Κατά τη διάρκεια ορισμένων καταστάσεων συμπεριφοράς ή συναγερμού (φόβου, πόνου, οργής), το συμπαθητικό νευρικό σύστημα προκαλεί ελευθέρωση κατεχολαμινών. Οι αυτόνομες αυτές αποκρίσεις επάγουν μεταβολικές και καρδιαγγειακές αλλαγές, οι οποίες προετοιμάζουν το σώμα για «πάλη ή φυγή». Έχει αποδειχθεί (Cannon W.B.) ότι η φυσιολογική ισορροπία μπορεί να διατηρηθεί παρά την παρουσία παραγόντων που τείνουν να αλλάξουν εκλεκτικά ένα ή περισσότερα συστατικά του οργανισμού.

Σε δύσκολες καταστάσεις που απαιτούν διασυστηματική προσαρμογή, το σώμα μπορεί να αποκριθεί με:

- **Το νευρικό σύστημα**, δια του συνειδητού σχεδιασμού αμυντικών αυτομάτων ή εξαρτημένων αντανακλαστικών και αυτονόμου αντίδρασης συναγερμού
- **Το ανοσολογικό σύστημα**, δια του σχηματισμού αντισωμάτων και ενεργοποίησης του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος
- **Ορμονικούς μηχανισμούς**, που επηρεάζουν σημαντικά τους ειδικούς προσαρμοστικούς μηχανισμούς του οργανισμού. Έτσι, ο μεταβολισμός των υδατανθράκων ελέγχεται από τις παγκρεατικές και επινεφριδικές ορμόνες, οι συγκεντρώσεις ασβεστίου στο αίμα ρυθμίζονται από την παραθορμόνη και την καλσιτονίνη. Η αντίσταση του οργανισμού σε διάφορα τοξικά μέσα μπορεί να τροποποιηθεί με τη βοήθεια παγκρεατικών, θυρεοειδικών ή γεννητικών ορμονών. Αυτές μπορεί να εκκρίνονται ως απόκριση σε ανάγκη. Έχει, άραγε, το σώμα αναπτύξει μη ειδικούς προσαρμοστικούς μηχανισμούς για την καταπολέμηση τοξικών εισβολέων; Τα κορτικοειδή αποτελούν αποφασιστικούς παράγοντες στον έλεγχο καταστάσεων στρες, κυρίως επηρεάζοντας ενζυμικά ελεγχόμενες αποκρίσεις.

9.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Μέχρι τώρα έχουμε περιγράψει το οξειδωτικό στρες. Το κεφάλαιο αυτό ασχολείται με το (βιολογικό) στρες, το οποίο περιγράφηκε περίπου τριάντα χρόνια πριν από το οξειδωτικό στρες. Και το βιολογικό στρες, ως βιολογικό φαινόμενο, αλλά και ως αίτιο παθολογικών καταστάσεων και ως στόχος μελέτης για την ανακάλυψη φαρμακομορίων, αποτελεί προκλητικό αντικείμενο μελέτης.

Έχει τεκμηριωθεί ότι διάφοροι στρεσογόνοι παράγοντες (έγκαυμα, ιονίζουσα ακτινοβολία, δηλητηρίαση από φάρμακα ή άλλες χημικές ενώσεις) προκαλούν όχι μόνο εξειδικευμένες, ειδικές για τον κάθε παράγοντα δράσεις, αλλά και *μη ειδικές*, στερεότυπες δομικές και λειτουργικές αλλαγές στον οργανισμό. Αυτές συντελούν στην προσπάθεια του οργανισμού να

αντεπεξέλθει σε κάθε τύπο απαίτησης επί ζωτικών, φυσιολογικών δραστηριοτήτων. Ιδιαίτερος αποτελούν προσαρμογή στις νέες συνθήκες. Αν και εκ πρώτης όψεως είναι δύσκολο να δει κανείς πώς ουσιαστικά διαφορετικοί παράγοντες, όπως ακινησία, θερμότητα, ακτινοβολία, ορμόνες ή συναισθηματική διέγερση θα μπορούσαν να προκαλέσουν πανομοιότυπη βιολογική απόκριση, αυτό είναι γεγονός. Σήμερα πλέον είναι δυνατό να δειχθεί ότι ορισμένες αποκρίσεις είναι απολύτως μη ειδικές και κοινές για όλους τους τύπους στρεσογόνων, ανεξαρτήτως των ειδικών δράσεων τους, χρησιμοποιώντας καθαρώς αντικειμενικά κριτήρια, ποσοτικά, βιοχημικά και μορφολογικά (μακροσκοπικά αλλά και λεπτής κυτταρικής δομής). Αυτή η εννοιολογική διάκριση μεταξύ των ειδικών και των μη ειδικών συνεπειών κάθε απαίτησης στον οργανισμό υπήρξε το σημαντικότερο στάδιο στην επιστημονική ανάλυση των φαινομένων του στρες.

Σε αντίθεση προς παλαιότερα επικρατούσα άποψη, στρες δεν είναι απλώς μια συναισθηματική διέγερση ή νευρική υπερένταση. Μπορεί να συμβεί στον άνθρωπο κατά τη διάρκεια αναισθησίας, σε κατώτερα ζώα, ακόμη και σε φυτά, που στερούνται νευρικού συστήματος.

Με βάση τις ιδέες αυτές, ως στρες ορίζεται **«η μη ειδική απόκριση του οργανισμού σε κάθε απαίτηση»** (H. Selye). Είναι προφανές ότι δεν μπορεί να υπάρχουν διαφορετικοί τύποι βιολογικού στρες. Εκφράσεις όπως συναισθηματικό στρες, στρες πτήσης, επιτυχίας, ψύχους, στρες έλλειψης τροφής, ύπνου, στρες βαρύτητας, κολύμβησης και κοινωνικό στρες είναι αποδεκτές μόνον όταν γίνεται ξεκάθαρα αντιληπτό ότι αποτελούν απλώς συντμήσεις για την έκφραση «στρες που προκαλείται από τον ένα ή τον άλλο παράγοντα».

Η **δυναμική εκδήλωση του στρες σε συνάρτηση με το χρόνο** απεκλήθη **«Γενικό Σύνδρομο Προσαρμογής»** («General Adaptation Syndrome»). Αυτό διακρίνεται σε τρεις φάσεις:

- ✓ Αντίδραση συναγερμού
- ✓ Στάδιο (αυξημένης) αντίστασης
- ✓ Στάδιο εξάντλησης

Το γενικό σύνδρομο προσαρμογής και οι τρεις φάσεις του χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες, μορφολογικές, βιοχημικές και λειτουργικές αλλαγές. Πάντως, επειδή κάθε στρεσογόνο παρουσιάζει και τις δικές του, χαρακτηριστικές δράσεις, δεν είναι δυνατόν πάντα να εμφανίζονται οι ίδιες αποκρίσεις σε όλα τα όργανα. Παραπέρα όμως, ακόμη και το ίδιο στρεσογόνο μπορεί να δράσει διαφορετικά σε διαφορετικά άτομα, λόγω εσωτερικών και εξωτερικών ρυθμιστικών παραγόντων που καθορίζουν την αποκρισιμότητά τους. Η τυπική απόκριση βιολογικού στρες ακολουθεί τις εξής δύο οδούς:

1) Ένας μη ειδικός ερεθισμός (νευρικό ερέθισμα, χημική ουσία, έλλειψη ενός μεταβολικού παράγοντα) ενεργοποιεί τον «πρώτο μεσολαβητή», αυτός διεγείρει τον *υποθάλαμο* στο «μεσαίο

έπαρμα» («median eminence»), και συγκεκριμένα σε ορισμένα νευροενδοκρινή κύτταρα που μετατρέπουν νευρικά σήματα στον «παράγοντα ή ορμόνη απελευθέρωσης κορτικοτρόφου ορμόνης» («CRF ή CRH»). Αυτός είναι χημικός αγγειοφόρος που φθάνει, δια μέσου της πυλαίας κυκλοφορίας υποθαλάμου – υποφύσεως, στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Έτσι, ο υποθάλαμος διεγείρει την *υπόφυση*, που εκκρίνει ACTH στη γενική κυκλοφορία. Η ACTH, φθάνοντας στον *φλοιό των επινεφριδίων*, προκαλεί έκκριση κορτικοστεροειδών (κυρίως κορτιζόλης και κορτικοστερόνης). Η αλυσιδωτή αυτή σειρά των γεγονότων ελέγχεται κυβερνητικά από δύο μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορύθμισης. Είναι αμφίβολο εάν περίσσεια της CRF μπορεί να περιορίσει την έκκρισή της, διότι η βιολογική ημιπερίοδος ζωής εντός της κυκλοφορίας είναι πολύ σύντομη. Είναι όμως βέβαιο ότι υπάρχει διπλός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορύθμισης της ACTH, ένας βραχύς και ένας μεγαλύτερος: (i) Περίσσεια παραγωγής ορμόνης (: βραχύς κύκλος παλίνδρομης αλληλορύθμισης), και (ii) Υψηλές συγκεντρώσεις κορτικοειδών στο αίμα αναστέλλουν επίσης την έκκριση ACTH (: μεγάλος κύκλος παλίνδρομης αλληλορύθμισης).

2) Δεύτερη σημαντική οδός μεσολάβησης του βιολογικού στρες είναι η ελευθέρωση κατεχολαμινών υπό την επίδραση εκκένωσης ακετυλοχολίνης στις νευρικές απολήξεις του Αυτονόμου Νευρικού Συστήματος και στο μυελό των επινεφριδίων. Αυτές είναι σημαντικής χρησιμότητας για την αντιμετώπιση αναγκών προσαρμογής: Οι κατεχολαμίνες εφοδιάζουν με ευχερώς διαθέσιμες πηγές ενέργειας, όπως ελεύθερα λιπαρά οξέα, προερχόμενα από αποθέματα τριγλυκεριδίων του λιπώδους ιστού, ανεβάζουν τις συγκεντρώσεις γλυκόζης στο αίμα. Επίσης, επιταχύνουν τον καρδιακό ρυθμό, ανυψώνουν την πίεση του αίματος προς βελτίωση της αιμάτωσης των μυών, και διεγείρουν το ΚΝΣ, δηλαδή ετοιμάζουν τον οργανισμό για «πάλη ή φυγή».

9.4. ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΟΥ ΣΤΡΕΣ – ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΒΕΝΖΟΔΙΑΖΕΠΙΝΩΝ

Ποιοτικά διαφορετικά στρεσογόνα ίσης «τοξικότητας» (στρεσογόνου ισχύος) δεν προκαλούν αναγκαστικά τα ίδια συμπτώματα σε κάθε άτομο. Επί πλέον, ο ίδιος βαθμός στρες, που προκαλείται από το ίδιο μέσο, μπορεί να προκαλεί διαφορετικές βλάβες σε διαφορετικά άτομα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι διάφορα στρεσογόνα διαφέρουν στις ειδικές δράσεις τους, οι οποίες τροποποιούν τις γενικές (μη ειδικές), στερεότυπες επιδράσεις. Ρυθμιστικοί παράγοντες μπορούν εκλεκτικά να αυξήσουν ή να παρεμποδίσουν τη μια ή την άλλη από τις τυπικές εκδηλώσεις του στρες. Οι παράγοντες αυτοί μπορεί να είναι ενδογενείς (γενετική προδιάθεση,

φύλο, ηλικία) ή εξωγενείς (φάρμακα, τροφή, ορμόνες). Υπό την επίδραση τέτοιων παραγόντων, ένας ανεκτός για κάποιο άτομο βαθμός στρες μπορεί να καταστεί παθογόνος για κάποιο άλλο.

Πάντως, στο στρες εμφανίζεται στερεότυπη, μη ειδική απόκριση του οργανισμού, με ενιαίες μορφολογικές και βιοχημικές εκδηλώσεις, που είναι λίγο-πολύ ανεξάρτητες του μέσου το οποίο τις προκαλεί. Αρκετές από αυτές είναι χαρακτηριστικές εκδηλώσεις του βιολογικού στρες, άλλες είναι λιγότερο χαρακτηριστικές. Οι σημαντικότερες χαρακτηριστικές **μορφολογικές** (μακροσκοπικές) αλλαγές είναι η **τριάδα**: *ατροφία* (συρρίκνωση) θύμου, λεμφαδένων, σπληνός, *υπερτροφία* επινεφριδίων, εμφάνιση *γαστρεντερικού έλκους* (δωδεκαδακτύλου στους ανθρώπους, στομάχου στους επίμυες). Οι σημαντικότερες χαρακτηριστικές **βιοχημικές** αλλαγές κατά το βιολογικό στρες είναι οι αυξημένες συγκεντρώσεις *γλυκοκορτικοειδών* στο αίμα και *ουροπεψινογόνου*. Έχει δειχθεί ότι οι παραπάνω αλλαγές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ποσοτική αξιολόγηση του στρες. Μελετήσαμε τις βιοχημικές αλλαγές κατά το στρες, καθώς και τις αλλαγές που εμφανίζονται στη λεπτή δομή του ηπατικού παρεγχυματικού κυττάρου, διότι: α) Δεν υπάρχει ομοφωνία στη βιβλιογραφία για τις αλλαγές αυτές. β) Αλλαγές στη λεπτή κυτταρική δομή και στη βιοχημεία κατά το στρες αποτελούν τη βάση άλλων μεταβολών, π.χ. λειτουργικών. γ) Η ανάλυση των βιοχημικών αλλαγών και αυτών της λεπτής κυτταρικής δομής του ηπατοκυττάρου θα μπορούσε να απαντήσει σε μοριακά προβλήματα αιτίας – αποτελέσματος. δ) Η ανάλυση αυτή θα μπορούσε περαιτέρω να διευκρινίσει τους μηχανισμούς μεσολάβησης του βιολογικού στρες. Μόνο μετά από διευκρίνηση των παραπάνω θεμάτων και κυρίως του εμπλεκόμενου μηχανισμού του στρες θα καταστεί δυνατός ο ορθολογικός σχεδιασμός μορίων για την ειδική αντιμετώπιση του στρες. Επειδή θεωρούμε αναγκαίο, πριν από κάθε βαθύτερη έρευνα στο στρες, να υπάρχει αντικειμενικό σύστημα αξιόπιστων κριτηρίων (δεικτών) για την ποσοτική εκτίμηση του βαθμού του βιολογικού στρες, εκτός από την «τριάδα», χρησιμοποιήσαμε δύο ακόμη βιοχημικές παραμέτρους, την κορτικοστερόνη στο αίμα και το πεψινογόνο στα ούρα, το πρώτο για έλεγχο του δευτέρου. Βρέθηκε ότι οι τελευταίες αυτές δύο παράμετροι αποτελούν καλούς δείκτες για το φαινόμενο, το δε ουροπεψινογόνο έχει το μεγάλο πλεονέκτημα του εύκολου προσδιορισμού. Επί πλέον, κατά το στρες παρατηρείται ολόκληρη σειρά από άλλες βιοχημικές αλλαγές, όμως λιγότερο ειδικές, όπως αύξηση της γλυκόζης και της ουρίας στο αίμα, λιπιδίων στο ήπαρ, και ελάττωση της πρωτεΐνης αυτού. Τα αποτελέσματα αυτά εξηγούνται με βάση όσα αναφέρθηκαν για τη συμμετοχή στο στρες του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια (CRH-ACTH-γλυκοκορτικοειδή και κατεχολαμίνες).

Κατά τη διάρκεια του βιολογικού στρες παρατηρείται σειρά από χαρακτηριστικές αλλαγές στη λεπτή δομή του ηπατικού παρεγχυματικού κυττάρου. Οι περισσότερο κοινές από αυτές είναι διεύρυνση και θραύση του ενδοπλασματικού δικτύου, διόγκωση μιτοχονδρίων, εξαφάνιση

κοκκίων γλυκογόνου, αύξηση σταγονιδίων λιπιδίων, σχηματισμός λυσοσωματίων και αυτοφαγικών χυμοτοπίων. Κατά το στρες ελαττώνεται η θερμοκρασία του σώματος στους επίμυες. Αν η θερμοκρασία διατηρηθεί στα φυσιολογικά επίπεδα, τότε ορισμένες από τις αλλαγές αυτές είναι λιγότερο εκφρασμένες.

Έχουν προταθεί πολλοί τρόποι για την αντιμετώπιση του στρες, όμως σχεδόν κανείς δεν το αντιμετωπίζει πλήρως. Θεωρήσαμε, λοιπόν, ενδιαφέρον να ερευνήσουμε την επίδραση επ' αυτού δύο κλασικών αγχολυτικών φαρμάκων, της διαζεπάμης και του χλωροδιαζεποξειδίου, χρησιμοποιώντας τα προαναφερθέντα κριτήρια. Βρέθηκε ότι και τα δύο φάρμακα αντιμετωπίζουν το στρες, με ισχυρότερο το χλωροδιαζεποξείδιο. Η μυοχαλαρωτική δράση, αλλά και η αγχολυτική επίδραση των βενζοδιαζεπινών, δια της εμπλοκής GABA-εργικών οδών, συνδέονται στενά με κεντρικές νευρωνικές οδούς που εμπλέκουν τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια – στόμαχος. Επί πλέον, ο ρόλος του GABA ως νευρομεταβιβαστή είναι γνωστός. Οι μηχανισμοί αυτού παρεμβαίνουν στην εκκινούσα από το ΚΝΣ απόκριση που επεξεργάζεται και διαδίδεται, μέσω του άξονα αυτού, σε ενδοκρινικό και ανοσολογικό σύστημα, τα οποία, προφανώς αλληλοεπηρεάζονται.

9.5. ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΕ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΑΛΛΑ ΞΕΝΟΒΙΟΤΙΚΑ

Ο οργανισμός, για να αντισταθεί στους διαφόρους στρεσογόνους παράγοντες, ρυθμίζει τις αντιδράσεις του με τη βοήθεια χημικών αγγελιαφόρων και νευρικών ερεθισμάτων, οι οποίοι είτε καθησυχάζουν είτε παροτρύνουν σε πάλη. Με βάση τον άξονα μεσολάβησης του στρες (υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια), πρέπει να διαδραματίζουν αποφασιστικό ρόλο ACTH, γλυκοκορτικοειδή και αδρεναλίνη. Αυτές οι ενώσεις συντελούν στην προσφορά πηγών ενεργείας που απαιτείται λόγω της δράσης του στρεσογόνου. Επί πλέον, διευκολύνουν διάφορες, ενζυμικά ρυθμιζόμενες προσαρμοστικές μεταβολικές αποκρίσεις, καταστέλλουν ανοσολογικές αντιδράσεις καθώς και φλεγμονή. Έτσι, το σώμα γίνεται ικανό να *συνυπάρχει* με δυνητικά παθογόνους ουσίες (*συντοξικός μηχανισμός*). Ακόμη, τα γλυκοκορτικοειδή είναι υπεύθυνα για την υποπλασία θύμου και λεμφαδένων, την εωσινο- και λευκο- πενία, που επίσης εμφανίζονται στο στρες. Προφανώς, κατά τη μακρά περίοδο της εξέλιξης, ο οργανισμός έμαθε να αμύνεται έναντι όλων των ειδών προσβολών, εσωτερικών και εξωτερικών, με τη βοήθεια δύο μηχανισμών, οι οποίοι είτε βοηθούν τον οργανισμό να *ανέχεται* και να *συνυπάρχει* με την παθογόνο ένωση (*συντοξικός μηχανισμός*), είτε να την *καταστρέφει* (*κατατοξικός μηχανισμός*), χωρίς να αποκλείεται ο συνδυασμός των δύο.

Σήμερα γίνεται αποδεκτό ότι το στρες αλλάζει τη δράση των φαρμάκων στον οργανισμό. Κατά κανόνα, στρες (από ψύχος, αιμοστατικό shock, κ.λ.π.) ελαττώνει σημαντικά τη φαρμακολογική απόκριση σε εξοβαρβιτάλη, πεντοβαρβιτάλη ή ζοξαζολαμίνη, ελαττώνει τις

συγκεντρώσεις τους στο αίμα και αυξάνει το μεταβολισμό τους *in vitro*. Επί πλέον, αυξάνει το ηπατικό κυτόχρωμα P450 και τη NADPH-κυτοχρωμική P450 αναγωγή. Η επίδραση αυτή εξαρτάται από τον ανέπαφο άξονα *υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια*, αφού δεν εκδηλώνεται σε υποφυσεκτομηθέντα πειραματόζωα. Αυτές οι δράσεις του στρες είναι δυνατό να εκδηλωθούν με διέγερση από ACTH ή κορτικοστερόνη, αλλά όχι από ACTH σε επινεφριδεκτομηθέντα ζώα. Αγωγή με μικρές δόσεις μορφίνης παρεμποδίζει την απελευθέρωση ACTH και, επομένως, προκαλεί δράσεις παρόμοιες με αυτές της υποφυσεκτομής, αναφορικά με την απόκριση του οργανισμού στα φάρμακα. Η επίδραση του στρες στην απόκριση του οργανισμού στα φάρμακα δεν φαίνεται σαφώς σε πειραματόζωα που έχουν υποστεί αγωγή με φαινοβαρβιτάλη, ένα κλασικό επαγωγέα των ενζύμων που μεταβολίζουν ξενοβιοτικά. Αλλά και μικροσωμικοί αναστολείς, όπως η προαδιφαίνη (SKF525A) και αναστολείς της πρωτεϊνικής σύνθεσης, όπως η ακτινομυκίνη D, ανταγωνίζονται τη επίδραση του βιολογικού στρες στην απόκριση του οργανισμού σε φάρμακα.

Συνεπώς, η διέγερση του μεταβολισμού των φαρμάκων από το στρες και η εξάρτησή του από τον ανέπαφο άξονα *υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια*, υποδεικνύουν τη ρυθμιστική λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος στην (γρήγορη) πρόκληση επαγωγής των μικροσωμικών ενζύμων. Επειδή η επίδραση του στρες στο μεταβολισμό φαρμάκων έως ένα βαθμό συμπληρώνει αυτή της φαινοβαρβιτάλης, πιστευόταν ότι ο υποκυτταρικός μηχανισμός της σχετιζομένης με το στρες μικροσωμικής επαγωγής ήταν διαφορετικός από αυτόν της φαινοβαρβιτάλης. Σήμερα, η μερική ομοιότητα και η σχετική διαφορά στο μηχανισμό έχουν εξηγηθεί πλήρως: φαινοβαρβιτάλη και γλυκοκορτικοειδή, τα οποία ελευθερώνονται σε μεγάλα ποσά λόγω του στρες, είναι γνωστοί επαγωγείς του κυτοχρώματος P450. Όμως, φαινοβαρβιτάλη και γλυκοκορτικοειδή επάγουν κυρίως *διαφορετικά ισόένζυμα* του κυτοχρώματος P450, η φαινοβαρβιτάλη το CYP2B1 και τα κορτικοειδή το CYP3A1.

Η παραπάνω επίδραση του στρες στη δράση φαρμάκων δεν έχει πάντοτε την ίδια μορφή. Αυτό έχει περιγραφεί με ενώσεις όπως η αιθυλομορφίνη, η αμινοπυρίνη, η p-νιτροφαινόλη και η ανιλίνη, και έχει επιβεβαιωθεί με πειράματα *in vitro*. Έτσι, σε επίμυες, δηλητηρίαση από κοκαΐνη, εξοβαρβιτάλη, διφαινυλοδαντοΐνη είναι δυνατό να επιδεινωθούν με εφαρμογή στρεσογόνων παραγόντων. Πάντως, το στρες προστατεύει πολύ σημαντικά επίμυες από ορισμένες ενώσεις όπως στρυχνίνη, κωνίνη, άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου. Ενδιαφέρουσα είναι η περίπτωση της μεγάλης αντίστασης που παρουσιάζει ο ευρισκόμενος σε στρες οργανισμός έναντι του βρωμιούχου τετρααιθυλαμμωνίου, πράγμα που επιτυγχάνεται επίσης με τη χορήγηση ισχυρών γλυκοκορτικοειδών, όχι όμως με τον ισχυρό επαγωγέα του κυτοχρώματος P450, την 16α-καρβονιτριλο-πρεγνενολόνη (PCN). Η προσφερόμενη προστασία από τα ισχυρά

γλυκοκορτικοειδή συνοδεύεται από ελάττωση της συγκέντρωσης του βρωμιούχου τετρααιθυλαμμωνίου στο αίμα και ταυτόχρονη αύξηση αυτής στα ούρα. Στην περίπτωση του στρες, η παρατηρούμενη μεγάλη αύξηση φυσικών γλυκοκορτικοειδών στο αίμα αποτελεί μερική εξήγηση του πιθανού μηχανισμού. Στην περίπτωση του στρες, όμως, δεν παρατηρείται τόσο μεγάλη αλλαγή της συγκέντρωσης του βρωμιούχου τετρααιθυλαμμωνίου σε αίμα και ούρα. Επί πλέον, τα φυσικά γλυκοκορτικοειδή είναι πολύ ασθενέστερα από τα συνθετικά (βηταμεθαζόνη, δεξαμεθαζόνη, πρεδνιζολόνη). Παρ' όλα αυτά, το στρες προστατεύει πολύ αποτελεσματικά τον οργανισμό από την τοξική δράση των αλάτων του τεταρτοταγούς αμμωνίου.

Αφού ένας από τους κύριους μηχανισμούς τροποποίησης της τοξικότητας φαρμάκων κατά το στρες είναι ο μεταβολισμός τους μέσω της προκαλούμενης από τα γλυκοκορτικοειδή επαγωγής των ενζύμων που μεταβολίζουν φάρμακα, μερικές φορές η τοξική δράση των ξενοβιοτικών αναμένεται να αυξάνεται, όταν ενδιάμεσοι μεταβολίτες τους είναι τοξικότεροι των αρχικών ενώσεων, ή είναι τοξικά μεταβολικά ενδιάμεσα, πυρηνόφιλα σώματα ή ελεύθερες ρίζες (π.χ. πριμιδόνη προς εξοβαρβιτάλη, παρακεταμόλη προς N-ακετυλο-p-κινονιμίνη).

Η πολυπλοκότητα του συστήματος γίνεται αντιληπτή και από την απλή αναφορά μερικών από τους μηχανισμούς που εμφανίζονται κατά το στρες και παρεμβαίνουν σε διαδικασίες δράσης φαρμάκων:

- «*Συντοξική δράση*», δημιουργία συνθηκών κατά τις οποίες γίνεται απλώς ανεκτό το δηλητήριο από τον οργανισμό, χωρίς αυτός να αντιδρά έντονα στην παρουσία του φαρμάκου, π.χ. με καταστολή μηχανισμών φλεγμονής.
- Αύξηση του ποσοστού του φαρμάκου που ευρίσκεται συνδεδεμένο με πρωτεΐνες του αίματος.
- Τροποποίηση της διάβασης φαρμάκων μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.
- Αύξηση της απέκκρισης δια του ήπατος ή των νεφρών με τη χολή ή τα ούρα, αντιστοίχως.
- Επαγωγή του ηπατικού μικροσωμικού ενζυμικού συστήματος, των ενζύμων δηλαδή τα οποία είναι κυρίως υπεύθυνα για το μεταβολισμό των ξενοβιοτικών. Στο σύστημα αυτό οι κύριοι ενζυμικοί παράγοντες είναι το κυτόχρωμα P450 και η κυτοχρωμική P450 αναγωγήση.
- Οι τελευταίοι δύο παράγοντες επάγονται από διαφόρους επαγωγείς των ενζύμων αυτών, μεταξύ των οποίων είναι και πολλοί στεροειδικοί επαγωγείς, π.χ. τεστοστερόνη, δεξαμεθαζόνη, σπειρονολακτόνη, ανδρογόνα – αναβολικά, γλυκοκορτικοειδή, καθώς και συνθετικά στεροειδή με καμία άλλη δράση (PCN). Πολλοί από τους στεροειδικούς επαγωγείς επάγουν ιδιαιτέρως την ισομορφή 3A του κυτοχρώματος P450.
- Κατά το βιολογικό στρες αυξάνονται τα κετονικά σώματα στον οργανισμό, τα οποία προκαλούν επαγωγή της ισομορφής 2E1 του κυτοχρώματος P450. Στη δράση αυτή εμπλέκεται και η σωμοτοτρόπος ορμόνη (STH), της οποίας η απελευθέρωση από την υπόφυση

ελαττώνεται, ενώ έχει δειχθεί ότι η παρουσία της αναστέλλει την επαγωγή των μικροσωμικών ενζύμων. ACTH και STH παρουσιάζουν, κατά κάποιο τρόπο, ανταγωνιστική δράση, αναφορικά με την απόκριση του οργανισμού στα φάρμακα.

Οι παραπάνω αλλαγές μερικές φορές οδηγούν στη αύξηση της ευαισθησίας του οργανισμού στα φάρμακα. Επίσης, έχουν σημασία:

- Ο τύπος του στρεσογόνου παράγοντα
- Η διάρκεια του στρες
- Ο χρόνος λήψης του δείγματος, κατά τη διάρκεια ή μετά την έκθεση σε στρες.
- Είδος και φύλο
- Είδος του εξεταζομένου φαρμάκου
- Εποχιακές επιδράσεις
- Η φάση του Γενικού Συνδρόμου Προσαρμογής, στη οποία βρίσκονται τα πειραματόζωα όταν γίνεται η δειγματοληψία ή όταν δόθηκε το φάρμακο.

Είναι προφανές ότι και *συντοξικοί* και *κατατοξικοί* αμυντικοί μηχανισμοί συμμετέχουν στον καθορισμό τόσο της δράσης του φαρμάκου στον οργανισμό όσο και του οργανισμού στο φαρμακομόριο. Είναι λοιπόν λογικό το ερώτημα αν έχουν αναπτυχθεί αμυντικοί μηχανισμοί ως απόκριση σε ανάγκη. Μιμούμενοι την κατάσταση στρες με τη χορήγηση κορτικοστερόνης σε επίμυες και συγκρίνοντας την κατάσταση αυτή με στρες προκαλούμενο από γνωστούς στρεσογόνους παράγοντες (πείνα, δίψα, ακινησία, ρεζερπίνη), έχουμε δείξει ότι προκαλείται αυξημένη αντίσταση σε φάρμακα, π.χ. στη ζοξαζολαμίνη (*in vivo*) και αποκτάται αυξημένη ικανότητα για μεταβολισμό φαρμάκων *in vitro* (ζοξαζολαμίνης, αιθυλομορφίνης, εξοβαρβιτάλης), εντός συντόμου χρονικού διαστήματος (περίπου μίας ώρας). Άρα, πολύ πιθανόν η απάντηση στο αρχικό ερώτημα είναι θετική: Ο οργανισμός, κατά τη μακρά περίοδο της εξέλιξής του, έχει αποκτήσει την προσαρμοστική ιδιότητα να αποκρίνεται θετικά σε περίπτωση ανάγκης για αυξημένο μεταβολισμό φαρμάκων και δηλητηρίων, εφ' όσον εκτεθεί στη βλαπτική τους παρουσία. Με άλλα λόγια, η ικανότητα του οργανισμού να μεταβολίζει φάρμακα αποτελεί *αμυντική ομοιοστατική απόκριση*.

Οι φυσικοί ομοιοστατικοί μηχανισμοί είναι συνήθως ικανοποιητικοί για τη διατήρηση αντίστασης του οργανισμού. Όταν όμως ο οργανισμός έρχεται αντιμέτωπος με ασυνήθιστα μεγάλες απαιτήσεις, η «κανονική» ομοιόσταση δεν είναι επαρκής, η άμυνα πρέπει να ανέλθει σε υψηλά επίπεδα. Αυτοί οι μηχανισμοί προσαρμογής εγκαθιστούν νέα κατάσταση ισορροπίας μεταξύ του οργανισμού και των ασυνήθιστα υψηλών συγκεντρώσεων φαρμάκων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε αδρανοποιώντας το παθογόνο μέσο (*κατατοξική δράση*), είτε αυξάνοντας την

ανοχή του οργανισμού σ' αυτό, χωρίς να καταστρέφεται το φαρμακομόριο (*συντοξικός μηχανισμός*). Η εγκατάσταση νέας σταθεράς κατάστασης με τη βοήθεια εξωγενούς φαρμακοχημικής διέγερσης προϋπαρχόντων προσαρμοστικών μηχανισμών απεκλήθη από τον H. Selye *ετερόσταση*. Θα μπορούσε να θεωρηθεί ως το αντίστοιχο της ομοιόστασης, δηλαδή της διατήρησης κανονικής της σταθεράς κατάστασης με ενδογενείς φυσιολογικές αποκρίσεις. Στην ετερόσταση κινητοποιούνται μη φυσιολογικές αμυντικές αντιδράσεις, ώστε να επιτευχθεί αντίσταση σε ασυνήθιστα υψηλή προσβολή. Επί πλέον, η ετερόσταση βασίζεται σε βραδέως αναπτυσσόμενη και βραδέως εξαφανιζόμενη προσβολή, ενώ η ομοιόσταση σε ταχεία ανάπτυξη και ταχεία απομάκρυνση της προσβολής (H. Selye).

9.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

Μετά από τη μελέτη του οξειδωτικού και του βιολογικού στρες, στο κεφάλαιο αυτό θα εξετασθεί η σχέση μεταξύ τους, αρχίζοντας από τη διερεύνηση της ύπαρξης τέτοιας σχέσης.

Από καιρό υπήρχαν αρκετά δεδομένα, τα οποία υπεδείκνυαν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ βιολογικού και οξειδωτικού στρες:

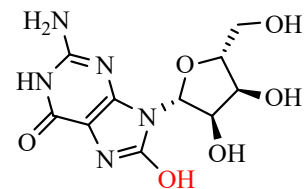
- Ήταν γνωστό από δεκαετίες ότι η ιονίζουσα ακτινοβολία προκαλεί βιολογικό στρες. Είναι όμως γνωστό ότι η ακτινοβολία αυτή προκαλεί ομολυτική διάσπαση του ύδατος, παράγοντας ρίζες υδροξυλίου, οι οποίες είναι από τα ισχυρότερα οξειδωτικά και τοξικά σώματα και οδηγούν σε οξειδωτικό στρες.
- Από δεκαετίες είχε παρατηρηθεί ότι το βιολογικό στρες προκαλεί σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως γαστρεντερικό έλκος, καρδιαγγειακά νοσήματα, ψυχικές και νευρολογικές νόσους, νόσους από το δέρμα, γήρανση, σακχαρώδη διαβήτη. Ήδη αναφέρθηκε η συμμετοχή ελευθέρων ριζών και του προκαλούμενου οξειδωτικού στρες σχεδόν σε όλες αυτές τις καταστάσεις. Φαίνεται δηλαδή ότι υπάρχει μεγάλη αλληλεπικάλυψη στις νόσους στις οποίες συμμετέχουν το βιολογικό και το οξειδωτικό στρες.
- Κατά το βιολογικό στρες παρατηρείται αύξηση της γλυκόζης, των ελευθέρων λιπαρών οξέων στο αίμα, λόγω της δράσης γλυκοκορτικοειδών και αδρεναλίνης, και αύξηση των κετονικών σωμάτων. Επίσης, επάγεται το ηπατικό κυτόχρωμα P450 από τα γλυκοκορτικοειδή, ιδιαιτέρως η ισομορφή CYP2E1 (από τα κετονικά σώματα). Έχει ήδη αναφερθεί ότι αυξημένη δραστηριότητα του κυτοχρώματος P450, και ιδιαιτέρως του 2E1 μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες.
- Το βιολογικό στρες, τουλάχιστο μέσω των φλοιοεπινεφριδικών στεροειδών ορμονών, δρα επί της δομής και της λειτουργίας των βιολογικών μεμβρανών, οι οποίες, όμως, είναι από τους κύριους στόχους του οξειδωτικού στρες.

➤ Το βιολογικό στρες, όταν συνεχισθεί με ένταση, οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Το ίδιο συμβαίνει με το οξειδωτικό στρες. Και στις δύο περιπτώσεις, όταν το κύτταρο έχει ακόμη ενέργεια και χρόνο, θέτει σε λειτουργία διαδικασία απόπτωσης, στην οποία το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει καθοριστικό επαγωγικό ρόλο. Αλλά και στην περίπτωση νέκρωσης, όπου η βλάβη είναι άμεση, ελευθερώνονται πρωτεολυτικά και οξειδωτικά ένζυμα, προκαλώντας ευρύτερη βλάβη.

Πρόκληση βιολογικού στρες, αδιάφορο εάν αυτό προέρχεται από ακινησία, έλλειψη τροφής ή/και νερού, ακτινοβολία, συναισθηματικούς λόγους ή χημικά αίτια, ακολουθείται από εμφάνιση οξειδωτικού στρες.

Κριτήρια εγκατάστασης στρες είναι, φυσικά, οι δείκτες που ήδη αναφέρθηκαν: Αύξηση συγκεντρώσεων γλυκοκορτικοειδών στο αίμα και πεψινογόνου στα ούρα, εμφάνιση γαστρεντερικού έλκους, ελάττωση βάρους θύμου, αύξηση βάρους επινεφριδίων, γενική καχεξία.

Επίσης, αύξηση μηλονικής διαλδεϋδης και 4-υδροξυ-εννεάλης, οξείδωση πρωτεϊνών (εμφάνιση καρβονυλικών ομάδων σε πρωτεΐνες), 8-υδροξυ-γουανοσίνη στα ούρα, ελάττωση γλουταθειόνης (σε ήπαρ και εγκέφαλο). Η πρόκληση ενός από τα δύο είδη στρες ακολουθείται από εμφάνιση του άλλου.



8-Υδροξυ-γουανοσίνη

Η επιβεβαίωση της σχέσης αυτής προέρχεται και από εφαρμογή της αντίθετης διαδικασίας. Δηλαδή, όταν εγκατασταθούν και οι δύο τύποι στρες, αγωγή που αίρει το ένα οδηγεί στην άρση και του άλλου. Επί πλέον, έχουμε δείξει ότι χορήγηση βιταμίνης E, εφ' όσον η δόση και η διάρκεια λήψης είναι επαρκείς, περιορίζει την εγκατάσταση τόσο βιολογικού όσο και οξειδωτικού στρες σε ικανοποιητικό βαθμό.

Προ τριακονταετίας, ο H. Selye υποστήριζε ότι το βιολογικό στρες είναι συνυφασμένο με τη ζωή, και, εφ' όσον δεν υπερβαίνει ορισμένα όρια, είναι ωφέλιμο («eustress»), διότι ετοιμάζει τον οργανισμό για αντιμετώπιση των δυσκολιών της ζωής. Ήδη αναφέραμε ότι και το οξειδωτικό στρες, που κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες σε κάποιο ποσοστό εμφανίζεται (εφ' όσον μέρος του οξυγόνου ανάγεται μερικώς και παράγονται δραστικές μορφές αυτού), περιλαμβάνει διαδικασίες οι οποίες φυσιολογικά αντιμετωπίζονται εύκολα. Οι διαδικασίες αυτές μπορούν να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά και σε περισσότερο δύσκολες συνθήκες (σε μεγαλύτερου βαθμού οξειδωτικό στρες), όταν αυτές εξελιχθούν βαθμιαία, διότι φαίνεται πως το αμυντικό σύστημα είναι ικανό να επαχθεί μέχρι κάποιο βαθμό. Πιστεύεται ότι έτσι λειτουργεί ευνοϊκά η σωματική άσκηση στην υπερχοληστερολαιμία και στον σακχαρώδη διαβήτη, δηλαδή, λόγω του ήπιου βαθμού οξειδωτικού στρες κατά την άσκηση, επάγονται οι αμυντικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του οργανισμού. Αυτό, επεκτείνοντας τη σκέψη του Selye περί ωφέλιμου στρες,

αποτελεί άλλη μια συσχέτιση του βιολογικού και οξειδωτικού στρες, εφ' όσον και το οξειδωτικό στρες μπορεί να καταστεί χρήσιμο.

Σήμερα είναι γνωστό ότι εγκατάσταση επιμόνου βιολογικού στρες καταλήγει σε σοβαρή αγχώδη κατάσταση, η οποία, αν δεν αρθεί, οδηγεί σε σοβαρή ψυχική εκτροπή από το φυσιολογικό, π.χ. σε κατάθλιψη. Επί επιμονής της τελευταίας, η κυριότερη αιτία θανάτου είναι η αυτοκτονία. Ένα φαρμακομόριο με λογική πιθανότητα αποτελεσματικής παρέμβασης σε βιολογικό και οξειδωτικό στρες θα μπορούσε να φέρει ένα δομικό τμήμα με άμεση δράση στους υποδοχείς GABA_A, με ή χωρίς έμμεση δράση επί αυτών. Θα μπορούσε επίσης να φέρει φαρμακοφόρα στοιχεία που θα του προσέδιδαν αντιοξειδωτική δράση, και επί πλέον δομικά στοιχεία ικανά να του προσφέρουν ικανή λιποφιλικότητα ώστε να έχει την ικανότητα διάβασης του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, καθώς και σχετική σταθερότητα και χαμηλή τοξικότητα. Αγγολυτική, αντιοξειδωτική ικανότητα, κατάλληλη τροποποίηση του GABA ώστε το μόριο να διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό φαίνεται ότι είναι χαρακτηριστικά μορίων – οδηγών ενώσεων για την αντιμετώπιση συνεπειών βιολογικού στρες.



10. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ (ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ – ΤΟΞΙΚΗ) ΔΡΑΣΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ.

10.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι χημικές χαρακτηριστικές ομάδες επηρεάζουν σημαντικά τη δράση των βιολογικώς ενεργών ενώσεων. Η επίδραση αυτή εκτείνεται από την κινητική μέχρι και τη δυναμική φάση της δράσης των ενώσεων.

Οι χαρακτηριστικές ομάδες ασκούν αυτή την επίδρασή τους διότι επηρεάζουν κατά πολλαπλό τρόπο και το υπόλοιπο μόριο.

- **Πολικότητα:** Ανάλογα με την πολικότητά τους, αλλά και ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση τους στο μόριο οι χημικές αυτές ομάδες τροποποιούν το λιπόφιλο – υδατόφιλο χαρακτήρα της ένωσης
- **Ηλεκτρονική επίδραση:** Η ηλεκτρονική έλξη ή απώθηση, την οποία εξασκούν οι διάφορες χαρακτηριστικές ομάδες, επηρεάζουν και την ηλεκτρονική κατανομή στο μόριο και συντελούν σε αλλαγές του βαθμού διάστασης ασθενών ηλεκτρολυτών.
- **Όγκος (van der Waals) – Μέγεθος ομάδας:** Ο όγκος της χημικής ομάδας μπορεί να παρέμβει σε μεγάλο αριθμό αλληλεπιδράσεων των μορίων (π.χ. φαρμάκου – υποδοχέα).

Οι παραπάνω παράμετροι είναι από τις σπουδαιότερες, δεν είναι όμως οι μόνες που σχετίζονται με τη δράση των φαρμάκων.

Φυσικά, η επίδραση που ασκούν οι χαρακτηριστικές ομάδες στη βιολογική δράση των ενώσεων οφείλεται ουσιωδώς στις ιδιότητες των ομάδων αυτών. Για το λόγο αυτό, στην επί μέρους εξέταση των σπουδαιότερων από τις ομάδες αυτές αναφέρονται και οι κύριες ιδιότητές τους, εκτός της επίδρασης στη βιολογική δράση των ενώσεων.

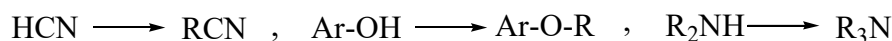
10.2 ΜΕΡΙΚΕΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΚΑΙ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΔΡΑΣΗ

- ✓ **Αλκυλομάδες:** Αυτές είναι λιπόφιλοι σχηματισμοί, οι οποίοι, αναλόγως προς το μέγεθός τους, μπορεί να είναι μικροί, μεσαίοι ή μεγάλοι υποκαταστάτες, γραμμικοί, διακλαδισμένοι ή κυκλικοί. Τα αλκύλια, ως λιπόφιλες, μη πολικές ομάδες, μπορούν να προσδώσουν το χαρακτήρα αυτό στο μόριο. Όσο μεγαλύτερο είναι το αλκύλιο, τόσο ισχυρότερος ο λιπόφιλος χαρακτήρας του. Διακλαδισμένο αλκύλιο είναι λιγότερο λιπόφιλο από το αντίστοιχο γραμμικό, είναι όμως, φυσικά, ογκωδέστερο.

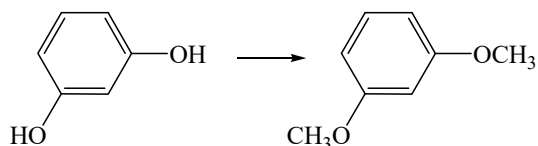
Λιπόφιλες ομάδες (π.χ. φαρμάκου και υποδοχέα) αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (λιπόφιλες αλληλεπιδράσεις). Οι ασθενείς αυτοί δεσμοί οφείλονται στο γεγονός ότι η οργάνωση των μορίων του νερού που τις περιβάλλουν έχει περιορισθεί, έτσι η εντροπία του συστήματος έχει αυξηθεί.

Αύξηση του όγκου συνοδεύεται και από αύξηση στερεοχημικών παρεμποδίσεων, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις φαρμάκου – υποδοχέα, και πολλές φορές καθορίζουν εάν η ένωση θα δρα ως αγωνιστής ή ανταγωνιστής. Επίσης, η διάβαση βιολογικών μεμβρανών επηρεάζεται πολύ από τη λιποφιλικότητα των φαρμάκων. Ακόμη, ενώσεις όπως οι μεγάλοι μοριακού βάρους υδρογονάνθρακες δεν απορροφώνται καθόλου από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Σημειώνεται ότι το παραφινέλαιο, λόγω της πολύ μεγάλης λιποφιλικότητάς του, όχι μόνο δεν απορροφάται (και γι' αυτό δρα ως καθαρτικό), αλλά παγιδεύει τις λιπόφιλες βιταμίνες που βρίσκονται εκεί, είτε ερχόμενες με την τροφή, είτε συντιθέμενες τοπικά από τους σαπροφυτικούς μικροοργανισμούς της εντερικής χλωρίδας.

Όταν μια αλκυλομάδα αντικαθιστά ενεργό υδρογόνο σε μια ένωση, διάφορες βιολογικές δράσεις των αλκυλιωμένων ενώσεων συνήθως είναι ασθενέστερες από αυτές των μη αλκυλιωμένων:

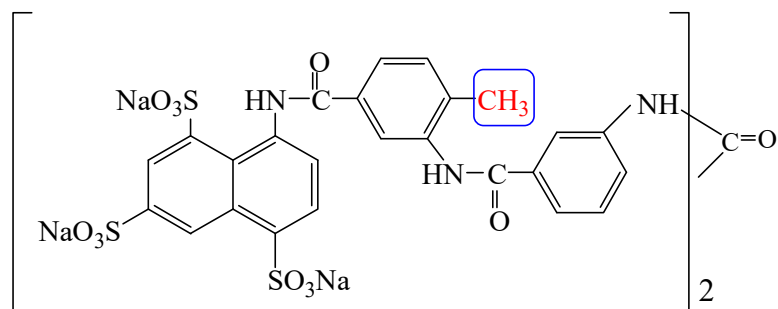


Πάντως, μερικές απλές αλκυλαμίνες είναι τοξικότερες (δραστικότερες) από την αμμωνία, και μερικοί αρωματικοί αιθέρες περισσότερο από τις αντίστοιχες φαινόλες:



Αυτό ίσως οφείλεται στη διαφορετική ταχύτητα μεταβολισμού της ένωσης. Οι διαφορετικές φυσικές ιδιότητες, που προκαλούνται από την εισαγωγή ανωτέρων αλκυλίων μπορούν επίσης να συμβάλλουν σε αλλαγές έντασης του συνόλου των βιολογικών ιδιοτήτων. Έτσι, ανώτεροι αλειφατικοί αιθέρες παρουσιάζουν μεγαλύτερη λιποδιαλυτότητα από τους μεθυλαιθέρες, και τούτο μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη ικανότητα διάβασης της κυτταρικής μεμβράνης.

Υπάρχουν, πάντως, πολύ εντυπωσιακά φαινόμενα στον τομέα αυτό, που παραμένουν ανεξήγητα: Η απομάκρυνση των δύο μεθυλίων σε ορθο-θέση ως προς την αμιδική ομάδα από το μεγάλο μόριο της σουραμίνης, τρυπανοκτόνου φαρμάκου, ελαττώνει τη δράση. Η δομική αυτή αλλαγή δεν φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση σε στερεοχημεία, λιποφιλικότητα και οξύτητα της ένωσης:



Σουραμίνη

✓ **Αμίνες – Αμινομάδες:** Τα περισσότερα φαρμακομόρια είναι αμίνες ή περιέχουν ένα ή περισσότερα (βασικά) άτομα αζώτου. Οι αμινομάδες μπορεί να είναι πρωτο-, δευτερο- ή τριτοταγείς, το άτομο αζώτου να είναι αλειφατικό, αλεικυκλικό ή αρωματικό. Οι αμινομάδες γενικώς, λόγω του ασύζευκτου ζεύγους ηλεκτρονίων του αζώτου, παρουσιάζουν βασικό χαρακτήρα. Για τις αλειφατικές αμίνες, σε υδατικό περιβάλλον, η βασικότητα έχει ως εξής: δευτεροταγείς > τριτοταγείς > πρωτοταγείς. Η εξήγηση του φαινομένου έγκειται στην ταυτόχρονη επίδραση δύο παραγόντων, του επαγωγικού (+I) και του στερεοχημικού. Συνήθως οι κυκλικές δευτεροταγείς αμίνες είναι βασικότερες των μη κυκλικών, διότι το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου αυτών είναι περισσότερο εκτεθειμένο σε πρωτονίωση. Οι αρωματικές αμίνες γενικώς είναι λιγότερο βασικές των αλειφατικών. Το N των αρωματικών ενώσεων, όπως της πυριδίνης και του πυρρολίου, είναι πολύ λίγο βασικό, του πυρρολίου μάλιστα, σε υδατικό περιβάλλον δεν είναι καθόλου βασικό. Αυτό, φυσικά, οφείλεται στο φαινόμενο συντονισμού.

Όλα τα παραπάνω μεταβάλλονται πάρα πολύ από την απειρία συνδυασμών που μπορούν να λάβουν χώρα με την ταυτόχρονη παρουσία άλλων ομάδων και αναλόγως προς την σχετική θέση αυτών ως προς το N (π.χ. αλογόνου, καρβονυλίου, καρβοξυλίου, κ.λ.π.), την παρουσία ογκωδών αλκυλίων ή την δυνατότητα ανάπτυξης δεσμού υδρογόνου (π.χ. >N-H...O=C<, με αποτέλεσμα την ελάττωση της βασικότητας).

Συνήθως οι πρωτοταγείς αμίνες είναι δραστικότερες (π.χ. τοξικότερες) των δευτεροταγών, που ακολουθούνται από τις τριτοταγείς αμίνες. Στις δευτερο- και τριτοταγείς αμίνες με εύκαμπτους υποκαταστάτες, το τροχιακό sp^3 με το ασύζευκτο ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου μπορεί να «συμπιεσθεί», λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης. Σε αμίνες με δευτεροταγές ή κυκλικό άζωτο, και σε αρωματικές τριτοταγείς αμίνες, το τροχιακό αυτό μπορεί να καταστεί περισσότερο πρόσφορο, αν η γωνία δεσμού των άλλων υποκαταστατών μικρύνει. Το περιβάλλον του αμινικού αζώτου, πάντως, σε συνδυασμό με άλλες χαρακτηριστικές ομάδες του μορίου, δημιουργεί τη μεγάλη ποικιλία των ταχυτήτων των χημικών αντιδράσεων και των φυσικών ιδιοτήτων που δημιουργούν τη μυριάδα των βιολογικών εξειδικεύσεων οι οποίες παρουσιάζονται

από εκατοντάδες αμίνες που χρησιμοποιούνται στη φαρμακευτική. Στην ουσία, λίγα είναι γνωστά για τις συνθήκες αυτές.

Η ελάττωση της βασικότητας των πρωτο- και δευτεροταγών αμινών με ακυλίωση ελαττώνει, συνολικά, τη δραστηριότητα. Ανάλογη επίπτωση έχει και η ελάττωση λόγω της παρουσίας ομάδων που έλκουν ηλεκτρόνια (-I, -R), και ιδιαιτέρως των -COOH, -SO₃H, στο μόριο των ενώσεων. Η ύπαρξη διπολικών ιόντων στο μόριο εξασθενεί τις βιολογικές ιδιότητες του μορίου. Αντιθέτως, οι διαμίνες είναι δραστικότερες από τις μονοαμίνες, εκτός αν λαμβάνει χώρα ανάπτυξη δεσμών υδρογόνου μεταξύ των αμινομάδων. Υδροφοβη απόθεση των μορίων νερού από μακρά αλκύλια μπορεί να εξισορροπήσει την αυξημένη έλξη μορίων νερού από τις δύο αμινομάδες.

Πολλές αρωματικές αμίνες με ελεύθερη την ορθο- ή την παρα- θέση μεταβολίζονται στον οργανισμό προς τις αντίστοιχες αμινοφαινόλες, οι οποίες παραπέρα μπορούν να μετατραπούν στον οργανισμό σε κινόνες. Η βιολογική εξειδίκευση των δομών αυτών είναι σαφώς μεγαλύτερη από τις αρχικές αμίνες ή φαινόλες. Σε προηγούμενα κεφάλαια έχουν αναφερθεί αρκετά για τον τοξικό ρόλο των ορθο- και παρα-κινονών. Η δυνατότητα ενεργοποίησης του οξυγόνου πρέπει πάντοτε να λαμβάνεται υπ' όψη σε παράγωγα της ανιλίνης καθώς και της παρα- και ορθο-υδροξυ-ανιλίνης.

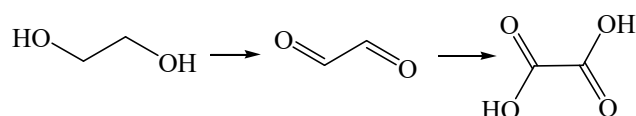
Οι τεταρτοταγείς ενώσεις του N προσδίδουν ισχυρά πολικό χαρακτήρα στο μόριο, το οποίο διαπερνά βιομεμβράνες με εξαιρετική δυσκολία. Πρακτικά οι ενώσεις με τεταρτοταγές N δεν απορροφούνται. Εάν ένας από τους υποκαταστάτες του N είναι μακρό (λιπόφιλο) αλκύλιο, η ένωση παρουσιάζει ικανότητα ελάττωσης της επιφανειακής τάσης του νερού (κατιονικοί σάπωνες, πολλοί από τους οποίους είναι καλά αντιμικροβιακά για τοπική εφαρμογή). Τα ιόντα τεταρτοταγούς αμμωνίου δρουν ως αγωνιστές ή ανταγωνιστές σε διάφορες χολινεργικές εκδηλώσεις, καθώς και στις κυτταρικές μεμβράνες.

Από τα στοιχεία της ομάδας V του περιοδικού συστήματος, το N είναι σε πλεονεκτική θέση, σε σύγκριση με τα άλλα στοιχεία της σειράς p³ (P, As, Sb, Bi). Τις περισσότερες φορές, ενώσεις των τρισθενών P, As, Sb και Bi είναι πολύ τοξικές και η χρήση τους για θεραπευτικούς σκοπούς έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί. Αυτό ισχύει και για παράγωγα του σουλφονίου, αρσωνίου και φωσφονίου, ανάλογα προς τα παράγωγα του αμμωνίου.

✓ **Αλκοόλες, Φαινόλες, Θειόλες:** Υπάρχουν ενώσεις με πρωτο-, δευτερο- και τριτοταγείς υδροξυλικές ομάδες. Ακόμη, εφ' όσον το μόριο φέρει περισσότερες από μια υδροξυλικές ομάδες, έχουμε τις διόλες, κ.λ.π. Η υδροξυλική είναι ισχυρά πολική ομάδα, έτσι προσδίδει πολικότητα στο μόριο. Έχει επαγωγική δράση -I. Περισσότερα υδροξύλια σε αλειφατικό μόριο του δίνουν γλυκιά γεύση. Η υδροξυλομάδα συμμετέχει σε σχηματισμό δεσμού υδρογόνου, είτε ως δότης είτε

ως δέκτης υδρογόνου. Η ευκολία σχηματισμού δεσμού υδρογόνου εξαρτάται και από τις περί το υδροξύλιο ομάδες, π.χ. ογκώδεις ομάδες τον παρεμποδίζουν.

Οι **αλκοόλες** είναι λιγότερο κατασταλτικά μέσα από τους αντίστοιχους υδρογονάνθρακες. Αύξηση του αριθμού των υδροξυλικών ομάδων οδηγεί βαθμιαία σε απώλεια λιποδιαλυτότητας, επομένως σε λιγότερο ευνοϊκή κατανομή για δράση. Έτσι, η n-προπανόλη είναι δραστικότερη της γλυκερόλης και η εξανόλη της σορβιτόλης. Επίσης, δύσκολα μπορεί να συγκριθεί η τοξική εξανόλη με την φαρμακευτικώς αδρανή γλυκόζη. Πάντως, η εισαγωγή υδροξυλίου στο μόριο της αιθανόλης, δηλαδή η αιθυλενογλυκόλη, αποτελεί εξαίρεση, διότι η αιθυλενογλυκόλη στον οργανισμό δίνει τοξικούς μεταβολίτες, γλυοξάλη και τελικώς οξαλικό οξύ:



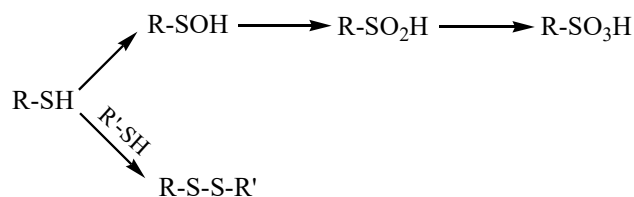
Από τις πρωτο-, δευτερο- και τριτοταγείς αλκοόλες, οι δραστικότερες είναι συνήθως οι τριτοταγείς, εξ αιτίας της ταχύτητας με την οποία σχηματίζουν καρβανιόντα.

Η προστασία ή η απόκρυψη της υδροξυλομάδας με αλκυλίωση (αιθέρες) ή ακυλίωση (εστέρες) έχει ποικίλη επίδραση στη δραστικότητά τους, και αυτή εξαρτάται από τη σταθερότητα της προστατεύουσας ομάδας. Τα ασύζευκτα ζεύγη ηλεκτρονίων του οξυγόνου (του υδροξυλίου, του αιθέρα ή του εστέρα) συμμετέχουν σε ανάπτυξη δεσμών με ενεργές περιοχές (π.χ. υποδοχέων).

Σε αντίθεση προς τις αλκοόλες, οι **φαινόλες**, λόγω της μεσομερικής επίδρασης του φαινυλίου, είναι σαφώς όξινες σε υδατικό περιβάλλον, και περισσότερο τοξικές από τους αντίστοιχους αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Πολυφαινολικές ενώσεις, καθώς και νιτροφαινόλες ή άλλες φαινόλες οι οποίες έχουν στον αρωματικό πυρήνα ομάδες που έλκουν ηλεκτρόνια, είναι, γενικά, ακόμη περισσότερο τοξικές ενώσεις. Αν όμως υπάρχουν στον αρωματικό πυρήνα ομάδες περισσότερο όξινης της φαινολικής (-COOH, -SO₃H, κ.λ.π.), τότε ελαττώνεται η βιολογική δραστικότητα, σε σχέση με την αρχική φαινόλη. Αν τώρα οι όξινες αυτές ομάδες «ακινητοποιηθούν», π.χ. με αμιδοποίηση ή εστεροποίηση, τότε η αρχική δραστικότητα επανεμφανίζεται σε σημαντικό βαθμό.

Ενώσεις με πολλά φαινολικά υδροξύλια έχουν στυπτική (στυφή) γεύση.

Οι **θειόλες** είναι περισσότερο όξινες από τις αλκοόλες και λιγότερο από τις φαινόλες. Σπανίως ομοιάζουν, από άποψη βιολογικής δράσης, με τις αλκοόλες. Οι θειόλες οξειδώνονται εύκολα προς δισουλφίδια (αλλά και σε σουλφενικά, σουλφινικά και σουλφονικά οξέα), συνδέονται και σχηματίζουν χηλικές ενώσεις με μέταλλα, και μεταβολίζονται διαφορετικά από τις αλκοόλες.



Οξείδωση θειολών

Μερικές θειόλες προστατεύουν τις σουλφυδρυλικές ομάδες ενζυμικών συστημάτων, παγιδεύοντας τοξικά μέταλλα [π.χ. πενικιλλαμίνη, διμερκαπρόλη (: BAL, HS-CH₂-CH(SH)-CH₂OH)].

✓ **Αλδεΐδες – Κετόνες:** Συνήθως οι αλδεΐδες είναι βιολογικώς περισσότερο δραστικές από τις κετόνες. Η φορμαλδεΐδη είναι ισχυρό αντισηπτικό, νεκρώνει κύτταρα και σκληραίνει ιστούς, κατακρημνίζει και πήζει τις πρωτεΐνες. Οι κετόνες μοιάζουν περισσότερο με τις αντίστοιχες δευτεροταγείς αλκοόλες, αλλά αλδεΐδες και κετόνες είναι τόσο ευρέως διαδεδομένες, ώστε είναι πολύ δύσκολο να γίνουν γενικεύσεις. Μπορεί κανείς να σκεφθεί τις ποικίλες ενώσεις αλδεϊδικής φύσης όπως βανιλίνη, στρεπτομυκίνη και χλωροφύλλη, ώστε να αντιληφθεί τις δυσκολίες εξαγωγής τεκμηριωμένων συμπερασμάτων.

✓ **Οξέα (R-X, X=COOH, SO₃H, PO₃H₂, AsO₃H₂):** Από τη φαρμακοχημική άποψη, τα καρβοξυλικά οξέα έχουν το μεγαλύτερο ενδιαφέρον. Ακολουθούν τα σουλφονικά, λιγότερο τα παράγωγα του φωσφορικού οξέος, και ακόμη λιγότερο του αρσονικού οξέος. Όλες αυτές οι όξινες ομάδες είναι πολικές (τα παράγωγα με -SO₃H, -PO₃H₂, -AsO₃H₂ είναι πάρα πολύ πολικά) και προσδίδουν μεγάλη πολικότητα και υδατοφιλικότητα στο μόριο. Η παρουσία των ομάδων αυτών τροποποιεί και τη συμπεριφορά του οργανισμού επ' αυτών, δηλαδή την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απέκκρισή τους. Φυσικά, υπό τη μορφή των ελευθέρων οξέων, και εφ' όσον αυτά διαλύονται στο νερό, έχουν όξινη γεύση.

Η εισαγωγή καρβοξυλικής, σουλφονικής, φωσφονικής, αρσονικής και άλλων οξίνων ομάδων στο μόριο μιας βιολογικώς δραστικής ένωσης γενικά ελαττώνει τη δραστικότητα αυτής. Νιτρο-, αμινο- και υδροξυ- ομάδες γίνονται αδρανέστερες ή τελείως αδρανείς φαρμακολογικώς.

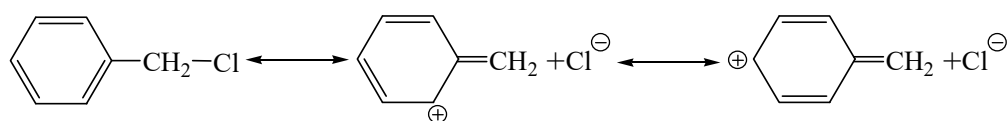
Άξια αναφοράς είναι η διαφορά μεταξύ των τοξικών πρωτεϊνογενών αμινών RCH₂NH₂ και των αντιστοιχών αμινοξέων. Τα αμινοξέα παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως χρήσιμα θρεπτικά συστατικά των λευκωμάτων των τροφών, όμως μερικά είναι τοξικά, όταν λαμβάνονται με την καθαρή χημική μορφή τους και όχι ως συστατικά των λευκωμάτων των τροφών. Οι αντίστοιχες αμίνες (ισταμίνη, τυραμίνη, κ.λ.π.) παρουσιάζουν ισχυρή βιολογική δράση. Παρόμοια ελάττωση της βιολογικής δράσης έχουμε ήδη αναφέρει στην «κάλυψη» δραστικών ομάδων με ακυλομάδες. Έτσι, αμίδια και εστέρες είναι, γενικά, λιγότερο δραστικές ενώσεις από τις αρχικές αμίνες, αλκοόλες ή φαινόλες.

✓ **Αλογόνα:** Τα αλογόνα είναι συνηθισμένοι υποκαταστάτες σε μόρια φαρμάκων. Όλα έχουν ισχυρή ηλεκτρονιοελκτική (-I) επίδραση και αλλάζουν την κατανομή φορτίων στο φαρμακομόριο. Αυτό έχει πολύ σημαντικές συνέπειες στις αλληλεπιδράσεις των φαρμακομορίων με τους υποδοχείς τους. Η -I επίδραση των αλογόνων ελαττώνεται με την αύξηση της ατομικής ακτίνας, δηλαδή: $F > Cl > Br > I$.

Τα αλογόνα ασκούν ισχυρή επίδραση στη βιολογική συμπεριφορά των οργανικών ενώσεων, αυτού εξαρτωμένου από την ηλεκτροχημική φύση, αλλά και από τον όγκο του αλογόνου.

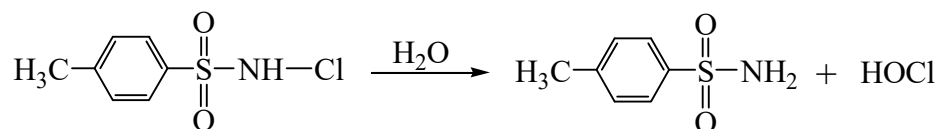
Χλώριο-υποκαταστάτης σε μη συζευγμένη θέση («αρνητικό αλογόνο») συνήθως αυξάνει τόσο τις χρήσιμες, όσο και τις τοξικές δράσεις των ενώσεων, όχι όμως στο ίδιο ποσοστό. Η αύξηση της τοξικότητας συνήθως είναι αμελητέα. Έτσι, η αρωματική αλογόνωση, κυρίως η χλωρίωση, θεωρείται ως ένας λογικός τρόπος αύξησης της δραστηριότητας και διεύρυνσης του περιθωρίου ασφαλείας σε μια δεδομένη σειρά ενώσεων.

Τα αλογόνα ακυλοχλωριδίων, α-αλογονωμένων καρβονυλικών ενώσεων και άλλα σχετικά αλογόνα, όπως του βενζυλοχλωριδίου, παρουσιάζουν την αντίθετη επίδραση, είναι πολύ τοξικά και ερεθιστικά σώματα. Η τοξικότητά τους ελαττώνεται καθώς ο αριθμός των ατόμων των αλογόνων αυξάνεται.



Δραστηριότητα του βενζυλοχλωριδίου, λόγω της ικανότητας απόσπασης χλωρίου. Το κατιόν σταθεροποιείται λόγω συντονισμού.

Ενώσεις που έχουν «πρόσφορο» αλογόνο, όπως είναι οι χλωραμίνες (R₂N-Cl, π.χ. χλωραμίνη T), είναι ισχυρά κυτταροτοξικές, αναλόγως προς το ποσοστό του υποχλωριώδους οξέος που παρέχουν μετά από υδρόλυση:

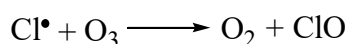


Απελευθέρωση υποχλωριώδους οξέος (σταδιακή) από την αντισηπτική χλωραμίνη T

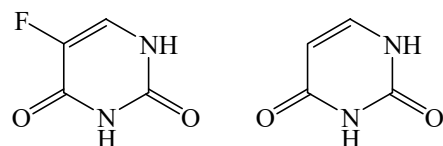
Δεν υπάρχουν σαφείς διαφορές στη δραστηριότητα των οργανικά ενωμένων χλωρίου, βρωμίου ή ιωδίου. Αναφέρεται ότι βρωμιωμένα παράγωγα τείνουν προς κατασταλτική δράση, όμως η γενίκευση αυτή δεν αντέχει σε στατιστική ανάλυση. Αλειφατικοί φθοροάνθρακες φαίνεται ότι είναι πολύ λιγότερο δραστηριοί σε σύγκριση με παράγωγα που περιέχουν τα άλλα αλογόνα ή από

τις μη φθοριωμένες ουσίες. Το τελευταίο μπορεί να εξηγηθεί με τη σταθερότητα των φθοριωμένων παραγώγων, τα οποία οφείλουν την αδράνειά τους στο φαινόμενο συντονισμού που εμφανίζεται στα μόρια αυτών, επομένως στη βράχυνση της απόστασης μεταξύ των ατόμων C και F. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται σε πολλούς άλλους τύπους ενώσεων που περιέχουν ενεργά στοιχεία.

Φθορο-αλογονο-άνθρακες, που χρησιμοποιούνται σε αερολύματα ως προωθητικά, καταστρέφουν το όζον, ως εκ τούτου σε πολλές χώρες η χρήση τους έχει απαγορευθεί. Τα CF_2Cl_2 και CFCl_3 , με την επίδραση ακτινοβολίας, υφίστανται ομολυτική διάσπαση, και οι παραγόμενες ρίζες χλωρίου διασπών το όζον:



Πάντως, τα φθοροξικά ιόντα είναι από τα τοξικότερα γνωστά ιόντα, και το 5-φθορο-ουρακίλιο είναι πολύ κυτταροτοξικό, σε αντίθεση προς το ουρακίλιο:



5-Φθορο-ουρακίλιο

Ουρακίλιο

Η τριφθορομεθυλο-ομάδα, με ισχυρή επίδραση $-I$, φαίνεται ότι διαδραματίζει το ρόλο αλογονοατόμου ηλεκτρονικά, καθώς και της μεθυλικής ομάδας στερεοχημικά. Η ομάδα CF_3 στη Φαρμακοχημεία θεωρείται ένα «ψευδαλογόνο». Η ομάδα αυτή αυξάνει τη βιολογική δράση καταλλήλων δομών.



11. ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

11.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 1889, ο Crum Brown ανακάλυψε την πρώτη σχέση μεταξύ της δομής βιολογικά δραστικών ενώσεων και της δράσης, δείχνοντας ότι πολλά αλκαλοειδή, ακόμη και η στρυχνίνη, μετατρέπονται με τεταρτοταγοποίηση (N-μεθυλίωση) σε μυοχαλαρωτικά που μοιάζουν με την τουβοκουραρίνη (επίσης άλας τεταρτοταγούς αμμωνιοβάσης). Αυτό οδήγησε στην προσπάθεια να συνδεθεί κάθε χημική ομάδα με μια συγκεκριμένη δράση. Η παραπάνω ανακάλυψη όμως, ότι τεταρτοταγές άζωτο προσδίδει στις ενώσεις κουραρομιμητική δράση, καταρρίφθηκε όταν αργότερα διαπιστώθηκε ότι η ακετυλοχολίνη, που προκαλεί διέγερση του μυός, είναι τεταρτοταγής αμμωνιοβάση! Αποκαλύφθηκε έτσι ότι μια χημική ομάδα μπορεί να προσδίνει είτε αγωνιστική είτε ανταγωνιστική δράση, ανάλογα με τη συνολική μοριακή διάταξη. Το γεγονός

ότι οι αγωνιστές γενικά είναι μικρότερα μόρια από τους ανταγωνιστές υποδεικνύει τη σημασία στερεοχημικών παραγόντων στη δράση. Επί πλέον, βρέθηκε ότι σε αρκετά εναντιομερή συνήθως το ένα ισομερές από κάθε ζεύγος έχει βιολογική δράση, παρ' όλο που και τα δύο έχουν κοινές όλες τις υπόλοιπες ιδιότητες. Διαπιστώθηκε λοιπόν ότι η ίδια η χημική δομή μόνη δεν διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στη σχέση μεταξύ δομικών χαρακτηριστικών και δράσης. Την διαπίστωση αυτή ενίσχυσε σημαντικά η ανακάλυψη από τους Meyer και Overton (1900) ότι η λιποφιλικότητα είναι καθοριστικός παράγοντας στο σχεδιασμό γενικών αναισθητικών και υπνωτικών, καθώς επίσης αργότερα (Albert, 1941) η μελέτη της σχέσης μεταξύ αντιμικροβιακής δράσης αμινοακριδινών και υδροξυκινολινών και του ρόλου του ιονισμού και της ικανότητας σχηματισμού συμπλόκων (δύο ηλεκτρονικές επιδράσεις).

Σήμερα, λοιπόν, είναι γενικά παραδεκτό ότι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν τη δράση φαρμάκων δεν είναι κάποιοι μεμονωμένοι και συγκεκριμένοι υποκαταστάτες ή άτομα, αλλά, επί πλέον της συνολικής δομής, μια τριάδα φυσικοχημικών ιδιοτήτων, οι οποίες, σε διαφορετικό βαθμό κατά περίπτωση, συντελούν στην κατανομή του φαρμάκου στον οργανισμό, στη μεταφορά του στον τόπο δράσης, και βοηθούν στην αλληλεπίδρασή του με τον υποδοχέα. Οι ιδιότητες αυτές είναι η *λιποφιλικότητα*, η *ηλεκτρονική κατανομή* και η *στερεοχημεία*.

11.2. ΣΧΕΣΗ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ.

Το μόριο ενός φαρμάκου, από τη στιγμή της εισόδου του στον οργανισμό μέχρι την τελική του αλληλεπίδραση με κάποιο υποδοχέα ή με οργανωμένους ιστούς που οδηγεί στην πρόκληση της επιθυμητής δράσης, υφίσταται πολλές, συχνά ανταγωνιστικές επιδράσεις. Έτσι, το μόριο του φαρμάκου πρέπει να έχει εκείνα τα δομικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην εμφάνιση των καταλλήλων φυσικοχημικών ιδιοτήτων ώστε να του επιτρέπουν, αφού διαπεράσει διάφορες μεμβράνες και αλληλεπιδράσει με ποικίλα συστατικά των μεσοκυτταρίων και ενδοκυτταρίων υγρών, να φθάσει στον τόπο δράσης του και μάλιστα σε συγκεντρώσεις ικανές ώστε να προκληθεί η επιθυμητή δράση στον κατάλληλο βαθμό. Για να ασκήσουν τη βιολογική τους δράση τα φάρμακα πρέπει να διαλύονται στα υγρά του σώματος και να μεταφέρονται με αυτά, να διαπερνούν τις διάφορες βιολογικές μεμβράνες, να διαφεύγουν την υπερβολική συγκέντρωση σε αδρανή διαμερίσματα του οργανισμού, να αντέχουν σε υπερβολικές μεταβολικές επιδράσεις, να φθάνουν στον τόπο δράσης τους σε ικανή ποσότητα, να προσανατολίζονται και να αλληλεπιδρούν εκεί με ορισμένο τρόπο, προκαλώντας, συνήθως αντιστρεπτά, εκείνες τις λειτουργικές αλλαγές που ορίζονται ως η δράση των φαρμάκων.

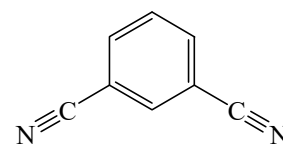
Οι φυσικοχημικές ιδιότητες είναι χαρακτηριστικά μιας ένωσης τα οποία *μπορούν να μετρηθούν*, και, ως ένα βαθμό, να βελτιωθούν, για καλύτερη δράση, με κατάλληλες δομικές μετατροπές.

Εφ' όσον οι φυσικοχημικές ιδιότητες προσδιορίζουν τον τρόπο με τον οποίο το μόριο του φαρμάκου φθάνει στον τόπο της δράσης του και αλληλεπιδρά καταλλήλως εκεί, είναι σημαντικό να ερευνηθεί η έκταση στην οποία κάθε μια ιδιότητα σχετίζεται με την παρατηρούμενη βιολογική δράση. Η πιθανή σπουδαιότητα ιδιοτήτων, μερικές από τις οποίες αναφέρονται στη συνέχεια, πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη.

Διαλυτότητα: Η απόλυτη ή η σχετική διαλυτότητα των φαρμάκων σε υδατικές ή λιπώδεις φάσεις του οργανισμού έχει σημασία για την εξασφάλιση και διατήρηση ικανής συγκέντρωσής τους στο σημείο της δράσης.

Παράχωρο: Είναι προσθετική ιδιότητα η οποία σχετίζεται αμέσως με το μοριακό όγκο και την επιφανειακή τάση (το παράχωρο ισούται με το μοριακό όγκο, όταν η επιφανειακή τάση είναι ίση με τη μονάδα). Έχοντας σχέση με τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας κατά τη μεταφορά μιας ένωσης από υδατικά σε λιπώδη διαμερίσματα του οργανισμού, άρα και με την ικανότητα προσέγγισης του φαρμάκου στον τόπο δράσης του, είναι φυσικοχημική ιδιότητα η οποία επηρεάζει την απόκριση στο φάρμακο.

Τάση ατμών: Έχει συσχετισθεί η τάση ατμών (: πίεση κορεσμένων ατμών) πτητικών γενικών αναισθητικών με την προκαλούμενη βιολογική δράση. Επίσης, έχει μελετηθεί η επίδραση της τάσης ατμών (μαζί με άλλες φυσικοχημικές παραμέτρους) στη μυκητοκτόνο δράση σειράς ισοφθαλοϋλονιτριλίων.



**Ισοφθαλοϋλονιτριλίο
(μη υποκατεστημένο)**

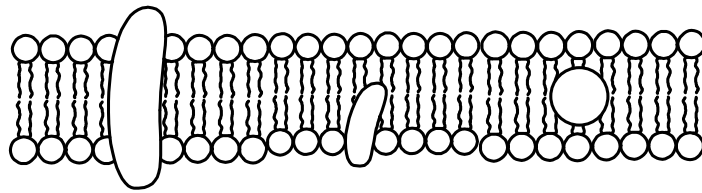
Δύο ακόμη φυσικοχημικές ιδιότητες, η *λιποφιλικότητα* και ο *ιονισμός*, είναι σημαντικότερες για τη δράση των φαρμάκων και εξετάζονται εκτενέστερα παρακάτω.

Επί πλέον, έχει σημασία η γνώση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των κυτταρικών συστατικών με τα οποία αλληλεπιδρά το συγκεκριμένο φάρμακο.

Όπως αναφέρθηκε, οι φυσικοχημικές ιδιότητες ενός φαρμάκου έχουν σχέση με την ικανότητά τους για διάβαση ποικίλων βιολογικών μεμβρανών. Οι βιομεμβράνες έχουν πολύπλοκη δομή και μπορούν να επηρεάσουν την έκταση και τη διάρκεια της φαρμακολογικής δράσης. Οι μεμβράνες θεωρούνται ότι βασικά έχουν προστατευτικό, αλλά και λειτουργικό χαρακτήρα. Εμποδίζουν τη διάβαση ορισμένων μορίων από το εξωτερικό στη βιοφάση και αντίστροφα, αλλά είναι υπεύθυνες και για τη ρύθμιση ορισμένων ζωτικών λειτουργιών.

Η μεμβράνη απλουστευμένα θεωρείται ότι αποτελείται από ένα διπλό στρώμα από λιπίδια, των οποίων το ένα άκρο είναι υδατόφοβο, αποτελούμενο από υδρογονανθρακική αλυσίδα, και το άλλο άκρο είναι υδατόφιλο (π.χ. φωσφορική ομάδα, χολίνη, κ.λ.π.). Στο διπλό αυτό στρώμα, τα υδατόφιλα τμήματα προσανατολίζονται προς το εξωτερικό μέρος κάθε μιας από τις δύο επιφάνειες, ενώ τα υδατόφοβα προσανατολίζονται στον ενδιάμεσο των δύο επιφανειών χώρο.

Το άλλο κύριο συστατικό της μεμβράνης είναι οι πρωτεΐνες, π.χ. τα ένζυμα ή υποδοχείς, που προσδίδουν στη μεμβράνη ξεχωριστές λειτουργικές ιδιότητες. Οι πρωτεΐνες ευρίσκονται στο εσωτερικό ή στην επιφάνεια της μεμβράνης, ή την διαπερνούν εγκάρσιως.



Σχηματική παράσταση βιολογικής μεμβράνης

Σήμερα, γίνεται παραδεκτό ότι η βιολογική μεμβράνη έχει δυναμικό, και όχι στατικό χαρακτήρα. Η σύστασή της μεταβάλλεται διαρκώς με σειρά κινήσεων των λιπιδίων, με αποτέλεσμα να προσδίδεται στη μεμβράνη ρευστότητα, ευελιξία, ηλεκτρική αντίσταση και σχετική αδιαπερατότητα σε πολύ πολικά μόρια. Ακόμη, η κυτταρική μεμβράνη φέρει διόδους γεμάτες νερό, δια μέσου των οποίων μπορούν να περάσουν μικρά μόρια ή ιόντα φορτισμένα με ορισμένο φορτίο.

Από τη γνώση της βασικής σύστασης της μεμβράνης φαίνεται ότι φάρμακα τα οποία έχουν την κατάλληλη λιποφιλικότητα μπορούν να περάσουν βιολογικές μεμβράνες (με παθητική διάχυση), και μάλιστα κατά αρκετά ανάλογο τρόπο μ' αυτόν που το φάρμακο κατανέμεται, δια μέσου μιας μεσεπιφάνειας, μεταξύ λίπους και νερού.

Η διαδικασία με την οποία τα φάρμακα μεταφέρονται δια μέσου των ιστών, προσροφούμενα και εκροφούμενα από πολλά είδη λιποφίλων μορίων, είναι αρκετά ανάλογη της χρωματογραφίας. Έχει δειχθεί ότι, όπως η χρωματογραφία χάρτου ή λεπτής στιβάδας μπορεί να διαχωρίσει μόρια τόσο συγγενή όπως τα διαστερομερή ή ακόμη και τα οπτικά ισομερή, υπό ορισμένες συνθήκες, έτσι μπορεί να συμβεί παρόμοιος διαχωρισμός κατά την κίνηση φαρμάκων δια μέσου ιστών. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να εξηγήσει καλά πολλά παραδείγματα όπου διαφορές στη δράση έχουν βρεθεί για διαφορετικά οπτικά ισομερή, οι οποίες δεν οφείλονται πάντα σε διαφορές προσαρμογής στον τόπο της δράσης, αλλά και στη διαφορετική κατανομή τους.

Η διάβαση ιόντων δια μέσου των πόρων της κυτταρικής μεμβράνης εμποδίζεται από δύο παράγοντες: **α)** από το ηλεκτρικό φορτίο αυτών, που έλκει ή απωθεί ιόντα, και **β)** από το βαθμό ενυδάτωσης, που επηρεάζει τον όγκο τους και ρυθμίζει τη διάχυση μέσα από πόρους.

Λιποφιλικότητα – Συντελεστής κατανομής

Σημασία: Αναλόγως με το βαθμό στον οποίο η χημική δομή επηρεάζει τη βιολογική δράση, τα φάρμακα μπορούν να διακριθούν σε *δομικώς ειδικά* και *δομικώς μη ειδικά*. Για τα δομικώς μη ειδικά φάρμακα, ορισμένες φυσικοχημικές ιδιότητες είναι περισσότερο συνδεδεμένες με τη βιολογική δράση. Για τα δομικώς ειδικά φάρμακα, αν και στη συνολική βιολογική δράση οι φυσικοχημικές ιδιότητες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, ορισμένα δομικά – χημικά χαρακτηριστικά του μορίου φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη επίδραση στη δράση. Πάντως, είναι βέβαιο ότι και για τις δύο κατηγορίες φαρμάκων ο συντελεστής κατανομής μεταξύ λίπους και νερού είναι ιδιότητα που ακόμη κι αν έχει δευτερεύοντα ρόλο στη δράση, δεν μπορεί να αγνοηθεί. Σε συνάρτηση με τα παραπάνω περί κατηγοριών φαρμάκων, θεωρείται ότι η λιποφιλικότητα επηρεάζει τη δράση ξενοβιοτικών με δύο διαφορετικούς τρόπους: α) Υπάρχει ο «μερικός λιπόφιλος χαρακτήρας» σε ειδικές περιοχές του μορίου οι οποίες συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με υποδοχείς, ένζυμα, πρωτεΐνες του αίματος (κυρίως για δομικώς ειδικά φάρμακα) β) Υπάρχει η «συνολική λιποφιλικότητα», η οποία είναι ιδιαίτερος σημαντική για τη μεταφορά του μορίου στον τόπο δράσης, κυρίως με παθητική διάχυση, όπως διάβαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, πρόσληψη από τους ιστούς, παθητική επαναρρόφιση από τους νεφρούς. Έχει τονιστεί ότι, ανεξαρτήτως από ποιά ηλεκτρονικά ή στερεοχημικά φαινόμενα είναι κυρίως υπεύθυνα για τη δράση κάποιας κατηγορίας φαρμάκων, ο συντελεστής κατανομής συνήθως έχει ιδιαίτερη σημασία για τη μεταφορά του φαρμάκου στην περιοχή δράσης του. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει να υπάρχει ευνοϊκή ισορροπία μεταξύ λιπόφιλου και υδατόφιλου χαρακτήρα, ώστε να κάνει κάθε τύπο φαρμάκου ικανό να φθάσει στην περιοχή δράσης του.

Εάν μια ένωση κατανέμεται μεταξύ δύο μη αναμιγνυομένων (υγρών) φάσεων, μιας υδατικής και μιας μη πολικής (λιπώδους) φάσης, ο συντελεστής κατανομής P , μέγεθος χωρίς διαστάσεις (καθαρός αριθμός), είναι μια σταθερά ισορροπίας η οποία δίδεται από το λόγο των συγκεντρώσεων της ένωσης στη λιπώδη (C) και στην υδατική (C_0) φάση, όταν, φυσικά στο σύστημα εγκατασταθεί ισορροπία:

$$P = \frac{C}{C_0}$$

Η διαδικασία της κατανομής περιλαμβάνει μετακίνηση της ουσίας από την υδατική στη λιπώδη φάση και αντιστρόφως.

Όταν ένα απολικό μόριο βρεθεί στο νερό, τα μόρια του νερού τείνουν να οργανωθούν γύρω απ' αυτό. Όταν το μόριο αυτό εγκαταλείπει την υδατική φάση κατά την κατανομή, η οργάνωση

του νερού μειώνεται. Η αύξηση αυτή της εντροπίας κατά την απομάκρυνση του μη πολικού μορίου είναι η κύρια δύναμη που ωθεί το μόριο αυτό να εγκαταλείψει το νερό και να μεταφερθεί στη λιπώδη φάση. Αντίθετα, πολικά μόρια έχουν μικρή τάση να εγκαταλείψουν το νερό, έτσι έχουν μικρό συντελεστή κατανομής.

Ο συντελεστής κατανομής είναι *προσθετική ιδιότητα* των μορίων και έχει σχέση με τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας κατά τη μεταφορά του μορίου από τη μια φάση στην άλλη. Προϋπόθεση που ρυθμίζει την ταχύτητα εμφάνισης πολλών βιολογικών αποκρίσεων είναι η κίνηση του φαρμάκου δια μέσου πολλών βιολογικών διαμερισμάτων που αποτελούνται βασικά από υδατικές και λιπόφιλες φάσεις. Το μόριο το οποίο έχει διαλυτότητα και δομικά χαρακτηριστικά τέτοια ώστε το *άθροισμα των μεταβολών της ελεύθερης ενέργειας για τις διαδοχικές κατανομές μεταξύ των φάσεων (συμπεριλαμβανομένων και διαδικασιών προσρόφησης – εκρόφησης σε επιφάνειες στερεών)* να είναι το ελάχιστο, θα έχει τον ιδανικό συνδυασμό λιποφίλων και υδατοφίλων χαρακτηριστικών, και θα είναι ικανό να προσεγγίσει τον τόπο δράσης του. Τιμή συντελεστή κατανομής ίση με τη μονάδα σημαίνει ότι η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας κατά τη μετάβαση από τη μια φάση στην άλλη είναι ίση με μηδέν, δηλαδή τα μόρια δεν βρίσκουν εμπόδια στη μετακίνησή τους από την υδατική στη ελαιώδη φάση. Τιμή συντελεστή κατανομής που πλησιάζει το μηδέν σημαίνει ότι το φάρμακο είναι τόσο υδατοδιαλυτό ώστε τείνει να συγκεντρωθεί στην πρώτη υδατική περιοχή που θα συναντήσει. Όσο η τιμή συντελεστή κατανομής πλησιάζει το άπειρο, τόσο σταθερότερη είναι η συγκράτηση του μορίου στην πρώτη λιπώδη φάση που θα βρει, έτσι ώστε να μη μπορεί εύκολα να διαπεράσει υδατικές περιοχές. Φαίνεται λοιπόν ότι μια πρώτη προσέγγιση που μπορεί να γίνει σχετικά με την κίνηση ουδετέρων μορίων δια μέσου μεμβρανών είναι ότι αυτή προσδιορίζεται σχεδόν πλήρως από τον συντελεστή κατανομής.

Τα παραπάνω έχουν σχέση με την «κινητική» σημασία του συντελεστή κατανομής. Όμως, όπως αναφέρθηκε, η λιποφιλικότητα έχει και «δυναμικό» χαρακτήρα, συνεισφέροντας στη σύνδεση του φαρμάκου με το σημείο δράσης του. Επειδή σε μια ομόλογη σειρά η λιποφιλικότητα συνήθως αυξάνεται με την αύξηση του μεγέθους του μορίου, υπάρχει μια βέλτιστη τιμή συντελεστή κατανομής, πάνω από την οποία η δράση μειώνεται ή εξαφανίζεται. Αυτό συμβαίνει για δύο κυρίως λόγους: α) Εξ αιτίας της περιορισμένων διαστάσεων λιπόφιλης περιοχής του βιομορίου (υποδοχέας, ενεργός περιοχή ενζύμου κ.λ.π.), αυτό αδυνατεί να περιλάβει μόρια μεγαλύτερα από κάποιο ορισμένο μέγεθος. β) Όταν ξεπεραστεί κάποια συγκεκριμένη τιμή συντελεστή κατανομής, η αλληλεπίδραση φαρμάκου – υποδοχέα μπορεί να οδηγήσει σε θερμοδυναμικά δυσμενή αλλαγή της διαμόρφωσης του υποδοχέα και απώλεια της δράσης.

Πειραματική εύρεση του συντελεστή κατανομής: Για να προσδιοριστεί πειραματικά ο συντελεστής κατανομής, ζυγίζεται επακριβώς η υπό εξέταση ένωση, διαλύεται σε μία από τις δύο φάσεις, προστίθεται συνήθως ίσος όγκος της άλλης φάσης, το μίγμα αναταράσσεται μηχανικά, για χρόνο που ποικίλλει, αναλόγως προς την ένωση, από μερικά λεπτά έως μερικές ώρες, ή έως ότου επιτευχθεί η κατανομή, διατηρώντας σταθερή τη θερμοκρασία. Κατόπιν προσδιορίζεται η συγκέντρωση της ένωσης σε κάποια ή και στις δύο φάσεις. Εύκολος και ακριβής τρόπος προσδιορισμού, όταν αυτό είναι δυνατό, είναι η φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού. Για ευκολία στην έκφραση, χρησιμοποιείται συνήθως ο $\log P$ αντί του P .

Η μία από τις δύο φάσεις κατανομής, η υδατική, συνήθως είναι υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα pH 7,4, ώστε να υπάρχουν πάντοτε ομοιόμορφες συνθήκες pH, που μιμούνται το μέσο φυσιολογικό περιβάλλον (αίμα).

Ως λιπώδης φάση κατανομής συνήθως χρησιμοποιείται n-οκτανόλη. Το σύστημα n-οκτανόλη/νερό, αμοιβαία κορεσμένα, θεωρείται το σύστημα εκλογής. Η οκτανόλη είναι υδατόφοβη και αναμιγνύεται πολύ λίγο με το νερό, όμως έχει την υδροξυλική ομάδα, η οποία μπορεί να σχηματίσει δεσμούς υδρογόνου. Οι ιδιότητες αυτές συνεισφέρουν στη δημιουργία καλού προτύπου της βιοφάσης, όπου συμβαίνουν οι διάφορες αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-οργανισμού.

Εκτός της οκτανόλης, και άλλοι διαλύτες χρησιμοποιούνται επίσης για τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής, π.χ. χλωροφόρμιο, κυκλοεξάνιο, βενζόλιο, λάδι. Έχουν βρεθεί αρκετές εξισώσεις του τύπου: $\log P_2 = a \log P_1 + \beta$ (όπου a , β σταθερές χαρακτηριστικές του κάθε συστήματος) για να μετατραπεί η τιμή του συντελεστή κατανομής P_1 μεταξύ κάποιου διαλύτη και νερού σε τιμές συντελεστή κατανομής P_2 μεταξύ n-οκτανόλης και νερού. Αυτή η εξίσωση δίνει τόσο καλύτερα αποτελέσματα όσο η πολικότητες των δύο οργανικών διαλυτών είναι παρόμοιες.

Σχετικά με τις βιολογικές μεμβράνες, αυτές μπορούν να καταταγούν, από άποψη εκλεκτικότητας για τις ουσίες οι οποίες τις διαπερνούν, σε τέσσερις κύριες κατηγορίες, κατά σειρά αυξανόμενης εκλεκτικότητας:

- 1) Μεμβράνες της στοματικής κοιλότητας
- 2) Μεμβράνες του γαστρεντερικού σωλήνα
- 3) Άλλες μεμβράνες του οργανισμού
- 4) Μεμβράνες που απαρτίζουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.

Συγκρίνοντας την εκλεκτικότητα των παραπάνω κατηγοριών μεμβρανών με την πολικότητα της οργανικής φάσης των διαφόρων συστημάτων κατανομής, φαίνεται ότι:

- 1) Το σύστημα n-βουτανόλη/νερό, με οργανικό διαλύτη σχετικά μεγάλης υδατοδιαλυτότητας, αποδίδει καλύτερα τη διαδικασία κατανομής και διάβασης των μεμβρανών της στοματικής κοιλότητας.
- 2) Τα συστήματα n-οκτανόλη/νερό, ελαϊκή αλκοόλη/νερό, με μικρότερη υδατοδιαλυτότητα, τη διαδικασία κατανομής και διάβασης των μεμβρανών του γαστρεντερικού σωλήνα.
- 3) Τα συστήματα επτάνιο/νερό, κυκλοεξάνιο/νερό, με πολύ μικρή υδατοδιαλυτότητα, τη διαδικασία κατανομής και διάβασης των μεμβρανών του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Επειδή η χρωματογραφία είναι βασικά διαδικασία κατανομής, αναμένεται απ' ευθείας σχέση μεταξύ $\log P$ και R_M , όπου $R_M = \log[1/(R_F - 1)]$, όταν πρόκειται για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας αντιστρόφου φάσεως. Μάλιστα, έχει βρεθεί γραμμική σχέση που μπορεί να συνδέει $\log P$ και R_M :

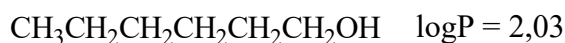
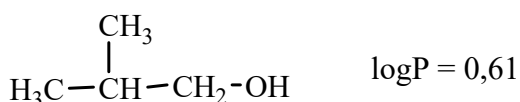
$$R_M = \log P + \log K \text{ (όπου } K \text{ σταθερά για το συγκεκριμένο σύστημα χρωματογραφίας).}$$

Η τιμή του συντελεστή κατανομής η οποία προσδιορίζεται όπως αναφέρεται παραπάνω, προκειμένου για ενώσεις που είναι ηλεκτρολύτες, δίνει τον φαινόμενο συντελεστή κατανομής. Σε περιπτώσεις όπου τα μόρια της ένωσης στο νερό ευρίσκονται και με την ιονισμένη τους μορφή (θεωρώντας ότι τα ιόντα δεν εγκαταλείπουν το νερό), ο φαινόμενος συντελεστής κατανομής (δηλαδή ο πειραματικά ευρισκόμενος) διορθώνεται παίρνοντας υπ' όψη το βαθμό ιονισμού σε pH 7,4, και λαμβάνεται ο αληθής συντελεστής κατανομής, που αντιστοιχεί στα ουδέτερα μόρια, με βάση τη σχέση:

$$P_{\text{αλ.}} = P_{\text{φαιν.}} / (1 - \alpha), \text{ όπου } \alpha \text{ ο βαθμός ιονισμού της ένωσης σε pH 7,4.}$$

Χημική δομή και λιποφιλικότητα:

- Πολικές ομάδες, -OH, -COOH, -NH₂, -NO₂, -O-, -CN, κ.λ.π. μειώνουν τη λιποφιλικότητα, ενώ απολικές ομάδες, π.χ. αλκύλιο, φαινύλιο, αλογόνο, αυξάνουν το λιπόφιλο χαρακτήρα της ένωσης.
- Καθώς ανερχόμαστε μια ομόλογη σειρά, ο συντελεστής κατανομής κατά κανόνα αυξάνεται
- Διακλαδισμένη αλειφατική αλυσίδα ή σχηματισμός δακτυλίου προσδίδει μικρότερη λιποφιλικότητα απ' όσο αν υπήρχε στο μόριο ευθεία αλυσίδα με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα, π.χ.:



Αυτό συμβαίνει διότι όσο συμπαγέστερο είναι ένα μόριο, τόσο μικρότερη διατάραξη επιφέρει στη τάξη των μορίων του νερού, έτσι μειώνεται η τάση να εγκαταλείψει την υδατική στιβάδα.

Σχέση της λιποφιλικότητας με τη δράση:

Η κινητική και η δυναμική επίδραση της λιποφιλικότητας στη δράση αναφέρθηκε πιο πάνω. Θα αναφερθούν εδώ ορισμένα παραδείγματα εξάρτησης της απόκρισης από τη λιποφιλικότητα:

- ✓ Συσχέτιση του συντελεστή κατανομής με την ελάχιστη τοξική συγκέντρωση (C_T) (*B. typhosus*) πρωτοταγών αλκοολών:

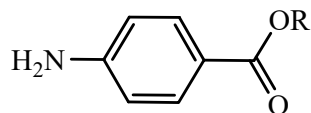
✓

| R-OH | logP | log C_T ($\mu\text{mol/lit}$) |
|-------------|------|-----------------------------------|
| n-Βουτανόλη | 0,88 | 5,4 |
| n-Πεντανόλη | 1,40 | 5,0 |
| n-Εξανόλη | 2,03 | 4,5 |
| n-Επτανόλη | 2,56 | 4,0 |
| n-Οκτανόλη | 3,15 | 3,4 |

Από το παράδειγμα φαίνεται ότι, με αύξηση της λιποφιλικότητας της ένωσης, αυξάνεται η δραστηριότητα, δηλαδή μειώνεται η συγκέντρωση που απαιτείται για το ίδιο αποτέλεσμα.

- ✓ Συσχέτιση του συντελεστή κατανομής με την ελάχιστη δραστική συγκέντρωση (ΕΔΣ) σειράς εστέρων του 4-αμινοβενζοϊκού οξέος με τοπική αναισθητική δράση.

Στο παράδειγμα αυτό φαίνεται ότι, με αύξηση του μεγέθους του R αυξάνεται η λιποφιλικότητα της ένωσης, και παράλληλα και η δραστηριότητα αυτής, με μέγιστη τιμή για τον n-βουτυλεστέρα (σημείο αποκοπής). Όμως, παραπέρα αύξηση της λιποφιλικότητας, με αύξηση του R, δεν προκαλεί ανάλογη αύξηση της δραστηριότητας, ενώ ακόμη μεγαλύτερα αλκύλια προκαλούν μείωση ή εξαφάνιση της δράσης:



| R | logP | ΕΔΣ (mmol/lit) |
|------------|------|----------------|
| Μεθύλιο | 1,89 | 0,42 |
| Αιθύλιο | 2,42 | 0,13 |
| n-Προπύλιο | 2,95 | 0,04 |
| n-Βουτύλιο | 3,46 | 0,02 |
| n-Πεντύλιο | 4,01 | 0,022 |

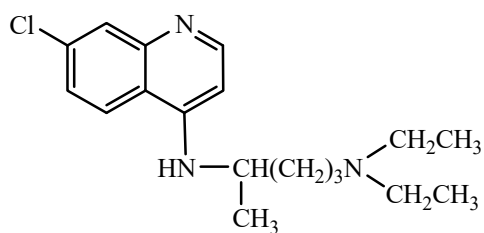
Ιονισμός – Σταθερά ιονισμού

Σημασία: Οι περισσότερες βιολογικές δραστικές ενώσεις είναι ασθενή οξέα ή ασθενείς βάσεις και *ο βαθμός ιονισμού τους εξαρτάται από τη σταθερά ιονισμού τους και από την τιμή pH του περιβάλλοντος*. Φυσικά, είναι γνωστό ότι τα ιόντα συμπεριφέρονται διαφορετικά από τα μη ιονισμένα μόρια, π.χ. τα ιόντα παίρνουν μέρος σε διαφορετικές χημικές αντιδράσεις, διαπερνούν μεμβράνες με διαφορετικό τρόπο και προσροφούνται σε διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων.

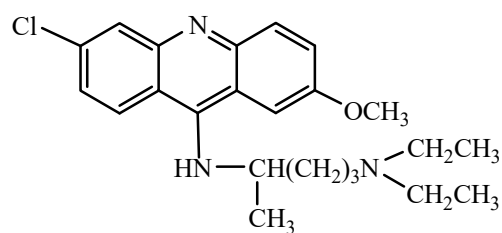
Η διαλυτότητα και ο συντελεστής κατανομής οξέων και βάσεων μεταβάλλεται σημαντικά με αλλαγές στο pH. Έτσι, η σταθερά ιονισμού είναι ιδιότητα που επηρεάζει σημαντικά τη διάβαση φαρμάκου δια μέσου των βιολογικών μεμβρανών. Μη ιονισμένα μόρια έχουν μεγαλύτερη λιποδιαλυτότητα και μπορούν να διαβούν τις περισσότερες μεμβράνες ευκολότερα απ' όσο τα ιόντα. Πάντως, δεν πρέπει να εννοηθεί ότι τα ιόντα είναι αδύνατον να διαπεράσουν βιομεμβράνες, διότι α) υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί ενεργού μεταφοράς ιόντων μέσα στο κύτταρο, β) (που ισχύει κυρίως για συνθετικά παράγωγα) ιονισμένα μόρια, ανίκανα να διαβούν βιολογικές μεμβράνες, μπορούν να καταστούν ικανά γι' αυτό με την προσθήκη λιποφίλων ομάδων.

Παραδείγματα για την πρώτη περίπτωση: η χολίνη, το (χλωριούχο) τετραμεθυλαμμώνιο προσλαμβάνονται με «διευκολυνόμενη διάχυση», Na^+ , K^+ με ενεργή μεταφορά. Το έντερο στον άνθρωπο είναι διαπερατό από Na^+ και Cl^- , λιγότερο από οξικά και κιτρικά ιόντα, αλλά για Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} και PO_4^{3-} έχει αναπτύξει ειδικούς, κορέσιμους μηχανισμούς πρόσληψης που επιτρέπουν τη δίοδο στα βασικά για τις ανάγκες του σώματος αυτά ιόντα, ενώ θειικά και τρυγικά διέρχονται τον γαστρεντερικό σωλήνα χωρίς να απορροφηθούν.

Παράδειγμα για την δεύτερη περίπτωση είναι τα ανθελονοσιακά κινακρίνη (atebrine) και χλωροκίνη. Οι ενώσεις αυτές, αν και είναι αρκετά ισχυρές βάσεις, (pKa περίπου 9), επομένως μεγάλο ποσοστό τους βρίσκεται με την ιονισμένη μορφή σε φυσιολογικό pH, περιέχουν λιπόφιλες ομάδες (π.χ. χλώριο, μεθοξυφαινυλενο-ομάδα, μεθυλενική αλυσίδα) οι οποίες προσδίδουν την απαραίτητη λιποφιλικότητα ώστε να εισέρχονται στα ερυθρά αιμοσφαίρια.



Χλωροκίνη



Κινακρίνη

Ακόμη μια επίδραση του ιονισμού στην ικανότητα διάβασης μεμβρανών πρέπει να ληφθεί υπ' όψη: Είναι προφανές ότι η βιολογική απόκριση σ' ένα φάρμακο εξαρτάται από την ικανότητα αυτού να φθάσει στον τόπο της δράσης του. Ένα φάρμακο με τιμή pKa μεταξύ 6 και 8 είναι σε θέση, στο φυσιολογικό pH (7,4), να βρίσκεται σε ισορροπία με περίπου 10% της ιονισμένης του μορφής. Ένα τέτοιο φάρμακο θα συναντήσει μεμβράνες, τις οποίες θα μπορέσει να διαπεράσει μόνο όσο βρίσκεται με τη μη ιονισμένη μορφή. Όμως, αφού βρεθεί μέσα στο κύτταρο, θα συναντήσει υδατικό περιβάλλον της ίδιας περίπου τιμής pH, και το μόριο είναι υποχρεωμένο να ιονισθεί πάλι μέχρις ότου επιτευχθεί ο ίδιος βαθμός ιονισμού του φαρμάκου και από τις δύο πλευρές της μεμβράνης, οπότε η όλη διαδικασία επαναλαμβάνεται. Αρκετά μεγάλος αριθμός φαρμάκων έχουν pKa μεταξύ 6 και 8, υπάρχουν όμως και άλλα των οποίων οι τιμές pKa βρίσκονται έξω από αυτά τα όρια, επομένως, ακολουθούν διαφορετικό τρόπο κατανομής και διαφορετικό τύπο δράσης.

Παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη σταθερά ιονισμού μιας ένωσης είναι κυρίως επιδράσεις λόγω επαγωγικού ή μεσομερικού φαινομένου, λόγω σχηματισμού δεσμού υδρογόνου, και διαφορές στη στερεοχημεία. Όταν ένας υποκαταστάτης τείνει να σταθεροποιεί το κατιόν περισσότερο από το αντίστοιχο ουδέτερο μόριο, ή το ουδέτερο μόριο περισσότερο από το ανιόν που προέρχεται από αυτό, ο υποκαταστάτης αυτός προκαλεί αύξηση της ισχύος της βάσης, ή μείωση της ισχύος του οξέος, αντιστοίχως. Αντιστρόφως, αυξημένη σταθερότητα του ανιόντος, σε σχέση με το ουδέτερο μόριο, προκαλεί αύξηση της ισχύος του οξέος ή μείωση της ισχύος της βάσης. Εξέταση των παραγόντων που τροποποιούν τη σχετική σταθερότητα των ιόντων ή του ουδέτερου μορίου μπορεί να εξηγήσει τις διαφορές στο pKa ανάλογα με τους υποκαταστάτες του μορίου.

Πειραματική εύρεση της σταθεράς ιονισμού: Οι πειραματικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την εύρεση της σταθεράς ιονισμού σε κατάσταση διαλύματος συνήθως βασίζονται στον ποσοτικό προσδιορισμό του λόγου *πρωτονιωμένη/μη πρωτονιωμένη* μορφή της ένωσης σε γνωστές συνθήκες οξύτητας του διαλύτη, με βάση τις γνωστές εξισώσεις:

$$pK_a = pH + \log [BH^+] / [B] \quad (\text{για βάσεις})$$

$$pK_a = pH + \log [HA] / [A^-] \quad (\text{για οξέα})$$

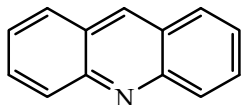
Για την εύρεση της τιμής του pK_a μπορούν να χρησιμοποιηθούν φασματοφωτομετρικές μέθοδοι, όταν οι δύο παραπάνω μορφές μπορούν να ανιχνευθούν με κάποια τέτοια μέθοδο (συνήθως φασματοφωτομετρία ορατού-υπεριώδους). Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η ποτενσιομετρική ογκομέτρηση. Αυτή περιλαμβάνει διαδοχικές μετρήσεις του pH, μετά από προσθήκη ορισμένης ποσότητας προτύπου διαλύματος. Ως τιμή pK_a λαμβάνεται η τιμή pH στην οποία η ένωση είναι κατά 50% ιονισμένη.

Προσδιορισμός του pK_a μιας ένωσης θα μπορούσε, έως ένα βαθμό, να δείξει αν η ένωση αυτή στο φυσιολογικό pH (7,4) δρα με τη μορφή ιόντων ή ως μη ιονισμένο μόριο. Το να ευρεθεί ποιο είναι πιο δραστικό, το ιόν ή το ουδέτερο μόριο, μπορεί να γίνει βασικά με δύο τρόπους:

- 1) Να αλλάξει το pK_a του φαρμάκου με κατάλληλη υποκατάσταση, και να βρεθεί ποιά από τις ενώσεις που λαμβάνονται είναι η δραστικότερη. Η μέθοδος αυτή έχει το πλεονέκτημα ότι δεν επηρεάζεται το pK_a του υποδοχέα και τα κύτταρα του οργανισμού ευρίσκονται στο φυσιολογικό τους pH. Το μειονέκτημα είναι ότι οι χημικές μετατροπές μπορούν να επιφέρουν τέτοιες αλλαγές στο μόριο, ώστε να μεταβάλλεται η βιολογική απόκριση. Αυτή η δυσκολία μπορεί να παρακαμφθεί αν το ίδιο pK_a επιτευχθεί με δύο ανάλογες ενώσεις με διαφορετικούς υποκαταστάτες και τα αποτελέσματα του ελέγχου της βιολογικής δράσης να γίνουν δεκτά μόνο αν συμφωνούν για τις δύο αυτές ενώσεις.
- 2) Να διατηρείται σταθερή η δομή της ένωσης, αλλά να μεταβάλλεται το pH του μέσου (εφαρμόζεται μόνο σε πειράματα *in vitro*, π.χ. κύτταρα ή απομονωμένα όργανα). Αυτό έχει το πλεονέκτημα ότι τα ζωντανά κύτταρα υφίστανται πάντα τη δράση της ίδιας ένωσης, αλλά πρέπει να ερευνείται μήπως οι αλλαγές στο pH επηρεάζουν τον υποδοχέα ή την βιωσιμότητα των κυττάρων.

Ενώσεις οι οποίες είναι βιολογικώς περισσότερο δραστικές όταν είναι ιονισμένες: Έχει δειχθεί ότι υπάρχει ποσοτική σχέση μεταξύ αντιβακτηριακής δράσης και βαθμού ιονισμού σε σειρά αμινοακριδινών. Βασικότητα ικανή να προκαλέσει ιονισμό κατά 75% σε φυσιολογικό pH είναι απαραίτητη για εμφάνιση ικανοποιητικής αντιβακτηριακής δράσης. Έτσι, η υποκατάσταση στο μόριο της ακριδίνης που μπορεί να καταλήξει στο βιολογικά δραστικό κατιόν, σε

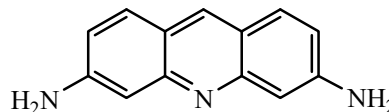
φυσιολογικό pH, είναι ένα από τα σπουδαιότερα δομικά χαρακτηριστικά των αντιβακτηριακών παραγώγων της ακριδίνης:



Ακριδίνη

Ιονισμός 1% (σε pH 7,4)

Βακτηριοστατική συγκέντρωση 1 : 5000

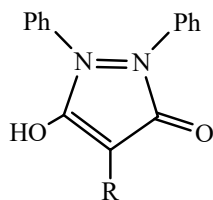


Προφλαβίνη

Ιονισμός 99% (σε pH 7,4)

Βακτηριοστατική συγκέντρωση 1 : 160000

Λίγα φαρμακοδυναμικά φάρμακα είναι γνωστά, τα οποία δρουν με τη μορφή ανιόντων. Η δράση της φαινυλοβουταζόνης κατά της ουρικής αρθρίτιδας οφείλεται στο ανιόν της και αυξάνεται με υποκατάσταση που αυξάνει τον όξινο χαρακτήρα της ένωσης (σε pKa 3, ή και 2).



Φαινυλοβουταζόνη:

R = -CH₂CH₂CH₂CH₃

Σουλφινοπυραζόνη:

R = -CH₂CH₂SO-C₆H₅

Επιβεβαίωση της σχέσης μεταξύ ανιονικού χαρακτήρα και δράσης κατά της ουρικής αρθρίτιδας είναι η σουλφινοπυραζόνη, χρήσιμο φάρμακο κατά της ουρικής αρθρίτιδας.

Ενώσεις που εμφανίζονται λιγότερο δραστικές όταν ιονισθούν: Ως παράδειγμα αναφέρονται οι εστέρες του παρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος (“parabens”), και ιδιαιτέρως οι μεθυλο-, αιθυλο-, n-προπυλο- και n-επτυλο-εστέρες, που χρησιμοποιούνται κυρίως ως συντηρητικά τροφίμων ή φαρμακευτικών σκευασμάτων. Οι ενώσεις αυτές είναι δραστικές στη μη ιονισμένη μορφή τους. Θεωρείται ότι δρουν εμποδίζοντας την είσοδο, δια μέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, αμινοξέων, άλλων οργανικών οξέων και φωσφορικών ιόντων.

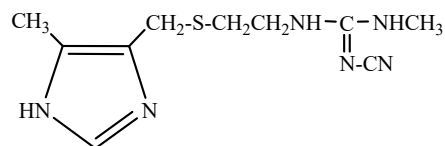
Ενώσεις των οποίων τόσο το ιόν όσο και το ουδέτερο μόριο έχουν σημασία για τη βιολογική δράση: Όπως έχει αναφερθεί, πολλές ενώσεις, ιδίως όσες έχουν pKa μεταξύ 6 και 8, διαπερνούν μεμβράνες με τη μη ιονισμένη μορφή τους, ακόμη κι αν ασκούν τη δράση με τη μορφή ιόντων.

Είναι γνωστά πολλά φάρμακα, στα οποία το μέγεθος της βιολογικής δράσης εξαρτάται από το ποσοστό ύπαρξης ουδετέρων μορίων, όμως το ποσοστό κατά το οποίο η ένωση ιονίζεται συνεισφέρει επίσης στη εμφάνιση της δράσης.

Τα τοπικά αναισθητικά φθάνουν στον τόπο της δράσης τους με τη μορφή των ουδετέρων μορίων, όμως, στην περιοχή του υποδοχέα, το κατιόν είναι αυτό που προκαλεί την τοπική αναισθησία. Αυτό φαίνεται όταν χορηγηθεί το τοπικό αναισθητικό σε απογυμνωμένο νεύρο, οπότε η δράση του είναι ανάλογη του βαθμού ιονισμού του.

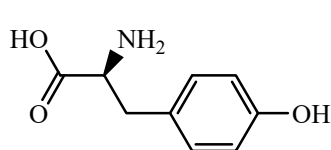
Πάρα πολλά *αλκαλοειδή, τοπικά αναισθητικά, αντιισταμινικά* και άλλα φάρμακα έχουν τιμή pK_a γύρω στο 8, έτσι είναι περίπου κατά 16% ιονισμένα σε pH 7,4. Οι ενώσεις αυτές διέρχονται μεμβράνες ως ουδέτερα μόρια, αλλά δρουν ως κατιόντα.

Οι ανταγωνιστές των H_2 -υποδοχέων της ισταμίνης, όπως η σιμετιδίνη, πρέπει να βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό ιονισμένοι σε φυσιολογικό pH , για να ασκήσουν τη βιολογική δράση τους, αλλά εάν ιονίζονται πλήρως είναι αδρανείς, διότι δεν μπορούν να φθάσουν στον τόπο της δράσης τους.

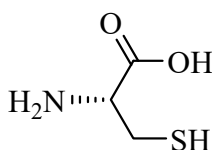


Σιμετιδίνη

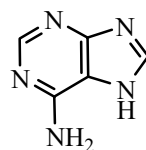
Ο ιονισμός των υποδοχέων: Η τιμή pK_a των υποδοχέων δεν μπορεί να προβλεφθεί πριν από κάποιο πείραμα, κυρίως διότι δεν είναι πλήρως γνωστή η χημική σύσταση όλων. Προφανώς, κατιονικά φάρμακα αλληλεπιδρούν με ανιονικές περιοχές υποδοχέων, οι οποίοι μπορεί να έχουν τιμές pK_a από 2 έως 7 (παρουσία φωσφορικών ομάδων), 2-6 (υδροξυλικές ομάδες), περίπου 10 (υπόλοιπα τυροσίνης, πυριμιδίνης, κυστεΐνης).



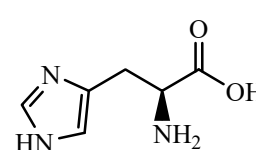
Τυροσίνη



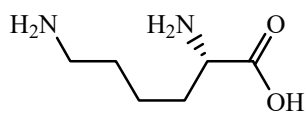
Κυστεΐνη



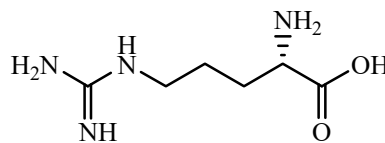
Αδενίνη



Ιστιδίνη



Λυσίνη



Αργινίνη

Κατιονικοί υποδοχείς μπορεί να έχουν pK_a γύρω στο 4 (αδενίνη), 7 (ιστιδίνη), 10 (λυσίνη), 13 (αργινίνη).

Όταν ο υποδοχέας ευρίσκεται έξω από το κύτταρο, συχνά μπορεί να μελετηθεί ο βαθμός ιονισμού του μετρώντας την απόκριση σε παρόμοιας δράσης φάρμακα που καλύπτουν εύρος τιμών pH , με την προϋπόθεση ότι (α) το κύτταρο δεν βλάπτεται από τις αλλαγές στο pH , και (β) ο ιονισμός των φαρμάκων δεν μεταβάλλεται σημαντικά σ' αυτό το εύρος pH .

Ένας υποδοχέας υποτίθεται ότι βρίσκεται ενδοκυτταρικά, όταν:

- ✓ Ενώσεις με λιπόφιλες ομάδες είναι περισσότερο δραστικές από άλλες χωρίς αυτές τις ομάδες, και

- ✓ Ενώσεις, οι οποίες στο pH του πειράματος ιονίζονται μέχρι 70% προς το δραστικό ιόν, είναι δραστικότερες από εκείνες που ιονίζονται πλήρως.

Η μελέτη των ενδοκυτταρικών υποδοχέων παρουσιάζει, φυσικά, πολύ μεγαλύτερες δυσκολίες, πάντως έχουν αναπτυχθεί τεχνικές για την εύρεσή του.

11.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΠΡΟΒΛΕΨΗ $\log P$ ΚΑΙ pK_a .

Αποτέλεσμα των προσπαθειών κυρίως των τελευταίων χρόνων να εξηγηθεί και να προβλεφθεί ποσοτικά η επίδραση των υποκαταστατών μιας ένωσης σε φυσικοχημικές ιδιότητες όπως η σταθερά ιονισμού και ο συντελεστής κατανομής είναι η ανάπτυξη μεθόδων οι οποίες επιτρέπουν την πρόβλεψη των τιμών αυτών με σημαντική ακρίβεια, χωρίς την εκτέλεση πειραματικού προσδιορισμού τους. Αυτό επιτρέπει τον καλύτερο και επιτυχέστερο σχεδιασμό φαρμακομορίων, εφ' όσον είναι δυνατό να προβλεφθούν οι φυσικοχημικές ιδιότητες αυτών πριν ακόμη συντεθούν.

Οι θεωρητικές αυτές μέθοδοι βασίζονται στην παραδοχή των εξής αρχών:

- **Είσοδος ενός υποκαταστάτη στη μητρική ένωση προκαλεί μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια.** Η μεταβολή αυτή στην ελεύθερη ενέργεια οδηγεί σε αντίστοιχη μεταβολή στο pK_a ή στον $\log P$.
- **Όταν οι μεταβολές αυτές δεν είναι μεγάλες, θεωρούνται ότι είναι προσθετικές.** Αυτό σημαίνει ότι η συνολική μεταβολή στην ελεύθερη ενέργεια ισούται με το άθροισμα των μεταβολών σ' αυτή που προκαλεί κάθε υποκαταστάτης.

Οι σημαντικότερες μέθοδοι υπολογισμού των δύο αυτών φυσικοχημικών ιδιοτήτων βασίζονται στη γνωστή εξίσωση του Hammett:

$$\log K_x = \rho\sigma + \text{const.},$$

όπου K_x είναι η σταθερά ισορροπίας (ή σταθερά ταχύτητας της αντίδρασης) που ισχύει βασικά για μετα- ή παρα- υποκατεστημένα βενζολικά παράγωγα, ρ είναι σταθερά που εξαρτάται από τη συγκεκριμένη αντίδραση, και σ σταθερά χαρακτηριστική του υποκαταστάτη. Η εξίσωση αυτή, όταν πρόκειται για πολυ-υποκατεστημένα παράγωγα, επεκτείνεται στην:

$$\log K_x = \rho\Sigma\sigma + \text{const.}$$

Για την πρόβλεψη του pK_a , η παραπάνω εξίσωση παίρνει τη μορφή:

$$pK_{a(x)} = pK_{a(H)} - \rho\Sigma\sigma \quad (\text{Εξίσωση Hammett, ισχύει για αρωματικά συστήματα})$$

$$pK_{a(x)} = pK_{a(H)} - \rho\Sigma\sigma^* \quad (\text{Εξίσωση Taft, ισχύει για αλειφατικά και αλεικυκλικά συστήματα})$$

Στις παραπάνω εξισώσεις, $pK_{a(x)}$, $pK_{a(H)}$ είναι οι τιμές σταθεράς ιονισμού της υποκατεστημένης και της μητρικής ένωσης, αντιστοίχως.

Έχουν βρεθεί αρκετές εξισώσεις της παραπάνω μορφής, με τη βοήθεια των οποίων μπορούμε να προβλέψουμε τις τιμές pKa πολύ μεγάλου αριθμού ενώσεων, όπως φαίνεται από τα παρακάτω παραδείγματα:

1) 4-Χλωρο-3,5-διμεθυλοφαινόλη

Εξίσωση Hammett που ισχύει για φαινόλες:

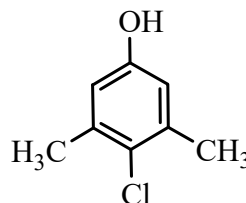
$$pK_a = 9,92 - 2,23 \Sigma\sigma$$

$$\sigma_{\text{μετα}} \text{ για } CH_3 = -0,06 \quad \sigma_{\text{παρα}} \text{ για } Cl = 0,24$$

Επομένως, $\Sigma\sigma = 0,24 + (-0,06) + (-0,06) = 0,12$

Άρα, $pK_a = 9,92 - (2,23 \times 0,12)$, δηλαδή **pKa = 9,70**

Πειραματική pKa = 9,71



2) 2,3-Διυδροξυ-2-υδροξυμεθυλοπροπανοϊκό οξύ

Εξίσωση Taft που ισχύει για $R_1R_2R_3C-COOH$:

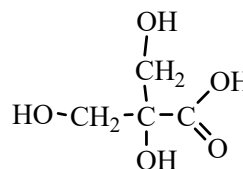
$$pK_a = 5,10 - 0,81 \Sigma\sigma^*$$

$$\sigma^*_{OH} = 1,34 \quad \sigma^*_{CH_2OH} = 0,62$$

Επομένως, $\Sigma\sigma^* = 1,34 + (2 \times 0,62) = 2,58$

Άρα, $pK_a = 5,10 - (0,81 \times 2,58)$, δηλαδή **pKa = 3,01**

Πειραματική pKa = 3,29



Για την πρόβλεψη του συντελεστή κατανομής, υπάρχουν δύο κύριες μέθοδοι:

1) Η μέθοδος που αναπτύχθηκε από τον Hansch, η οποία βασίζεται πάλι στην εξίσωση Hammett:

$$\log P_{(X)} = \log P_{(H)} + \rho \Sigma\pi,$$

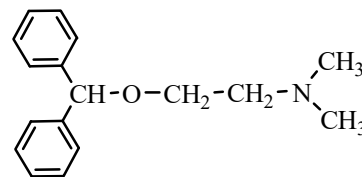
όπου $\log P_{(X)}$, $\log P_{(H)}$ είναι οι δεκαδικοί λογάριθμοι της τιμής του συντελεστή κατανομής της υποκατεστημένης και της μητρικής ένωσης, αντιστοίχως, ρ είναι σταθερά χαρακτηριστική του συστήματος διαλυτών που χρησιμοποιείται (για το σύστημα n-οκτανόλη/νερό, που είναι το σύστημα αναφοράς, $\rho = 1$) και π είναι οι υδρόφοβες σταθερές των υποκαταστατών. Δηλαδή, γνωρίζοντας την τιμή $\log P_{(H)}$ μιας μητρικής ένωσης και τις τιμές π των υποκαταστατών, μπορούμε να προβλέψουμε την τιμή $\log P_{(X)}$ μιας υποκατεστημένης ένωσης.

Παράδειγμα:**Διφαινυδραμίνη**

$$\log P = \log P_{\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3} + \pi_{\text{C}_6\text{H}_5} + \pi_{\text{OCH}_3} + \pi_{\text{CH}_3} + \pi_{\text{N}(\text{CH}_3)_2}$$

$$\log P = 2,69 + 1,89 + (-0,98) + 0,50 + (-0,95) \quad \log P = 3,15$$

$$\text{Πειραματική } \log P = 3,27$$



2) Η μέθοδος που αναπτύχθηκε από τον Rekker, η οποία επίσης βασίζεται στην εξίσωση Hammett:

$$\log P = \alpha \Sigma f + \text{const.}$$

Στην εξίσωση αυτή, *f* είναι οι τιμές των υδροφόβων κλασματικών σταθερών των διαφόρων τμημάτων του μορίου, α είναι αριθμός που δείχνει πόσες φορές το συγκεκριμένο τμήμα (ή ομάδα) συναντάται στο μόριο, και συχνά χρησιμοποιείται σταθερά (const.), η οποία εκφράζει την αλληλεπίδραση στη λιποφιλικότητα δύο ηλεκτραρνητικών ομάδων όταν αυτές χωρίζονται από ένα ή δύο άτομα άνθρακα (όταν χωρίζονται από περισσότερα άτομα άνθρακα, η αλληλεπίδραση είναι αμελητέα). Η σταθερά αυτή λαμβάνει την τιμή 0,80 και 0,46 για τις αντίστοιχες δύο περιπτώσεις.

Για να γίνει περισσότερο κατανοητή η μέθοδος, θα προσπαθήσουμε να προβλέψουμε και πάλι την τιμή logP της διφαινυδραμίνης, αυτή τη φορά με τη μέθοδο των f:

Διφαινυδραμίνη

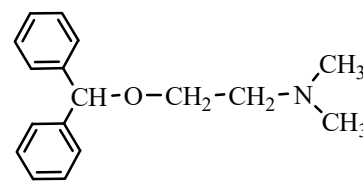
$$\log P = \alpha \Sigma f + \text{const.}$$

$$\log P = 2 \times f_{\text{C}_6\text{H}_5} + f_{\text{CH}} + f_{\text{O}} + 2 \times f_{\text{CH}_2} + f_{\text{N}} + 2 \times f_{\text{CH}_3} + \text{const.}$$

$$\log P = 2 \times 1,896 + 0,236 + (-1,536) + 2 \times 0,527 + (-2,133) + 2 \times 0,702 +$$

$$0,46 \text{ δηλ: } \log P = 3,26$$

$$\text{Πειραματική } \log P = 3,27$$



Συγκρίνοντας τις δύο μεθόδους, φαίνεται ότι η δεύτερη (του Rekker) μπορεί να βρει ευρύτερη εφαρμογή, κυρίως διότι δεν απαιτεί τη γνώση της τιμής logP της μητρικής ένωσης, η οποία συχνά είναι άγνωστη, συνήθως όταν πρόκειται για πολύπλοκες ενώσεις, π.χ. πολυκυκλικές ή συντηγμένες.

3) Η αναθεωρημένη μέθοδος των Rekker και Mannhold: Μερικά χρόνια μετά την εισαγωγή της, οι Rekker και Mannhold επανεξέτασαν το σύστημά τους, χρησιμοποιώντας μεγαλύτερο

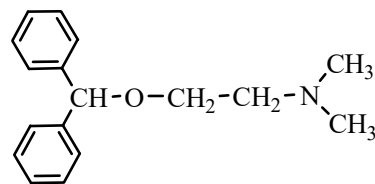
κατάλογο (1000 ενώσεων) για στατιστική επεξεργασία. Με την αναθεώρηση αυτή προέκυψε το ανανεωμένο σύστημα, το οποίο έχει τις εξής αλλαγές, σε σχέση με το προηγούμενο:

- α) Προσετέθησαν νέες ή διορθώθηκαν οι υπάρχουσες τιμές f με βάση τον αυξημένο αριθμό δεδομένων.
- β) Απλοποιήθηκε το σύστημα: χρησιμοποιούνται τιμές f μόνο για ετεροάτομα. Μετά την αφαίρεσή τους από ένα μόριο, αθροίζονται όλα τα άτομα C και όλα τα άτομα H, οπότε λαμβάνεται η μορφή $C_xH_y = x f_C + y f_H = x 0,110 + y 0,205$.
- γ) Παρατηρήθηκε ότι σε πολλά μόρια η διαφορά μεταξύ της πειραματικής τιμής $\log P$ και της υπολογισμένης με το σύστημα των f ήταν αριθμός πολλαπλάσιος μιάς σταθερής τιμής, την οποία ονόμασαν «μαγική σταθερά» («magic constant», C_M). Αυτή η C_M είναι ίση με 0,219.
- δ) Κατέληξαν λοιπόν ότι αυτή η τιμή πρέπει να προστίθεται (αλγεβρικά) ως διορθωτικός παράγοντας, στο άθροισμα των τιμών f . Δηλαδή, η τιμή συντελεστή κατανομής τώρα δίνεται από την εξίσωση: $\log P = \sum a f + \beta C_M$, όπου f είναι η λιπόφιλη κλασματική σταθερά, a είναι αριθμός που δείχνει πόσες φορές το συγκεκριμένο μοριακό κλάσμα (ετεροάτομο, C ή H) συναντάται στο μόριο, C_M σταθερά ίση με 0,219 και β αριθμός που δηλώνει πόσες φορές η σταθερά C_M θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψη.
- ε) Πότε πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη η τιμή C_M ; Όταν στο μόριο συναντώνται περιπτώσεις όπως:
- ✓ Κορεσμένη αλειφατική αλυσίδα: $+2C_M$
 - ✓ Κορεσμένο αλεικυκλικό σύστημα: $+2C_M$
 - ✓ Διακλάδωση αλκυλίου: $-1C_M$
 - ✓ Διακλάδωση μιάς αρωματικής υδρογονανθρακικής ομάδας: $+1C_M$
 - ✓ Τριπλός δεσμός: $-1C_M$
 - ✓ Δύο ηλεκτραρνητικές ομάδες που απέχουν κατά ένα άτομο C: $+3C_M$
 - ✓ Δύο ηλεκτραρνητικές ομάδες που απέχουν κατά δύο άτομα C: $+2C_M$
 - ✓ Συζευγμένα αρύλια: $+1C_M$
 - ✓ Εκτεταμένη συζυγία σε αλυσίδα: $+2C_M$
 - ✓ Δεσμός H: $+3C_M$
 - ✓ Ομάδα O-C-Ar: $+1C_M$

Ως παράδειγμα αναφέρεται πάλι ο προσδιορισμός της τιμής $\log P$ της διφαινυδραμίνης:

ΔιφαινυδραμίνηΜοριακός τύπος: C₁₇H₂₁NO

Ετεροάτομα: -O- (αλειφατικό), -N- (αλειφατικό)

Υπόλοιπο: C₁₇H₂₁C_M: Δύο ηλεκτραρνητικές ομάδες (O, N) που απέχουν 2C, +2C_MΔιακλάδωση μιάς αρωματικής υδρογονανθρακικής ομάδας, +1C_MΟμάδα O-C-Ar: +1C_MΔηλ.: logP = f_(O) + f_(N) + 17f_(C) + 21f_(H) + 4C_M, ή

$$\log P = (-1,545) + (-2,074) + 17 \times 0,110 + 21 \times 0,205 + 4 \times 0,219$$

$$\log P = 3,43$$

$$\text{Πειραματική } \log P = 3,27$$

4) Η αναθεωρημένη μέθοδος των Leo και Hansch: Προς απλοποίηση του αρχικού συστήματος του Hansch, οι Leo και Hansch επινόησαν έναν παρεμφερή με των Rekker και Mannhold τρόπο υπολογισμού της λιποφιλικότητας, όχι πια «αποικοδομητικό» (δηλ. «τεμαχισμό» του μορίου σε μικρότερα τμήματα), αλλά «ανοικοδομητικό». Αρχίζει με λίγες, βασικές τιμές π θραυσμάτων (π.χ. C, CH, CH₂) και σταδιακά ανοικοδομεί το μόριο εισάγοντας πολυάριθμους «διορθωτικούς παράγοντες», αναλόγως προς τα δομικά χαρακτηριστικά κάθε μορίου. Συχνά ο αριθμός των «διορθωτικών παραγόντων» είναι τόσο μεγάλος, ώστε είναι δυσχερής ο υπολογισμός του logP χωρίς τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Φυσικά, υπάρχει το αντίστοιχο λογισμικό, το οποίο τώρα πλέον είναι ελεύθερο μέσω διαδικτύου.

Αναφέρονται εδώ μόνο μερικοί από τους «διορθωτικούς παράγοντες», οι οποίοι χρησιμοποιούνται αναλόγως προς: μήκος αλύσου, μέγεθος δακτυλίου, διακλάδωση, ύπαρξη διπλού δεσμού, ύπαρξη τριπλού δεσμού, αρωματικό χαρακτήρα, σύνδεση δακτυλίων, πολλαπλή αλογόνωση, δεσμό υδρογόνου, κ.λ.π.



12. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΣΧΕΣΗ ΔΟΜΗΣ - ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ (QSAR)

12.1 *Εισαγωγή*: Πριν αναπτύξουμε το κεφάλαιο αυτό, θα αναφέρουμε σύντομα παρατηρήσεις σχετικά με το πώς εκφράζουμε ποσοτικά, δηλαδή με αριθμούς, τη βιολογική δράση.

Συνήθως, ορίζουμε την **απόκριση**, **W**, ως το μέγεθος της αλλαγής σε μια μετρήσιμη βιολογική παράμετρο μετά από χορήγηση φαρμάκου, και αυτή η ποσότητα εκφράζεται ως

συνάρτηση της δόσης. Αυτό καταλήγει στην καμπύλη δόσης – απόκρισης, που, όταν ληφθεί σε ημιλογαριθμική κλίμακα, είναι σιγμοειδής.

Η **βιολογική δραστηριότητα**, **A**, τώρα μπορεί να εκφραστεί με δύο τρόπους:

➤ Ως δόση (C) για σταθερή απόκριση, οπότε είναι απλώς το αντίστροφο αυτής της δόσης:

$$A = 1/C, \text{ με } W = \text{σταθερή.}$$

Με τον τρόπο αυτό η δραστηριότητα μπορεί να εκφραστεί, π.χ. ως *μέση αποτελεσματική δόση* (ED₅₀, δόση που απαιτείται για να προκληθεί απόκριση συγκεκριμένης έντασης στο 50% του πληθυσμού), ή *μέση θανατηφόρος δόση* (LD₅₀, δόση που προκαλεί το θάνατο στο 50% του πληθυσμού).

➤ Ως απόκριση σε σταθερή δόση, οπότε μετράται η απόκριση, **W**, που εμφανίζεται στη συγκεκριμένη δόση, και αυτό αποτελεί την έκφραση της βιολογικής δραστηριότητας:

$$A = W, \text{ με } C = \text{σταθερή.}$$

12.2 Γενικά περί QSAR: Το ερώτημα αν υπάρχει ποσοτική σχέση μεταξύ της χημικής δομής και της βιολογικής δράσης φαρμάκων διατυπώθηκε ήδη από τον 19^ο αιώνα και μορφοποιήθηκε από τους Cum-Brown και Frazer στη σχέση $A = f(S)$, όπου το μέτρο της βιολογικής δράσης, **A**, (δηλαδή η δραστηριότητα) είναι συνάρτηση των δομικών χαρακτηριστικών, (**S**), του φαρμάκου.

Από τότε, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να βρεθούν και να διατυπωθούν μαθηματικές σχέσεις οι οποίες θα συνδέουν ποσοτικά τη βιολογική δράση με διάφορες ιδιότητες του μορίου. Καθώς οι απλούστερες μαθηματικές σχέσεις είναι γραμμικές, τα περισσότερα πρότυπα είναι στην ουσία προσπάθεια να εξαχθεί εξίσωση της μορφής:

Βιολογική δράση = $a_0 + \sum a_i x_i$, όπου a_0 είναι σταθερά, με το x_i περιγράφονται οι ιδιότητες των μορίων, και η τιμή a_i περιγράφει τη συμμετοχή κάθε ιδιότητας στη βιολογική δράση.

Οι Meyer και Overton ανακάλυψαν ότι οι περισσότερες ξένες στον οργανισμό οργανικές ενώσεις διαπερνούν τα κύτταρα των ιστών με τρόπο που δείχνει ότι οι μεμβράνες έχουν λιπώδη φύση. Επίσης, βρήκαν ότι η διέλευση δια μέσου των κυτταρικών αυτών φραγμών και η επακόλουθη (ναρκωτική) δράση φαρμάκων βαίνει παράλληλα με τον συντελεστή κατανομής μεταξύ n-οκτανόλης – νερού των (αναισθητικών) φαρμάκων που μελετήσανε. Ένα παράδειγμα που επιβεβαιώνει την αρχή των Meyer – Overton, ότι δηλαδή η κατανομή των φαρμάκων μεταξύ n-οκτανόλης – νερού είναι παράλληλη με την κατανομή αυτών μεταξύ μιας υδατικής εξωβιοφάσης και ενός λιπόφιλου τόπου δράσης στη βιοφάση, άρα παράλληλη με τη δραστηριότητα, περιγράφεται με την εξίσωση $\log 1/C = 0,94 \log P$. Στην εξίσωση αυτή, **C** είναι οι συγκεντρώσεις διαφόρων φαρμάκων που προκαλούν ίσου βαθμού αναισθησία σε γυρίνους, και **P** ο συντελεστής κατανομής των φαρμάκων αυτών.

Στη γραμμική σχέση $\log 1/C = \alpha \log P + \beta$, το α είναι το μέτρο της ευαισθησίας της βιολογικής δράσης στην επίδραση της λιποφιλικότητας, και το β είναι ο συντελεστής της «εσωτερικής δραστικότητας» των εξεταζομένων φαρμάκων. Σύγκριση των τιμών β σε εξισώσεις για διαφορετικές ομάδες φαρμάκων που έχουν τον ίδιο μηχανισμό δράσης επιτρέπει ποσοτική σύγκριση της «εσωτερικής δραστικότητας» των διαφόρων χαρακτηριστικών ομάδων. Αυτή η διαφορά στην δραστικότητα μπορεί να αποδοθεί στους δύο άλλους κύριους παράγοντες που επιδρούν στη δράση, πλην της λιποφιλικότητας, δηλ. στον στερεοχημικό και ηλεκτρονικό χαρακτήρα κάθε ομάδας.

Γρήγορα έγινε αντιληπτό ότι είναι πολύ περιορισμένος ο αριθμός των περιπτώσεων στις οποίες μια μόνο ιδιότητα του μορίου ευθύνεται για τη βιολογική δράση, αλλά μάλλον αυτή πρέπει να εξετασθεί ως αποτέλεσμα ποικίλων παραμέτρων, ανάμεσα στις οποίες, όμως, κυρίαρχη θέση εξακολουθεί να κατέχει ο συντελεστής κατανομής.

Το πρότυπο του Hansch δέχεται ότι, για την εύρεση ποσοτικής σχέσης μεταξύ μοριακής δομής και βιολογικής δράσης πρέπει να συμμετέχουν, εκτός από τη λιποφιλικότητα, και ηλεκτρονικές παράμετροι. Έτσι αρχικά, σε επέκταση της εξίσωσης Hammett, διατυπώθηκε η σχέση: $\log 1/C = k_1(\log P) + \rho\sigma + k_2$, όπου C είναι η συγκέντρωση κάθε μέλους μιας σειράς δομών που δίνει το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα, P είναι ο συντελεστής κατανομής αυτού στο σύστημα n-οκτανόλη-νερό, σ είναι η ηλεκτρονική σταθερά Hammett, η οποία εξαρτάται από τη φύση και τη θέση των υποκαταστατών, και οι τιμές k_1 , ρ και k_2 είναι σταθερές χαρακτηριστικές της σειράς που εξετάζεται.

Αργότερα, η παραπάνω εξίσωση μετατράπηκε στην: $\log 1/C = -k_1(\log P)^2 + k_2(\log P) + \rho\sigma + k_3$. Με την εξίσωση αυτή προτείνεται το παραβολικό, και όχι το γραμμικό πρότυπο, με το οποίο εκφράζεται η άποψη ότι η βιολογική δράση, σχετιζόμενη με τη λιποφιλικότητα, αρχικά αυξάνεται με την αύξηση του $\log P$, στη συνέχεια φθάνει στο «σημείο αποκοπής» και κατόπιν, αυξανόμενης της τιμής $\log P$, η δράση δεν αυξάνεται παραπέρα. Ο όρος $(\log P)^2$ προστέθηκε με την αιτιολογία ότι μεταξύ των τιμών $P=0$ και $P=\infty$ (όταν δηλαδή το φάρμακο είναι πολύ υδατοδιαλυτό ή πολύ λιποδιαλυτό) υπάρχει μια ιδανική τιμή P^0 για κάποια σειρά φαρμάκων που δρουν σε ένα βιολογικό σύστημα, τέτοια ώστε εκείνα τα μέλη της σειράς που έχουν τιμή συντελεστή κατανομής ίση με P^0 θα συναντήσουν τα λιγότερα εμπόδια στη διαδρομή τους στον οργανισμό από το σημείο εφαρμογής τους στο σημείο της δράσης τους, δηλαδή θα φθάσουν στο σημείο δράσης στο μικρότερο χρόνο.

Στις παραπάνω εξισώσεις περιλαμβάνεται και η ηλεκτρονική σταθερά σ από την εξίσωση Hammett. Η σταθερά αυτή χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τον Hammett σε αρωματικά συστήματα μόνο για αντιδράσεις όπου ο υποκαταστάτης και το κέντρο της αντίδρασης είναι

«απομονωμένα», δηλαδή όταν δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις λόγω συντονισμού. Όταν αυτή η προϋπόθεση δεν τηρείται, χρησιμοποιείται η σταθερά σ^- ή σ^+ , ανάλογα εάν κατά την αντίδραση δημιουργείται περίσσεια ή έλλειψη ηλεκτρονίων στο σημείο της αντίδρασης. Επίσης, διαφορετικές τιμές σ προβλέπονται για αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Στις αλειφατικές ενώσεις χρησιμοποιούνται οι ηλεκτρονικές σταθερές σ^* του Taft.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι έχουν δημιουργηθεί αρκετά συστήματα ηλεκτρονικών σταθερών, το καθένα προσαρμοσμένο στις ηλεκτρονικές συνθήκες της αλληλεπίδρασης που εξετάζεται κάθε φορά. Αυτή η αύξηση στον αριθμό των ηλεκτρονικών σταθερών τείνει να αλλοιώσει την ισχύ της αρχικής άποψης του Hammett, κυρίως σε βιολογικά συστήματα όπου ο ακριβής μηχανισμός των αντιδράσεων είναι συχνά άγνωστος.

Εάν ληφθούν υπ' όψη και οι παράμετροι οι οποίες οφείλονται στη στερεοχημεία του μορίου του φαρμάκου και του υποδοχέα, λαμβάνεται η εξίσωση:

$\log 1/C = -k_1(\log P)^2 + k_2(\log P) + \rho\sigma + k_3E_s + k_4$, όπου η παράμετρος E_s περιγράφει την επίδραση της στερεοχημείας στη βιολογική δράση. Η στερεοχημεία του φαρμάκου και οι στερεοχημικές απαιτήσεις του υποδοχέα συχνά έχουν μεγάλη σημασία, εφ' όσον τόσο οι ενδο- όσο και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μπορεί να είναι κρίσιμες.

Δυστυχώς, η περιγραφή των στερεοχημικών απαιτήσεων για βιολογική δράση, χρησιμοποιώντας στερεοχημικές παραμέτρους, παραμένει σε σχετικά στοιχειώδες επίπεδο, διότι δεν έχουν προσδιοριστεί πειραματικά πολλές στερεοχημικές επιδράσεις. Έχει δειχθεί ότι οι τιμές της E_s έχουν γραμμική σχέση με την ακτίνα van der Waals. Ο μεγαλύτερος περιορισμός στη χρησιμότητα τιμών για περιγραφή των στερεοχημικών δράσεων είναι ότι αυτές θεωρούν τους υποκαταστάτες σφαιρικά συμμετρικούς. Όμως, τα περισσότερα βιολογικά δραστικά μόρια έχουν εύκαμπτους υποκαταστάτες, των οποίων το σχήμα στο σημείο της δράσης (π.χ. στο περιβάλλον του υποδοχέα) τροποποιείται από αρκετές αλληλεπιδράσεις.

Συμπερασματικά, φαίνεται από θεωρητική αλλά και από πρακτική άποψη ότι οι υπάρχουσες στερεοχημικές παράμετροι απέχουν από του να είναι τέλειες για χρήση σε ποσοτικές σχέσεις μεταξύ βιολογικής δράσης και μοριακής δομής. Προς το παρόν, η καλύτερη προσέγγιση στο πρόβλημα παραμένει η αξιολόγηση των σχετικών πλεονεκτημάτων των διαφόρων στερεοχημικών παραμέτρων σε συνδυασμό με την συγκεκριμένη περίπτωση.

Τέλος, παρ' όλων ότων στο κεφάλαιο αυτό εμφανίστηκαν οι διάφορες φυσικοχημικές σταθερές να παίρνουν μέρος ξεχωριστά και αναξάρτητα στην ποσοτική εκτίμηση της δράσης ενός βιολογικά δραστικού μορίου, στην πραγματικότητα υπάρχει μεγάλη αλληλεξάρτηση και αλληλεπικάλυψη των παραμέτρων αυτών. Για παράδειγμα, παράμετροι που αποδίδουν την επίδραση της λιποφιλικότητας δεν είναι ανεπηρέαστες από στερεοχημικές και ηλεκτρονικές

επιδράσεις. Επί πλέον, ο πολυδιαμερισματικός χαρακτήρας (γαστρεντερικό σύστημα, αίμα, διάφοροι ιστοί) της μεταφοράς και των αλληλεπιδράσεων στην πορεία του φαρμάκου στον οργανισμό, καθώς επίσης ο μεταβολισμός και η απέκκριση του φαρμάκου κάνουν την αντιμετώπιση δυσκολότερη. Η προσπάθεια για τη σύγχρονη εκτίμηση και εφαρμογή όλων των παραμέτρων με σκοπό την εξαγωγή αξιοπίστων ποσοτικών σχέσεων μεταξύ μοριακής δομής και βιολογικής δραστηριότητας φαρμάκων συνεχίζεται και συμπληρώνεται συνεχώς με νέα στοιχεία.



13. ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

13.1 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (blood-brain barrier, BBB) αποτελεί εξειδικευμένη φυσιολογική δομή, της οποίας ο κύριος ρόλος είναι η διατήρηση της ομοιόστασης στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Η ύπαρξη του BBB αποκαλύφθηκε από μελέτες του Erlich στα τέλη του 19^{ου} αιώνα. Παρατήρησε ότι ο εγκεφαλικός ιστός επιμύων δεν χρωματιζόταν όταν ένα χρώμα ενίετο στη γενική κυκλοφορία. Αντιθέτως, ο εγκεφαλικός ιστός χρωματιζόταν όταν το χρώμα trypan blue ενίετο απ' ευθείας στα αγγεία του εγκεφάλου, πράγμα που υπέδειξε την ύπαρξη κάποιου φραγμού στην περιοχή των εγκεφαλικών μικροαγγείων.

Ο φυσικός αυτός φραγμός, που χωρίζει το αίμα από τον εγκεφαλικό παρεγχυματικό ιστό, χαρακτηρίζεται από ειδικά τριχοειδή αγγεία, των οποίων τα γειτονικά ενδοθηλιακά κύτταρα ενώνονται ερμητικά μεταξύ τους χωρίς μεσοκυττάρια διάκενα. Με τον τρόπο αυτό εμποδίζεται η λόγω όγκου και ωσμωτικών δυνάμεων ανταλλαγή ουσιών μεταξύ αίματος και εγκεφαλικού ιστού. Οι στεγανές αυτές κυτταρικές συνδέσεις εμποδίζουν τη μη ειδική μεταφορά ιόντων μεταξύ των κυττάρων του BBB, έτσι ο μηχανισμός μεταφοράς λειτουργεί ασυνεχώς και σε ελάχιστο βαθμό στις περιοχές αυτές. Συνολικά, ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός απαρτίζεται, αρχίζοντας από τον αυλό του αγγείου προς την περιφέρεια αυτού, από ένα πολύπλοκο κυτταρικό σύστημα ενδοθηλιακών κυττάρων, περιθηλιακών κυττάρων, περιαγγειακών μακροφάγων και αστρογλοίας. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μαζί με τα περιθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα είναι ενσωματωμένα σ' ένα βασικό υμένα (βασικό πέταλο). Ο αυλός των τριχοειδών καλύπτεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα περιθηλιακά κύτταρα είναι συσταλά κύτταρα που περιβάλλουν το ενδοθήλιο προς την μεριά της περιφέρειας των αγγείων. Τα περιθηλιακά κύτταρα θεωρείται ότι έχουν σημασία στον έλεγχο της ανάπτυξης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Λόγω της στενής επαφής τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ελέγχουν την ακεραιότητα των τριχοειδών και

συντηρούν την λειτουργικότητα του φραγμού. Επίσης, τα περιθηλιακά κύτταρα περιορίζουν την διαπερατότητα, λόγω της ικανότητάς τους να φαγοκυτταρώνουν ουσίες οι οποίες κατάφεραν να διαβούν τον BBB. Τέλος, τα κύτταρα της αστρογλοίας προβάλλουν το άκρο τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ασφαρίζοντας την ερμητική σύνδεση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 99% των τριχοειδών του εγκεφάλου υπάρχει αιματοεγκεφαλικός φραγμός. Πάντως, θα πρέπει να τονισθεί ότι αρκετές περιοχές του ΚΝΣ στερούνται BBB, και σ' αυτές τις περιοχές τα αγγεία δεν υπακούουν στην παραπάνω μορφολογική περιγραφή. Στις περιοχές αυτές, τα αγγεία είναι μορφολογικώς παρόμοια με τα κοινά τριχοειδή. Δομικά χαρακτηριστικά των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων στις περιοχές που στερούνται αιματοεγκεφαλικού φραγμού είναι ότι οι μεσοκυττάρια συνδέσεις μερικώς μόνο φράσσουν τα κενά μεταξύ γειτονικών κυττάρων. Επομένως, είναι κατανοητό ότι ο BBB δεν είναι τελείως στεγανός, αλλά σε ορισμένες περιοχές του εγκεφάλου παρατηρείται διάχυση ουσιών μέσω των τριχοειδών αγγείων. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι, καθώς η επιφάνεια του BBB είναι κατά περίπου 5000 φορές μεγαλύτερη από αυτή που στερείται του φραγμού αυτού, η κύρια είσοδος των ενώσεων από το αίμα στον εγκέφαλο γίνεται μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Ο BBB εξυπηρετεί πολλές κρίσιμες λειτουργίες, όπως: διατήρηση του νευρωνικού μικροπεριβάλλοντος και της ομοιόστασης του ΚΝΣ, ινωδόλυση και πήξη του αίματος, τόνο αγγείων, ενεργοποίηση και μετανάστευση αιμοκυττάρων σε φυσιολογικές ή παθολογικές διαδικασίες.

13.2. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Σε υγιή κατάσταση, εκτός του ελέγχου εισόδου φαρμάκων ή άλλων ενώσεων στον εγκέφαλο, η στιβάδα των ενδοθηλιακών κυττάρων αποκλείει τη θρόμβωση, διότι εμποδίζει τη συγκόλληση αιμοπεταλίων και την ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης του αίματος. Ο πολύ εξειδικευμένος BBB απομονώνει τον εγκέφαλο από την επίδραση του ανοσολογικού συστήματος και επιτρέπει μόνο σε λίγα μονοπύρηνια, όπως στα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα, να μεταναστεύσουν στο ΚΝΣ.

Όμως, η λειτουργικότητα του BBB ως φραγμού μπορεί να μεταβληθεί δραματικά κατά τη διάρκεια ποικίλων παθήσεων του ΚΝΣ, π.χ. σε εγκεφαλική υπέρταση ή σπασμούς, ή καταστάσεις φλεγμονής εγκεφάλου, όπως σκλήρυνση κατά πλάκας ή εγκεφαλική λοίμωξη. Η αυξημένη διαπερατότητα στις περιπτώσεις αυτές είναι αποτέλεσμα είτε διάνοιξης των ερμητικών συνδέσεων των ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε αυξημένης πινοκύττωσης και σχηματισμού διακυτταρικών διαύλων. [Πινοκύττωση (από την ελληνική λέξη «πίνω») είναι

μηχανισμός ανάλογος προς την φαγοκύττωση, με τον οποίο τα κύτταρα εσωτερικεύουν εξωκυττάριο υγρό και τα διαλυμένα συστατικά του. Περιλαμβάνει το σχηματισμό μικρών εσοχών (caveolae) στην κυτταρική μεμβράνη, οι οποίες στη συνέχεια κλείνουν και αποκόπτονται, ώστε να σχηματιστούν στο κυτταρόπλασμα μικρά κυστίδια (πινοσώματα) γεμάτα υγρό. Θεωρείται ότι είναι τρόπος ενεργού μεταφοράς μέσω της κυτταρικής μεμβράνης. Τα κύτταρα που έχουν την ιδιότητα της πινοκυττάρωσης λέγονται πινοκύτταρα].

Φλεγμονή

Οι κυτοκίνες (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου TNF-α, ιντερλευκίνες IL-1, IL-6) είναι βασικοί μεσολαβητές φλεγμονής. Στο ΚΝΣ κυτοκίνες παράγονται από διεγερμένα μακροφάγα, κύτταρα μικρογλοίας, αστροκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι κυτοκίνες μπορούν να επηρεάσουν την είσοδο ουσιών στον εγκέφαλο διανοίγοντας τον BBB. Έτσι, η παραγωγή κυτοκινών από τα κύτταρα του BBB συνεισφέρουν στη συνολική φλεγμονώδη απόκριση του ΚΝΣ σε περίπτωση προσβολής ή λοίμωξης, αλλά και στη λειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Νευρολογικές παθήσεις που επηρεάζουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό

Σκλήρυνση κατά πλάκας (Multiple sclerosis, MS).

Είναι αυτοάνοση νόσος που τελικά προκαλεί απομυελίνωση άξονα νευρώνων στο ΚΝΣ. Η μυελίνη, η οποία φυσιολογικά καλύπτει τον άξονα των εμυέλων νευρώνων, καταστρέφεται, με συνέπεια τη μείωση της ικανότητας νευρομεταβίβασης. Εκδηλώνεται με περιόδους έξαρσης και ύφεσης της νόσου. Πρώιμα συμπτώματα είναι αδυναμία και μούδιασμα ενός ή περισσότερων άκρων, που συνοδεύεται από μυρμηκίαση. Όταν εγκατασταθεί η νόσος, εμφανίζονται νευρολογικές διαταραχές στο εγκεφαλικό στέλεχος, στο οπτικό νεύρο, στην παρεγκεφαλίδα και στο ωτιαίο μυελό, καθώς και δυσλειτουργίες μνήμης και προσοχής. Η παθολογία της νόσου χαρακτηρίζεται από πολλαπλές αλλοιώσεις στα τριχοειδή αγγεία της περικολιακής περιοχής. Οι αλλοιώσεις αυτές συνοδεύονται από εγκεφαλικό οίδημα γύρω από τη λύση, διήθηση μονοπυρήνων και εμφάνιση υπολειμμάτων της κατεστραμμένης μυελίνης στα μακροφάγα. Με την πάροδο του χρόνου, η μυελίνη εξαφανίζεται από την περιοχή της βλάβης και αναπτύσσεται διάχυτη φλεγμονή της γλοίας.

Κατά την MS μειώνεται η ακεραιότητα του BBB. Αυτό, σε συνδυασμό με τη διαδικασία φλεγμονής στην περιοχή των αλλοιώσεων, που επίσης οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα του BBB, συντελούν στην επιδείνωση της νόσου. Η συνεχής έκθεση των απομυελινωμένων νευρικών κυττάρων σε συστατικά του αίματος έχει δυσμενή επίδραση και στην αναγέννηση της μυελίνης.

Εγκεφαλική ισχαιμία

Οι περισσότεροι κοινοί τύποι εγκεφαλικού επεισοδίου είναι η εγκεφαλική θρόμβωση και η εγκεφαλική εμβολή, που μπορεί να συνοδεύονται από εγκεφαλική ή υπαραχνοειδή αιμορραγία λόγω βλάβης των αρτηριών. Μετά από ισχαιμικό επεισόδιο λόγω θρόμβωσης ή εμβολής, επέρχεται και βλάβη του BBB, που μπορεί να ακολουθείται και από διάνοιξη αυτού, όπως διαπιστώνεται από εμφάνιση πρωτεϊνών του αίματος στον ισχαιμικό εγκεφαλικό ιστό. Η ίδια η διάνοιξη του BBB πιθανώς να μη συντελεί στην προοδευτική αλλοίωση που παρατηρείται μετά από ισχαιμικό επεισόδιο, αν και η βλάβη των εγκεφαλικών αγγείων μπορεί να προκαλέσει εγκεφαλικό οίδημα. Όμως, η αυξημένη διήθηση μονοκυττάρων και μακροφάγων δια του BBB στις προσβεβλημένες περιοχές μπορεί να οδηγήσει σε περιαγγειακή φλεγμονώδη απόκριση. Έχει βρεθεί ότι η αύξηση της διαπερατότητας του BBB μετά από ισχαιμικό επεισόδιο αναστέλλεται σημαντικά μετά από ενδοεγκεφαλική χορήγηση υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και καταλάσης. Οι ενδείξεις αυτές υποδεικνύουν ότι η ρίζα ανιόντος υπεροξειδίου, που παράγεται στον ισχαιμικό εγκέφαλο, επηρεάζει τη διαπερατότητα του BBB.

Εγκεφαλικό οίδημα

Αυτό διακρίνεται σε δύο διαφορετικούς τύπους, με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά: **(α) Αγγειογενές ή «υγρό» οίδημα**, αποτέλεσμα αυξημένης διαπερατότητας του BBB, και **(β) Κυττοτοξικό ή «ξηρό» οίδημα**, αποτέλεσμα της διόγκωσης των εγκεφαλικών παρεγχυματικών κυττάρων. Το αγγειογενές οίδημα είναι αυτό που εμφανίζεται συχνά μετά από βλάβη λόγω ισχαιμικού επεισοδίου, όγκων εγκεφάλου ή αλλοιώσεων από φλεγμονή. Με την έναρξη αγγειογενούς οιδήματος εμφανίζονται μορφολογικές αλλαγές στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, όπως διάνοιξη των ερμητικών συνδέσεων και αλλοίωση της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων, που ακολουθούνται από μετανάστευση λευκοκυττάρων μέσα στο ΚΝΣ.

Επίσης, η αυξημένη διαπερατότητα του BBB, που παρατηρείται κατά το αγγειογενές οίδημα, μπορεί να είναι αποτέλεσμα αυξημένης πινοκύτωσης των εγκεφαλικών ενδοθηλιακών κυττάρων. Η σεροτονίνη επάγει τη δημιουργία πινοσωμάτων, επομένως και τη μεταφορά ουσιών δια μέσου του BBB. Και η ισταμίνη μπορεί να συμβάλλει σε αλλαγές της πινοκυτωτικής δραστηριότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Κατά την εγκεφαλική βλάβη, ελευθερώνονται μεγάλα ποσά ισταμίνης από τους κατεστραμένους ισταμινεργικούς νευρώνες και τα μαστοκύτταρα. Η ελευθερούμενη ισταμίνη ενεργοποιεί τους υποδοχείς H₁ των εγκεφαλικών ενδοθηλιακών κυττάρων, οι οποίοι είναι συνεζευγμένοι με την αδενυλική κυκλάση μέσω G πρωτεϊνών. Η επακόλουθη αύξηση του cAMP συντελεί σε αύξηση της πινοκύτωσης. Θεωρείται ότι και άλλοι δεύτεροι αγγελιοφόροι, όπως cGMP και αραχιδονικό οξύ, μπορεί να συμμετέχουν στην αύξηση της διαπερατότητας του BBB στο αγγειογενές εγκεφαλικό οίδημα.

Το κυτοτοξικό εγκεφαλικό οίδημα, που μπορεί να προκληθεί από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, χαρακτηρίζεται από αυξημένη περιεκτικότητα των κυττάρων του ΚΝΣ σε νερό, που οφείλεται μάλλον σε διαταραχή του συστήματος μεταφοράς K^+ και Na^+ , παρά σε αλλαγές της διαπερατότητας του BBB.

Νόσος του Alzheimer

Κατά τη νόσο του Alzheimer επηρεάζονται και τα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου, τα οποία εκφυλίζονται λόγω της απόθεσης αμυλοειδούς πεπτιδίου στην εξωτερική επιφάνεια αυτών. Η πάχυνση αυτή των τριχοειδών μειώνει την ελαστικότητα των αγγείων, επηρεάζοντας έτσι την αιματική ροή στον εγκέφαλο και, κατά συνέπεια, τη μεταφορά συστατικών απαραίτητων για τη λειτουργία του.

Έχουν βρεθεί αυξημένες συγκεντρώσεις αλβουμίνης, καθώς και απτοσφαιρίνης, πρωτεΐνης μεγάλου μοριακού βάρους (13,5 kDa) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με νόσο του Alzheimer, ως αποτέλεσμα αυξημένης διαπερατότητας του BBB. Οι ασθενείς με νόσο του Alzheimer έχουν μειωμένο αριθμό μιτοχονδρίων και ερμητικών συνδέσεων στα εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα, γεγονότα που υποδεικνύουν διαρροή μέσω του BBB. Η παρατηρούμενη περιαγγειακή φλεγμονή κατά τη νόσο του Alzheimer επιδεινώνει την αλλοίωση του BBB.

Άνοια λόγω AIDS

Το σύνδρομο της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) επηρεάζει σοβαρά και το ΚΝΣ. Ποσοστό περίπου 60% των ασθενών με AIDS αναπτύσσουν άνοια και υποφέρουν από νευρολογικές δυσλειτουργίες. Αυτές περιλαμβάνουν λοιμώξεις στον εγκέφαλο λόγω ανοσοανεπάρκειας, νεοπλασίες εγκεφάλου και λοιμώξεις μηνίγγων. Φαίνεται ότι οι κυτοκίνες διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην ανάπτυξη άνοιας από AIDS, καθώς ευρίσκονται αυξημένα επίπεδα TNF- α , IL-6 και IL-1 στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με AIDS.

Η λειτουργικότητα του BBB επηρεάζεται σημαντικά κατά την άνοια λόγω AIDS. Η προκαλούμενη αυξημένη διαπερατότητα του BBB όχι μόνο οδηγεί σε διαταραχή της μεταφοράς ουσιών δια του BBB, αλλά διευκολύνει την είσοδο μονοκυττάρων και μακροφάγων που είναι προσβεβλημένα από τον HIV-1 στο ΚΝΣ.

13.3. ΔΙΑΒΑΣΗ ΔΙΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ

Γενικώς, η παθητική διάβαση δια του BBB εξαρτάται πολύ από τη λιποφιλικότητα και το μέγεθος των μορίων. Αν και ο BBB είναι πολύ λιγότερο διαπερατός, σε σχέση με το ενδοθήλιο των υπολοίπων αγγείων, οι περισσότερες λιποδιαλυτές ενώσεις (π.χ. γενικά αναισθητικά, αιθανόλη) μπορούν να τον διαβούν. Επίσης, διέρχονται απαραίτητες ενώσεις όπως γλυκόζη και

ασκορβικό οξύ. Πολλές άλλες ενώσεις, όπως και τα φαγοκύτταρα που κυκλοφορούν με το αίμα, αποκλείονται από τον εγκέφαλο.

Μικρού όγκου, υδατοδιαλυτά συστατικά της τροφής και μερικά μακρομόρια διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό με μηχανισμούς εξειδικευμένων μεταφορέων ή με διευκολυνόμενη διάβαση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του BBB εκφράζουν αριθμό μεταβολικών ενζύμων, όπως MAO-A, MAO-B, COMT, λιποξυγονάσης και ψευδοχολινεστεράσης, καθώς και μεταφορέων, οι οποίοι διευκολύνουν την εκροή ορισμένων ενώσεων από τον εγκέφαλο προς το αίμα, ή εμποδίζουν την είσοδο αυτών στον εγκέφαλο. Αρκετοί από αυτούς τους μεταφορείς είναι κατανομημένοι συμμετρικά στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων τόσο του αυλού όσο και της εξωτερικής επιφάνειας των τριχοειδών αγγείων, ενώ άλλοι ευρίσκονται σε ασύμμετρη κατανομή. Για παράδειγμα, ο μεταφορέας της γλυκίνης εκφράζεται περισσότερο στην εξωτερική αγγειακή επιφάνεια. Η λειτουργική σημασία αυτής της ασύμμετρης κατανομής είναι ότι η γλυκίνη θα πρέπει να διατηρείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο εγκεφαλικό παρεγχυματικό ιστό, και να παρεμποδίζεται η συσσώρευση αυτού του ανασταλτικού αμινοξέος. Με την κατανομή των μεταφορέων κυρίως στην εξωτερική επιφάνεια των αγγείων, η πιθανή περίσσεια του μεταφέρεται από το μεταφορέα προς το αίμα. Κατά ανάλογο τρόπο, το ένζυμο ATPάση επίσης εκφράζεται εκλεκτικά στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης των τριχοειδών. Η ATPάση συμμετέχει στο σύστημα της αντλίας που μεταφέρει ταυτόχρονα Na^+ από το ενδοθήλιο στον εγκέφαλο, και K^+ από τον εγκέφαλο προς το αγγείο. Καθώς τα K^+ επηρεάζουν σημαντικά τη μετάδοση των νευρικών ώσεων, αυτή η ασύμμετρη κατανομή εξασφαλίζει τη διατήρηση της βέλτιστης συγκέντρωσης ιόντων καλίου μέσα στο εξωκυττάριο υγρό του εγκεφαλικού ιστού.

Μεταξύ των πολλών πρωτεϊνικής σύστασης μεταφορέων που αυξάνουν την εκροή ορισμένων ενώσεων από τον εγκέφαλο προς το αίμα, ή εμποδίζουν την είσοδο ενώσεων στον εγκέφαλο, οι ευρύτερα μελετημένες είναι οι *p*-γλυκοπρωτεΐνες (γνωστές και ως MDRP, multidrug resistance proteins). Αυτές εξαρτώνται από ATP και συναντώνται σε αρκετούς τύπους επιθηλιακών κυττάρων του σώματος, αλλά κυρίως στην ενδοαυλική επιφάνεια της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων του BBB. Είναι υπεύθυνες για την ενεργητική μεταφορά μεγάλης ποικιλίας δομικών ανομοίων, υδατόφοβων ενώσεων από το αγγειακό ενδοθήλιο πίσω στο αίμα. Για παράδειγμα, οι τελικές συγκεντρώσεις στον εγκέφαλο αρκετών λιποφίλων ενώσεων, όπως αντινεοπλασματικών φαρμάκων-αλκαλοειδών της *vinca*, κυκλοσπορίνης A, διγοξίνης, λοπεραμιδίου ή αντι-ικών αναστολέων πρωτεασών, είναι σχετικά χαμηλές, διότι όλες αυτές οι λιπόφιλες ενώσεις είναι υποστρώματα *p*-γλυκοπρωτεϊνών.

Εκτεταμένες έρευνες, με πρότυπα *in vitro* και σε πειραματόζωα, γενετικά τροποποιημένα ώστε να στερούνται *p*-γλυκοπρωτεϊνών του BBB, ή σε πειραματόζωα που ελάμβαναν αναστολείς *p*-γλυκοπρωτεϊνών, έδειξαν ότι η απουσία της δράσης των *p*-γλυκοπρωτεϊνών του αιματοεγκεφαλικού φραγμού οδηγεί σε πολύ αυξημένη διάβαση αυτού από πολλά λιπόφιλα μόρια. Ανάλογα με το στόχο αυτών των ενώσεων στο ΚΝΣ, η απουσία *p*-γλυκοπρωτεϊνών μπορεί να αυξήσει δραματικά τη νευροτοξικότητα ή να αλλάξει ριζικά τη δράση τους.

Αν και οι ενώσεις-υποστρώματα των *p*-γλυκοπρωτεϊνών είναι ποικίλης χημικής δομής, οι λιπόφιλες αυτές ενώσεις έχουν ορισμένα γενικά κοινά χαρακτηριστικά: Οι περισσότερες έχουν είτε (α) δύο ομάδες-δότες ηλεκτρονίων, που απέχουν μεταξύ τους $2,5\pm 0,3$ Å (ομάδα ενώσεων τύπου I), είτε (β) δύο ομάδες-δότες ηλεκτρονίων που απέχουν μεταξύ τους $4,6\pm 0,6$ Å (ομάδα ενώσεων τύπου II), ή τρεις ομάδες-δότες ηλεκτρονίων, από τις οποίες οι δύο ακραίες απέχουν μεταξύ τους $4,6\pm 0,6$ Å (ομάδα ενώσεων τύπου II) και (γ) ικανότητα σχηματισμού δεσμού υδρογόνου με τη διαμεμβρανική περιοχή της *p*-γλυκοπρωτεΐνης. Επομένως, όταν επιδιώκεται σχεδιασμός ένωσης η οποία δεν πρέπει να συνδέεται με *p*-γλυκοπρωτεΐνη, τα παραπάνω δομικά στοιχεία θα πρέπει να αποφεύγονται.

Έχοντας υπ' όψη την ποικιλία των βιολογικώς δραστικών ενώσεων που επηρεάζονται από τις *p*-γλυκοπρωτεΐνες, ίσως έχει μεγάλη θεραπευτική αξία η εφαρμογή των αποκτηθεισών γνώσεων στην ανάπτυξη φαρμάκων που θα έχουν είτε μικρή είτε μεγάλη ικανότητα διάβασης του BBB, αναλόγως του επιθυμητού σκοπού. Επίσης, αναστολείς των *p*-γλυκοπρωτεϊνών θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να βελτιώσουν τη διάβαση μέσω του BBB ορισμένων φαρμάκων που προς το παρόν παρουσιάζουν μειωμένη αποτελεσματικότητα λόγω ανεπαρκούς ικανότητας εισόδου στο ΚΝΣ.

Εκτός από τις *p*-γλυκοπρωτεΐνες, άλλες πρωτεΐνες-μεταφορείς εξαρτώμενες από ΑΤΡ, αλλά προς το παρόν πολύ λιγότερο μελετημένες και χαρακτηρισμένες είναι:

- ✓ Πρωτεΐνες-μεταφορείς οργανικών ανιόντων, με τις οποίες μεταφέρεται, παραδείγματος χάρη, το αντιεπιληπτικό βαλπροϊκό οξύ.
- ✓ Πρωτεΐνες-μεταφορείς κατιονικών, φυσιολογικών ενώσεων, όπως οι μεταφορείς της σεροτονίνης και των κατεχολαμινών.

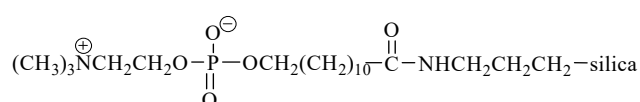
Από όσα μέχρι τώρα αναφέρθηκαν ενδεικτικά, γίνεται αντιληπτό ότι ο εγκέφαλος είναι πολύ αποτελεσματικά προστατευμένος, και ότι έχουν αναπτυχθεί αρκετά και πολύπλοκα συστήματα που ελέγχουν τη διακίνηση ουσιών στο ΚΝΣ. Επομένως, πειραματικές ή θεωρητικές προσεγγίσεις που αναπτύσσονται για να προβλέψουν την ικανότητα διάβασης του BBB από βιολογικώς δραστικές ενώσεις μπορεί μεν να καθοδηγούν προς τον επιτυχή σχεδιασμό φαρμάκων, και από την άποψη αυτή έχουν μεγάλη αξία, όμως είναι απλουστευτικές, αν

συγκριθούν με τους πολύπλοκους και εξειδικευμένους φυσιολογικούς προστατευτικούς μηχανισμούς.

Ακόμη και η θεμελιώδης προσέγγιση, ότι, εφ' όσον λιπόφιλες ενώσεις διαπερνούν τον BBB με παθητική διάχυση, άρα η λιποφιλικότητα αυτών, εκφρασμένη ως συντελεστής κατανομής μεταξύ μιας λιπόφιλης φάσης (π.χ. n-οκτανόλης ή επτανίου) και νερού θα μπορούσε να προβλέψει την είσοδο ενώσεων στο ΚΝΣ, φαίνεται, μετά από προσεκτικότερη εξέταση, ότι έχει ένα βασικό μειονέκτημα: Όπως αναφέρθηκε, τον σημαντικότερο φυσιολογικό φραγμό στη διάχυση ουσιών αποτελεί η λιπιδική διπλοστιβάδα των ενδοθηλιακών κυτταρικών μεμβρανών. Αυτή, όμως, αποτελεί ένα πολύ ανισότροπο σύστημα, το οποίο μπορεί να διακριθεί σε τουλάχιστον δύο περιοχές: (i) στη μεσεπιφάνεια μεταξύ πολικής ομάδας των φωσφολιπιδίων και του υδατικού εξωτερικού περιβάλλοντος, και (ii) στην απολική υδρογονανθρακική περιοχή. Έχει δειχθεί ότι η αταξία, δηλαδή η ελευθερία κίνησης του φωσφολιπιδίου, είναι σχετικά μεγάλη στο κέντρο της διπλοστιβάδας, δηλαδή στην περιοχή όπου ευρίσκονται οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των απέναντι απλών στιβάδων, ενώ η τάξη, άρα και η ενέργεια, γίνεται πολύ μεγαλύτερη σε τμήματα της λιπόφιλης αυτής αλυσίδας που πλησιάζουν προς την περιοχή της πολικής ομάδας του φωσφολιπιδίου. Επομένως, οι ιδιότητες της διπλοστιβάδας δεν μπορούν να αποδοθούν πλήρως από έναν ισότροπο διαλύτη. Πράγματι, έχει αποδειχθεί ότι η ταχύτητα διάχυσης μέσω της διπλοστιβάδας διαφέρει σημαντικά ακόμη και στις περιοχές της υδρογονανθρακικής αλυσίδας της διπλοστιβάδας του φωσφολιπιδίου, και είναι μικρή στην περιοχή μεγάλης τάξης και μεγάλη στην ευρισκόμενη σε μεγαλύτερη αταξία κεντρική περιοχή της διπλοστιβάδας.

Ενδιαφέρουσα εναλλακτική προσέγγιση στην απομίμηση της διπλοστιβάδας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού είναι η χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης

(HPLC), στην οποία μακρές αλειφατικές αλυσίδες ή καρβοξυακυλο-φωσφοχολίνη (π.χ. 11-καρβοξυενδεκυλο-φωσφοχολίνη) συνδέονται ομοιοπολικά με τη σίλικα (διοξείδιο του πυριτίου, το συνηθέστερο προσροφητικό σε χρωματογραφικές μεθόδους). Αυτά τα συστήματα όντως έχουν μικρού βαθμού ανισοτροπία. Πάντως, η ομοιοπολική σύνδεση αυτών των αλυσίδων διέπεται από τη χημεία του πυριτίου και ο αριθμός αυτών των αλυσίδων είναι σαφώς μικρότερος από τον αριθμό των φωσφολιπιδικών αλυσίδων της φυσιολογικής μεμβράνης. Δεν εκπλήσσει, λοιπόν, το γεγονός ότι συχνά ο συντελεστής κατανομής μιας ένωσης μεταξύ n-οκτανόλης (του συνηθέστερου λιποφίλου διαλύτη στον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής) και νερού, ή



11-καρβοξυενδεκυλοφωσφοχολίνη συνδεδεμένη στην προσροφητική ουσία

μετρήσεις λιποφιλικότητας που προσδιορίζονται από πειράματα σε HPLC δεν συσχετίζονται ικανοποιητικά με την ικανότητα της ένωσης αυτής να διαβαίνει τον BBB.

Ο πιο ασφαλής τρόπος προσδιορισμού της ικανότητας μιας ένωσης να διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό είναι η εύρεση των συγκεντρώσεων αυτής στον εγκέφαλο ($C_{εγκ}$) και στο αίμα ($C_{αιμ}$) σε σταθεροποιημένη κατάσταση (steady state). Η τιμή $\log[C_{εγκ}/C_{αιμ}]$, ή απλούστερα $\log BB$, αποτελεί το μέτρο της διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Οι πειραματικές τιμές $\log BB$ που έχουν δημοσιευθεί μέχρι τώρα καλύπτουν εύρος από $-2,0$ έως $+1,0$. Από αυτές τις ενώσεις, εκείνες που έχουν $\log BB > 0,3$ διέρχονται τον BBB εύκολα, ενώ όσες έχουν $\log BB < -1,0$ κατανέμονται πολύ λίγο στον εγκέφαλο.

Ο προσδιορισμός του $\log BB$ είναι δύσκολος και χρονοβόρος, απαιτεί μεγάλο αριθμό πειραματοζώων και τη σύνθεση των ενώσεων, συχνά και σε ραδιοεπισημασμένη μορφή, ώστε να μπορούν να εντοπιστούν και να μετρηθούν στον εγκέφαλο.

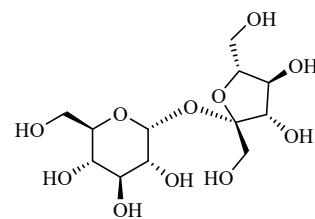
Για την απλούστευση της διαδικασίας προσδιορισμού του $\log BB$ και για την πρόβλεψη της ικανότητας διάβασης του BBB στο στάδιο του σχεδιασμού φαρμάκων, έχουν προταθεί αρκετές τεχνικές *in vitro*, όπως κυτταρικές καλλιέργειες, μελέτες μεταφοράς ουσιών δια μέσου τεχνητών μεμβρανών καθώς και φυσικοχημικές μέθοδοι που βασίζονται στη μοριακή δομή των εξεταζομένων ενώσεων.

Το κατάλληλο *in vitro* κυτταρικό σύστημα, εκτός του ότι δίνει πληροφορίες για τη διακυτταρική και παρακυτταρική διάχυση ουσιών, παρέχει ενδείξεις για διαδικασίες μεταβολισμού και ενεργητικής μεταφοράς, καθώς και για άλλες πιθανές αλληλεπιδράσεις φαρμάκου και συστατικών των κυττάρων, π.χ. φαρμάκου-κυτταρικής μεμβράνης, ή φαρμάκου-πρωτεϊνών.

Ένα κυτταρικό πρότυπο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού πρέπει να δίνει επαναλήψιμα αποτελέσματα και να έχει αρκετά ευρεία διακριτική ικανότητα μεταξύ διαφόρων ενώσεων, από αυτές με μικρή ικανότητα διάβασης (π.χ. σακχαρόζη) μέχρι εκείνες με μεγάλη διαπερατότητα (π.χ. διαζεπάμη). Άλλα γενικά κριτήρια του

καλού κυτταρικού προτύπου είναι:

- Τα κύτταρα στην καλλιέργεια πρέπει να μην επιτρέπουν διάχυση μεταξύ αυτών, αλλά μόνο δια μέσου αυτών.
- Η αρχιτεκτονική των κυττάρων της καλλιέργειας πρέπει να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο ρεαλιστική, όχι μόνον αναφορικά προς τις διαστάσεις των κυττάρων, αλλά και ως προς την ύπαρξη υποκυτταρικών οργανιδίων και έκφραση μεταφορέων.



Σακχαρόζη

- Οι απαιτήσεις των κυττάρων για καλλιέργεια να μην είναι μεγάλες. Για παράδειγμα, τα κύτταρα πρέπει να είναι σταθερά, να αυξάνονται συνεχώς και όχι ασυνεχώς, να πολλαπλασιάζονται εύκολα.

Θεωρητικές μέθοδοι για να προβλέψουν την ικανότητα διάβασης του BBB βασιζόμενες στη μοριακή δομή και στις φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων έχουν αναπτυχθεί αρκετές, από εμπειρικές μέχρι υπολογιστικές με χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή. Προϋπόθεση όλων αυτών των μεθόδων είναι ότι οι ενώσεις δεν παρεμβαίνουν στα συστήματα μεταφορέων, ιδιαιτέρως σ' αυτό των *p*-γλυκοπρωτεϊνών. Δηλαδή, εξ αρχής πρέπει να αποκλεισθεί η πιθανότητα η εξεταζόμενη ένωση να είναι υπόστρωμα ή αναστολέας *p*-γλυκοπρωτεϊνών. Αν αυτό επιβεβαιωθεί, γενικός κανόνας είναι ότι λιπόφιλες ενώσεις διαπερνούν ευκολότερα τον BBB, σε σύγκριση με υδατόφιλα-πολικά μόρια.

Με βάση τα παραπάνω, έχουν διατυπωθεί τα εξής:

- ❖ Μια προφανής παράμετρος για πολύ στοιχειώδη προσέγγιση είναι το μοριακό βάρος. Πολύ μεγάλου μοριακού βάρους ενώσεις δεν διαβαίνουν τον BBB.
- ❖ Ενώσεις που έχουν το λιγότερο μια ιονιζόμενη ομάδα με $pK_a < 4$ για οξέα, και αντιστοίχως με $pK_a > 10$ για βάσεις, δεν εισέρχονται στον εγκέφαλο με παθητική διάχυση. Ο κανόνας αυτός προήλθε από στατιστική μελέτη 53 ενώσεων ποικίλων τιμών σταθεράς ιονισμού.
- ❖ Αν θεωρηθεί ότι κλασικός τρόπος έκφρασης της λιποφιλικότητας είναι ο λογάριθμος του συντελεστή κατανομής, $\log P$, μεταξύ *n*-οκτανόλης και νερού, πάλι από στατιστική επεξεργασία φαρμάκων που είναι γνωστό ότι διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, βρέθηκε ότι ενώσεις με τιμές $\log P$ μεταξύ 1,5 και 2,7 είναι ικανές να εισέλθουν στον εγκέφαλο.
- ❖ Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, ο συντελεστής κατανομής μεταξύ νερού και ενός τελείως απολικού διαλύτη, π.χ. κάποιου (κυκλο)αλκανίου όπως είναι το κυκλοεξάνιο ή το επτάνιο, θεωρείται ότι συσχετίζεται καλύτερα με την ικανότητα ενώσεων να διαβαίνουν τις πολύ εκλεκτικές μεμβράνες που απαρτίζουν τον BBB από όσο το κλασικό σύστημα *n*-οκτανόλης-νερό. Καθώς όμως αυξάνονταν τα πειραματικά δεδομένα, διαπιστώθηκε ότι, για πολλές ενώσεις με κεντρική δράση, ούτε αυτός ο κανόνας ισχύει. Τελικά, προτάθηκε ότι πιο ρεαλιστική συσχέτιση με τις πειραματικές τιμές $\log(C_{εγκ}/C_{αιμ})$ παρέχεται αν χρησιμοποιηθεί η τιμή $\log P_{οκτ} - \log P_{κυκλοεξ}$ [ή $\log(P_{οκτ}/P_{κυκλοεξ})$]. Η εξήγηση που δόθηκε ήταν ότι η *n*-οκτανόλη περιέχει μια πολική ομάδα, την υδροξυλική, η οποία μπορεί να σχηματίσει δεσμούς υδρογόνου με αντίστοιχες ομάδες του εξεταζόμενου φαρμάκου. Έτσι, ο μεν υδρογονάνθρακας (π.χ. το κυκλοεξάνιο) αποδίδει μόνο τις λιπόφιλες ιδιότητες του BBB, η δε οκτανόλη περιλαμβάνει και τις επιδράσεις λόγω σχηματισμού δεσμού υδρογόνου που μπορεί

να λαμβάνουν χώρα είτε μέσα στο αίμα, π.χ. σύνδεση με πρωτεΐνες του πλάσματος, είτε κατά τη διάβαση της μεμβράνης, με σύνδεση, μέσω δεσμών υδρογόνου, με τις πολικές περιοχές των λιπιδίων του BBB. Πρέπει να υπάρχει κατάλληλη αναλογία λιποφιλικότητας – δεσμών υδρογόνου, ώστε να αποδίδονται κατά προσέγγιση οι συνθήκες κάτω από τις οποίες λαμβάνει χώρα η παθητική μεταφορά της ένωσης από το αίμα στον εγκέφαλο μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

- ❖ Με τον τρόπο αυτό, έγινε προφανέστερη η σημασία του σχηματισμού ή όχι δεσμών υδρογόνου στη διάβαση του BBB. Δεσμοί υδρογόνου μπορεί να αναπτύσσονται διαμοριακώς, μεταξύ φαρμάκου και βιοφάσης, αλλά και ενδομοριακώς. Χαρακτηριστικά έχει διατυπωθεί ότι ο σχηματισμός ενός μόνο ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου μπορεί να βελτιώσει κατά δέκα φορές τη διαπερατότητα της ένωσης, σε σχέση με το κατά τα άλλα παρόμοιο μόριο στο οποίο όμως οι υπεύθυνες για σχηματισμό ενδομοριακού δεσμού υδρογόνου ομάδες δεν βρίσκονται στην κατάλληλη θέση μεταξύ τους.
- ❖ Από την άλλη μεριά, πολλές ομάδες στο μόριο ικανές να σχηματίσουν (διαμοριακούς) δεσμούς υδρογόνου, δρώντας είτε ως δότες είτε δέκτες υδρογόνου, εμποδίζουν τη διάβαση του BBB
- ❖ Έχει βρεθεί ότι η απλή άθροιση του αριθμού των ομάδων N-H και O-H ενός μορίου λειτουργεί ικανοποιητικά ως δείκτης του χαρακτήρα της ένωσης να δρα ως δότης H σε δεσμό υδρογόνου.
- ❖ Η ανάλογη τακτική για τις ομάδες-δέκτες ατόμου υδρογόνου, δηλαδή η άθροιση του αριθμού των –N– και –O– στο μόριο, είναι λιγότερο ακριβής για την εκτίμηση της ικανότητας της ένωσης να δρα ως δέκτης H. Για παράδειγμα, το πυρρολικό και το πυριδινικό N θεωρούνται ισοδύναμα στον παραπάνω υπολογισμό, όμως το πυριδινικό άτομο αζώτου είναι πολύ καλός δέκτης H για σχηματισμό δεσμού υδρογόνου, ενώ το πυρρολικό N είναι πάρα πολύ ασθενής δέκτης υδρογόνου.

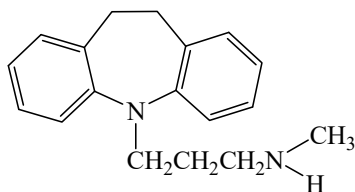
Οι παραπάνω παρατηρήσεις οδήγησαν τον C.A. Lipinski και τους συνεργάτες του της φαρμακευτικής εταιρείας Pfizer (ΗΠΑ) να διατυπώσουν το μνημονικό «κανόνα του 5» (διότι όλες οι παράμετροι έχουν σχέση με τον αριθμό 5 ή πολλαπλάσια αυτού) σχετικά με την ικανότητα ενώσεων να διαπερνούν βιολογικές μεμβράνες (περιλαμβανομένων και αυτών του BBB). Σύμφωνα με τον κανόνα αυτό, ο οποίος έχει προέλθει από στατιστική επεξεργασία μεγάλου αριθμού ενώσεων, μια ένωση έχει **πολύ μικρές πιθανότητες** να διαβαίνει βιολογικές μεμβράνες, όταν:

- ✓ Έχει μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 500

- ✓ Έχει τιμή λιποφιλικότητας (μεταξύ n-οκτανόλης/νερού) εκφραζόμενη ως logP μεγαλύτερη από 5
- ✓ Έχει περισσότερες από 5 ομάδες δότες H, που υπολογίζονται ως το άθροισμα των ομάδων –NH– και –OH του μορίου.
- ✓ Έχει περισσότερες από 10 ομάδες δέκτες ατόμου υδρογόνου, που υπολογίζονται ως το άθροισμα των N και O του μορίου.

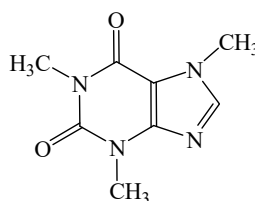
Προφανώς, με βάση τα παραπάνω, μια ομάδα –NH– ή –OH καταμετρείται δύο φορές: μια φορά ως δότης H και μια φορά ως δέκτης H. Πράγματι, αυτό συμβαίνει: η αμινομάδα (πρωτο- και δευτεροταγής) και η υδροξυλική ομάδα (αλειφατική) μπορούν να σχηματίσουν δεσμό υδρογόνου είτε προσφέροντας είτε λαμβάνοντας άτομο H. Υπάρχει όμως ποσοτική διαφορά, την οποία δεν μπορεί να συνυπολογίσει ο εμπειρικός αυτός κανόνας: η ομάδα –NH– είναι καλύτερος δότης H παρά δέκτης, ενώ αντιθέτως το αλειφατικό υδροξύλιο είναι καλύτερος δέκτης παρά δότης.

Παραδείγματα:



Δεσιπραμίνη (αντιψυχωσικό)

- ✓ $\mu.\beta=266,38$
- ✓ $\log P=3,64$
- ✓ $\text{OH}+\text{NH}=1$
- ✓ $\text{O}+\text{N}=2$



Καφεΐνη (κεντρικό διεγερτικό)

- ✓ $\mu.\beta=194,19$
- ✓ $\log P=0,20$
- ✓ $\text{OH}+\text{NH}=0$
- ✓ $\text{O}+\text{N}=6$

Μεθοτρεξάτη

(αντινεοπλασματικό,
αντιρρευματικό)

- ✓ $\mu.\beta=454,45$
- ✓ $\log P=1,60$
- ✓ $\text{OH}+\text{NH}=7$
- ↓ $\text{O}+\text{N}=12$

Δοξορουβικίνη

(αντινεοπλασματικό)

- ↓ $\mu.\beta=543,52$
- ✓ $\log P=-1,33$
- ↓ $\text{OH}+\text{NH}=6$
- ↓ $\text{O}+\text{N}=12$

Αυτός ο εμπειρικός «κανόνας του πέντε», λόγω της εύκολης απομνημόνευσης και της απλής εφαρμογής του, έχει γίνει ιδιαίτερος δημοφιλής.

❖ Μια άλλη, πολύ υποβοηθητική παράμετρος για την πρόβλεψη ικανότητας διάβασης μεμβρανών είναι η «πολική επιφάνεια» (PSA, Polar Surface Area) ενός μορίου, η οποία ορίζεται ως το άθροισμα της επιφάνειας των πολικών ατόμων σ' ένα μόριο. Η παράμετρος αυτή συσχετίζεται αρκετά καλά με πειραματικά δεδομένα διάβασης μεμβρανών.

Αρχικά, η «πολική επιφάνεια» ορίστηκε ως η επιφάνεια (σε \AA^2) που καταλαμβάνεται από άτομα οξυγόνου και αζώτου και από τα άτομα υδρογόνου που συνδέονται μ' αυτά. Με τον τρόπο αυτό, χρησιμοποιώντας 40 δομικώς ποικίλα μόρια, βρέθηκε ότι φάρμακα, χορηγούμενα από το στόμα, απορροφώνται σχεδόν πλήρως μέσω του λεπτού εντέρου με παθητική διάχυση, όταν έχουν σχετικά μικρή PSA, $<60\text{\AA}^2$. Αντίθετα, φάρμακα με μεγάλη πολική επιφάνεια, $>120\text{\AA}^2$, δεν διαπερνούν το τοίχωμα του εντέρου. Από τη μελέτη εξαιρέθηκαν οι ενώσεις εκείνες που δεν διαλύονται ικανοποιητικά στο νερό, ή μεταβολίζονται πολύ στο λεπτό έντερο, ή διακινούνται με τη βοήθεια μεταφορέων που βρίσκονται στα τοιχώματα του εντέρου.

Σημαντικές αποκλίσεις από τον κανόνα αυτό αποτελούν οι παρακάτω κατηγορίες φαρμάκων, οι οποίες, με βάση τους υπολογισμούς αυτούς, δεν θα έπρεπε να απορροφώνται από το λεπτό έντερο, όμως είναι γνωστό ότι τα φάρμακα αυτά, δηλαδή, αντιβιοτικά, αντιμυκητικά, βιταμίνες και καρδιοτονωτικοί γλυκοζίτες, είναι δραστικά χορηγούμενα από το στόμα. Πάντως, αρκετά από τα μέλη των κατηγοριών αυτών φέρουν δομικά χαρακτηριστικά τέτοια ώστε πιθανόν να τα καθιστούν υποστρώματα φυσιολογικών μεταφορέων, επομένως η διάβαση των μεμβρανών του λεπτού εντέρου ίσως γίνεται με ενεργητική μεταφορά.

Προεκτείνοντας την παραπάνω μέθοδο σε ενώσεις που δρουν στο ΚΝΣ, και χρησιμοποιώντας περίπου 800 ενώσεις που δρουν κεντρικά, και άλλα περίπου 1600 φάρμακα χωρίς κεντρική δράση, βρέθηκε ότι, για παθητική είσοδο στο ΚΝΣ, η PSA των μορίων πρέπει να είναι γύρω στα 60\AA^2 και όχι μεγαλύτερη από 70\AA^2 .

Έχουν αναφερθεί ποικίλα πρωτόκολλα υπολογισμού της πολικής επιφάνειας, που διαφέρουν μεταξύ τους (α) Στον ορισμό των «πολικών ατόμων». Μερικά θεωρούν μόνο τα άτομα N και O ως πολικά, ενώ άλλα περιλαμβάνουν και άλλα ετεροάτομα, π.χ. P και S. (β) Στον τρόπο υπολογισμού της PSA.

- Η *δυναμική PSA* προσδιορίζεται μόνο με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Αρχικά οικοδομείται το μόριο στην οθόνη και δημιουργείται η τρισδιάστατη δομή του. Συνήθως ακολουθεί αναζήτηση των διαμορφώσεων χαμηλής ενέργειας (υποτίθεται ότι οι διαμορφώσεις χαμηλής ενέργειας είναι οι σταθερότερες, άρα αυτές που προτιμά να λαμβάνει το μόριο). Η διαδικασία αυτή, ανάλογα με τη μέθοδο προσδιορισμού της ενέργειας των διαμορφώσεων, απαιτεί αρκετό χρόνο, από μερικά λεπτά έως μερικές ώρες για κάθε μόριο. Στη συνέχεια, υπολογίζεται η επιφάνεια του μορίου στις διαμορφώσεις χαμηλής ενέργειας, με βάση τις ακτίνες van der Waals των ατόμων. Ως PSA λαμβάνεται το άθροισμα της επιφάνειας των πολικών ατόμων.

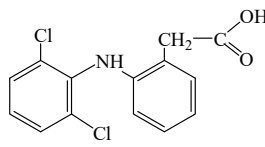
Γίνεται αντιληπτό ότι για τη διαδικασία αυτή απαιτείται ηλεκτρονικός υπολογιστής με το κατάλληλο λογισμικό για δημιουργία τρισδιάστατων απεικονίσεων και υπολογισμού ενέργειας

και επιφάνειας. Επί πλέον, η μέθοδος είναι αρκετά χρονοβόρος, αν ληφθεί υπ' όψιν ότι συνήθως δεν περιορίζεται κανείς σε υπολογισμό μίας μόνο ένωσης, αλλά ενδιαφέρεται για σειρά περισσοτέρων ενώσεων. Για τους παραπάνω λόγους, αναζητήθηκε κάποια λιγότερο απαιτητική και περισσότερο εύχρηστη και ταχεία μέθοδος προσδιορισμού της πολικής επιφάνειας.

▪ Αποτέλεσμα ήταν η ανάπτυξη του προσδιορισμού της *τοπολογικής PSA*, βασιζόμενος σε στατιστική επεξεργασία μεγάλης βάσης δεδομένων αποτελούμενης από περίπου 35.000 βιολογικά δραστικά μόρια. Από τις ενώσεις αυτές αρχικά εξαιρέθηκαν όσες είχαν μοριακό βάρος μικρότερο από 100 ή μεγαλύτερο από 800. καθώς και όσες δεν είχαν έστω και ένα από τα άτομα O, N, S και P. Των ενώσεων αυτών υπολογίστηκε, με κάποια από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω, η PSA, που περιελάμβανε τα «πολικά άτομα» O και N, καθώς και τα «ελαφρώς πολικά άτομα» S και P (μαζί με τα συνδεδεμένα σ' αυτά άτομα υδρογόνου). Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων κατέληξε σε πίνακα τιμών επιφάνειας των «πολικών θραυσμάτων», δηλαδή των πολικών ατόμων, αλλά σε συνδυασμό με τον τρόπο σύνδεσης αυτών στο μόριο (π.χ. μέσω απλού, διπλού, τριπλού ή αρωματικού δεσμού, N ως αμινική ή νιτρο-ομάδα, κ.λ.π.).

Παράδειγμα υπολογισμού της τοπολογικής PSA δίνεται παρακάτω. Οι ερευνητές που ανέπτυξαν τη μέθοδο αυτή, αναφέρουν ότι τα αποτελέσματα που έλαβαν εφαρμόζοντας τη δική τους, εύχρηστη και μη απαιτητική μέθοδο, συσχετίζονται πολύ καλά με τους προσδιορισμούς της PSA των ίδιων μορίων, που έγιναν με χρήση υπολογιστικών μεθόδων τρισδιάστατης απεικόνισης, εύρεσης διαμορφώσεων χαμηλής ενέργειας και υπολογισμού της πολικής επιφάνειας των διαμορφώσεων αυτών. Καταλήγουν συμπεραίνοντας ότι η μεθόδός τους είναι, εκτός από αξιόπιστη, εύκολη και ταχεία, κατάλληλη για επεξεργασία μεγάλου αριθμού ενώσεων, εφ' όσον το μόνο που απαιτείται είναι η επισήμανση των πολικών κλασμάτων στο μόριο, η αναζήτηση σε δημοσιευμένους πίνακες της τιμής PSA καθενός από αυτά και η άθροιση των τιμών.

Παράδειγμα:

| Μοριακός τύπος | Πολικά κλάσματα | PSA πολικών κλασμάτων (Å ²) | Φορές που συναντώνται τα πολικά κλάσματα στο μόριο |
|---|-------------------|---|--|
|  | NR ₃ | 3,24 | 0 |
| | NHR ₂ | 12,03 | 1 |
| | NH ₂ R | 26,02 | 0 |
| | R-O-R | 9,23 | 0 |
| | R-O-H | 20,23 | 1 |
| | C=O | 17,07 | 1 |
| | Σύνολο: | | 49,33 Å² |



14. ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge: *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, 2003.
2. J. Packer, L. Prilipko: *Free radicals in the brain*. Springer-Verlag, 1992.
3. I. Hanin, M. Yoshida, A. Fisher: *Alzheimer's and Parkinson's diseases*. Plenum Press, 1995.
4. C.M. Clark, J.H.T. Karlawish: *Alzheimer disease: Current concepts and emerging diagnostic and therapeutic strategies*. *Ann. Intern. Med.* **138**, 400-410, 2003.
5. A. Albert: *Selective Toxicity, the physico-chemical basis of therapy*. Chapman & Hall, 1985.
6. H. Selye: *Stress in health and disease*. Butterworths, 1976.
7. A. Albert, E.P. Serjeant: *The determination of ionization constants*. Chapman & Hall, 1971.
8. N. Weiss, F. Miller, S. Cazaubon, P.-O. Couraud: *The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases*. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008 (υπό εκτύπωση).
9. Y. Persidsky, S. H. Ramirez, J. Haorah, G. D. Kanmogne: *Blood-brain barrier: Structural components and function under physiologic and pathologic conditions*. *J Neuroimmune Pharmacol.* **1**, 223-236, 2006.
10. C. Hansch, A. Leo: *Substituent constants for correlation analysis in Chemistry and Biology*. Wiley, 1979.
11. R. F. Rekker, R. Mannhold: *Calculation of drug lipophilicity. The hydrophobic fragmental constant approach*. VCH, 1992.
12. Π.Ν. Κουρουνάκης, Ε.Α. Ρέκκα: *Σχεδιασμός Φαρμάκων*. Γραφικές Τέχνες, 1992.