

DOPING: DEFINIZIONE E LIMITI DI UN PROBLEMA FARMACOLOGICO PARTE IV

Gianni Benzi, *Direttore dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Pavia*

Pasquale Bellotti, *Centro Studi & Ricerche FIDAL, Roma*

INDICE

Parte quarta

- 13. Generalità sul meccanismo di azione delle sostanze dopanti interferenti con il sistema nervoso**
 - 13.1 Le funzioni primarie dei neurotrasmettitori
 - 13.2 I neurotrasmettitori e la loro dislocazione nel SNC
 - 13.2.1 L'acetilcolina
 - 13.2.2 La noradrenalina
 - 13.2.3 L'adrenalina
 - 13.2.4 La 5-idrossitriptamina o serotonina
 - 13.2.5 L'istamina
 - 13.2.6 L'acido gamma-aminobutirrico o GABA
 - 13.2.7 L'acido glutamico
 - 13.2.8 Le endorfine
 - 13.2.9 La sostanza P
 - 13.2.10 L'acido aspartico
 - 13.2.11 La glicina
 - 13.2.12 Altri polipeptidi neuroregolatori
 - 13.3 La sintesi e la liberazione dei neurotrasmettitori
 - 13.4. Le formazioni recettoriali quali siti di azione delle sostanze dopanti
 - 13.4.1 Le relazioni generali intercorrenti fra neurotrasmettitore oppure sostanza dopante e recettore
 - 13.4.1.1 Interazione neurotrasmettitore-recettore oppure sostanza dopante-recettore
 - 13.4.1.2 la «a» e la «e»
 - 13.4.1.3 Il valore di K_n o K_d ed il pD_x
 - 13.4.2 Le interazioni fra neurotrasmettitore, sostanza dopante e recettore
 - 13.4.2.1 Interazione competitiva
 - 13.4.2.2 Interazione non-competitiva
 - 13.4.2.3 Interazione incompetitiva
 - 13.4.2.4 Interazioni chimiche
 - 13.4.3 I recettori ed il legame neurotrasmettitore-recettore o sostanza dopante-recettore
 - 13.4.3.1 I legami chimici
 - 13.4.3.2 I legami chimico fisici
 - 13.4.3.3 Influenza del pH sui legami neurotrasmettitore-recettore o sostanza dopante-recettore
 - 13.4.4 La plasticità dei recettori e le sostanze dopanti
- 14. Le sostanze dopanti interferenti con i recettori colinici**
 - 14.1 Interazione diretta delle sostanze dopanti con i recettori colinergici muscarinici

- 14.1.1 Sostanze ad azione muscarino-simile
 - 14.1.1.1 Gli esteri della colina
 - 14.1.1.2 Gli alcaloidi naturali muscarino-simili
- 14.1.2 Sostanze ad azione muscarino-litica (parasimpaticolitici)
 - 14.1.2.1 Le sostanze anticolinergiche naturali e sintetiche
 - 14.1.2.2 Azione farmacologica delle sostanze muscarino-litiche
- 14.2 Sostanze interferenti con i recettori colinergici nicotinici
 - 14.2.1 Meccanismo d'azione delle sostanze interferenti con i recettori nicotinici muscolari e gangliari
 - 14.2.2 Azioni farmacologiche delle sostanze attive sui recettori nicotinici gangliari
- 14.3 Interazione enzimatica indiretta delle sostanze dopanti con i vari recettori colinergici
 - 14.3.1 Modo e meccanismo d'azione delle sostanze anticolinesterasiche
 - 14.3.2 Caratteristiche farmacologiche delle sostanze anticolinesterasiche
- 14.4 Caratteristiche farmaco-tossicologiche delle sostanze interferenti con il sistema colinergico
 - 14.4.1 Atropina
 - 14.4.2 Fisostigmina
 - 14.4.3 Ioscina
 - 14.4.4 Mecamilamina
 - 14.4.5 Neostigmina
 - 14.4.6 Pilocarpina
 - 14.4.7 Scopolamina
 - 14.4.7 Trimetafano

13. Generalità sul meccanismo di azione delle sostanze dopanti interferenti con il sistema nervoso

L'utilizzo di sostanze dopanti interferenti con il sistema nervoso centrale (SNC) o con il sistema nervoso periferico (SNP) è certamente tra i più diffusi e, nel contempo, tra i più acritici. La fantasia di pseudo-scienziati e maghi (con o senza i più svariati tipi di laurea) si sbizzarrisce all'infinito nell'uso di tali sostanze di cui ufficialmente si proclama un effetto placebo, per poi proporre suggestioni miracolistiche nel chiuso di colloqui ristretti.

In realtà vengono usate per lo stesso scopo le sostanze più disparate, caratterizzate dalle azioni le più contraddittorie e, pur tuttavia, tutte indirizzate al miraggio di un incremento prestativo, di cui non si ha però traccia nelle ricerche scientifiche accreditate. Proprio per tutto questo e malgrado la mistificazione di voler circoscrivere il campo all'amfetamina e derivati, è fondamentale approfondire questo complesso argomento con l'intento di chiarirne i punti fondamentali.

13.1 *Le funzioni primarie dei neurotrasmettitori*

È noto che gli impulsi nervosi si propagano da un elemento cellulare all'altro a mezzo delle sinapsi, ossia di quelle formazioni altamente specializzate che collegano l'assone (della cellula da cui derivano) con il corpo della cellula a cui devono trasmettere il messaggio. Nei mammiferi, le sinapsi funzionano mediante l'intervento di un neurotrasmettitore, la cui liberazione risulta proporzionale alla frequenza ed all'intensità degli stimoli nervosi. Quindi si può definire «neurotrasmettitore» una sostanza chimica (di diversificata struttura) che viene liberata da una terminazione nervosa e rende possibile la trasmissione di segnali ad un secondo neurone od a cellule non-nervose (quali, quelle ghiandolari, muscolari lisce o striate, ecc.): queste cellule sono definite come «cellule effettrici» od «effettori».

Le sostanze dopanti possono ovviamente agire più facilmente a livello di quella soluzione di continuità che è rappresentata dalla sinapsi, piuttosto che

agire lungo l'assone o direttamente sul corpo cellulare. Infatti, lungo le fibre nervose sono attivi solo gli anestetici generali (ad alte concentrazioni) e gli anestetici locali che, mediante la loro proprietà di modificare la struttura chimico-fisica della membrana cellulare, rallentano o bloccano gli scambi ionici che stanno alla base della conduzione nervosa.

Le sostanze dopanti attive sul SNC o sul SNP riconoscono alcuni meccanismi di azione, i più comuni dei quali sono così riassumibili:

(a) interferenza con la sintesi del neurotrasmettitore; ad esempio, un incremento del triptofano ematico induce un aumento del suo trasporto a livello della barriera emato-encefalica, cui consegue un aumento della sintesi cerebrale di serotonina (5-idrossitriptamina o 5-HT): l'azione di questa sostanza sul SNC determina nell'atleta importanti effetti sull'umore, sulla cenestesi, sulla resistenza psichica alla fatica, ecc.;

(b) modificazione nell'accumulo intrasintattico del neurotrasmettitore; ad esempio, la reserpina si oppone all'accumulo di nor-adrenalina e di serotonina nei granuli delle sinapsi cerebrali, modificando così le caratteristiche psichiche dell'atleta;

(c) interferenza con la liberazione del neurotrasmettitore; ad esempio, l'amfetamina aumenta la liberazione di nor-adrenalina dalle terminazioni nervose, inducendo nell'atleta una condizione simile a quella determinata dall'incremento dell'attività ortosimpatica (fight and flight reaction);

(d) interferenza con gli enzimi metabolizzanti il neurotrasmettitore; ad esempio, le sostanze anti-monomino-ossidasiche (anti-MAO, quali tranilcipromina, isocarbossazide, ecc.) impediscono la degradazione della nor-adrenalina, determinando il mantenimento della sua concentrazione cerebrale ed inducendo nell'atleta una situazione simile a quella esemplificata in (c);

(e) interferenza con la ricaptazione sinaptica del neurotrasmettitore; ad esempio, le sostanze tricicliche (quali imipramina, amitriptilina, ecc.) inibiscono nelle

sinapsi la ricaptazione di alcune amine biogene (quali serotonina e nor-adrenalina), incrementandone la loro concentrazione e dando così luogo nell'atleta ad un'azione anti-depressiva;

(f) trasformazione della sostanza dopante in un «falso» neurotrasmettitore che si sostituisce al «vero» neurotrasmettitore di cui, però, non possiede le caratteristiche tipiche: ad esempio, l'alfa-metil-DOPA si trasforma in alfa-metil-noradrenalina che si sostituisce alla nor-adrenalina senza tuttavia essere in grado di evocare le azioni tipiche: ciò induce nell'atleta una situazione di abbassamento del suo tono ortosimpatico;

(g) attivazione dei recettori specifici per il neurotrasmettitore; ad esempio, la clonidina attiva i recettori alfa-adrenergici, evocando nel soggetto un'azione nor-adrenalino-simile, con innalzamento del tono ortosimpatico;

(h) inibizione dei recettori specifici per il neurotrasmettitore; ad esempio, la metisergide maleato antagonizza gli effetti della 5-HT bloccando i recettori serotoninergici.

I neurotrasmettitori veri o putativi hanno una struttura chimica estremamente variabile, di cui evidenziamo i seguenti tipi:

(A) struttura mono-aminica; ad esempio, nor-adrenalina, adrenalina, serotonina, ecc.;

(B) struttura amino-acidica; ad esempio, glutamato, aspartato, GABA, ecc.;

(C) struttura polipeptidica; ad esempio, sostanza P, encefaline, endorfine, ecc.;

(D) struttura di estere; ad esempio, acetilcolina, ecc.

Sia nel SNC che nel SNP esistono numerose altre sostanze (alcune sintetizzate anche fuori dal sistema nervoso) che non rispondono alle caratteristiche tipiche dei neurotrasmettitori, ma per le quali talvolta esistono anche dei recettori più o meno specifici. Queste sostanze sono definite come «neuromodulatori» e comprendono: prostaglandine, cortisolo, testosterone, estrogeni, ACTH, adenosina, prolattina, idrossibutirrato, 5-idrossidimetil-triptamina, vasopressina, ecc.

Per quanto riguarda la loro funzione, è noto che i neuromodulatori non trasmettono direttamente un segnale ad altri neuroni od alle cellule effettrici, ma modificano i segnali già emessi: (a) riducendo la quantità del neurotrasmettitore liberato; (b) influenzando la condizione chimico-fisica dei recettori.

13.2 I neurotrasmettitori e la loro distribuzione nel SNC

Le caratteristiche specifiche dei singoli neurotrasmettitori sono discusse nei capitoli successivi; tuttavia, per meglio comprendere l'azione delle sostanze dopanti, è utile una panoramica panoramica generale per evidenziare la distribuzione di alcuni neurotrasmettitori nelle zone del SNC dove espletano la loro funzione. La trattazione è volutamente appena delineata per quei neurotrasmettitori di cui si fa ampia delucidazione nei paragrafi successivi.

13.2.1 L'acetilcolina

L'acetilcolina è sintetizzata nelle terminazioni colinergiche mediante l'intervento di una reazione catalizzata dalla colino-acetiltransferasi (CAT), in cui i reagenti sono: (a) la colina (captata dai liquidi extracellulari a mezzo di uno specifico meccanismo ad alta affinità); (b) l'acetil-coenzima A (acetato attivo), proveniente principalmente dal piruvato e dal citrato a seguito di reazioni che richiedono energia che, nel caso delle prestazioni atletiche, possono rappresentare un fattore limitante l'intensità o la finalità della gestualità. L'acetilcolina sintetizzata è poi raccolta in vescicole poste nelle terminazioni colinergiche ed esercita la sua azione su alcuni recettori (nicotinici e muscarinici; pre- e post-sinaptici), al termine della quale l'acetilcolina stessa è rapidamente inattivata in una reazione catalizzata dall'acetilcolinesterasi, con formazione di acido acetico e colina.

L'acetilcolina è distribuita non unifor-

memente nel sistema nervoso centrale dove opera in specifiche vie colinergiche che sono le seguenti: (a) le collaterali dei motoneuroni spinali che vanno agli interneuroni (cellule di Renshaw); (b) il fascio di fibre che origina dai nuclei basali magnocellulari (nucleo di Maynert) del cervello anteriore e che dà origine ad una rete distribuita in quasi tutta la corteccia cerebrale, dove è coinvolta nei processi di attivazione corticale; (c) la via setto-ippocampale che è implicata nei meccanismi della memoria; (d) il sistema di interneuroni posti nel nucleo caudato, controllati dai neuroni nigro-striatali dopaminergici ed implicati nel controllo della motilità.

13.2.2 La noradrenalina

Il neurotrasmettitore si trova distribuito in complessi sistemi morfo-funzionali: l'origine del principale fascio di fibre noradrenergiche ascendenti e discendenti nel midollo spinare è costituita dal locus coeruleus. L'integrazione morfo-funzionale delle fibre coeruleo-corticali condiziona la modulazione dell'attività neuronale di numerose regioni corticali funzionalmente differenziate. I sistemi noradrenergici attuano un'azione molto importante per l'atleta dato che tale azione complessa: (a) nel sistema limbico modula la cenestesi; (b) nell'ipotalamo influenza le funzioni neuroendocrine e vegetative; (c) nella regione corticale interferisce con i meccanismi cognitivi. Nel complesso le concentrazioni cerebrali di nor-adrenalina risultano incrementate dall'adattamento all'endurance.

13.2.3 L'adrenalina

Unitamente alla noradrenalina, l'adrenalina espleta la funzione di neurotrasmettitore nel sistema nervoso simpatico periferico e nella midollare surrenale. Il rapporto reciproco di attività fra adrenalina e noradrenalina evidenzia nell'uomo una prevalenza di noradrenalina nel sistema simpatico periferico ed una

prevalenza di adrenalina nella midollare surrenale. L'adrenalina è presente anche nel SNC in un sistema neuronale diverso da quello contenente noradrenalina e distinto in due gruppi di neuroni individuati rispettivamente come: C₁ nel sistema tegumentale laterale e C₂ nella parte dorsale del bulbo. I terminali di questi neuroni sono presenti nell'ipotalamo, nei nuclei viscerali afferenti ed efferenti del mesencefalo (nucleo motorio dorsale del vago, nucleo del tratto solitario), nel locus coeruleus e nei nuclei del rafe. Detto sistema di neuroni ha un importante ruolo nelle prestazioni atletiche dal momento che è implicato nel controllo centrale della pressione arteriosa.

13.2.4 La 5-idrossitriptamina o serotonina

Oltre che nelle piastrine, nei mastociti e nelle cellule argentaffini del tratto gastroenterico, la serotonina si ritrova nel SNC ove risulta incrementata nella corteccia cerebrale e nelle zone subcorticali a seguito dell'adattamento all'endurance. Qui la serotonina è sintetizzata a partire dal triptofano libero plasmatico, le cui concentrazioni durante la prestazione possono influenzare il contenuto cerebrale di 5-idrossitriptamina. È infatti noto che durante l'attività motoria vi è un aumento relativo della concentrazione ematica dell'aminoacido aromatico triptofano dovuto a: (a) aumento della concentrazione plasmatica degli acidi grassi non-esterificati che spiazzano il triptofano dai suoi legami con le proteine plasmatiche, incrementando così la quota libera dell'aminoacido aromatico stesso; (b) dalla diminuzione delle concentrazioni plasmatiche degli aminoacidi a catena ramificata (valina, leucina, isoleucina) che competono con gli aminoacidi aromatici per il sistema di trasporto al SNC attraverso la barriera ematoencefalica.

Giunto nel SNC, il triptofano è idrossilato a 5-idrossitriptofano (per opera di una triptofano-idrossilasi) e successivamente decarbossilato a 5-idrossitripta-

mina (in una reazione catalizzata da una decarbossilasi). La 5-idrossitriptamina, raccolta in granuli sia nelle cellule periferiche che nei neuroni, può essere ricaptata o trasformata in acido 5-idrossindolacetico dalle mono-aminossidasi e dalla aldeide-deidrogenasi. Inoltre, nella ghiandola pineale la 5-idrossitriptamina viene trasformata in melatonina che è dotata di importanti azioni ormonali.

I corpi cellulari dei neuroni che accumulano la serotonina (neuroni serotoninergici) sono localizzati nei nuclei del rafe mesencefalico e danno origine a due vie che vanno al cervello anteriore: la via serotoninergica trans-segmentale e la via periventricolare. Attraverso queste vie, le fibre serotoninergiche raggiungono il talamo, l'ipotalamo, l'amigdala, il setto, il globus pallidus, il caudatoputamen, l'ippocampo e la regione olfattoria. Anche la corteccia cerebrale presenta una rete diffusa di terminali serotoninergici che sono, tuttavia, piuttosto radi e simili a quelli descritti per le fibre noradrenergiche. È inoltre presente una via serotoninergica discendente (formata da fibre che originano nel gruppo più caudale dei neuroni del rafe) la quale si proietta nel funicolo anteriore e laterale, ed i cui terminali raggiungono sia le corna anteriori e posteriori che la colonna simpatica.

In tutte le aree nelle quali arrivano le fibre serotoninergiche sono stati identificati dei recettori specifici per la 5-idrossitriptamina, che espleta importanti interferenze con i meccanismi del sonno, del controllo delle sensazioni dolorifiche, del sistema ipotalamo-ipofisario, della temperatura, delle funzioni extrapiramidali, ecc.; le alterazioni del metabolismo della 5-idrossitriptamina sono coinvolte nelle variazioni della resistenza psico-fisica alla fatica indotta dalla prestazione.

13.2.5 L'istamina

Nel SNC vi sono i recettori H₁ e H₂ per l'istamina: le aree nelle quali i recet-

tori H₁, sono più numerosi corrispondono a quelle interessate, anche durante la prestazione, nell'induzione di ipotermia, aumento della pressione arteriosa, tachicardia, senso di sete e modificazioni endocrine di varia natura ed entità.

13.2.6 L'acido gamma-aminobutirrico o GABA

Questo aminoacido (considerato il più importante neurotrasmettitore inibitorio nel SNC) viene formato dall'acido glutamico per opera di una glutamico-decarbossilasi (piridossalfosfato-dipendente) e viene inattivato: (a) mediante captazione da parte sia delle terminazioni neuronali gabaergiche che delle cellule gliali; (b) per transaminazione, con formazione di semialdeide succinica e di acido glutamico. Questa serie di reazioni costituisce il cosiddetto «ciclo del GABA» che opera in solido con il ciclo degli acidi tricarbossilici il quale, nelle prestazioni aerobiche, rappresenta il sistema bioenergetico fondamentale per la formazione dei donatori di elettroni (NADH e succinato) per la catena respiratoria mitocondriale.

Le concentrazioni più elevate di GABA si trovano nel globus pallidus e nella substantia nigra, mentre le concentrazioni più basse si trovano nella corteccia cerebrale, nella corteccia cerebellare, nel nucleo caudato e nel midollo spinale (ove le corna posteriori ne contengono la parte più rilevante).

Nel SNC vi sono numerosi neuroni gabaergici che possiedono le caratteristiche generali di interneuroni e che danno origine a vie brevi. Il GABA liberato da questi interneuroni si lega a specifici recettori ed induce un'inibizione pre- o post-sinaptica, con un meccanismo di depolarizzazione o di iperpolarizzazione a mezzo di una modificazione della conduttanza al cloro. Infatti, l'iperpolarizzazione indotta dal GABA nelle cellule post-sinaptiche è causata da una intrusione del cloro, con un conseguente spostamento del potenziale di membrana verso un potenziale inibitorio post-

sinaptico. L'effetto depolarizzante del GABA nei neuroni del midollo spinale è sempre di natura inibitoria, interessa i terminali pre-sinaptici ed è pure legato ad una variazione della conduttanza al cloro, con estrusione dello stesso dalle cellule.

L'effetto del GABA risulta chiaramente di natura inibitoria, come dimostrato anche dal fatto che causano convulsioni le sostanze le quali bloccano i recettori per il GABA (ad esempio, bicucullina e picrotossina) o che riducono la sintesi del GABA (ad esempio, alcuni derivati idrazinici, compresa l'isoniazide); al contrario, hanno azione anti-convulsivante le sostanze che potenziano l'azione del GABA (ad esempio, benzodiazepine), o che ne aumentano la concentrazione nel cervello (ad esempio, valproato) o che sono agoniste per i recettori del GABA (ad esempio, muscimolo).

13.2.7 L'acido glutamico

L'acido glutamico è un neurotrasmettitore eccitatorio prodotto da numerose vie metaboliche; tra queste, durante la prestazione atletica, gioca un ruolo importante il ciclo degli acidi tricarbossilici (ciclo di Krebs) dal momento che l'acido glutamico viene prodotto a partire da un importante intermedio del ciclo stesso: l'acido alfa-chetoglutarico, il quale viene aminato a glutamato in una reazione NADH-dipendente, catalizzata dalla glutamato deidrogenasi. L'acido glutamico si forma anche: (a) in una reazione di transaminazione catalizzata dalla alanina-aminotransferasi e coinvolgente piruvato, alanina ed alfa-chetoglutarato (alanina+alfa-chetoglutarato \rightleftharpoons piruvato+glutamato); (b) in una reazione di deamidazione catalizzata dalla glutaminiasi e coinvolgente la glutamina; questa è un'importante via per la sintesi del glutamato utilizzato come neurotrasmettitore.

Il glutamato liberato dalle terminazioni nervose si lega a recettori specifici e quindi: (a) viene captato dalle terminazioni stesse e riutilizzato; (b) viene cap-

tato dalle cellule gliali dove è trasformato in glutamina, che diffonde negli spazi interneuroni per essere utilizzata dai neuroni per la sintesi di nuovo glutamato. Il sistema di reazioni trasformative in cui è coinvolto il glutamato funziona a circolo chiuso, dal momento che la barriera ematoencefalica è scarsamente permeabile a questo aminoacido e che la quantità di glutamina che passa la barriera ematoencefalica è pure scarsa, anche se un po' maggiore di quella del glutamato.

L'effetto eccitatorio è indotto dal glutamato a mezzo di una depolarizzazione (correlata ad entrata intracellulare di sodio ed ad uscita di potassio), cui segue una prolungata iperpolarizzazione. L'azione eccitatoria dell'acido glutamico si attua a mezzo di numerose vie glutamatergiche del SNC, di cui le principali sono: (a) la via efferente corticostriatale; (b) la via afferente alla corteccia cerebellare (fibre parallele); (c) il gruppo di fibre che dalla corteccia entorinale raggiungono l'ippocampo (fibre perforanti); (d) la via ippocampo-settale, attraverso il fornice e la fimbria; (e) le collaterali di Shaffer nell'ippocampo; (f) il tratto olfattorio laterale; (g) il nervo uditivo ed il nucleo cocleare; (h) le numerose fibre sensoriali afferenti al midollo spinale.

Esistono vari tipi di recettori specifici per il glutamato e sono noti alcuni agonisti convulsivanti (acido cainico, acido ibotenico) che inducono una degenerazione selettiva dei neuroni (senza danneggiare gli assoni) a causa di una protratta depolarizzazione. La somministrazione di dosi molto alte di acido glutamico in condizioni nelle quali la barriera ematoencefalica è modificata può causare lesioni del SNC simili a quelle indotte dagli agonisti convulsivanti.

13.2.8 Le endorfine

Questi polipeptidi comprendono numerosi composti che vanno dai più semplici a 5 aminoacidi (metencefalina e leuencefalina) fino ai più complessi con 31 aminoacidi (beta-endorfina). Sia le encefaline che la beta-endorfina si comporta-

no da neuroregolatori ed, in alcuni casi, anche da veri e propri neurotrasmettitori. Questi polipeptidi si ritrovano non solo nel cervello, ma anche nella midollare surrenale, nell'ipofisi posteriore e nei tronchi nervosi del sistema neurovegetativo dove esercitano numerose funzioni, una delle quali è il controllo delle percezioni nocicettive.

Particolarmente interessante è la beta-endorfina (morfina endogena), un peptide formato da 31 residui aminoacidici isolato dal lobo anteriore dell'ipofisi quale derivato dalla beta-lipotropina che, a sua volta, ha come precursore la prooppiocortina nella cui sequenza aminoacidica è contenuto l'ormone adrenocorticotropo (ACTH). Nel sistema nervoso centrale la beta-endorfina sembra essere sintetizzata interamente da neuroni localizzati nell'ipotalamo: gli assoni di questi neuroni si distribuiscono in diverse regioni cerebrali compreso il tronco encefalico.

Nonostante le numerose considerazioni speculative riguardo alla funzione degli oppioidi endogeni in relazione all'attività sportiva ed allo stress, non è ancora chiara l'interazione fra i livelli circolanti periferici di beta-endorfina e le concentrazioni centrali nel sistema nervoso. La sola connessione sicura fa riferimento al fatto che l'esercizio acuto produce un incremento dei livelli plasmatici di beta-endorfina, quale probabile parte della risposta endocrina dell'organismo allo stress. Fra gli effetti di queste elevate concentrazioni di oppioidi circolanti, si enumerano: (a) le variazioni dell'umore: la cosiddetta euforia indotta dall'esercizio; (b) l'alterata percezione del dolore; (c) la regolazione della risposta endocrina allo stress.

Tuttavia, un primo grosso dubbio riguarda la possibilità reale che i livelli plasmatici di beta-endorfina possano influenzare le concentrazioni della stessa nel SNC (che è la sede primaria dell'azione). Inoltre, non è stabilito se le endorfine sono liberate dal SNC e portate (tramite la circolazione sanguigna) agli organi periferici, oppure se le endorfine

stesse sono liberate alla periferia per essere poi portate (tramite il flusso sanguigno) al SNC. In questo ultimo caso, va rilevato che, nell'uomo, l'ACTH e la beta-endorfina non permeano la barriera emato-encefalica. I livelli di beta-endorfina nel liquido cerebrospinale sembrano essere correlati alla capacità di tollerare il dolore; tuttavia, nel soggetto a riposo l'iniezione endovenosa di beta-endorfina non altera la percezione del dolore o l'umore e non modifica la concentrazione di beta-endorfina nel liquido cerebrospinale.

Lo strenuo esercizio fisico libera ACTH dall'ipofisi attraverso l'azione dei peptidi ipotalamici, che costituiscono i fattori di rilascio delle corticotropine: l'ACTH viene secreto insieme ad oppioidi endogeni derivati dalla pro-opiocortina. I peptidi secreti potrebbero accedere al cervello ed esercitare la loro azione attraverso un trasporto vascolare retrogrado, oppure mediante una variazione di permeabilità della barriera ematoencefalica. Infatti non è esclusa la possibilità che, nell'ambito dell'attività fisica, uno stress di sufficiente intensità possa portare ad una permeabilizzazione della barriera ematoencefalica nei confronti di molecole che in condizioni di riposo non possono superarla.

La beta-endorfina ha una distribuzione molto differenziata nelle diverse regioni cerebrali e l'esercizio fisico induce un incremento sia nei livelli plasmatici di beta-endorfina, sia nella concentrazione della stessa in alcune strutture cerebrali, quali l'amigdala, l'ipotalamo, il caudato-putamen, ecc. Il naloxone (un antagonista interferente con i recettori degli oppioidi endogeni) è stato utilizzato per verificare le reali correlazioni tra le concentrazioni di beta-endorfina e le supposte azioni che l'esercizio fisico determinerebbe mediante la liberazione della beta-endorfina stessa. In base a questi studi risulta non esserci una stretta relazione fra i livelli di beta-endorfina plasmatica e le alterazioni nell'umore conseguenti all'esercizio, anche se questi risultati vanno interpretati con cautela tenendo presente che il naloxone non è un antagonista

sta puro dei recettori degli oppioidi, ma può comportarsi (in funzione del dosaggio) anche da agonista ed avere quindi un effetto simile a quello delle endorfine.

In termini di psicoendocrinologia si rileva che la percezione del dolore è ridotta nei soggetti allenati all'esercizio fisico e ciò suggerisce sia che le endorfine possano produrre analgesia durante l'esercizio fisico acuto, sia che l'allenamento innalzi la soglia del dolore. Lo stress singolo o ripetuto è in grado di attivare i sistemi che inducono analgesia con la mediazione o meno degli oppioidi endogeni. D'altra parte, la scopolamina (antagonista colinergico) al contrario della metil-scopolamina (antagonista colinergico privo di azione centrale) blocca l'analgesia prodotta dagli oppioidi. Inoltre, il naltrexone (antagonista degli oppioidi) attenua l'analgesia indotta da oxotremorina (agonista dell'acetilcolina a livello dei recettori muscarinici). Tuttavia, sia il naltrexone che la scopolamina non hanno effetti sull'analgesia non dipendente da oppioidi.

13.2.9 La sostanza P

È un polipeptide (composto da 11 aminoacidi) presente in molte regioni del SNC ed in diversi tronchi nervosi periferici: le concentrazioni più elevate di sostanza P si ritrovano nelle corna posteriori del midollo spinale, nella substantia nigra ed in alcuni nuclei ipotalamici ove il polipeptide si comporta da neurotransmettitore delle fibre primarie afferenti nocicettive.

La liberazione di sostanza P nel midollo spinale attiva i neuroni delle corna posteriori sensibili a stimoli nocicettivi; di contro, la liberazione della sostanza P nel midollo spinale è inibita dagli analgesici oppioidi e dalle endorfine, per cui il controllo della liberazione della sostanza P dalle fibre afferenti sensoriali rappresenta uno dei principali meccanismi attraverso i quali gli oppioidi e le endorfine potrebbero esercitare la loro azione analgesica. La sostanza P che è presente nelle papille gustative, nei glomi caro-

tidei e nelle fibre simpatiche, oltre al controllo della sensazione dolorifica, svolge altre importanti funzioni durante la prestazione atletica, tra cui quella di modulare la trasmissione simpatica e di avere il ruolo di mediatore neurogeno della vasodilatazione cutanea.

13.2.10 L'acido aspartico

Analogamente al glutamato, anche l'acido aspartico deriva dal metabolismo dei carboidrati ed esercita una intensa azione eccitatoria sui neuroni. Le relazioni con il glutamato sono poi rese strette dal fatto che molti dei neuroni che liberano glutamato sono in grado: sia di liberare anche aspartato, sia di captare ambedue gli aminoacidi con un sistema ad alta affinità. Non è tuttavia noto se esistano neuroni che liberano solo aspartato o se questo aminoacido sia liberato dai neuroni concomitantemente al glutamato.

13.2.11 La glicina

Le concentrazioni della glicina (il cui precursore immediato è la serina ed il precursore remoto è il glucosio) risultano particolarmente elevate nelle corna anteriori del midollo spinale, dove la sostanza è contenuta in interneuroni e dove causa iperpolarizzazione dei motoneuroni spinali (per aumento della conduttanza al cloro, che penetra nelle cellule secondo il gradiente di concentrazione). Inoltre, la stimolazione delle radici dorsali del midollo spinale libera glicina che è captata con un meccanismo ad alta affinità. Quindi la glicina è fundamentalmente coinvolta nella inibizione post-sinaptica indotta sui motoneuroni dagli interneuroni del midollo spinale; tuttavia il neurotrasmettitore esercita un effetto inibitore anche su altri neuroni del SNC (ad esempio, su quelli della corteccia cerebrale).

13.2.12 Altri polipeptidi neuroregolatori

Oltre a quelli descritti in precedenza, numerosi altri polipeptidi sono presenti ed attivi nei neuroni del SNC; così, ad esempio, la vasopressina facilita i processi di consolidazione della memoria, probabilmente attraverso una modulazione dell'attività dei neuroni noradrenergici cerebrali. Analogamente sono state identificate nel SNC delle vie neuronali per tireoliberina, ACTH, somatostatina, neurotensina, VIP (vasoactive intestinal peptide), colecistochinina, ecc., anche se il ruolo di queste sostanze nel SNC non è ancora ben definito.

13.3 *La sintesi e la liberazione dei neurotrasmettitori*

Si è precedentemente evidenziato che la trasmissione dell'impulso nervoso avviene a livello delle sinapsi che collegano l'assone di un elemento cellulare con il corpo della cellula cui trasmettono il segnale. Al fine di comprendere il ruolo effettivo che possono giocare le sostanze dopanti, è bene ricordare che, in funzione delle modalità di sintesi, i neurotrasmettitori sono classificati fundamentalmente in tre gruppi:

(a) neurotrasmettitori sintetizzati da specifici sistemi enzimatici utilizzando dei precursori che i neuroni non sono in grado di formare e che devono pertanto captare dal sangue: ad esempio, la serotonina si forma utilizzando triptofano; l'acetilcolina si sintetizza a partire dalla colina; le catecolamine si producono utilizzando sia tirosina che fenilalanina;

(b) neurotrasmettitori sintetizzati dai poliribosomi a partire da aminoacidi di sintesi endogena od ottenuti dal sangue, con formazione del neurotrasmettitore in forma attiva o di un suo precursore che deve essere a sua volta attivato;

(c) neurotrasmettitori rappresentati da aminoacidi non essenziali, la cui sintesi si inquadra nell'ambito del metabolismo degli aminoacidi o del metabolismo energetico (ad esempio, per il glutamato e l'aspartato), oppure mediante l'inter-

vento di enzimi specifici dislocati nei neuroni che usano quel neurotrasmettitore (ad esempio, GABA e glicina).

Ai fini dell'attuazione di un dopaggio coinvolgente il sistema nervoso, questi dati sono ritenuti di una notevole importanza pratica dal momento che, se un neurotrasmettitore viene sintetizzato a partire da un precursore che è presente nel sangue, si cerca di intervenire per variare la sua sintesi modificando i livelli ematici del precursore. Ad esempio, si cerca di variare le concentrazioni ematiche di triptofano per favorire a livello cerebrale la sintesi di serotonina che, nelle aree profonde, modula la cenestesi e condiziona la tollerabilità al dolore ed alla fatica (la «stamina» degli anglosassoni). Analogamente si variano le concentrazioni ematiche di colina per cercare di favorire la sintesi neuronale di acetilcolina, di cui è ben noto il ruolo nella stimolazione nervosa e neuro-muscolare. Nello stesso modo si innalza la concentrazione ematica di glutamina per cercare di stimolare la sintesi di acido glutamico nel SNC ove svolge un ruolo eccitatorio.

Tutte queste manipolazioni, tuttavia, urtano contro il fatto che i neuroni tendono a produrre i neurotrasmettitori in funzione della frequenza e della intensità degli stimoli sollecitati dalla prestazione atletica. Inoltre la regolazione della velocità di sintesi dei neurotrasmettitori è determinata in prima istanza dall'attività degli enzimi preposti alle specifiche reazioni biochimiche. In questo senso hanno un ruolo importante anche gli enzimi allosterici che, nelle sequenze reattive, inducono l'inibizione del processo di sintesi da parte del prodotto terminale utilizzato nel processo neurotrasmettitivo. Ancora è importante ricordare anche la captazione dei precursori che si attua mediante un meccanismo ad alta affinità; così per la sintesi dell'acetilcolina è fondamentale l'accoppiata captazione ad alta affinità (sodio-dipendente) della colina, selettivamente localizzata nelle terminazioni delle fibre colinergiche e stimolata dall'attività neuronale indotta dalla prestazione.

394 Infine si deve evidenziare che la bar-

riera ematoencefalica è per lo più impermeabile ai neurotrasmettitori circolanti nel sangue; d'altro canto la sua permeabilità ai precursori è limitata e, di norma, il loro trasferimento al SNC avviene a mezzo di carriers, la cui capacità operativa è selettiva e saturabile. Tutto questo porta a mantenere un equilibrio dinamico fra la prestazione e le sostanze che sono attive sui recettori nervosi e che, se artatamente incrementate o decemperate, potrebbero turbare la omeostasi neuronale, la quale nei soggetti allenati è già in grado di adattare la funzionalità nervosa alle esigenze prestantive.

Ai fini dell'utilizzo di sostanze dopanti attive sul SNC, va ancora rilevato che tutti i neurotrasmettitori sono accumulati nelle terminazioni nervose (sinapsi) dentro a specifiche strutture subcellulari di deposito, la cui «capacità» varia a seconda del neurotrasmettitore, del distretto nervoso e del grado di adattamento prestantivo. Oltre alla frazione depositata nelle strutture subcellulari, vi è anche una piccola frazione di neurotrasmettitore libera nel citoplasma od adesa alla membrana neuronale; il ruolo di tale frazione libera non è ancora chiaro. Ciò deriva dal fatto generale che non è ben noto il meccanismo mediante il quale i neurotrasmettitori, che per lo più sono sostanze polari (e, quindi, idrofiliche), attraversano la membrana neuronale, la quale presenta una composizione tipicamente lipidica o lipo-proteica a prevalenza lipidica. Per la liberazione del recettore viene chiamato in causa un meccanismo di escitosi per cui, in alcuni tipi di sinapsi colinergiche, le vescicole sinaptiche contenenti i neurotrasmettitori in prima istanza aderiscono alla membrana parietale (delimitante la terminazione nervosa in corrispondenza dello spazio sinaptico) e quindi si aprono verso l'esterno nello spazio intersinaptico, liberando così i neurotrasmettitori. Tali vescicole sono successivamente ancora disponibili come deposito di neurotrasmettitori nuovamente sintetizzati.

Ai fini sia della prestazione che dell'utilizzo delle sostanze dopanti, è indispensabile comprendere il meccanismo

con il quale i segnali elettrici trasferentisi lungo l'assone, e coinvolgenti la terminazione nervosa sinaptica, si trasformano in segnali chimici (liberazione dei neurotrasmettitori) che risultano proporzionali all'intensità ed alla frequenza determinate dalla prestazione.

La depolarizzazione (indotta dagli stimoli elettrici) attiva la penetrazione di ioni sodio ed apre i canali del calcio, con aumento della concentrazione citoplasmatica di calcio, cui consegue la liberazione dei neurotrasmettitori. Il processo di apertura dei canali al calcio richiede circa 0,3 msec ed altri 0,2 msec sono necessari per la fuoriuscita del neurotrasmettitore: questi tempi risultano perfettamente compatibili con la durata della trasmissione sinaptica, che è di circa 1 msec. Il processo di liberazione dei neurotrasmettitori viene interrotto dalla normalizzazione della concentrazione citoplasmatica del calcio, attuata dalla captazione degli ioni calcio da parte dei mitocondri. Queste particelle subcellulari sono quindi fondamentali per la prestazione in quanto non solo liberano l'energia per la performance di endurance, ma regolano anche gli eventi neurotrasmettitoriali che la modulano; ciò viene attuato sia favorendo le reazioni enzimatiche di sintesi che sono energia-dipendenti, sia attuando variazioni chimico-fisiche che pongono termine all'azione dei neurotrasmettitori.

Oltre alla liberazione dei neurotrasmettitori attuata dalle terminazioni nervose sinaptiche, vi è una liberazione di neurotrasmettitori attuata anche dai dendriti del corpo neuronale. È infatti nota la liberazione di dopamina dai neuroni dopaminergici della sostanza nigra ove vi sono dei circuiti dendro-dendritici mediante i quali i neuroni dopaminergici stessi possono interagire fra di loro, utilizzando appunto uno scambio di segnali elettrici e chimici fra dendriti. La liberazione di neurotrasmettitori dai dendriti si attua, tuttavia, mediante un meccanismo diverso da quello implicato nella liberazione dei neurotrasmettitori dalle terminazioni sinaptiche neuronali, in quanto nei dendriti vi è un ridotto nume-

ro di vescicole sinaptiche unitamente all'assenza di canali rapidi per il sodio, responsabili della depolarizzazione rapida della membrana neuronale.

13.4 Le formazioni recettoriali quali siti di azione delle sostanze dopanti

Sono chiamati «recettori» i siti specifici posti sulle membrane post-sinaptiche (e, in alcuni casi, pre-sinaptiche) ove i neurotrasmettitori, liberati dalle terminazioni nervose in seguito all'arrivo degli impulsi nervosi lungo l'assone, trasmettono un'informazione specifica. I recettori sono delle formazioni proteiche specializzate della membrana cellulare, composti da: (a) una parte deputata a riconoscere in maniera stereospecifica il neurotrasmettitore od i suoi analoghi strutturali; (b) una parte che trasduce il messaggio chimico: (b.1) in un evento chimico-fisico, mediante la modificazione della permeabilità della membrana verso uno o più ioni, mediante la variazione delle caratteristiche elettrochimiche della membrana, ecc.; (b.2) in un evento biochimico, per l'attivazione di un enzima, per l'inibizione di un sistema enzimatico, ecc.; (b.3) in un evento bioenergetico, per variazione dei meccanismi atti alla trasduzione energetica, per variazione della disponibilità dei substrati, ecc.

I meccanismi mediante i quali le sostanze dopanti possono modificare la trasmissione sinaptica sono per lo più di tipo «agonista» od «antagonista» nei confronti dei recettori specifici per uno specifico neurotrasmettitore. Nel primo caso le sostanze dopanti mimano le azioni del neurotrasmettitore fisiologico, mentre nel secondo caso le inibiscono o le bloccano. Affinchè le sostanze dopanti possano attuare un'azione agonista od antagonista a livello di un recettore specifico devono per lo più avere una analogia strutturale (almeno parziale) con il neurotrasmettitore fisiologico.

La valutazione critica dell'azione delle sostanze dopanti sui recettori del sistema nervoso o di altri organi ed apparati esige che siano discussi i principi gene-

rali che regolano le interazioni fra i neurotrasmettitori, i recettori e le sostanze dopanti stesse. Ciò si realizza mediante gli studi sia sui rapporti fra strutture chimiche ed azioni neurotrasmettitive e/o farmacologiche, sia sulla determinazione delle curve concentrazione-azione per i neurotrasmettitori e per gli agonisti e gli antagonisti, con successiva elaborazione matematica dei dati.

13.4.1 Le relazioni generali intercorrenti fra neurotrasmettitore oppure sostanza dopante e recettore

I neurotrasmettitori hanno un'azione specifica nell'organismo che si attua mediante una reazione in cui uno dei reagenti è il neurotrasmettitore e l'altro è un componente dell'organismo stesso. Considerato che sia il neurotrasmettitore (N), sia la sostanza dopante (D), sia la biofase recettoriale (R) sono costituiti da molecole, gli effetti nervosi o farmacologici derivano da un'interazione tra molecole neurotrasmettitive o molecole farmacologiche, da una parte, e specifiche molecole o complessi di molecole della biofase, dall'altra.

Queste specifiche molecole della biofase prendono appunto il nome di «recettori» (R): scolasticamente si suole paragonare l'interazione «neurotrasmettitore-recettore» (NR) o l'interazione «sostanza dopante-recettore» (DR) al modello «chiave-serratura»; in realtà l'interazione è molto più complessa essendo un evento dinamico, dovuto ad un reciproco modellamento fra neurotrasmetti-

tore e recettore, oppure fra sostanza dopante e recettore, con modificazioni reciproche sia nella conformazione che nella distribuzione di carica (fenomeno della «perturbazione conformazionale»). Le conseguenze di tali interazioni possono essere:

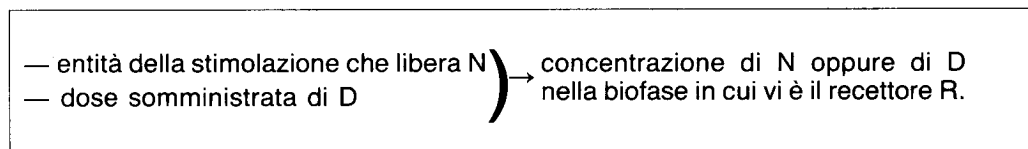
(a) modificazioni nella conformazione e nella distribuzione di carica del neurotrasmettitore N e/o della sostanza dopante D, con loro attivazione a prodotti chimicamente più reattivi (con possibile successiva inattivazione); in questo caso, una o più porzioni attive del recettore R hanno funzioni enzimatiche, oppure uno o più siti di un enzima hanno funzioni recettoriali;

(b) modificazioni nella conformazione e nella distribuzione di carica del recettore R, con sua attivazione ed inizio di una serie di eventi chimico-fisici sequenziali coinvolgenti le molecole circostanti, che vengono a loro volta modificate nella conformazione e nella distribuzione di carica: fenomeno della «propagazione della perturbazione conformazionale» recettoriale, costituente la base dinamica dello sviluppo dell'impulso nervoso e/o dell'effetto farmacologico;

(c) assenza di attivazione del recettore da parte della sostanza dopante D, con mancanza di effetti indotti: fenomeno della «occupazione silente».

Valutando gli eventi che portano allo sviluppo dell'effetto nervoso del neurotrasmettitore N o dell'azione della sostanza dopante D, le sequenze dei processi interessati sono le seguenti:

(A) processi che coinvolgono la relazione:



396 Il valore di tale concentrazione N o D è ovviamente funzione di vari fattori, fra cui: (1) tempo dallo sviluppo della condi-

zione che libera N o dalla somministrazione di D; (2) velocità di liberazione intrasynaptica di N oppure di assorbimento

di D; (3) velocità di trasferimento intersinaptico di N oppure di trasporto e di distribuzione nei vari compartimenti organici di D; (4) legami alle proteine sieriche e/o tissutali; (5) velocità di trasformazione metabolica; (6) velocità di inattivazione e/o di eliminazione.

(B) processi che riguardano la relazione:

occupazione del recettore R: affinità del neurotrasmettitore N o della sostanza dopante D per il recettore R; → induzione dello stimolo: attività intrinseca od efficacia di N oppure di D;

(C) processi che riguardano la relazione:

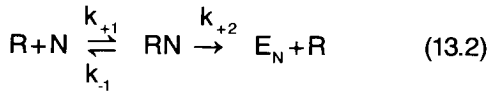
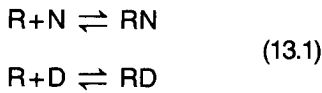
stimolo → sviluppo dell'effetto nervoso o farmacologico;

Questa relazione è assolutamente indipendente da N o da D e dipende unicamente dal tipo di recettore occupato e stimolato.

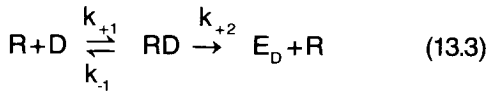
La completa descrizione dell'azione è quindi la seguente:

13.4.1.1 Interazione neurotrasmettitore-recettore oppure sostanza dopante-recettore

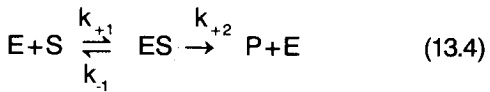
Nello studio di tale interazione, la prima cosa da notare è che, per la reversibilità dell'azione, risulta necessario un equilibrio della reazione tra il neurotrasmettitore N oppure la sostanza D ed il recettore R:



oppure



Questa descrizione è identica a quella dell'interazione dell'enzima E con il suo substrato S per la formazione del prodotto P:



L'applicazione della legge dell'azione di massa a questa situazione porta alla relazione (detta di Michaelis e Menten) fra la velocità di reazione V e la concentrazione del substrato S, descritta in (13.5).

$$V = \frac{V_{max}}{K_m + [S]} \tag{13.5}$$

Queste semplici relazioni tuttavia non quantizzano l'azione di N o di D, ma descrivono l'entità dei legami che essi possono contrarre con il substrato organi-

In questa equazione: V_{max} rappresenta la velocità massima raggiunta quando S è ad un livello decisamente molto alto; K_m è la costante di dissociazione di Michaelis e Menten, corrispondente alla concentrazione molare di substrato necessaria a determinare una velocità di reazione pari alla metà di quella massima.

La relazione (13.5) è illustrata nella Fig. 13.1, nella quale in ascissa è posta la concentrazione molare $[S]$ del substrato (in scala naturale) ed in ordinata la velocità di reazione V (in scala naturale).

Si deve tener presente che (salvo che non sia specificatamente indicato) nella seguente trattazione: (a) la concentrazione del neurotrasmettitore N o della sostanza dopante D è sempre espressa come concentrazione molare ed è indicata fra parentesi quadre; ad esempio $[N]$, $[D]$, ecc.; (b) la risposta è sempre espressa come percentuale della risposta massima, posta per lo più uguale ad 1 od a 10.

In campo neurotrasmettitoriale, l'equazione di Michaelis e Menten corrisponde alla seguente equazione che descrive l'effetto E_N :

$$E_N = \frac{E_N \max}{\frac{K_n}{[N]} + 1} \quad (13.6.1)$$

Ovviamente per l'effetto E_D si può scrivere una analoga equazione quando, al posto di N , interferisce con R la sostanza dopante D :

$$E_D = \frac{E_D \max}{\frac{K_d}{[D]} + 1} \quad (13.6.2)$$

Tuttavia, per semplicità, da questo momento evidenziamo per lo più la relazione fra N ed R allorché l'effetto neurotrasmettitoriale è predominante, mentre descriviamo la relazione fra D ed R quando invece è predominante l'aspetto farmacologico.



e che quindi: $E_N = k_{+2} [RN]$ (13.7)

si può pensare che, quando vi sia un largo eccesso di N , tutti i recettori presenti $[R]_i$ siano occupati, per cui si ha una risposta massima $E_N \max$ il cui valore sarà:

$$E_N \max = k_{+2} [R]_i \quad (13.8)$$

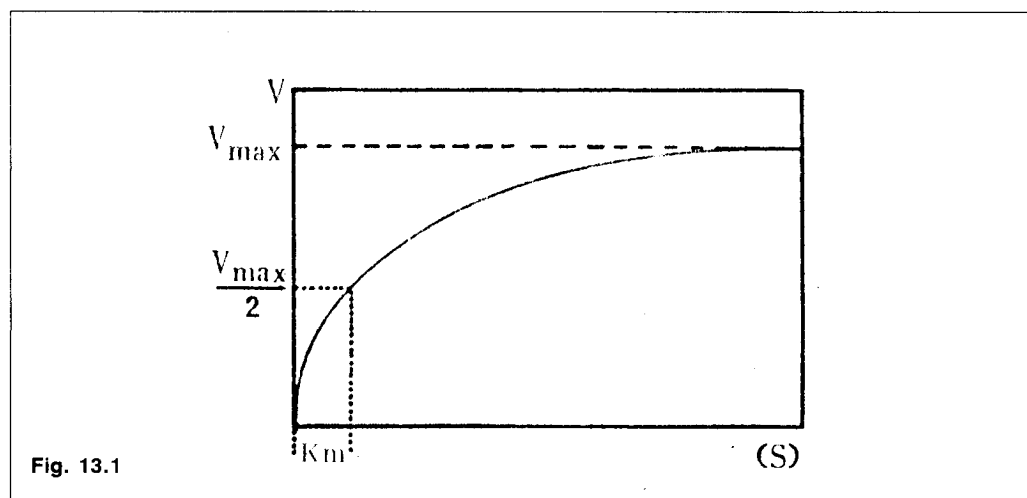


Fig. 13.1

Dalla (13.7) e dalla (13.8), la (13.6.1) può anche essere scritta:

$$E_N = k_{+2} [RN] = \frac{k_{+2} [R]_t}{\frac{Kn}{[N]} + 1} \quad (13.9)$$

con analogo riferimento per la (13.6.2).

Nell'equazione (13.9) sono presenti due costanti di notevole importanza: Kn e la k_{+2} .

La Kn è detta «costante di dissociazione» del complesso RN, recettore-neurotrasmettitore, ed è uguale a k_{-1}/k_{+1} ; il reciproco $1/Kn$ è detto «costante di affinità» e misura la affinità del neurotrasmettitore per il suo recettore. Ovviamente analoghe attribuzioni sono valide per la Kd quando è in gioco il rapporto fra la sostanza dopante D ed il recettore R. Dalla (13.9) si può rilevare che l'effetto E_N è inversamente proporzionale alla Kn, oppure che è direttamente proporzionale alla costante di affinità $1/Kn$.

La costante di affinità ($1/Kn$ o Kaff) può anche essere espressa come:

$$\frac{1}{Kn} = Kaff = \frac{[RN]}{[N] (1 - [RN])} \quad (13.10)$$

Infatti per vari livelli di concentrazione [N] del neurotrasmettitore N, si avranno dei recettori occupati [RN] ed altri liberi [R] essendo:

$$[R]_t = [RN] + [R] \quad (13.11)$$

Se per comodità di calcolo poniamo come unitaria la concentrazione totale dei recettori, ossia $[R]_t = 1$, si avrà che:

$$\begin{aligned} [RN] + [R] &= 1 \\ [R] &= 1 - [RN] \end{aligned} \quad (13.12)$$

Ora, dato che

$$[N] + [R] \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_{+1}} [RN] \quad (13.2)$$

all'equilibrio si avrà:

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[RN]}{[N] [R]}$$

da cui, sostituendo il valore di [R] espresso nella (13.12) si ha:

$$Kaff = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[RN]}{[N] (1 - [RN])} \quad (13.13)$$

ed un'analoga definizione può essere data per la sostanza dopante D.

La k_{+2} (denominata anche k_3) indica il grado con il quale il complesso RN induce l'azione: è la costante di «attività intrinseca». Essa viene anche indicata con il simbolo « α »; in tal caso, l'equazione (13.9) diventa:

$$E_N = \alpha [RN] = \frac{\alpha [R]_t}{\frac{Kn}{[N]} + 1} \quad (13.14)$$

Per convenzione si pone $\alpha = 1$, quando l'effetto massimale di un neurotrasmettitore è uguale all'effetto massimale ottenibile in un dato distretto nervoso; è quindi un valore relativo. Rappresentando graficamente l'equazione (13.14), si ottiene quanto indicato nella Fig. 13.2, nella quale viene posta in ascissa (in scala logaritmica) la concentrazione molare [N] del neurotrasmettitore ed in ordinata (in scala naturale) la risposta E_N .

Dalla equazione (13.14) è possibile rilevare che: (a) a parità di ogni altra condizione (e quindi anche di k_{+2}), tanto maggiore è la Kn tanto più alta è la concentrazione di N necessaria per avere effetti uguali; (b) a parità di ogni altra condizione (e quindi di Kn), ed a parità di concentrazione, tanto maggiore è la k_{+2} tanto maggiore è l'efficacia di N, ossia il valore di E_N .

È quindi possibile concludere che: (a) la Kn condiziona nella Fig. 13.2 la posizione della curva concentrazione/azione sull'asse delle ascisse; (b) la k_{+2} condi-

zione nella Fig. 13.2 l'inclinazione della curva sull'asse delle ascisse ed è, quindi, molto opportuna la sua rappresentazione con il simbolo « α », che richiama alla mente una funzione angolare.

13.4.1.2 La « α » e la « e »

La capacità del complesso neurotrasmettitore-recettore o sostanza dopante-recettore di indurre una risposta (indicata come funzione della k_{+2}) può assumere due aspetti analoghi, definiti da due costanti analoghe: (a) la costante di attività intrinseca (α); (b) la costante di efficacia (e).

La costante di attività intrinseca è già stata definita; dato che $\alpha=1$ quando l'effetto del neurotrasmettitore N (o della sostanza dopante D) è il massimo che può essere espresso (da quella parte di tessuto nervoso su cui agisce) è evidente che essa può variare da 0 a 1. Un neurotrasmettitore N od una sostanza dopante D con $\alpha=1$ prende il nome di «agonista puro»; un altro neurotrasmettitore od un'altra sostanza dopante che, pur agendo sullo stesso recettore dell'agonista puro, non è in grado di evocare la stessa risposta massimale, ma una inferiore, prende il nome di «dualista» ed è un agonista parziale.

L'attività intrinseca del dualista (α_d) è valutabile come:

$$\alpha_d = \frac{\text{massima risposta del dualista}}{\text{massima risposta dell'agonista}}$$

da cui risulta:

- agonista con $\alpha=1$: agonista puro: N (o D);
- dualista con $0 < \alpha < 1$: agonista parziale: N o D;
- dualista con $\alpha=0$: antagonista: D.

Quest'ultimo dualista può essere solo una sostanza dopante che possiede affinità per il recettore R, ma non ha una propria attività farmacologica ($\alpha=0$); occupando quindi il recettore dell'agonista, ne ridurrà competitivamente l'azione nei confronti di N: da qui il termine di «antagonista».

Il concetto di «efficacia» è basato sul presupposto che l'occupazione del recettore R induca le risposte E_N od E_D a mezzo dell'elaborazione di uno stimolo S definibile, quindi, come il prodotto dell'efficacia con l'affinità di N o di D per i recettori occupati:

$$S = e[RN]$$

$$S = e[RD]$$

In tal caso, la relazione espressa in

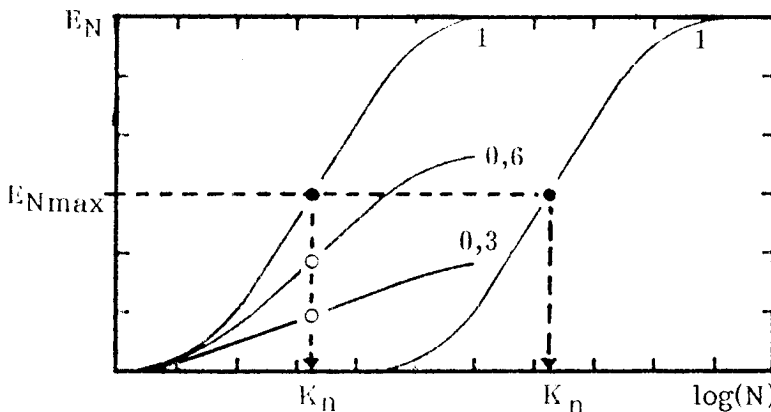
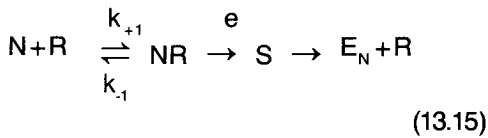


Fig. 13.2 I numeri inclusi nel grafico indicano diversi valori delle costanti di attività intrinseca di tre differenti neurotrasmettitori aventi affinità per lo stesso recettore.

(13.2) può essere più compiutamente indicata così:



Le relazioni fra lo stimolo S e la risposta E_N sono definite in modo arbitrario, prendendo come $S=1$ il valore dello stimolo che induce una risposta pari al 50% della risposta massimale, ottenuta con il più potente neurotrasmettitore N (detto «agonista attivo») della serie di neurotrasmettitori omologhi ($N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$). Ne deriva che se «e» ha un valore molto elevato, la risposta massimale può essere ottenuta anche quando [RN] ha un valore inferiore a quello unitario: ossia anche quando non tutti i recettori sono occupati dal neurotrasmettitore. I recettori non occupati, in concomitanza di una risposta massimale allo stimolo indotto da N, costituiscono una riserva recettoriale e sono detti appunto «recettori di riserva».

Un «agonista parziale» è per lo più una sostanza dopante D che produce una risposta minore di quella massimale che può essere evocata dall'occupazione dei recettori da parte di N. Una sostanza dopante agonista parziale può essere somministrata sino ad ottenere una concentrazione tale da indurre sul sistema nervoso il suo effetto massimale ($E_D \max$); presupponendo che tale effetto massimale sia il 50% dell'effetto massimale $E_N \max$ ottenibile con lo specifico neurotrasmettitore (l'agonista attivo N), risulta che:

$$E_D \max = 0,5 E_N \max;$$

per definizione si ha che in questo caso $S=1$; poichè in tale evenienza la sostanza dopante ha una modesta efficacia, si può pensare che per ottenere la $E_D \max$ debbano essere occupati tutti i recettori; pertanto si può considerare che: $[RD]=[R]_i=1$, per cui l'equazione $S=e$ [RD] in questo caso diventa:

$$1=e \cdot 1; e=1$$

Ossia la costante di efficacia «e» ha un valore unitario quando una sostanza dopante D (agonista parziale) che occupa tutti i recettori (ossia quando $[R]_i=1$) induce una risposta massimale pari al 50% della risposta massimale ottenibile dallo specifico neurotrasmettitore (agonista attivo o puro); in tal caso:

$$e=1=0,5 \alpha$$

Per quanto riguarda i rapporti fra la costante di affinità e lo stimolo S va tenuto presente che la (13.13) definisce:

$$K_{aff} = \frac{[RD]}{[D] (1 - [RD])}$$

di cui si ha:

$$[RD] = \frac{K_{aff} [D]}{1 + K_{aff} [D]}$$

Poiché il valore di S è dato dalla relazione: $S=e$ [RD], per la sostanza dopante D si avrà che:

$$S = \frac{e K_{aff} [D]}{1 + K_{aff} [D]} \quad (13.16a)$$

oppure, nel caso del neurotrasmettitore N, si avrà che:

$$S = \frac{e K_{aff} [N]}{1 + K_{aff} [N]} \quad (13.16b)$$

Per uno specifico neurotrasmettitore N agonista attivo, la [N] ha un valore modesto, per cui al numeratore della (13.16b) il termine «Kaff [N]» tende a 0; analogamente, al denominatore il termine «Kaff [N]+1» tende a 1; pertanto il valore di S tende ad essere definito dalla relazione: «e Kaff [N]».

Ovviamente per D questo si realizza solo quando la sostanza dopante è molto attiva. Da questo esposto circa la costante di efficacia si può rilevare: (a) la grande importanza della costante di efficacia stessa nel determinismo dell'in-

tensità dello stimolo S e, quindi, della risposta E che non sarebbe quindi così strettamente correlata al numero dei recettori occupati; (b) la impossibilità di definire la costante di affinità (o la costante di dissociazione) dal semplice rilievo della concentrazione di agonista capace di produrre il 50% della risposta massimale, in quanto il numero dei recettori occupati da N o da D condiziona più l'entità dello stimolo S che l'entità della risposta E_N o E_D (Fig. 13.3).

13.4.1.3 Il valore di K_n o K_d ed il pD_x

La definizione del valore della K_n o della K_d risulta facilitato se (in contrasto con quanto indicato nel paragrafo precedente sulla costante di efficacia), si presume che l'entità delle risposte sia sostanzialmente funzione del numero dei recettori occupati da N o da D. In realtà ciò è quanto viene di norma fatto per non incorrere in calcoli complicatissimi di non facile applicazione pratica. Pertanto per comodità di calcolo, possiamo inizialmente considerare valido l'assunto della diretta relazione fra numero dei recettori occupati ed entità della risposta;

in tal caso la (13.6) diventa:

$$\frac{E_{N,max}}{E_N} = \frac{K_n}{[N]} + 1 \quad (13.17a)$$

oppure

$$\frac{E_{D,max}}{E_D} = \frac{K_d}{[D]} + 1 \quad (13.17b)$$

Per mezzo di tali equazioni è possibile definire anche le costanti di dissociazione K_n o K_d . Infatti: si consideri una certa concentrazione di N, oppure una certa dose del farmaco D, in grado di determinare un effetto uguale alla metà di quello massimo, ossia una concentrazione $[N]_{50}$, oppure una dose $[D]_{50}$, in grado di indurre un'azione $0,5 E_{N,max}$, oppure $0,5 E_{D,max}$, ossia $E_N = 0,5 E_{N,max}$, oppure $E_D = 0,5 E_{D,max}$.

In tal caso, l'equazione in (13.17a) diventa:

$$\frac{E_{N,max}}{0,5 E_{N,max}} = \frac{K_n}{[N]_{50}} + 1$$

$$\frac{1}{0,5} = 2 = \frac{K_n}{[N]_{50}} + 1 ; 1 = \frac{K_n}{[N]_{50}}$$

$$K_n = [N]_{50}$$

così come

$$K_d = [D]_{50}$$

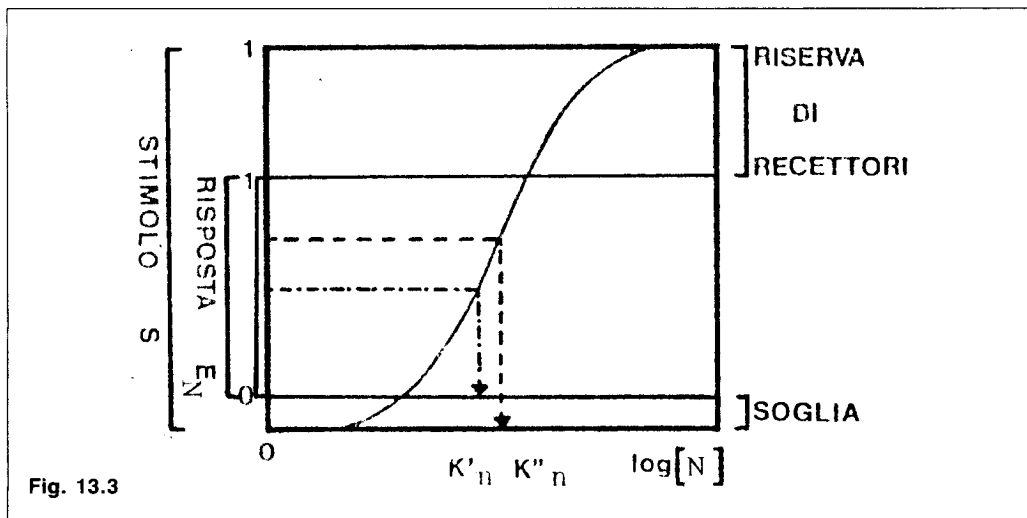


Fig. 13.3

Ossia la K_n e la K_d corrispondono alle concentrazioni molarie del neurotrasmettitore N o della sostanza dopante D che sono capaci di indurre una risposta pari alla metà della risposta massimale; sono quindi analoghe alla K_m (o costante di Michaelis-Menten) precedentemente indicata per lo specifico campo enzimologico in (13.5).

Viene denominato «pDx» il logaritmo decimale negativo della concentrazione molare $[D]_x$ della sostanza dopante D per la quale il valore espresso nell'equazione (13.17b) è uguale ad x, ossia:

$$pD_x = -\log [D]_x = \log (1/[D]_x)$$

quando

$$\frac{E_{D_{max}}}{E_{D_x}} = \frac{K_d}{[D]_x} + 1 = x \quad (13.18)$$

Ossia il pDx rappresenta la concentrazione molare della sostanza dopante D tale per cui:

$$E_{D_x} = \frac{E_{D_{max}}}{x} \quad (13.19)$$

Quando si usa una dose di D che determina una concentrazione molare $[D]_{50}$ della sostanza dopante D, in grado di indurre una risposta pari al 50% di quella massimale, si ha che $E_{D_{50}} = 0,5 E_{D_{max}}$, per cui la 13.18) diventa:

$$x = \frac{E_{D_{max}}}{E_{D_{50}}} = \frac{E_{D_{max}}}{0,5 E_{D_{max}}} = \frac{1}{0,5} = 2 ;$$

poiché in questo caso $x=2$, la (13.19) risulta essere

$$\frac{K_d}{[D]_2} + 1 = 2 ; \quad \frac{K_d}{[D]_2} = 1 ; \quad \frac{1}{[D]_2} = 1 - \frac{K_d}{[D]_2}$$

Dato che per definizione $pD_x = \log (1/[D]_x)$, nel caso di $x=2$ avremo:

$$pD_2 = \log(1/[D]_2) = \log 1/K_d \quad (13.20)$$

Poiché $1/K_d$ rappresenta la costante di affinità di D per il recettore R, il pD2 rappresenta il logaritmo dell'affinità della sostanza dopante D per il recettore R. Ciò vale ovviamente anche per il neurotrasmettitore N.

Come si è detto, il presupposto di base della definizione della K_d , e quindi del pD2, è che, in funzione della concentrazione molare $[N]$ del neurotrasmettitore od a quella $[D]$ della sostanza dopante, esista una proporzionalità diretta fra la risposta E_N od E_D ed il numero dei recettori occupati $[RN]$ o $[RD]$. Se facciamo però riferimento alla (13.15), ossia introduciamo il fattore stimolo S, la proporzionalità deve ritenersi concretizzata fra numero di recettori occupati ed entità dello stimolo S. In altre parole, l'entità dei recettori occupati condiziona l'entità dello stimolo S e non l'entità della risposta E. Quindi fra stimolo S ed entità di risposta E_N o E_D non vi è coincidenza totale in quanto, come mostrato nella Fig. 13.3, i due parametri differiscono in almeno due elementi.

Questi due elementi sono: (a) la riserva di recettori, per cui una risposta massimale può essere evocata dalla occupazione di solo una parte dei recettori; (b) la soglia di attività, per cui un certo numero di recettori deve essere stimolato per avere un reclutamento idoneo a sviluppare l'azione specifica. Inoltre si può vedere la notevole differenza fra la K_n' , calcolata in base alla relazione «numero dei recettori occupati/entità della risposta» e la K_n'' calcolata in base alla relazione «numero dei recettori occupati/entità dello stimolo». Ritenendo valido il postulato relativo all'esistenza dei recettori di riserva («spare receptors» degli anglosassoni), è logico presupporre che la K_n e la K_{aff} non possano essere semplicemente definite dalla concentrazione molare che produce il 50% dell'effetto massimale.

Come si evince da quanto descritto in questi paragrafi, è abbastanza complicato definire le reali relazioni fra N o D, da una parte, ed R dall'altra: il che urta con la disinvoltura ed il semplicismo con cui vengono utilizzate in campo sportivo le

sostanze dopanti che interferiscono con i recettori dei neurotrasmettitori. Infatti per quanto riguarda le relazioni dose-effetto fra N ed R oppure fra D ed R, si può evidenziare che l'entità della risposta E_N od E_D può essere correlata al numero dei recettori occupati oppure alla velocità di occupazione dei recettori.

Di conseguenza, le curve «tempo/risposta» hanno un comportamento diverso nei due casi in quanto: (a) nel primo caso, l'effetto aumenta progressivamente con il numero dei recettori occupati, fino ad una situazione di equilibrio o «steady state»; b) nel secondo caso l'effetto massimo lo si ottiene subito dopo la liberazione fisiologica di N, o la somministrazione farmacologica di D, in quanto tutti i recettori sono liberi e, quindi, occupabili da D; poi l'effetto diminuisce parzialmente sino alla situazione di equilibrio.

È chiaro che le relazioni tempo/risposta sono fortemente influenzate dalla velocità di diffusione di N o di D nella biofase verso i recettori, per cui in caso di diffusione lenta si possono determinare delle alterazioni nella entità delle risposte massime iniziali. Va inoltre ricordato che la presenza di una diminuzione, dopo il massimo iniziale, non implica necessariamente che il fattore in causa per l'induzione dell'effetto sia la velocità di occupazione dei recettori, in quanto durante la prestazione molti altri fattori possono portare alla diminuzione dell'effetto, come ad esempio l'esaurimento della capacità di risposta del substrato stimolato.

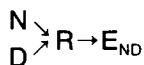
13.4.2 Le interazioni fra neurotrasmettitore, sostanza dopante e recettore

Quanto esposto fino ad ora si riferisce al rapporto singolo che intercorre fra il neurotrasmettitore N, o la sostanza dopante D, ed il recettore R; è tuttavia molto facile che N e D interagiscano contemporaneamente con la biofase R. Delle varie forme di interazione che ne scaturiscono prenderemo in esame le fondamentali che sono le seguenti:

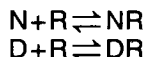
- (a) interazione competitiva;
- (b) interazione non-competitiva;
- (c) interazione incompetitiva;
- (d) interazione chimica.

13.4.2.1 Interazione competitiva

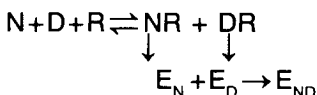
Si attua quando sia il neurotrasmettitore N che la sostanza dopante D sono presenti e competono per lo stesso recettore R.



L'equilibrio è rappresentato dalle equazioni:



ed il complesso delle interazioni può essere così espresso:



Se si indicano: con K_N ed α le costanti di dissociazione e di attività intrinseca di N; con K_D e β le costanti di dissociazione e di attività intrinseca di D, si ha:

$$E_N = \alpha [RN] ; E_D = \beta [RD]$$

e, senza entrare nel dettaglio matematico, il rapporto fra N e D è retto dalla seguente formula:

$$E_{ND} = [R]_t \frac{\alpha K_D [N] + \beta K_N [D]}{K_N [D] + K_D [N] + K_N K_D} \quad (13.21)$$

In base al valore dell'attività intrinseca di N e D, ossia in base ai valori di α e β , possiamo distinguere i seguenti tre casi principali:

- (a) $\alpha = \beta$; con β diverso da 0.

In questo caso la sostanza dopante D ha un'attività intrinseca uguale a quella del neurotrasmettitore N. Pertanto gli effetti combinati del neurotrasmettitore N e della sostanza dopante D consistono

nella somma degli effetti di ogni singola sostanza: sinergismo di somma o sinergismo di addizione.

In questo caso, l'equazione (13.21) diventa:

$$E_{ND} = \alpha [R]_t \frac{Kd[N] + Kn[D]}{Kn[D] + Kd[N] + KnKd} \quad (13.22)$$

e poiché $\alpha [R]_t = E_N \max$, si ha:

$$E_{ND} = E_N \max \frac{Kd[N] + Kn[D]}{Kn[D] + Kd[N] + KnKd} \quad (13.23)$$

La rappresentazione grafica di questa equazione (per il caso esemplificativo in cui $\alpha = \beta$) è riportata nella Fig. 13.4. Per quanto riguarda l'effetto dopante, si vede chiaramente che in assenza della sostanza dopante, ossia per $[D]=0$, si avrà solo l'azione di N che si sviluppa con il crescere della sua concentrazione $[N]$ sino ad un valore massimo $E_N \max$. Alorché viene somministrata la sostanza dopante, ossia per $[D] > 0$, si avrà che:

$E_{ND} > E_N$, fino a che $E_{ND} = E_N \max$

In questo caso, ossia quando $E_{ND} = E_N \max$, anche un eccesso di $[D]$ non determina un aumento di risposta in quanto tutti i recettori sono occupati.

Nel complesso questo tipo di interazione prende il nome di «sinergismo di somma», poiché, fino a quando vi sono recettori R disponibili, l'azione E_{ND} è uguale all'azione di N più quella di D. È evidente che se l'atleta è allenato, la liberazione del neurotrasmettitore N si svilupperà sino a raggiungere di per sé il valore di risposta massima $E_N \max$, occupando cioè tutti i recettori R disponibili e quindi rendendo del tutto inconsistente la successiva somministrazione della sostanza dopante D, di cui risulteranno palesi solo gli effetti collaterali.

(b) $\alpha > \beta$; con β diverso da 0.

In questo caso la sostanza dopante D ha un'attività intrinseca minore di quella del neurotrasmettitore N.

Poniamo, ad esempio, che:

$\alpha = 1$; dato che per definizione $0 < \beta < \alpha$, si ha che:

$$0 < \beta < 1.$$

Dalla rappresentazione grafica rappresentata nella Fig. 13.5 (in cui esemplificativamente: $\alpha = 1$ e $\beta = 0,16$) si evidenzia che, anche in presenza di diverse concentrazioni della sostanza dopante D, esiste un valore di E_{ND} che dipende solo dalla concentrazione del neurotrasmettitore N ed è assolutamente indipendente dai valori di $[D]$. Per questo valore di $[N]$ si ha che $E_{ND} = E_N$, e si chia-

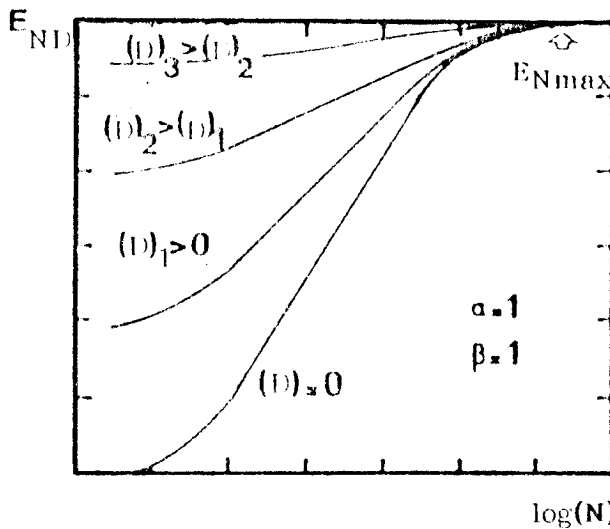


Fig. 13.4

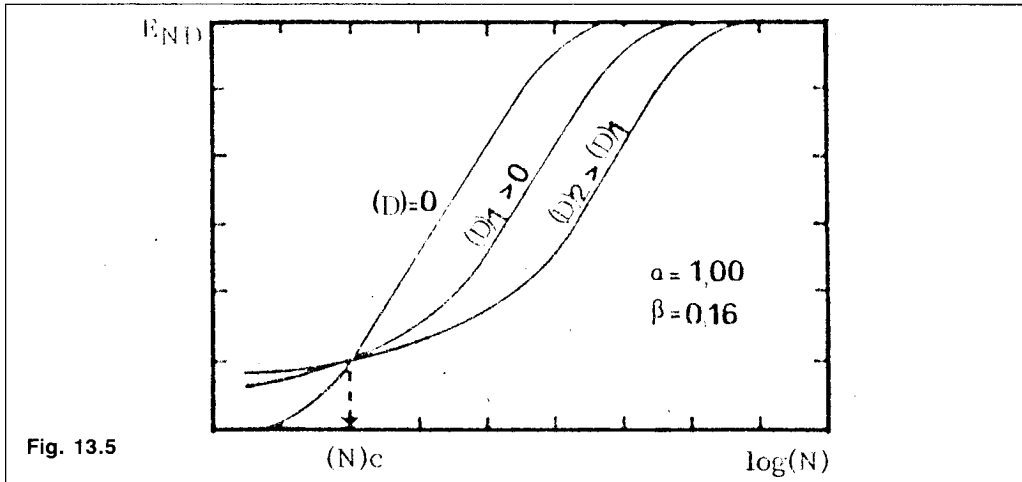


Fig. 13.5

ma $[N]c$ tale valore di concentrazione critica; in tal caso, risulta che:

(b1) per $[N] < [N]c$ si ha che $E_{ND} > E_N$

«sinergismo di somma»; si può verificare solo nell'evenienza che l'atleta, pur essendo allenato, liberi solo basse concentrazioni di N per cui vengono lasciati liberi molti recettori R con i quali la sostanza dopante D può legarsi. Quindi, anche se D ha una $\beta < \alpha$, il suo contributo alla E_{ND} sarà pur sempre positivo;

(b2) per $[N] > [N]c$ si ha sempre che $E_{ND} < E_D$

«antagonismo competitivo»; infatti le elevate concentrazioni di N lasciano libero un basso numero di recettori R disponibili per D . Se la sostanza dopante D è somministrata in dosi efficaci o, peggio, molto alte si verifica che, dopo aver occupato i recettori liberi, D tenderà (per la legge d'azione di massa) a spostare N da R , sostituendosi ad N ; avendo D una attività intrinseca β minore di quella α che caratterizza il neurotrasmettitore N , la E_{ND} risultante, a parità di $[N]$, sarà tanto minore quanto maggiore è la concentrazione della sostanza dopante D . Si ottiene quindi nell'atleta esattamente l'opposto di quanto prefissato con l'uso della sostanza dopante.

(c) $\alpha > \beta$; con $\beta=0$.

In questo caso, la sostanza dopante D ha un'attività intrinseca nulla per cui è in grado di occupare il recettore R , senza però attuare un'attivazione dello stesso, ma impedendo nello stesso tempo al neurotrasmettitore N di occupare R e, quindi, di svolgere la sua azione fisiologica. In questa situazione l'equazione (13.21) diventa:

$$E_{ND} = [R]_t \frac{\alpha K_d [N]}{K_d [N] + K_n [D] + K_n K_d} \quad (13.24)$$

che divisa per $K_d [N]$ diventa:

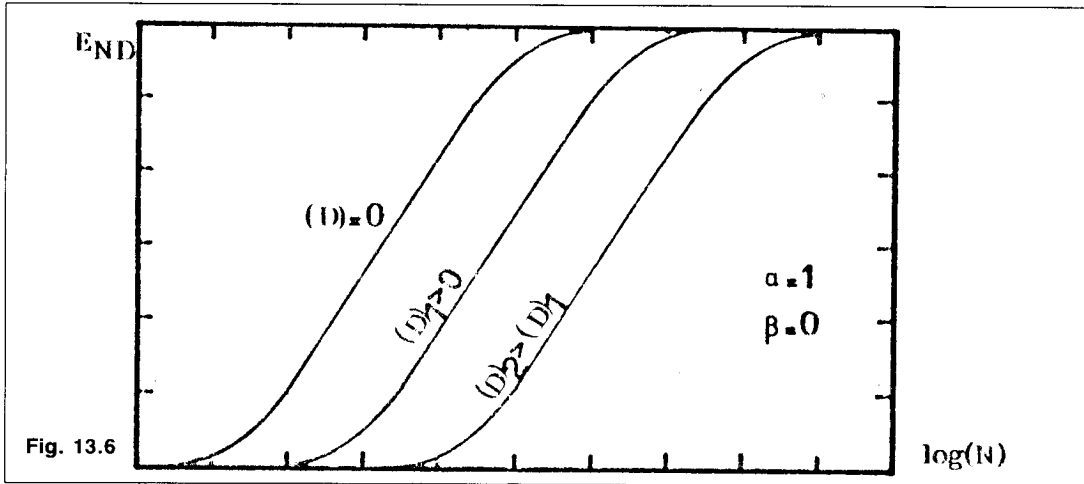
$$E_{ND} = \frac{\alpha [R]_t}{1 + \frac{K_n [D]}{K_d [N]} + \frac{K_n}{[N]}}$$

ossia:

$$E_{ND} = \frac{E_N \max}{\frac{K_n}{[N]} + 1 + \frac{K_n [D]}{K_d [N]}} \quad (13.25)$$

Se ora teniamo presente come la (13.6) indichi che:

$$E_N = \frac{E_N \max}{\frac{K_n}{[N]} + 1}$$



è possibile rilevare come sia la (13.6) che la (13.25) abbiano lo stesso numeratore ($E_N \max$), ma la (13.25) ha un valore di denominatore sempre maggiore di quello della (13.6), per cui ovviamente si ha sempre che $E_{ND} < E_N$.

La rappresentazione grafica dell'equazione in (13.23) è riportata nella Fig. 13.6. Se paragoniamo la Fig. 13.5 con la Fig. 13.6, si può facilmente osservare che in quest'ultima il punto critico $[N]_c$ non compare in quanto coincide con il valore 0 delle coordinate, essendo $\beta=0$; pertanto si ha sempre che:

$$E_{ND} < E_N$$

costituendo sempre il cosiddetto «antagonismo competitivo». Anche questo concetto è intuitivo, in quanto con il crescere di $[D]$ il numero dei recettori disponibili per N diventa sempre minore (per la legge d'azione di massa); poiché lo svilupparsi dell'azione è solamente legato ad N (avendo D un'attività intrinseca nulla), la E_{ND} diverrà sempre più piccola quanto più crescerà $[D]$. È evidente dalla Fig. 13.6 che, con il crescere dei valori di $[D]$, le curve dose/effetto di N si spostano gradualmente e parallelamente verso destra: è sempre possibile quindi, anche se ciò implica un aumento progressivo di $[N]$, raggiungere la $E_N \max$. Ciò non

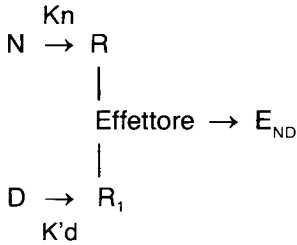
deve stupire in quanto la interazione competitiva in esame prevede la reversibilità dei legami di NR e DR, con uno spostamento reciproco di N e D da R in base alla legge dell'azione di massa.

Quindi, quanta più sostanza dopante D è presente, tanto più neurotrasmettitore N dovrà essere liberato per ottenere uno stesso effetto: la curva dell'agonista viene quindi spostata parallelamente verso dosi più elevate. Va però notato, a questo proposito, che si possono facilmente commettere grossolani errori di interpretazione; è pur vero che in caso di antagonismo competitivo si ha uno spostamento parallelo delle rette dose/azione, ma è anche altrettanto vero che questo avviene in altre situazioni che non siano l'antagonismo competitivo. Infatti tale slittamento parallelo delle curve dose/azione si osserva anche in alcune forme di antagonismo non-competitivo, in caso di antagonismo irreversibile ed in alcuni casi di antagonismo chimico. Nel caso dell'antagonismo non-competitivo il fenomeno è legato alla «riserva di recettori» e verrà descritto più oltre.

13.4.2.2 Interazione non-competitiva

Esistono dei casi in cui il neurotrasmettitore N e la sostanza dopante D

agiscono sullo stesso effettore ma per mezzo di due recettori differenti (R ed R_1), anche se tra loro dipendenti. In tal caso l'effetto dell'interazione di D con R_1 induce: (a) una variazione nell'attività intrinseca; oppure (b) una variazione nell'affinità del complesso neurotrasmettitore-recettore NR.



(a) Interazione non-competitiva con variazione dell'attività intrinseca del neurotrasmettitore.

La formulazione generale dell'interazione in oggetto si realizza nell'equazione:

$$E_{ND} = E_N \left(1 + \frac{\beta'}{\frac{K'd}{[D]} + 1} \right) \quad (13.26)$$

dove: E_N =risposta farmacologica in assenza di D; $K'd$ =costante di dissociazione del complesso DR_1 ; β' =costante di attività intrinseca di D su R_1 .

L'equazione (13.26) evidenzia che l'aggiunta di D provoca una variazione di E_N senza che si verifichi uno spostamento delle curve lungo l'asse delle ascisse come evidenziato, nel caso dell'antagonismo, nella Fig. 13.7; il risultato finale di tale interazione dipende ovviamente dal valore della β' , come si può evincere dalle esemplificazioni seguenti.

Se attribuiamo ad N una α con valori $0 < \alpha < 1$, possiamo considerare almeno due casi fondamentali:

(a1) $0 < \beta' < 1$

in questo caso, si ha che $E_{ND} > E_N$, ossia la sostanza dopante D incrementa l'effetto del neurotrasmettitore N: «sinergismo non-competitivo».

(a2) $-1 < \beta' < 0$

In questo caso, si ha che $E_{ND} < E_N$, ossia la sostanza dopante D decrementa l'effetto di N: «antagonismo non-competitivo».

Il fatto che la β' della sostanza dopante D possa assumere valori negativi non deve stupire dato che, così come si attribuisce convenzionalmente al neurotrasmettitore N una $\alpha=1$ per indicare il massimo effetto, analogamente si indica con -1 il massimo effetto della sostanza dopante D con azione contraria ad N: pertanto l'estensione teorica di β' sarà $-1 < \beta' < +1$. Questa evenienza è diversa da quella descritta per l'antagonismo competitivo dove l'effetto inibitorio può avvenire per $\beta < \alpha$, ed in particolare per $\beta=0$; infatti N e D occupano lo stesso recettore. Nel presente caso dell'antagonismo non-competitivo, N e E interessano lo stesso effettore, ma occupano due recettori diversi, anche se interdipendenti. Se si tiene conto che N ha una α il cui valore è: $0 < \alpha < 1$, risulta logico attribuire a D sia una possibile azione analoga ad N (quindi: $0 < \beta' < 1$) che una possibile azione contraria ad N (quindi: $-1 < \beta' < 0$).

Un caso assai tipico è quello in cui la sostanza dopante D è caratterizzata da $\beta'=-1$; nella presente trattazione ci occupiamo partitamente di questo evento che è tra i più frequenti nell'antagonismo non-competitivo riferito alle sostanze do-

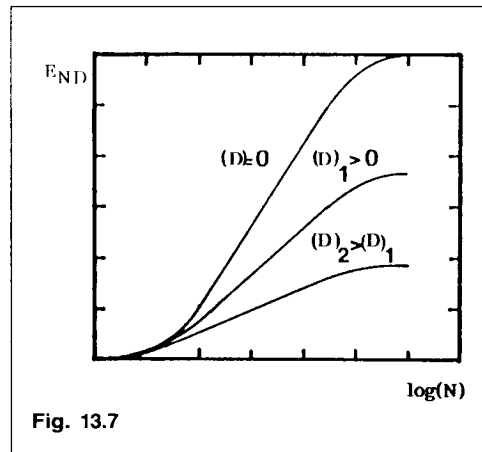


Fig. 13.7

panti. L'effetto del neurotrasmettitore N (con $\alpha > 0$) su R, in presenza di una sostanza dopante non-competitiva D che agisce su R' (con $\beta = -1$), si quantizza in una E_{ND} che è sempre minore della E_N . Ciò perché, in assenza di variazioni della costante di dissociazione di N da R, la sostanza dopante D riduce la costante di attività intrinseca α di N. Infatti nella (13.26) sostituendo a β' il valore -1 e svolgendo si ha:

$$E_{ND} = \frac{E_N}{\frac{[D]}{K'd} + 1}$$

in cui, sostituendo ad E_N il valore ricavato dalla (13.6), si ottiene:

$$E_{ND} = \frac{E_N \max}{\left(\frac{Kn}{[N]} + 1\right) \left(\frac{[D]}{K'd} + 1\right)} \quad (13.27)$$

Nella Fig. 13.7 è evidenziata la rappresentazione grafica dell'equazione 13.27; si vede come le varie curve dose/azione del neurotrasmettitore N, in presenza di dosi diverse della sostanza dopante D, non sono parallele fra di loro (come avviene nel caso dell'antagonismo competitivo). Con dosi progressivamente crescenti della sostanza dopante la curva descrivente l'effetto della liberazione del neurotrasmettitore si inclina progressivamente verso l'ascissa.

Pertanto, in presenza della sostanza inibitrice non-competitiva D, anche le più alte concentrazioni di N non sono in grado di indurre la risposta massimale producibile dal neurotrasmettitore N in assenza di D. Ciò è nettamente differente da quanto avviene nel caso dell'antagonismo competitivo in cui, anche in presenza di D, la liberazione di alte concentrazioni di N è capace di indurre la risposta massimale simile a quella prodotta da N quando $[D]=0$.

Osservando le Fig. 13.6 e 13.7 (e ricordando quanto detto a proposito delle costanti di dissociazione e di attività intrinseca) si può rilevare che:

(1) nel caso dell'antagonismo competitivo, la sostanza dopante D ad azione inibitoria diminuisce sostanzialmente l'affinità di N per R: infatti le curve, in funzione dei valori crescenti di D, si spostano progressivamente verso destra sull'asse delle ascisse; non viene però modificata la attività intrinseca di N; infatti le curve, in presenza di D, possono raggiungere sempre un valore massimale analogo al valore massimale ottenibile in assenza di D (ossia per $[D]=0$); ovviamente quando $[D] > 0$ ciò avviene per concentrazioni più elevate di N, in quanto sia N che D competono per il medesimo recettore R e quindi, anche in presenza di D, si possono sempre trovare concentrazioni di N capaci, per la legge d'azione di massa, di spostare D dai recettori R;

(2) nel caso dell'antagonismo non-competitivo, la sostanza dopante D azione inibitoria non modifica l'affinità di N per R; infatti le curve, in funzione delle dosi crescenti di D, non si spostano sull'asse delle ascisse; viene invece diminuita l'attività intrinseca di N; infatti le curve, in presenza di D, non raggiungono mai il valore massimale indotto da N in assenza di D (ossia per $[D]=0$) in quanto N e D, anche se agiscono sullo stesso effetto, occupano funzioni recettoriali diverse (R ed R₁) e quindi, pur aumentando la liberazione del neurotrasmettitore N, non è possibile rimuovere D dalla quota di recettori R₁ occupati.

L'antagonismo non-competitivo si verifica con meccanismi differenziati che sono sostanzialmente riassumibili in questi casi:

(1) quando la sostanza dopante D, interagendo con R', modifica alcuni importanti siti di R intimamente correlati con i fenomeni dell'attivazione del recettore R stesso: in questo caso D interferisce con la elaborazione dello stimolo indotto dal neurotrasmettitore N;

(2) quando la sostanza dopante D modifica alcune tappe della propagazione della perturbazione conformazionale delle molecole perirecettoriali: in questo caso D interferisce con la propagazione dello stimolo indotto da N. Talvolta D è

capace di inibire non solamente la propagazione dello stimolo indotto da N su R, ma anche quello indotto da altri neurotrasmettitori su altri specifici recettori.

(b) Interazione non-competitiva con variazione della costante di dissociazione del neurotrasmettitore.

Sussistono dei casi in cui DR' induce una variazione nella Kn del complesso NR, senza modificare la costante di attività intrinseca α del neurotrasmettitore N; pertanto la Kn risultante è funzione anche di [D]. L'equazione che regola il fenomeno fa pertanto riferimento alla (13.6):

$$E_N = \frac{E_N \max}{\frac{Kn}{[N]} + 1}$$

che in questo caso diverrà:

$$E_{ND} = \frac{E_N \max}{\frac{Kn \cdot fd}{[N]} + 1} \quad (13.28)$$

Come si vede, la E_{ND} dipende dalla concentrazione di N e, solo indirettamente, da [D], poichè in questo caso [D] influenza unicamente la costante di dissociazione Kn di N e non la costante di attività α ; pertanto la Kn, in presenza della sostanza dopante D, avrà il valore: $kn \cdot fd$. Le curve dose/azione del neurotrasmettitore N, in assenza od in presenza di dosi efficaci della sostanza dopante D, differiscono solo per uno specifico fattore (indicato con fd) e, pertanto, sono parallele fra di loro. Ciò è molto importante in quanto dimostra che lo spostamento sull'asse delle ascisse delle curve relative all'effetto del neurotrasmettitore N non è una caratteristica che indichi necessariamente la presenza di un antagonismo competitivo.

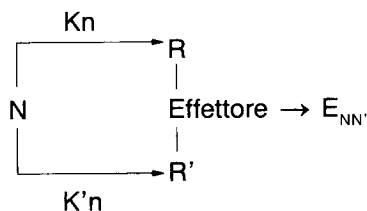
Nel caso dell'interazione non-competitiva con variazione della Kn si possono verificare i seguenti casi:
 per $Kn \cdot fd < Kn$ si ha: $E_{ND} > E_N$: sinergismo
 per $Kn \cdot fd > Kn$ si ha: $E_{ND} < E_N$: antagonismo.

In tutti i casi, pur sviluppando un'interazione non-competitiva, le curve relative all'azione di N sono parallele fra di loro.

(c) Auto-interazione non-competitiva del neurotrasmettitore.

Questo evento si verifica quando il neurotrasmettitore N ha affinità per ambedue le funzioni recettoriali interdipendenti R ed R'. In questo caso l'interazione di N con R' induce una variazione nell'attività intrinseca o nella affinità del complesso neurotrasmettitore-recettore NR.

Quindi, come con i meccanismi indicati in (a) e (b), si possono avere delle auto-interazioni non-competitive con variazione dell'attività intrinseca o della costante di dissociazione del neurotrasmettitore.



(c1) Nel caso dell'auto-interazione non-competitiva con variazione dell'attività intrinseca α del neurotrasmettitore N, indicando con: E_N =effetto in assenza di auto-interazione; $K'n$ =costante di dissociazione del complesso NR'; α' =costante di attività intrinseca di N su R', si ha che:

$$E_{NN'} = E_N \left(1 + \frac{\alpha'}{\frac{K'n}{[N]} + 1}\right) \quad (13.29)$$

Analogamente alla (13.26), che caratterizza l'interazione non-competitiva, si possono distinguere almeno due casi fondamentali:

$$0 < \alpha' < 1$$

in questo caso si ha che $E_{NN'} > E_N$; ossia si ottiene una autosensibilizzazione non-competitiva: autosinergismo non-competitivo;

$$-1 < \alpha < 0$$

in questo caso si ha che $E_{NN'} < E_N$; ossia l'effetto primitivo di N è diminuito come risultante di un'autoinibizione non-competitiva: auto-antagonismo non-competitivo.

(c2) In presenza di auto-interazione non-competitiva con variazione della costante di affinità del neurotrasmettitore N, l'equazione che regola il fenomeno è sempre la (13.6) che in questo caso diviene:

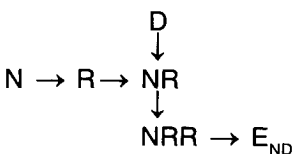
$$E_{NN'} = \frac{E_N \max}{\frac{Kn \cdot fn'}{[N]} + 1} \quad (13.30)$$

in quanto l'azione è solamente legata alla N, mentre la interferenza di N con R' determina una variazione della Kn, per cui essa diventa $Kn \cdot fn'$.

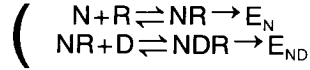
Le curve dose/azione descrittive l'effetto del neurotrasmettitore N in assenza od in presenza di auto-interazione non-competitiva per variazione della costante di affinità sono parallele fra di loro in quanto la (13.6) e la (13.30) differiscono solo per il fattore fn' .

13.4.2.3 Interazione incompetitiva

L'interazione incompetitiva si ha quando la sostanza dopante D agisce sul complesso NR primitivamente formato dall'interazione del neurotrasmettitore N con il proprio recettore R. È un evento decisamente poco frequente che si esplicita con la risultante del fatto che la sostanza dopante D forma un complesso NRD da cui deriva l'azione E_{ND} .



In questo caso il recettore di D è costituito dal complesso neurotrasmettitore-recettore NR: pertanto sia l'affinità di D per Nr, che l'attività intrinseca sono funzione di NR e quindi di N:



Ciò si attua sia nel senso di un'inibizione (antagonismo) che di una sensibilizzazione (sinergismo) dell'azione del neurotrasmettitore. L'equazione che esprime il fenomeno si basa sul presupposto che la sostanza dopante D agisca unicamente sul complesso NR, per cui si avrà:

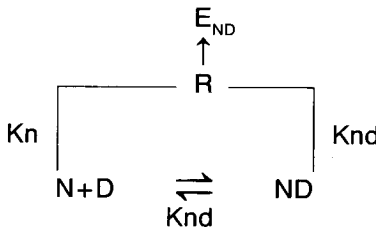
$$E_{ND} = \frac{E_N \max}{\frac{Kn}{[N]} + \frac{[D]}{Kd} + 1} \quad (13.31)$$

13.4.2.4 Interazioni chimiche

Si verificano quando il neurotrasmettitore N ed il recettore R interagiscono in presenza di una sostanza dopante D capace di reagire direttamente con N, e non con R.

Gli eventi possono essere così schematizzati.

(a) le affinità $1/Kn$ (di N per R) ed $1/Knd$ (di ND per R) sono dello stesso ordine di grandezza:

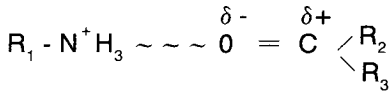


Pertanto, si ha che:

$$E_{ND} = \alpha[NR] + \beta[NDR]$$

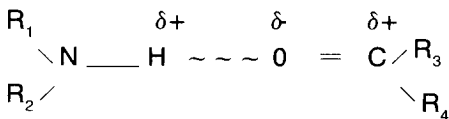
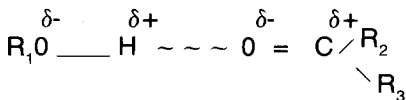
e, quindi, si rientra nel caso di interazione competitiva fra il neurotrasmettitore N ed una sostanza ND, anche se ND è parzialmente costituita chimicamente da N; 411

Nei «legami chimici elettrostatici bipolari», una ineguale distribuzione delle cariche elettrostatiche di una stessa molecola fa sì che una parte della stessa sia carica negativamente nei confronti dell'altra parte e viceversa. Esistono cioè nella stessa molecola regioni a relativa elettropositività ($\delta+$) e regioni a relativa elettronegatività ($\delta-$). Una molecola a carica bipolare può quindi contrarre legami elettrostatici con ioni a carica opposta, oppure può scambiare legami con molecole bipolari, come nel seguente esempio:



Questo tipo di legame presenta un livello energetico di 2,5-3,5 kcal/mole, e la forza di attrazione è inversamente proporzionale al cubo della distanza fra N ed R, oppure fra D ed R.

I legami idrogeno sono un caso particolare dei «legami chimici elettrostatici dipolo-dipolari» fra l'atomo di idrogeno di una molecola ed un gruppo elettronegativo. L'atomo di idrogeno, trovandosi intermedio fra i due gruppi reagenti, costituisce un elemento di legame fra gli stessi. Nei legami neurotrasmettitore-recettore, il gruppo H-donatore è solitamente idrossilico od aminico, ed il gruppo elettronegativo è per lo più un ossigeno carbonilico:



Questo tipo di legame presenta un livello energetico di circa 1,5-2,5 kcal/mole e la forza di attrazione è inversamente proporzionale alla quarta potenza della distanza fra N ed R, o fra D ed R.

I legami apolari di Van der Waals sono dei deboli «legami chimici elettrostatici bipolo-bipolari» che si instaurano fra due atomi o due gruppi di atomi apparentemente neutri. La forza di attrazione è inversamente proporzionale alla settima potenza della distanza, per cui hanno una risultanza pratica solo se le distanze interatomiche o intermolecolari sono molto brevi; il livello energetico di questo tipo di legame è di 0,5 kcal/mole. La resistenza del legame aumenta con il peso atomico ed è significativa per il carbonio, l'azoto e l'ossigeno: questi legami servono a rinforzare altri legami più solidi fra neurotrasmettitore o sostanza dopante e recettore. Sebbene siano i più labili dei legami chimici, quelli apolari di Van der Waals possono essere di notevole importanza se ne esistono vari nello stesso ambito molecolare, come nel caso di neurotrasmettitori che stanno molto vicini al recettore.

Tra i «legami chimici non-elettrostatici», quelli di «covalenza» sono il risultato di una compartecipazione di elettroni fra due atomi; è un legame molto forte e molto difficile da rompere dato che il livello energetico oscilla intorno a 50-100 kcal/mole, ossia molto al di sopra del limite massimo della quota energetica della biofase che è stata calcolata in 10-12 kcal/mole. L'instaurarsi di legami covalenti fra una sostanza di D ed il recettore R condiziona quindi la irreversibilità del legame stesso.

13.4.3.2 I legami chimico-fisici

I legami chimico-fisici sono essenzialmente basati sui fenomeni dell'adsorbimento e riguardano le sostanze che diminuiscono la tensione superficiale e che, pertanto, tendono a portarsi alla superficie. Le sostanze che si sciolgono in acqua tendono a diffondere negli strati superficiali, dato che non si conoscono sostanze che siano capaci di aumentare la tensione superficiale della fase acquosa stessa. La diffusione della sostanza negli strati superficiali prosegue sino a che la conseguente diminuzione della

tensione superficiale è esattamente controbilanciata dalla tendenza della sostanza a diffondere verso l'interno della soluzione ove la concentrazione è minore. Questo processo generico di concentrazione superficiale è detto «adsorbimento», per indicare che non si tratta altro che di un semplice accumulo di sostanza alla superficie. La quantità di sostanza che si adsorbe è ovviamente proporzionale alla superficie ed alla sua concentrazione, ma non in maniera linearmente proporzionale, avendo un andamento parabolico costante per un solo valore di temperatura. Il fatto che tali parabole varino con il variare della temperatura ha determinato la loro denominazione di «isoterme di adsorbimento», come indicato nella Fig. 13.8.

Le molecole adsorbite non si dispongono a caso sulla superficie adsorbente; così se le molecole di un acido grasso disperse in una biofase acquosa danno origine ad uno strato monomolecolare, l'area occupata da ogni singola molecola è la stessa qualunque sia la lunghezza della catena carboniosa dell'acido; ossia le molecole si dispongono in maniera che l'asse della catena carboniosa sia perpendicolare alla superficie. Quindi è la porzione della molecola solubile in acqua (ossia il gruppo carbossilico) che è attratta verso l'acqua, mentre la parte idrocarburica della catena (insolu-

bile in acqua) è rivolta verso la superficie. Pertanto, nel rapporto neurotrasmettitore-recettore oppure sostanza dopante-recettore le forze di adsorbimento non solo condizionano anche l'orientamento delle molecole, condizionano il contatto fra i due elementi in questione, ma condizionando anche l'orientamento delle molecole, condizionano anche il loro comportamento attivo.

15.4.3.3 Influenza del pH sui legami neurotrasmettitore-recettore o sostanza dopante-recettore

Si è visto come nel determinismo del legame neurotrasmettitore-recettore, oppure sostanza dopante-recettore, possano intervenire dei fattori elettrostatici che hanno un ruolo rilevante allorché le molecole siano degli acidi o delle basi e vadano incontro a processi di dissociazione. Tale dissociazione obbedisce alla legge d'azione di massa per cui, ad una data temperatura, la velocità di reazione è proporzionale alla massa dei corpi reagenti.

Sia NH un neurotrasmettitore acido: la sua dissociazione reversibile sarà:

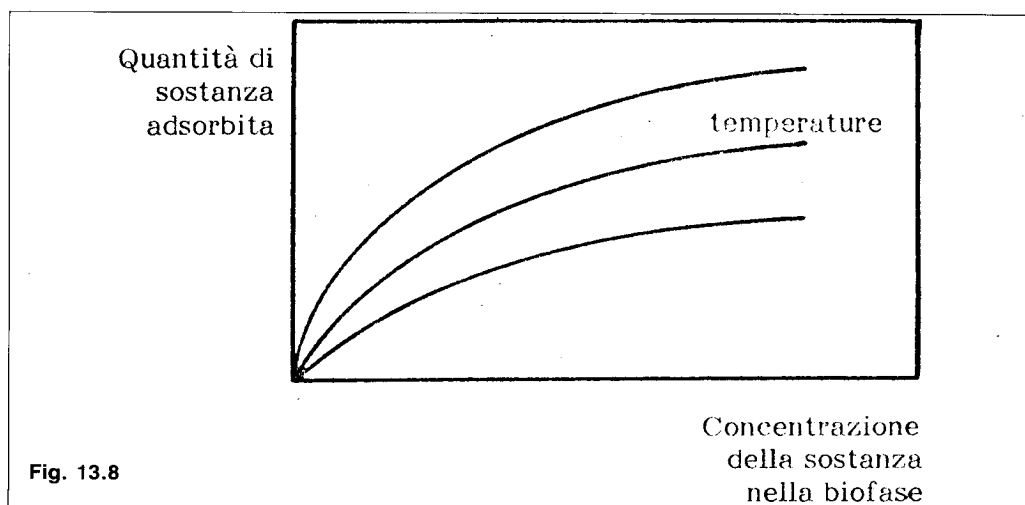
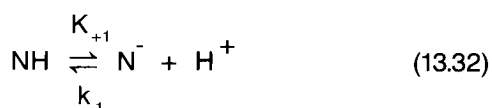


Fig. 13.8

dove k_{+1} e k_{-1} sono le costanti della velocità di reazione nei due sensi. Le velocità di reazione nei due sensi. Le velocità di reazione saranno:

$$\begin{cases} V_1 = k_{+1} \cdot [\text{NH}] \\ V_2 = k_{-1} \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{N}^-] \end{cases}$$

Per lo più la dissociazione collima con la ionizzazione, anche se in alcuni casi la forma ionizzata può essere non dissociata. Le velocità di reazione dei neurotrasmettitori sono estremamente elevate, per cui non è agevole conoscere i valori delle «costanti di velocità della reazione»; tuttavia, se la reazione può procedere nei due sensi è possibile determinare il rapporto K fra le costanti di velocità di reazione. Infatti se la reazione (13.32) è in equilibrio ($V_1 = V_2$) avremo:

$$k_{+1} \cdot [\text{NH}] = k_{-1} \cdot [\text{H}^+] \cdot [\text{N}^-]$$

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{N}^-]}{[\text{NH}]} = K \quad (13.33)$$

La costante di dissociazione K avrà un valore tanto maggiore quanto maggiore è la concentrazione di sostanza dissociata ($[\text{H}^+][\text{N}^-]$) rispetto a quella non dissociata $[\text{NH}]$.

Per esprimere tale costante di dissociazione è stata introdotta la denominazione pK che rappresenta il logaritmo del reciproco di K , ovvero il logaritmo negativo della costante di dissociazione K :

$$pK = \log \frac{1}{K} = -\log k \quad (13.34)$$

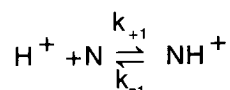
Pertanto, quanto maggiore è il pK di un neurotrasmettitore o di una sostanza dopante, tanto minore è la loro costante di dissociazione e quindi tanto minore è la loro dissociazione. Il pK è d'altro canto strettamente legato al pH dal momento che:

$$pH = pK + \log \frac{[\text{N}^-]}{[\text{NH}]} \quad (13.35)$$

$$pK = pH - \log \frac{[\text{N}^-]}{[\text{NH}]} = pH + \log \frac{[\text{NH}]}{[\text{N}^-]}$$

Durante la prestazione atletica, che induce notevoli variazioni di pH , è quindi molto importante la interrelazione fra il grado di dissociazione ed il pH del tessuto nervoso, come definita dalla (13.35) che indica come l'azione dei neurotrasmettitori o delle relative sostanze dopanti sia pH -dipendente: ciò perché il pH della biofase condiziona la costante di dissociazione pK_a delle molecole basiche e la costante di dissociazione pK_a' delle molecole acide, siano esse neurotrasmettitori o sostanze dopanti.

Si consideri un neurotrasmettitore basico N attivo nella forma ionizzata NH^+ ; si può scrivere che:



da cui

$$k_{+1} [\text{N}] [\text{H}^+] = k_{-1} [\text{NH}^+]$$

$$K_a' = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[\text{N}] [\text{H}^+]}{[\text{NH}^+]}$$

Se indichiamo con $[\text{N}]_t$ la concentrazione totale delle molecole basiche del neurotrasmettitore sia sotto forma ionizzata che non-ionizzata, si avrà che:

$$[\text{NH}^+] = \frac{[\text{N}]_t}{\frac{K_a'}{[\text{H}^+]} + 1} \quad (13.36)$$

Analogamente a quanto indicato per la (13.6), la K_a' è definita convenzionalmente dalla concentrazione idrogenionica che si realizza allorché la metà delle molecole basiche del neurotrasmettitore è ionizzata, ossia quando:

$$[\text{NH}^+] = \frac{[\text{N}]_t}{2} \quad (13.37)$$

Dalla (13.36) e (13.37) si ha:

$$\frac{K_a'}{[\text{H}^+]} + 1 = 2; K_a' = [\text{H}^+]$$

Se la concentrazione idrogenionica della biofase tissutale è molto elevata ossia se $[H^+] \gg \gg Ka'$ (e quindi $pH \ll \ll pKa'$) avremo che:

$$\frac{Ka'}{[H^+]} \rightarrow 0$$

da cui risulta che $[NH] \rightarrow [N]$; questo evidenzia che durante la prestazione l'aumento dell'acidità (ossia il decrescere del pH) induce una condizione chimico-fisica per cui le molecole del neurotrasmettitore N tendono ad un alto grado di ionizzazione, con modificazioni notevoli delle sue caratteristiche chimico-fisiche nei confronti, ad esempio, della permeabilità alle membrane ed ai legami recettoriali. Se le molecole del neurotrasmettitore sono acide, si ha viceversa una condizione chimico-fisica per cui con il decrescere del pH (ossia quando $[H^+] \gg \gg Ka$) il grado di ionizzazione di N tende a diminuire.

È chiaro quindi che la variazione di pH indotta dalla prestazione influenza la ionizzazione della biofase tissutale e, quindi, il comportamento reciproco fra neurotrasmettitore e recettore. Tuttavia, viene sovente dimenticato che tale variazione di pH della biofase indotta dalla prestazione modifica fundamentalmente anche i rapporti fra sostanza dopante e recettori. Consideriamo, ad esempio,

una sostanza dopante D basica che sia farmacologicamente attiva solo sotto forma ionizzata. Se la forza che determina il legame sostanza dopante-recettore è un legame ionico, il recettore deve contenere dei raggruppamenti acidi dissociati e ionizzati. Questi radicali acidi solitamente non sono forti e pertanto il loro grado di dissociazione e di ionizzazione è a sua volta dipendente dal pH, per cui durante la prestazione: (a) quanto più basso è il pH, tanto più basso è il numero di radicali acidi recettoriali ionizzati e, quindi, tanto minore è la forza di attrazione del recettore nei confronti della sostanza dopante, che risulta largamente ionizzata ad un pH basso; (b) quanto più basso è il pH, maggiore è la concentrazione di $[H^+]$, e questi tenderanno a legarsi ai radicali acidi liberi del recettore.

Quindi, a causa dell'abbassamento del pH indotto dalla prestazione, le molecole della sostanza dopante D e gli H^+ competeranno per il possesso dei recettori acidi ionizzati; poiché gli H^+ sono privi di una qualsiasi azione farmacologica sul recettore ($\beta=0$) si ha un tipico caso di antagonismo competitivo. Esprimendo il fenomeno con le curve dose-risposta si ha un grafico come quello rappresentato nella Fig. 13.9, da cui si può chiaramente notare come l'elemento competitivo sia la concentrazione

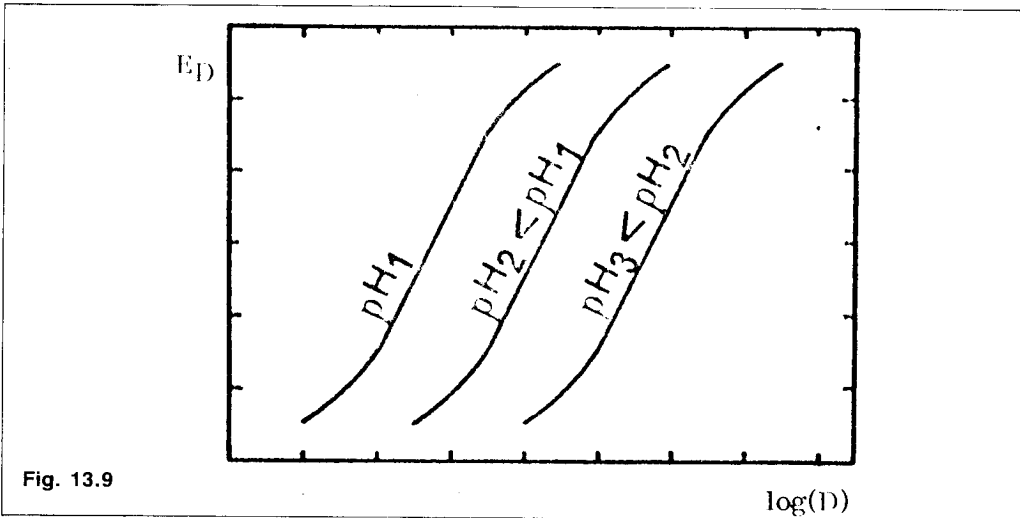


Fig. 13.9

idrogenionica; infatti man mano che la prestazione determina una diminuzione del pH (ossia aumenta la concentrazione idrogenionica), occorrono dosi progressivamente maggiori della sostanza dopante per ottenere la medesima risposta farmacologica. Questi fatti, che di norma sono totalmente ignorati, evidenziano come non sia possibile trasferire all'atleta in fase prestativa l'entità e/o il tipo di risposta che si realizzano in soggetti sedentari o malati.

13.4.4 La plasticità dei recettori e le sostanze dopanti

I recettori sono delle precise entità morfo-funzionali delle quali sono noti la distribuzione nei tessuti, il numero, l'affinità per le sostanze con cui contraggono rapporto, la costituzione chimica, le caratteristiche chimico-fisiche o fisiche, la natura della componente funzionale, ecc. Queste conoscenze derivano anche dall'utilizzo di agonisti ed antagonisti marcati, introdotti a concentrazioni dell'ordine della costante di dissociazione: questo rende possibile marcare prevalentemente i recettori specifici, con una nulla o solo limitata occupazione di siti non specifici e, quindi, con la possibilità di svelare la distribuzione dei recettori stessi mediante il rilievo del segnale radioattivo. In tal caso, il numero e l'affinità dei recettori sono determinati misurando la quantità di radioattività che si lega alle membrane e sottraendo la quantità di radioattività legata ai siti specifici. Ciò permette di definire sia in quali aree del sistema nervoso centrale agiscono i neurotrasmettitori, sia dove si distribuiscono le terminazioni dei neuroni, sia di identificare le sedi di azione delle sostanze dopanti dotate di proprietà agoniste o antagoniste nei riguardi di alcuni recettori.

Lo studio del numero dei recettori e della loro affinità per i leganti evidenzia la grande plasticità morfo-funzionale dei recettori. Ad esempio, la denervazione causa nelle membrane post-sinaptiche un aumento della sensibilità al neurotra-

smettitore in quanto si produce localmente un aumento reattivo nel numero dei recettori. Analogamente si instaurano delle modificazioni nel numero e nell'affinità dei recettori dopo trattamento ripetuto con sostanze dopanti agoniste od antagoniste. Pertanto il numero e l'attività dei recettori sono modulati dalla quantità dello specifico neurotrasmettitore che si lega ad essi. Così un eccesso di neurotrasmettitore che si ottiene con il trattamento con una sostanza dopante può indurre una riduzione del numero dei recettori nel sistema nervoso centrale e/o nelle giunzioni neuromuscolari. Al contrario, il blocco dei recettori ottenibile con una sostanza dopante può simulare una denervazione funzionale ed indurre un aumento nel numero dei recettori stessi.

Questi dati evidenziano come l'uso acritico delle sostanze dopanti non tiene conto del fatto che la trasmissione sinaptica è regolata non solo a livello pre-sinaptico (sintesi, accumulo e liberazione dei neurotrasmettitori) ma anche a livello post-sinaptico, mediante la variazione nel numero dei recettori che sono correlati con l'effettore. Inoltre, la supersensibilità o la subsensibilità recettoriale ad una sostanza dopante agonista o antagonista sono dovute anche: a modificazioni indotte nel flusso di alcuni ioni, a modificazioni nel numero delle sinapsi, all'età ed alla variazione nella composizione fosfolipidica della membrana cellulare, con cambiamento dello stato chimico-fisico del microambiente della membrana che circonda i recettori (area perirecettoriale) e con eventuale smascheramento dei siti reattivi inizialmente nascosti.

L'induzione del doping è poi complicata dal fatto che in alcuni casi la liberazione del neurotrasmettitore dalle terminazioni nervose risulta essere inaspettatamente incrementata (invece che ridotta!) dalla somministrazione di sostanza dopante antagonista del neurotrasmettitore stesso, oppure è diminuita dalla presenza di sostanza dopante agonista nello spazio sinaptico. Esiste, infatti, anche una modulazione integrata post-sinapti-

ca/pre-sinaptica che interviene nella liberazione di un neurotrasmettitore e che è dovuta all'esistenza di recettori pre-sinaptici il cui blocco (operato dalla sostanza dopante antagonista) facilita la liberazione del neurotrasmettitore, e la cui attivazione (operata dalla sostanza dopante agonista) deprime la liberazione del neurotrasmettitore. Ciò ha molta importanza pratica, in quanto con la sostanza dopante si finisce per turbare e disturbare l'equilibrio dinamico nella concentrazione e nella distribuzione subcellulare del neurotrasmettitore, costringendo il tessuto a vistosi riarrangiamenti per non modificare globalmente l'atteggiamento funzionale della struttura nervosa.

Ritornando alla trasmissione post-sinaptica, si evidenzia come le azioni post-sinaptiche che i neurotrasmettitori esercitano, legandosi ai recettori, possono essere di due tipi: chimico-fisiche e metaboliche. Le azioni di tipo chimico-fisico implicano per lo più una variazione nello stato ionico della membrana: esse sono caratterizzate dall'apertura dei canali ionici della membrana post-sinaptica causata dalla modificazione della conformazione sterica delle lipoproteine del recettore, cui consegue una diffusione passiva degli ioni. La trasmissione di tipo chimico-fisico è caratterizzata da: breve latenza (circa 1 msec), aumento della conduttanza ionica e cambiamento del potenziale di membrana, con una durata del cambiamento del potenziale che è poco superiore a quella dell'azione del neurotrasmettitore.

Nelle azioni di tipo metabolico, i neurotrasmettitori interferiscono con l'attività di un enzima o di un complesso enzimatico che catalizza una o più reazioni biochimiche. La risultante può essere la variazione dello stato chimico del sistema enzimatico (ad esempio, modificazione del verso reattivo o delle concentrazioni dei partecipanti reattivi), oppure dello stato chimico-fisico del sistema enzimatico (ad esempio, modificazione della concentrazione ionica), oppure dello stato fisico del sistema enzimatico

(ad esempio, modificazione della liberazione di energia).

Le interferenze del neurotrasmettitore con la biofase possono innescare una serie di reazioni «a cascata», per la partecipazione di uno o più «messaggeri intermedi». Ad esempio, la dopamina e l'adrenalina attivano l'adenilciclasi dopamino-sensibile od adrenalino-sensibile ed inducono la formazione di 3', 5'-AMP ciclico, il quale si comporta da «secondo messaggero» ed attiva una proteincinasi che, a sua volta, può attivare gli enzimi della via glicogenolitica, può innescare una pompa elettrogenica (che depolarizza od iperpolarizza la membrana post-sinaptica), può alterare la funzione microtubulare, può stimolare la sintesi di RNA, ecc.

Il problema della plasticità neuronale è complicato dal fatto che in alcune fibre nervose si trova più di un neurotrasmettitore. Così, la 5-idrossitriptamina e la sostanza P coesistono in alcuni neuroni del sistema nervoso centrale, mentre la somatostatina e l'endorfina coesistono nei neuroni adrenergici del simpatico periferico; analogamente, le encefaline e le catecolamine sono co-liberate dalle cellule cromaffini della surrenale. Sia le interazioni fra neurotrasmettitori diversi, liberati dalle stesse terminazioni nervose, sia il significato fisiologico della co-liberazione non sono ancora ben definiti dal momento che uno dei neurotrasmettitori può modificare l'affinità ed il numero dei recettori per il secondo neurotrasmettitore, operando in tal caso come un neuromodulatore piuttosto che come un neurotrasmettitore.

Un'ulteriore complicazione relativa al problema della plasticità recettoriale è determinata dal fatto che può sussistere una neurotrasmissione «non-sinaptica». Infatti, il numero dei contatti sinaptici che alcuni sistemi neuronali contraggono con i neuroni post-sinaptici è relativamente piccolo e non spiega il rilevante ruolo funzionale esercitato dai sistemi neuronali stessi, le cui fibre presentano numerose «varicosità terminali», ricche di granuli contenenti il neurotrasmettitore e con caratteristiche di vere e proprie

terminazioni, anche se non possiedono quelle morfo-funzionali tipiche delle sinapsi.

In questi casi, il neurotrasmettitore (liberato dalla «varicosità» in seguito alla depolarizzazione) non esercita la sua azione solo sui recettori pre- o post-sinaptici, ma può diffondere negli spazi intersinaptici e perineuronali, venendo così in contatto con recettori situati su diversi neuroni. Pertanto, il segnale neurochimico trasmesso da un neurone non interessa solo un secondo neurone, ma può essere diffuso a più neuroni vicini. Da queste informazioni generali sui recettori si può già rilevare la discrepanza che esiste fra la complessità dei meccanismi neurotrasmettitivi ed il semplicismo acritico con cui vengono usate a scopo di doping le sostanze attive sul sistema nervoso.

Affinché il recettore possa continuare a funzionare, si è precedentemente asserito che è indispensabile un pronto allontanamento del neurotrasmettitore dal recettore stesso, in modo che la membrana post-sinaptica ritorni alle condizioni di riposo e possa rispondere all'arrivo di nuove quantità (quanti) di neurotrasmettitore. L'allontanamento dei neurotrasmettitori con azione post-sinaptica di tipo chimico-fisico deve essere particolarmente rapido, dal momento che la loro durata di azione è di pochi msec.

Altri neurotrasmettitori sono allontanati per inattivazione metabolica da parte di enzimi specifici che più o meno partecipano alla costituzione del recettore e che, con il loro intervento, interrompono l'azione del neurotrasmettitore. Così l'acetilcolina viene disattivata in quanto è idrolizzata ad acido acetico e colina dall'acetilcolinesterasi o dalle colinesterasi non specifiche; così le catecolamine sono inattivate dalle monoamino ossidasi e dalle catecol-O-metil-transferasi; così il GABA è disattivato in quanto la GABA-transaminasi catalizza la transaminazione del GABA con l'acido alfa-chetoglutarico, con formazione di semialdeide succinica e acido glutamico; così le peptidasi inattivano i neurotrasmettitori di natura polipeptidica talvolta

con carattere di specificità, come nel caso dell'aminopeptidasi che inattiva le encefaline cerebrali.

Accanto al meccanismo dell'inattivazione enzimatica, alcuni neurotrasmettitori sono allontanati mediante «captazione» da parte delle stesse terminazioni nervose dalle quali essi sono stati liberati. Ciò si verifica, ad esempio, per le catecolamine, la serotonina, il GABA ed il glutamato. La captazione (uptake) da parte delle terminazioni nervose è attuata da sistemi specifici che richiedono energia, lavorano contro gradiente e possono essere inibiti da alcune sostanze dopanti. Così, ad esempio, la cocaina inibisce la captazione delle catecolamine da parte delle terminazioni adrenergiche centrali e periferiche. La captazione del neurotrasmettitore consente alle sinapsi di riutilizzare una gran parte del neurotrasmettitore liberato: quindi rappresenta un mezzo per risparmiare la formazione di molecole neurotrasmettitive, altrimenti ottenibili solo per opera di un complesso processo di sintesi. Infine un terzo meccanismo di allontanamento è rappresentato dalla diffusione del neurotrasmettitore dallo spazio intersinaptico verso spazi liquidi circostanti, con riduzione della concentrazione del neurotrasmettitore e, quindi, della sua attività.

14. Le sostanze dopanti interferenti con i recettori colinici

Si tratta dell'utilizzo fondamentalmente acritico di sostanze farmacologiche (naturali o sintetiche) capaci di modificare le concentrazioni di acetilcolina, che è il neurotrasmettitore selettivo in molte strutture nervose centrali e periferiche, ove si trovano gli specifici e differenziati recettori colinergici.

Le sostanze interferenti con il sistema colinergico sono così classificabili:

A - sostanze direttamente interferenti con i recettori colinergici muscarinici, mediante azione:

— attivatoria (esteri della colina, alcaloidi naturali)

— inibitoria (alcaloidi naturali, derivati sintetici);

B - sostanze direttamente interferenti con i recettori colinergici nicotinici;

C - sostanze indirettamente interferenti con i vari recettori colinergici, mediante azione enzimatica anticolinesterasica.

È noto che durante la prestazione atletica l'acetilcolina gioca un ruolo chiave nella neurotrasmissione a livello del SNC, del sistema vegetativo parasimpatico, del sistema gangliare, del sistema neuro-muscolare, ecc. La acetilcolina che viene utilizzata ai fini della trasmissione sinaptica è quella contenuta nelle vescicole di cui è largamente dotata la terminazione nervosa colinergica. Allorché si sviluppa il potenziale d'azione, nella porzione amielinica della terminazione nervosa si attua l'apertura (voltage-dipendente) di specifici canali per il calcio. Ciò induce un successivo rapido influsso di ioni calcio nella terminazione: questa modificazione chimico-fisica opera la fusione sincrona di numerose vescicole sinaptiche cui fa seguito l'estruzione, per esocitosi, nella zona intersinaptica di numerosi quanti di acetilcolina. L'acetilcolina così liberata interagisce con il recettore per l'acetilcolina che si trova localizzato sulla superficie esterna della membrana post-sinaptica; l'acetilcolina è poi rapidamente idrolizzata dall'acetil-colinesterasi presente nella membrana basale della sinapsi.

La reale struttura del recettore colinergico non è ancora ben definita, anche perché questa è differente in base alla differenziata localizzazione dei recettori in organi e tessuti. Ad esempio, il recettore colinergico è considerato come un complesso proteico costituito: (a) da alcune subunità che interagiscono con l'acetilcolina (recettore propriamente detto); (b) da un canale ionico (ionoforo) che si apre modificando la sua conformazione sterica come risposta all'attivazione delle subunità recettrici da parte dell'acetilcolina.

L'apertura del canale ionico può produrre una rapida depolarizzazione che presenta alcune caratteristiche elettrofi-

siche e che costituisce il «potenziale di placca». Questo è indotto da un aumento della permeabilità della membrana post-sinaptica agli ioni sodio e potassio e, se raggiunge il livello di soglia, può scatenare l'insorgenza del «potenziale d'azione» che si propaga senza decremento all'effettore: se questo è (ad esempio) la fibra muscolare, il risultato è rappresentato dallo stimolo alla contrazione, che si realizzerà se sono presenti altre note situazioni biochimiche e biofisiche. Molte delle sostanze trattate in questo capitolo possono interferire sulle varie tappe di questa serie di processi biofisici, biochimici e bioenergetici.

14.1 Interazione diretta delle sostanze dopanti con i recettori colinergici muscarinici

Si indicano genericamente con il termine di «muscariniche» le azioni periferiche dell'acetilcolina ed alcune delle sue azioni centrali, dal momento che la muscarina (sostanza naturale contenuta nell'*Amanita muscaria*) ha affinità ed attività intrinseca per i recettori di cui sopra, mentre non mostra affinità e/o attività intrinseca per i recettori nicotinici muscolari e gangliari, di cui si discute successivamente in apposito capitolo. Le sostanze dopanti trattate in questo paragrafo sono in grado di legarsi ai recettori muscarinici, con un'attività intrinseca diversificata che condiziona la diversificata risposta dell'effettore.

I recettori muscarinici si trovano sia negli organi innervati da sistema autonomo parasimpatico, sia in strutture non innervate (vene, piccole arterie), sia in molte strutture cerebrali, quali: sistema limbico (ippocampo ed amigdala), talamo, ipotalamo, nuclei della base, alcune zone della neocorteccia, ecc. L'attivazione di questi recettori muscarinici situati nel sistema nervoso centrale da parte di sostanze dopanti muscariniche (che passano la barriera ematoencefalica) induce evidenti effetti sul comportamento dei soggetti trattati. Va poi rilevato che alcuni recettori muscarinici pre-sinaptici

sono presenti anche nelle terminazioni nervose colinergiche, adrenergiche o peptidergiche, dove agiscono modulando la liberazione dei neurotrasmettitori specifici dalle terminazioni succitate.

I recettori muscarinici si differenziano in diverse sottopopolazioni, con diversa affinità per le varie sostanze dopanti agoniste ed antagoniste. Ai fini della definizione dell'interferenza con le sostanze dopanti, va rilevato che nel sistema nervoso centrale sussistono almeno tre classi di recettori muscarinici, caratterizzati da una diversa affinità per gli esteri della colina e da una diversa distribuzione, così come a livello periferico i recettori muscarinici si differenziano per una diversa affinità e risposta ad agonisti ed antagonisti. Anche le modalità di attivazione del recettore muscarinico e della susseguente risposta cellulare differiscono nei vari distretti organismici.

Laddove la stimolazione colinergica induce un evento contrattile, l'attivazione del recettore provoca una depolarizzazione per aumento sia della conduttanza al sodio che della permeabilità al calcio, la quale poi modula la permeabilità al sodio stesso. Laddove, invece, la stimolazione colinergica induce un'inibizione, l'attivazione del recettore muscarinico provoca un aumento della permeabilità al potassio, con un'iperpolarizzazione della membrana. La stimolazione del recettore muscarinico può essere accompagnata anche da variazioni biometaboliche, quali l'aumento del GMP-ciclico, che funge poi da «messaggero» responsabile della messa in atto della risposta cellulare. L'attivazione del recettore muscarinico nei diversi distretti organismici origina quindi modificazioni biofisiche e/o biochimiche differenziate, in quanto il suo «comando operativo» si realizza su trasduttori diversificati dal punto di vista sia morfologico che funzionale.

14.1.1 Sostanze ad azione muscarinico-simile

Le sostanze stimolanti i recettori mu-

scarinici sono fundamentalmente rappresentate sia dagli esteri della colina (ad esempio, metacolina, betanecolo, carbacolo) che da alcuni alcaloidi naturali (ad esempio, muscarina e pilocarpina). L'azione di tali potenziali sostanze dopanti viene qui discussa seguendo questa classica distinzione.

14.1.1.1 Gli esteri della colina

Dato che l'acetilcolina determina un'azione brevissima (essendo distrutta velocemente dalle colinesterasi, specifiche ed aspecifiche), sono stati sintetizzati degli esteri della colina più resistenti alla colinesterasi e più specifici dell'acetilcolina per i recettori muscarinici. Ciò è stato attuato seguendo tre diverse vie: (1) la introduzione nella molecola acetilcolinica di un metile a livello del carbonio beta della colina, con formazione di metilcolina (o metacolina), che è caratterizzata sia da un'attività selettiva sui recettori muscarinici, sia dall'assenza di azione sui recettori nicotinici, sia dal fatto di non essere idrolizzata dalle colinesterasi aspecifiche e sia dalla caratteristica di essere idrolizzata molto più lentamente, rispetto all'acetilcolina, dall'acetilcolinesterasi; (2) la sostituzione del radicale acetico con il radicale carbamilico, con formazione di carbamilcolina, la quale non è idrolizzabile dalle colinesterasi ma che, tuttavia, è caratterizzata da una notevole attività aspecifica sui recettori nicotinici; (3) ambedue le modifiche prima indicate, con formazione di metilcolina carbammato (o betanecolo), che mostra una specificità d'azione per i recettori muscarinici e non è idrolizzata dalle colinesterasi.

Le azioni farmacologiche di queste potenziali sostanze dopanti interessano il sistema cardio-circolatorio, il tubo gastroenterico, l'apparato uro-genitale, l'occhio ad alcune ghiandole. La loro azione sul sistema cardiovascolare è caratterizzata da una sensibile caduta della pressione arteriosa media, indotta da una dilatazione generalizzata che interessa tutti i distretti vasali, anche quelli

non innervati dal parasimpatico, in quanto tutti i distretti in questione possiedono recettori muscarinici. Tale caduta presoria è di breve durata, in quanto viene antagonizzata da un'attivazione del simpatico per stimolazione riflessa dei pressocettori carotidei ed aortici. Ai fini della loro interferenza con la prestazione va rilevato che a livello cardiaco, gli esteri della colina: (a) diminuiscono la forza contrattile delle fibre muscolari atriali e ventricolari; (b) diminuiscono la frequenza di scarica del nodo seno-atriale e la conduzione dell'impulso sia nel nodo atrio-ventricolare che, per dosi alte, nelle fibre di Purkinje, con aumento del periodo refrattario.

A livello del tubo gastroenterico, gli esteri della colina stimolano la muscolatura, con aumento sia della peristalsi che del tono, e con analogo interessamento della cistifellea e delle vie biliari cui, per dosi più elevate, può far seguito un aumento della secrezione delle ghiandole salivari, mucose, gastriche e pancreatiche. A livello dell'apparato urinario, gli esteri colinici eccitano sia la peristalsi dell'uretere sia la contrazione del muscolo detrusore della vescica, con rilasciamento del tono degli sfinteri favorente lo svuotamento della vescica stessa. Infine, queste sostanze, oltre a provocare una sudorazione intensa ed un aumento di secrezione delle ghiandole bronchiali, inducono un'intensa attività costrittrice del muscolo ciliare e dello sfintere dell'iride, provocando così miopia, paralisi dell'accomodamento e diminuzione della pressione endoculare.

L'esame critico delle azioni farmacologiche su descritte evidenzia di per sé che non sussiste molto spazio razionale per indurre una dopante «eccitazione acetilcolinica» con gli esteri della colina. D'altra parte, anche le loro indicazioni terapeutiche sono estremamente ristrette, dal momento che vengono usate come stimolanti della peristalsi intestinale solo nell'ileo paralitico post-operatorio, oppure dopo interventi di vagotomia che provocano un'atonìa della muscolatura dello stomaco. Il betanecolo, oltre che

nel reflusso esofageo, è usato anche nel trattamento dell'atonìa vescicale che si può instaurare in seguito ad interventi operatori o per difetti di innervazione. Un altro possibile utilizzo è rappresentato dallo impiego, nella pratica oculistica, della carbamilcolina per ridurre la pressione endoculare in soggetti affetti da glaucoma.

14.1.1.2 Gli alcaloidi naturali muscarinosimili

Questi alcaloidi sono essenzialmente rappresentati da muscarina (contenuta nel fungo *Amanita muscaria*), arecolina (contenuta nelle noci di *Areca*, semi dell'*Areca catechu*) e pilocarpina (contenuta nelle foglioline della grande foglia composta imparipennata di *Pilocarpus jaborandi*), le quali, dal momento che stimolano i recettori colinergici muscarinici, possiedono le attività farmacologiche descritte per gli esteri della colina. Purtroppo, queste sostanze «naturali» sono state «chiacchierate» in tema di doping, poiché sono capaci di passare la barriera ematoencefalica, stimolando i recettori centrali e dando così origine sia ad una intensa attivazione del SNC, sia ad una reazione di «attivazione» simile a quella prodotta dalla stimolazione della sostanza reticolare: il tutto aggravato dalla diffusione della cognizione che la stimolazione dei recettori muscarinici centrali può facilitare l'apprendimento.

La «naturalità» di questa forma di doping ha origini antiche, dal momento che, ad esempio, le noci di *Areca* (e, quindi, l'arecolina) entrano a far parte del famoso masticatorio degli indigeni dell'India e dell'Estremo Oriente, denominato «betel», che consiste in una miscela di noci di *Areca*, noce moscata, canfora e foglie di *Piper betle*. Non può, tuttavia, essere irrazionalmente dimenticato il vasto quadro di interferenza farmacologica che questi alcaloidi naturali inducono (analogamente agli esteri della colina) su vari organi ed apparati, come descritto nel paragrafo precedente.

14.1.2 Sostanze ad azione muscarinolitica (parasimpaticolitici)

Le sostanze appartenenti a questo gruppo sono note da moltissimo tempo e nell'antichità già si utilizzavano preparazioni di foglie e di radici dell'*Atropa belladonna*, una solanacea erbacea perenne che contiene alcuni alcaloidi attivi, quale atropina e scopolamina che, d'altra parte, sono presenti anche nello *Hyoscyamus niger* e nel *Datura stramonium*.

Le sostanze antimuscariniche, o parasimpaticolitiche o anticolinergiche od atropinosimili, sono caratterizzate da un'alta affinità per i recettori muscarinici; tuttavia, a differenza dell'acetilcolina, sono privi di attività intrinseca, in quanto si legano al recettore ma non lo stimolano (occupazione silente) ed impediscono che l'acetilcolina liberata svolga le sue tipiche azioni sulle strutture innervate dalle fibre post-gangliari parasimpatiche e sui numerosi neuroni colinergici del SNC.

La sensibilità dei diversi organi alle sostanze dopanti parasimpaticolitiche non differisce molto da molecola a molecola mentre, in funzione della dose, sono rimarchevoli le variazioni nella loro capacità operativa sui diversi sistemi ed apparati. Infatti, le piccole dosi delle sostanze anticolinergiche riducono le secrezioni salivare, bronchiale, sudoripara e nasofaringea, mentre a dosi superiori inducono dilatazione della pupilla (midriasi), riduzione dell'accomodazione dell'occhio (cicloplegia) ed inibizione del controllo vagale sul cuore, con aumento della frequenza cardiaca. Le dosi più elevate inibiscono il controllo del sistema vegetativo parasimpatico sulla vescica e sugli apparati gastroenterico e bronchiale: ciò diminuisce il tono e la motilità della vescica urinaria per cui la minzione è difficoltosa e, nello stesso tempo, la peristalsi intestinale è rallentata; dosi ancora più alte inibiscono anche la secrezione gastrica.

L'uso delle sostanze dopanti anticolinergiche si giustifica con la necessità di frenare in alcuni atleti l'abnorme ipertonismo vagale che si svilupperebbe in conco-

mitanza di gare od allenamenti importanti e che si manifesterebbe, ad esempio, con aumento della sudorazione, della secrezione salivare, della motilità gastrica (eruttazioni, borborigmi, meteorismo, diarrea), ecc. In realtà, le sostanze dopanti anticolinergiche sono considerate come possibili farmaci dopanti in quanto, a basso dosaggio, accanto alle attività periferiche hanno anche effetti di tipo stimolante a livello del SNC: tali effetti sono dovuti all'interazione con i recettori colinergici farmacologicamente simili a quelli muscarinici periferici. Tuttavia, va rilevato che alcuni parasimpaticolitici di sintesi (soprattutto i derivati ammoniacali quaternari) non hanno azione centrale, dal momento che non passano la barriera ematoencefalica.

Gli alcaloidi naturali ad azione anticolinergica sono rappresentati dall'atropina (d, 1-josciamina) e dalla scopolamina (1-joscina), che costituiscono il modello di struttura molecolare in base alla quale sono stati realizzati molti derivati sintetici e semisintetici per ottenere sia una maggiore selettività per diversi tessuti e funzioni, sia una minor rilevanza di effetti collaterali. Nonostante i numerosi prodotti di sintesi, le sostanze anticolinergiche non sono in grado di interferire con una sola funzione, senza produrre effetti collaterali indesiderati legati alla generalizzazione del blocco parasimpatico. Per quanto riguarda in particolare le sostanze dopanti anticolinergiche, va evidenziato che tale fenomeno è particolarmente evidente allorché siano usate con lo scopo (apparentemente terapeutico!) di ridurre selettivamente la secrezione e la motilità gastriche. Inoltre, i derivati sintetici modellati sulla struttura degli alcaloidi della belladonna possiedono nella realtà ben pochi vantaggi sugli alcaloidi naturali, di cui conservano però tutti gli effetti negativi per gli atleti.

14.1.2.1 Le sostanze anticolinergiche naturali e sintetiche

Gli alcaloidi naturali sono rappresentati dall'atropina (d, 1-josciamina) e dalla 423

scopolamina (1-joscina); l'isomero dell'atropina ha una maggior attività specifica a livello centrale rispetto alla forma d, che è invece quasi inerte: di norma viene utilizzato il racemo, che è chimicamente il più stabile. L'1-joscina è perifericamente più attiva della d-joscina, pur essendo entrambi gli isomeri ugualmente attivi a livello del SNC. Le sostanze anticolinergiche di sintesi derivano: (a) dagli alcaloidi della belladonna; (b) per modificazioni della struttura dell'agonista neurotrasmettitivo acetilcolina.

I parasimpaticolitici più usati sono così classificati in base alla loro derivazione chimica: (a) derivati ammoniacali quaternari degli alcaloidi della belladonna (omatropina, metilscopolamina, metilatropina, joscina); (b) derivati di sintesi (anisotropina, difemanilio, escilio, isopropamide, mepenzolato, metantelina, ossifenciclimina, ossitefonio, pentapiperide, poldina, pipenzolato, tridiesetile). I derivati ammoniacali quaternari sono generalmente più potenti delle corrispondenti amine terziarie, ma possono avere azione bloccante gangliare e sono privi di attività sul SNC, in quanto non passano la barriera emato-encefalica. Per lo più sono assorbiti con difficoltà ed irregolarità dopo somministrazione orale, con una breve durata d'azione.

La giustificazione terapeutica per l'irrazionale uso dopante delle sostanze anticolinergiche fa frequentemente riferimento all'azione rilassante esercitata sulla muscolatura liscia. In campo farmaceutico e clinico sono stati attuati molti sforzi per ottenere farmaci con azione sempre più specifica nei confronti della muscolatura liscia, ma le molecole sintetizzate non hanno soddisfatto le attese pratiche, malgrado spesso si evidenzino una presunta selettività per un certo organo od apparato. Nella realtà, tutti i parasimpaticolitici producono un generalizzato blocco muscarinico dose-dipendente analogo a quello indotto dall'atropina o dalla scopolamina, che possiedono effetti stimolanti sul SNC e rimangono ancora le sostanze di base più comunemente usate in campo clinico.

Sia l'atropina e la scopolamina, sia

molte sostanze anticolinergiche di sintesi, sono degli antagonisti competitivi dell'acetilcolina per i recettori muscarinici situati a livello dei muscoli lisci, delle ghiandole esocrine, del SNC, del cuore, ecc. Come indicato nel capitolo dedicato all'antagonismo competitivo, la loro azione sul recettore può essere contrastata dall'aumento locale della liberazione di acetilcolina, dal momento che esse non reagiscono chimicamente con l'acetilcolina, nè interferiscono con la sua liberazione o con la sua velocità di degradazione idrolitica.

Sia l'atropina sia le sostanze dopanti atropino-simili sono caratterizzate da un'azione a livello dei recettori muscarinici che non mostra una selettività assoluta, dato che ad alte dosi possono antagonizzare la trasmissione gangliare e neuromuscolare, oppure possono anche antagonizzare i recettori della serotonina, dell'istamina e della moradrenalina. La mancanza di attività intrinseca e la resistenza alle acetil-colinesterasi spiegano perché il blocco del recettore nei confronti del mediatore parasimpatico (l'acetilcolina) mantenga i suoi effetti per un certo tempo.

14.1.2.2 Azione farmacologica delle sostanze muscarino-litiche

La somministrazione di tali sostanze provoca a livello cardiaco un iniziale transitorio rallentamento della frequenza cardiaca dovuto alla stimolazione del centro cardio-inibitorio vagale, mentre successivamente induce un aumento della frequenza cardiaca, dovuto al blocco del normale tono inibitorio vagale. Si possono inoltre ridurre od abolire i riflessi cardioinibitori, al punto da contrastare la fibrillazione atriale sostenuta dall'eccesso di acetilcolina a causa di una stimolazione vagale riflessa.

Sui vasi sanguigni, le sostanze muscarino-litiche inducono effetti modesti poiché pochi vasi hanno un'innervazione colinergica. Solo ai più alti dosaggi si osserva: (a) una diminuzione della pressione arteriosa sistemica, che è do-

vuta alla tachicardia ed alla riduzione della gittata cardiaca; (b) una dilatazione dei vasi cutanei, che è dovuta ad un meccanismo diretto od alla liberazione locale di istamina.

La somministrazione delle sostanze anticolinergiche provoca inoltre dilatazione della pupilla (midriasi), paralisi dell'accomodazione (cicloplegia) ed un aumento della pressione intraoculare; ciò è dovuto al fatto che il muscolo circolare dell'iride ed i muscoli ciliari sono innervati dal parasimpatico, mentre il muscolo radiale ha un'innervazione ortosimpatica (ganglio cervicale superiore). Le sostanze muscarino-litiche inducono midriasi in quanto inibiscono il tono parasimpatico, per cui prevale l'effetto dilatatore delle fibre simpatiche. La cicloplegia è dovuta: (a) all'inibizione della contrazione dei muscoli ciliari deputati all'accomodazione per la visione vicina; (b) al rilasciamento del legamento sospenditore, che riduce la tensione sulla lente e ne permette un aumento della convessità. In tali condizioni farmacologiche la visione lontana rimane buona, mentre quella vicina risulta indistinta.

Ancora, la somministrazione delle sostanze anticolinergiche può aumentare la pressione intraoculare, a causa della dilatazione pupillare che induce un ispessimento della porzione periferica dell'iride, con riduzione del drenaggio dell'umore acqueo che viene continuamente secreto dai processi ciliari. L'aumento della pressione intraoculare può non essere un problema per gli atleti giovani-adulti, ma può scatenare un attacco di glaucoma in soggetti al di sopra dei 40 anni.

Sugli apparati gastrointestinale, biliare e genitourinario, le sostanze muscarino-litiche diminuiscono il tono, l'ampiezza e la frequenza delle contrazioni pur essendo l'entità dell'effetto strettamente correlata all'attività colinergica vagale che è in atto al momento della somministrazione: ciò perché peristalsi e tono intestinale sono in gran parte sotto controllo parasimpatico. Anche la vescica ha un'innervazione prevalentemente parasimpatica, per cui la somministrazione di so-

stanze anticolinergiche ne riduce la funzione (diminuendo tono ed attività spontanea del fondo vescicale) e facilita la contrazione dello sfintere, facendo insorgere fenomeni di ritenzione urinaria.

La presunta efficacia dopante degli anticolinergici viene talvolta supportata dalla constatazione che la loro somministrazione induce un rilasciamento dei muscoli lisci bronchiali e tracheali, particolarmente evidente quando il tono parasimpatico sia elevato in relazione ad eventi prestativi. La broncodilatazione si attua con un aumento della capacità vitale ed una diminuzione delle resistenze bronchiali. Tuttavia, va rilevato che sono anche ridotte sia secrezione di saliva (spesso si verifica secchezza delle fauci), sia la secrezione delle ghiandole dell'apparato respiratorio che può portare ad un eccessivo ispessimento del muco (con rischio di minor pervietà dinamica delle vie aeree e predisposizione alle infezioni).

Poiché la secrezione delle ghiandole sudoripare è sotto il controllo del tono colinergico, la somministrazione di sostanze muscarino-litiche ne induce la diminuzione sino alla soppressione, per cui la cute diventa calda e asciutta. Analogamente la riduzione della secrezione delle ghiandole lacrimali porta a secchezza della congiuntiva (xerofthalmia) ed espone l'occhio al rischio di danni superficiali. Per quanto riguarda l'utilità dell'impiego delle sostanze anticolinergiche per «frenare» l'incremento delle secrezioni gastro-pancreatiche indotte dalla tensione emotiva prestativa e/o dallo sforzo fisico (con gastrosucorraea, piroso, eruttazioni, ecc.), si deve tenere ben presente che le secrezioni dello stomaco e del pancreas sono regolate in modo complesso da molti fattori umorali, oltre che dalla stimolazione vagale, per cui sono solo parzialmente bloccate da dosi elevate delle sostanze in oggetto.

L'azione stimolante sul sistema nervoso centrale è pure, ingiustificatamente, alla base dell'uso irrazionale delle sostanze dopanti anticolinergiche; in realtà, a bassi dosaggi l'atropina è pressoché priva di effetti centrali o può produr-

re unicamente una lieve stimolazione; solamente per dosi più elevate la sostanza induce una forte attivazione, che può però sfociare in quadri di agitazione, disorientamento, allucinazioni e delirio. Per dosi ancora più elevate, la stimolazione può essere così intensa da indurre depressione, paralisi respiratoria e morte. La scopolamina ha sul SNC effetti più intensi di quelli dell'atropina: a bassi dosaggi può indurre attivazione ed euforia; aumentando le dosi, i suoi effetti centrali divengono uguali a quelli dell'atropina.

14.2 Sostanze interferenti con i recettori colinergici nicotinici

Vi sono due gruppi di sostanze capaci, con una specificità relativa, di interferire con il recettore colinergico nicotinico: i curari per il recettore N_2 della placca neuromuscolare ed i ganglioplegici per quello N_1 gangliare. È noto infatti che la trasmissione neuromuscolare avviene attraverso la liberazione di acetilcolina dalla terminazione nervosa, con il coinvolgimento del recettore acetilcolinico della placca neuromuscolare. Analogamente sono noti sia il ruolo dell'acetilcolina nella trasmissione gangliare, sia l'effetto che sul recettore gangliare acetilcolinico esercitano la stimolazione della nicotina e del tetraetilammonio oppure il blocco del tetraetilammonio, dell'esametonio e della stessa nicotina a dosi molto elevate.

In realtà nella trasmissione a livello gangliare sono coinvolti anche altri recettori non-nicotinici. Infatti la liberazione quantale di acetilcolina da parte delle terminazioni pre-gangliari produce una depolarizzazione precoce della cellula gangliare post-sinaptica. Tale depolarizzazione non presenta costantemente un'ampiezza sufficiente a scatenare il potenziale d'azione che deve propagarsi lungo la fibra post-gangliare: tuttavia due o più depolarizzazioni precoci sotto-liminari possono sommarsi, per cui la depolarizzazione può raggiungere il valore soglia e scatenare la diffusione dello stimolo. Con una latenza di alcune de-

cine di msec, la depolarizzazione può essere seguita da una fase di iperpolarizzazione della membrana post-sinaptica dando origine al cosiddetto «potenziale inibitorio» che presenta una durata di alcune centinaia di msec e che, in vari neuroni gangliari, può essere a sua volta seguito da una depolarizzazione tardiva, anche di ampiezza sufficiente a generare una propagazione tardiva alla regione post-gangliare.

La depolarizzazione precoce può essere inibita dal legame dell'esametonio con il recettore nicotinico gangliare (N_1) su cui esercita l'azione antagonista competitiva. Tuttavia, anche forti dosi di esametonio non sono in grado di bloccare totalmente la funzionalità gangliare: la trasmissione residua, resistente all'esametonio, è sensibile all'atropina, il che implica l'interferenza di recettori muscarinici. In particolare l'atropina è in grado di bloccare la depolarizzazione tardiva, la cui genesi risulta così legata al recettore muscarinico. Inoltre, essendo il potenziale inibitorio abolito anche da farmaci catecolaminici alfa-bloccanti, si pensa che nella sua genesi sia coinvolto anche un interneurone dopaminergico oppure noradrenergico il quale può essere attivato dai recettori muscarinici, liberando un neurotrasmettitore inibitorio (quale, ad esempio, la dopamina) in corrispondenza del complesso «recettore-ionoforo» allocato nella membrana di alcune cellule gangliari.

È quindi evidente che alla trasmissione gangliare sono interessati numerosi recettori muscarinici, catecolaminici e nicotinici, anche se questi ultimi sono i più importanti ed i più numerosi.

14.2.1 Meccanismo d'azione delle sostanze interferenti con i recettori nicotinici muscolari e gangliari

Ai fini della presente trattazione non interessa minimamente l'azione dei curari, notoriamente differenziabili in: (a) curari competitivi, fra cui si annoverano gli alcaloidi naturali (ad esempio, la d-tubocurarina), i derivati semisintetici (ad

esempio, la metocurina, la diidro-beta-eritroidina e l'alcuronio) ed i composti di sintesi (ad esempio, la gallamina, il pancuronio, il fazadinio, ecc.); (b) i curari non competitivi, che sono fundamentalmente rappresentati da composti di sintesi (quali succinilcolina, sussametonio, decametonio).

Per quanto riguarda il problema del doping, può essere di qualche utilità una breve notazione sugli effetti gangliostimolanti della nicotina e quelli ganglioplegici di alcuni derivati, d'altra parte di uso modesto anche in campo terapeutico. Per quanto riguarda la trasmissione colinergica gangliare, è noto che essa si attua mediante l'attivazione di un recettore nicotinico di tipo N_1 sul quale, oltre ai farmaci antagonisti competitivi, agiscono anche sostanze che mostrano attività mista di agonista ed antagonista non-competitivo. Tra queste occupa un ruolo importante la nicotina, che è un alcaloide naturale di grande importanza per lo studio della trasmissione colinergica e che riveste un notevole interesse tossicologico. La nicotina a piccole dosi agisce come agonista, mentre a dosi elevate diviene un antagonista non-competitivo.

In realtà, la nicotina può interessare non soltanto perché interferisce con i recettori dei gangli, quanto perché (con la caffeina) appartiene, sia pure con moderata psicoselettività, ai cosiddetti «psicoanalitici», ossia a quei farmaci che attuano una stimolazione specifica di varie funzioni psichiche, tra cui predominano la vigilanza e le attività intellettive di apprendimento e di memorizzazione, senza che vi sia un contemporaneo interessamento né della parte affettiva della psiche, né di altre attività del sistema nervoso centrale.

La nicotina espleta un'azione stimolante sia sulla vigilanza e sull'attività intellettiva, sia sulla motilità e secrezione gastro-intestinale, sia sull'apparato cardiovascolare. Inoltre la nicotina interferisce con l'adrenalina endogena e con i tassi cerebrali di questa catecolamina, inducendo un'attività stimolante sulle aree sopraottiche dell'ipotalamo: tra l'al-

tro, vengono indotte sia una liberazione di pitressina, che effetti facilitanti in vari tipi di condizionamento.

Le sostanze che bloccano il recettore nicotinico gangliare sono dette «ganglioplegici» ed, in base al loro meccanismo d'azione, si distinguono in competitivi, non-competitivi e misti. I ganglioplegici competitivi (esametonio, pentametonio, pentolinio, trimetafano, ecc.) sono relativamente selettivi per il recettore N_1 gangliare, interferendo solamente a forti dosi in modo apprezzabile sulla trasmissione neuromuscolare; tra i recettori nicotinici vi è infatti una forte differenza farmacologica tra i recettori gangliari (N_1) ed i recettori della placca neuromuscolare (N_2). I ganglioplegici non-competitivi ad azione depolarizzante o desensibilizzante sono rappresentati dalla nicotina a forti dosi. Vi sono infine altre sostanze (mecamilamina, pempidina, ecc.) a spiccata attività ganglioplegica con meccanismo d'azione misto, competitivo e non-competitivo.

14.2.2 Azioni farmacologiche delle sostanze attive sui recettori nicotinici gangliari

L'azione delle sostanze ganglioplegiche sui vari organi ed apparati dipende dalla predominanza del tono simpatico e/o parasimpatico fisiologicamente caratterizzanti gli effettori. Le azioni vascolari risultano per lo più di tipo simpaticolitico e sono rappresentate da vasodilatazione, aumento delle capacità venose, con riduzione del ritorno venoso e della gittata cardiaca, cui consegue una notevole riduzione della pressione arteriosa. Contemporaneamente od isolatamente, la riduzione del tono parasimpatico caratterizzante altri effettori induce tachicardia, midriasi, cicloplegia, xerostomia, e riduzione della motilità sia del tubo gastro-intestinale che delle vie urinarie.

È appena il caso di sottolineare che l'utilità dopante di farmaci ad azione così generalizzata risulta assolutamente nulla, a causa dei gravi, numerosi e va-

riabili effetti collaterali. Anche l'utilizzo dei ganglioplegici per il controllo dell'ipertensione indotta da gravi stati ansiosi correlati alla prestazione, ecc. è assolutamente da escludere a causa di gravi effetti collaterali, primo fra tutti la marcata ipotensione ortostatica.

14.3 *Interazione enzimatica indiretta delle sostanze dopanti con i vari recettori colinergici*

Questo particolare tipo di interazione coinvolge le colinesterasi, che sono degli enzimi presenti nei tessuti particolarmente eccitabili, come muscoli e sistema nervoso. In particolare l'enzima acetilcolinesterasi mostra una particolare selettività d'azione sull'acetilcolina ed è principalmente localizzato nelle terminazioni sinaptiche colinergiche, dove catalizza l'idrolisi del neurotrasmettitore acetilcolina nello spazio intersinaptico:

acetilcolina acetil-colinesterasi, acido acetico+colina.

L'idrolisi dell'acetilcolina ne determina la fine della azione, per cui l'attività dell'acetil-colinesterasi presente nelle sinapsi colinergiche controlla la trasmissione degli impulsi nervosi, regolando la concentrazione di acetilcolina nello spazio intersinaptico e conseguentemente, modulando la durata dell'azione di stimolazione dei recettori post-sinaptici.

Le sostanze dopanti che inibiscono l'attività della acetil-colinesterasi sono dette «anticolinesterasiche» e determinano un accumulo di acetilcolina nei siti recettoriali colinergici, mettendo in attività e stimolando i sistemi colinergici centrali e periferici. Tuttavia, pur avendo la liberazione di acetilcolina un ruolo chiave nei meccanismi centrali e periferici correlati con la prestazione atletica, una visione critica del problema indica che la globale «attivazione acetilcolinica» indotta dalle sostanze anticolinesterasiche ha una importanza più tossicologica che dopante, anche in vista del fatto che solo una minoranza dei farmaci in oggetto ha

un adeguato uso clinico; infatti la maggioranza di essi viene usata come pesticidi e, in passato, addirittura come armi belliche: i paragrafi che seguono dovrebbero rappresentare la razionale giustificazione per il loro assoluto non-utilizzo in campo sportivo.

14.3.1 *Modo e meccanismo d'azione delle sostanze anticolinesterasiche*

Gli anticolinesterasici si distinguono in: (a) reversibili, con una durata d'azione relativamente breve (da pochi minuti a 2-4 ore), e (b) irreversibili, con una durata d'azione molto lunga, perché alterano stabilmente l'acetil-colinesterasi la cui riattivazione richiede ore od, addirittura, giorni se è necessaria la resintesi di nuovo enzima.

Solamente il gruppo delle sostanze reversibili comprende gli anticolinesterasici di cui si può presupporre un uso sia pure irrazionale e sconsiderato in campo di doping. Si tratta di composti ammoniacali quaternari in grado di inibire reversibilmente l'acetil-colinesterasi, combinandosi al suo sito attivo oppure ad un secondo sito anionico, spazialmente distinto dal sito attivo. Fra queste sostanze l'edrofonio è, ad esempio, completamente e rapidamente reversibile dal momento che la reversibilità dipende solo dalla disgiunzione del suo legame con il sito attivo.

Una sostanza «naturale» è costituita dalla fisostigmina (od eserina) contenuta nei semi del *Physostigma venenosum* o Fava Calabar. Sia la fisostigmina che la neostigmina contengono un legame estere con un gruppo carbamilico e, dopo essersi legate al sito attivo dell'enzima, vengono idrolizzate dall'acetil-colinesterasi similamente (anche se più lentamente) a quanto avviene per l'acetilcolina.

Tuttavia, va notato che nei normali processi neurotrasmettitivi, dopo aver idrolizzato l'acetilcolina, l'acetil-colinesterasi rimane acetilata dall'acetile del neurotrasmettitore; successivamente

te l'acetil-colinesterasi si trasforma rapidamente nella forma attiva, non acetilata. Nell'eventuale processo di dopaggio, le sostanze contenenti un gruppo carbamilico vengono idrolizzate dall'acetilcolinesterasi, ma il radicale carbamilico che rimane legato all'enzima dà luogo alla formazione di carbamil-acetiltransferasi, che ha un'emivita molto lunga (da 15 a 30 minuti); in tal modo la funzionalità dell'enzima rimane bloccata e si ha un accumulo intersinaptico di acetilcolina di più lunga durata.

Gli inibitori irreversibili delle colinesterasi risultano assolutamente inutilizzabili in campo sportivo in quanto sono rappresentati da veleni organofosforici (paraoxon, parathion, malathion, tabum, sarin, soman, ecc.) che si comportano come pseudosubstrati i quali, dopo la loro idrolisi, danno luogo a fosforil- e/o a fosfonil-acetilcolinesterasi che sono forme estremamente stabili, per cui la rigenerazione dell'enzima attivo richiede alcune ore, giorni o addirittura non avviene. I composti di questo tipo hanno solo un interesse tossicologico ed è ovvia la ragione per cui non sono in alcun modo utilizzati od utilizzabili come sostanze dopanti.

14.3.2 Caratteristiche farmacologiche delle sostanze anticolinesterasiche

Tutte queste sostanze hanno delle proprietà farmacologiche correlate all'inibizione dell'idrolisi dell'acetilcolina nei siti recettoriali che mediano la trasmissione colinergica. Certamente a livello sia periferico che centrale l'accumulo di acetilcolina causa un aumento della funzionalità dei relativi effettori: va però ricordato che a detta «attivazione acetilcolinica» può seguire un blocco, come nel caso della muscolatura scheletrica, ove è molto lunga la riattivazione del recettore colinergico.

Le sostanze ad azione anticolinesterasica modificano tutte le funzioni fisiologiche normalmente controllate dai sistemi colinergici, determinando: (a) iperattiva-

zione dei distretti organismici innervati dal sistema parasimpatico, che contengono recettori colinergici; (b) iperattivazione (seguita da paralisi per la lenta od assente successiva riattivazione del recettore colinergico) dei gangli del sistema sia simpatico che parasimpatico e della muscolatura scheletrica; cioè dei distretti periferici controllati dai recettori colinergici nicotinici; (c) iperattivazione (seguita da paralisi) delle funzioni del sistema nervoso centrale mediate dai sistemi neuronali colinergici, nicotinici e muscarinici; questi effetti sono presenti solo per gli anticolinesterasici che, come la fisostigmina, passano la barriera ematoencefalica. La durata degli effetti in questi vari distretti dipende, oltre che dal farmacometabolismo, anche dall'interazione che hanno con l'acetilcolinesterasi e, quindi, dalla stabilità del complesso che ne risulta. Passando in rassegna le suddette attività delle sostanze anticolinesterasiche a livello dei vari organi ed apparati, viene confortata la tesi che non vi è assolutamente il minimo spazio razionale per l'utilizzo di questi farmaci in campo sportivo.

A livello dell'apparato gastroenterico, queste sostanze causano un generale aumento della motilità peristaltica sia gastrica che intestinale, ed un aumento della secrezione acida gastrica. Inoltre, dette sostanze stimolano sia le cellule muscolari lisce che quelle secretive localizzate in vari organi ed apparati, per cui inducono: broncocostrizione, aumento della peristalsi degli ureteri e della vescica urinaria, aumento delle secrezioni salivare, lacrimale, pancreatiche, ecc.

Per quanto riguarda gli effetti sul sistema cardiovascolare, a livello cardiaco l'azione predominante indotta dall'accumulo di acetilcolina è costituita dalla bradicardia e dalla diminuzione della gittata cardiaca, mentre a livello vascolare le sostanze anticolinesterasiche possono produrre effetti diversi e contrapposti, a seconda del farmaco, della dose, della via di somministrazione, ecc.

Analogamente, sul sistema nervoso centrale queste sostanze inducono effet-

ti complessi dovuti alla iperstimolazione di sistemi neuronali diversi, cui può seguire una notevole depressione. L'esclusione dell'utilizzo di queste sostanze in campo sportivo è anche giustificata: (a) dagli effetti indotti sul SNC dall'ipossiemia da loro indotta a causa della bronco-costrizione associata all'ipersecrezione bronchiale; (b) dagli altri effetti indotti dall'accumulo di acetilcolina nell'apparato respiratorio. Inoltre, l'ipossiemia dovuta alla stimolazione ed alla successiva paralisi dei centri neurovegetativi sottocorticali, complica ulteriormente gli effetti cardiovascolari e polmonari, che possono quindi modificarsi nel tempo e diversificarsi a seconda della sostanza, della dose, ecc.

Speciosi presupposti per l'uso degli anticolinesterasici reversibili come sostanze dopanti prendono le mosse dalla loro azione attivante a livello della giunzione neuromuscolare. Tuttavia questi presupposti sono errati in quanto non tengono conto del fatto che gli effetti variano a seconda della dose e della condizione fisiologica. Infatti, a basse dosi, la trasmissione neuromuscolare è facilitata; ma, ad alte dosi od in presenza delle stimolazioni ripetute ad alta frequenza indotte dalla prestazione, l'effetto risultante è l'insorgenza di un rallentamento della trasmissione neuromuscolare dovuta sia alla mancata ripolarizzazione che alla persistente desensibilizzazione della membrana post-sinaptica del recettore colinergico; tale situazione chimico-fisica è generata dalla continua presenza di alte concentrazioni di acetilcolina nello spazio intersinaptico.

Ciò sfocia in un'alterazione del sincronismo fra la depolarizzazione della membrana post-sinaptica e lo sviluppo del potenziale d'azione, con conseguente fibrillazione delle fibre muscolari per asincronia dell'eccitazione. Inoltre, l'accumulo di acetilcolina eccita in maniera antidromica sia il terminale nervoso sia l'assone fino al motoneurone, con conseguenti scariche sincrone di intere unità motorie. Quindi sono solo negativi i presupposti di una «azione attivante»

delle placche neuromuscolari da parte delle sostanze anticolinesterasiche.

In realtà, i farmaci anticolinesterasici sono oculatamente impiegati solo nel trattamento di poche e ben specifiche forme morbose, quali la miastenia grave ed il glaucoma. Ricordiamo che la miastenia grave è una sindrome neurologica caratterizzata da un'estrema affaticabilità muscolare (sino ad una vera e propria paralisi) che inizialmente rende possibile il compiere i movimenti, ma l'anormale stancabilità ne rende impossibile la continuazione e/o la ripetizione. Questa sindrome è dovuta alla distruzione progressiva (per un meccanismo autoimmune) dei recettori colinergici nicotinici a livello della giunzione neuromuscolare, fino al momento in cui non ci sono abbastanza recettori per garantire almeno la normale trasmissione neuromuscolare, la cui efficienza viene quindi a mancare. Il glaucoma è invece una affezione oculare, primaria (congenito, ad angolo aperto, ad angolo chiuso) o secondaria, caratterizzata da un aumento del tono oculare, accompagnato variabilmente da: dolenzia sino a dolori violenti; offuscamento del visus; visione di cerchi colorati attorno alle sorgenti luminose; edema palpebrale e/o corneale; iride fosca con pupilla irregolare; ecc.

I farmaci anticolinesterasici sono inoltre usati: (a) in campo chirurgico, per il trattamento dell'atonia gastrica, intestinale e vescicale che conseguono ad interventi chirurgici addominali; (b) in campo anestesilogico, per far cessare gli effetti dei curari di tipo competitivo. Recentemente, si è anche proposto l'utilizzo della fisostigmina nel trattamento del deficit della memoria che si verifica nelle sindromi demenziali, ove esiste in realtà un'alterazione dei sistemi colinergici centrali.

14.4 *Caratteristiche farmacotossicologiche delle sostanze interferenti con il sistema colinergico*

Vengono qui riassunte le fondamentali caratteristiche farmacologiche e tossico-

logiche delle sostanze interferenti con il sistema colinergico.

14.4.1 Atropina

L'atropina (che si trova commercializzata sotto forma di atropina solfato, atropina ossido, atropina metonitrato, metil-atropina bromuro) è il tipico parasimpatico competitivo nei confronti dell'acetilcolina che viene liberata a livello dei recettori muscarinici centrali e periferici. Il farmaco viene ben assorbito a livello dell'apparato gastroenterico da dove difonde a tutto l'organismo, scomparendo rapidamente dal sangue e venendo poi escreto quasi totalmente con le urine nelle 24 ore.

Gli effetti collaterali indotti dall'atropina sono rappresentati da: secchezza del cavo orale, con difficoltà alla salivazione; dilatazione della pupilla, con difficoltà all'accomodazione e fotofobia; tachicardia, con palpitazioni e aritmie; diminuzione della peristalsi intestinale, con stipsi; stimolo alla minzione, con difficoltà alla realizzazione. I sintomi caratteristici dell'intossicazione da atropina sono rappresentati da: notevole secchezza delle fauci, con grande difficoltà alla salivazione; midriasi spiccata; polso frequente; vampate al viso; eruzioni scarlattiniformi; interessamento del SNC con eccitazione oppure depressione sino allo stato stuporoso, con polso piccolo, molle e frequente ed insufficienza respiratoria.

14.4.2 Fisostigmina

La fisostigmina (che è per lo più commercializzata sotto forma di fisostigmina salicilato) è un inibitore delle acetilcolinesterasi e, in quanto tale; (a) potenzia l'effetto dell'acetilcolina a livello dei recettori muscarinici; (b) stimola e/o inibisce la trasmissione gangliare e neuromuscolare con effetto nicotinic; (c) stimola e/o deprime il SNC con effetto prevalentemente muscarinico. Il farmaco, rapidamente assorbito dal tratto gastro-

intestinale e dai tessuti sottocutanei, viene idrolizzato dalle colinesterasi per essere poi parzialmente eliminato con le urine.

Gli effetti collaterali indotti dalla fisostigmina sono costituiti da: disturbi gastro-intestinali; salivazione profusa (scialorrea); disturbi dell'accomodazione; restringimento della pupilla; aumento delle secrezioni bronchiali, con broncorrea; bradicardia. Gli effetti prodotti dalla intossicazione con alte dosi di fisostigmina consistono in: sudorazione; vasodilatazione; miosi; nistagmo; aumento delle secrezioni bronchiale e lacrimale; bradicardia; ipotensione; fascicolazioni e/o astenia muscolare, sino all'instaurarsi di una vera e propria paralisi.

14.4.3 Ioscina

La ioscina butilbromuro o butilscolopamina bromuro (Buscopan) è un anticolinergico caratterizzato da azioni periferiche simili a quelle dell'atropina (anche se più deboli e di minor durata), consistenti in una spiccata azione spasmolitica sulla muscolatura liscia del tratto gastro-intestinale, delle vie biliari e dell'apparato uro-genitale, con scarsa efficacia sul cuore e sul sistema nervoso centrale. Il farmaco è poco assorbito dall'apparato gastroenterico e l'escrezione avviene con le feci per circa il 90% della dose somministrata per os.

Gli effetti collaterali indotti dalla ioscina risultano sovrapponibili a quelli tipici dell'atropina pur essendo di minore entità e durata.

14.4.4 Mecamilamina (mecamylamine)

La mecamilamina (Inversine) è un antagonista, in parte competitivo ed in parte non-competitivo, dell'acetilcolina a livello dei recettori nicotinici gangliari, per cui produce: ipotensione (per caduta del tono vasocostrittore ortosimpatico e conseguente riduzione della gittata cardiaca); riduzione del flusso ematico in misura varia nei vari distretti ma con scar-

sa riduzione del flusso cerebrale; riduzione della motilità viscerale; midriasi e cicloplegia; anidrosi. Il farmaco possiede inoltre un'azione rilevante sulla trasmissione neuromuscolare. La mecamilamina è variabilmente assorbita per via orale e viene molto lentamente escreta come tale per via renale, per cui è caratterizzata da una lunga durata d'azione.

La mecamilamina induce numerosi effetti collaterali che tendono a ridursi con le successive somministrazioni e che consistono in: anoressia, nausea, stipsi; difficoltà alla minzione; midriasi, cicloplegia; riduzione delle secrezioni; ipotensione ortostatica; impotenza sessuale. L'intossicazione da alte dosi di mecamilamina è caratterizzata da: grave ipotensione; ileo paralitico; ritenzione urinaria; cicloplegia; tremori; confusione mentale; convulsioni; sindromi maniacali-depressive.

14.4.5 Neostigmina (neostigmine)

La neostigmina bromuro oppure metilsolfato (Intrastigmina, Prostigmina) è un anticolinesterasico reversibile che prolunga ed intensifica gli effetti muscarinici e nicotinici dell'acetilcolina, producendo: miosi; aumento sia della contrattilità che della secrezione gastrica; stimolazione della motilità intestinale; incremento dell'attività dei muscoli scheletrici, per un iniziale effetto nicotinic. Il farmaco è scarsamente assorbito dal tratto gastro-intestinale e viene parzialmente metabolizzato con un processo di tipo idrolitico.

Gli effetti collaterali della neostigmina sono essenzialmente rappresentati da: disturbi gastro-intestinali, con coliche addominali; aumento della salivazione; disturbi dell'accomodazione; bradicardia; miosi; aumento della secrezione bronchiale. L'intossicazione acuta si manifesta con: sudorazione; lacrimazione; miosi; nistagmo; aumento della secrezione bronchiale; bradicardia; ipotensione; fascicolazioni; astenia; fobie; effetti paradossi, quali tachicardia ed ipertensione.

14.4.6 Pilocarpina

La pilocarpina (cloridrato oppure nitrato) è un parasimpaticomimetico diretto che è ben assorbito dal tubo gastroenterico e che stimola i recettori colinergici muscarinici producendo miosi, diminuendo la pressione endoculare, aumentando le secrezioni salivare, sudorale, gastrica, pancreatica e bronchiale, incrementando la peristalsi intestinale, inducendo bradicardia ed ipotensione, e determinando l'insorgenza di un'attivazione corticale simile a quella evocata dall'acetilcolina. Il farmaco, a causa dei notevoli effetti sistemici prima indicati, dovrebbe essere usato solo per applicazione locale in campo oculistico. Utilizzato impropriamente per via sistemica, può indurre l'insorgenza di gravi effetti collaterali che sono costituiti dall'esagerazione degli effetti parasimpaticomimetici già ampiamente descritti per le sostanze dotate di attività muscarinosimile.

14.4.7 Scopolamina

La scopolamina (Transcop) è un parasimpaticolitico competitivo, con interferenza centrale e periferica sui recettori muscarinici dell'acetilcolina. Il farmaco è facilmente assorbito dall'apparato gastroenterico oppure può essere applicato sulla cute della regione retroauricolare con assorbimento transdermico. La scopolamina produce gli effetti sistemici descritti per la ioscina e l'atropina, di cui possiede anche i ben noti effetti collaterali. Va però notato che molti individui, sensibili al farmaco, presentano più spiccatamente: alterazioni psichiche con disorientamento, sino al delirio; forte sonnolenza, midriasi e notevole tachicardia.

14.4.8 Trimetafano (trimetaphan)

Il trimetafano (Arfonad) è un antagonista competitivo del recettore colinergico nicotinicogangliare (N₁), in grado di di-

minuire il potenziale post-sinaptico eccitatorio senza modificare la componente muscarinica della trasmissione gangliare (potenziale post-sinaptico inibitorio ed eccitatorio tardivo). Il blocco gangliare induce un decremento del tono ortosimpatico della muscolatura liscia vascolare e la conseguente vasodilatazione (con caduta delle resistenze periferiche ed aumento delle capacitance venose).

Il blocco gangliare indotto dalla sostanza determina, inoltre, notevole caduta della pressione arteriosa associata a tachicardia; riduzione della motilità vi-

scerale; midriasi; cicloplegia; riduzione delle secrezioni salivare, sudorale, lacrimale, ecc.

Pur essendo scarsamente assorbito per via orale, tra gli effetti collaterali indotti dal trimetafano si evidenziano: una marcata ipotensione posturale; il blocco dei riflessi compensatori cardiovascolari; disturbi gastro-intestinali, con nausea e stitichezza; ritenzione urinaria; riduzione della potenza sessuale; disturbi visivi con midriasi e difficoltà di accomodazione.

(continua)