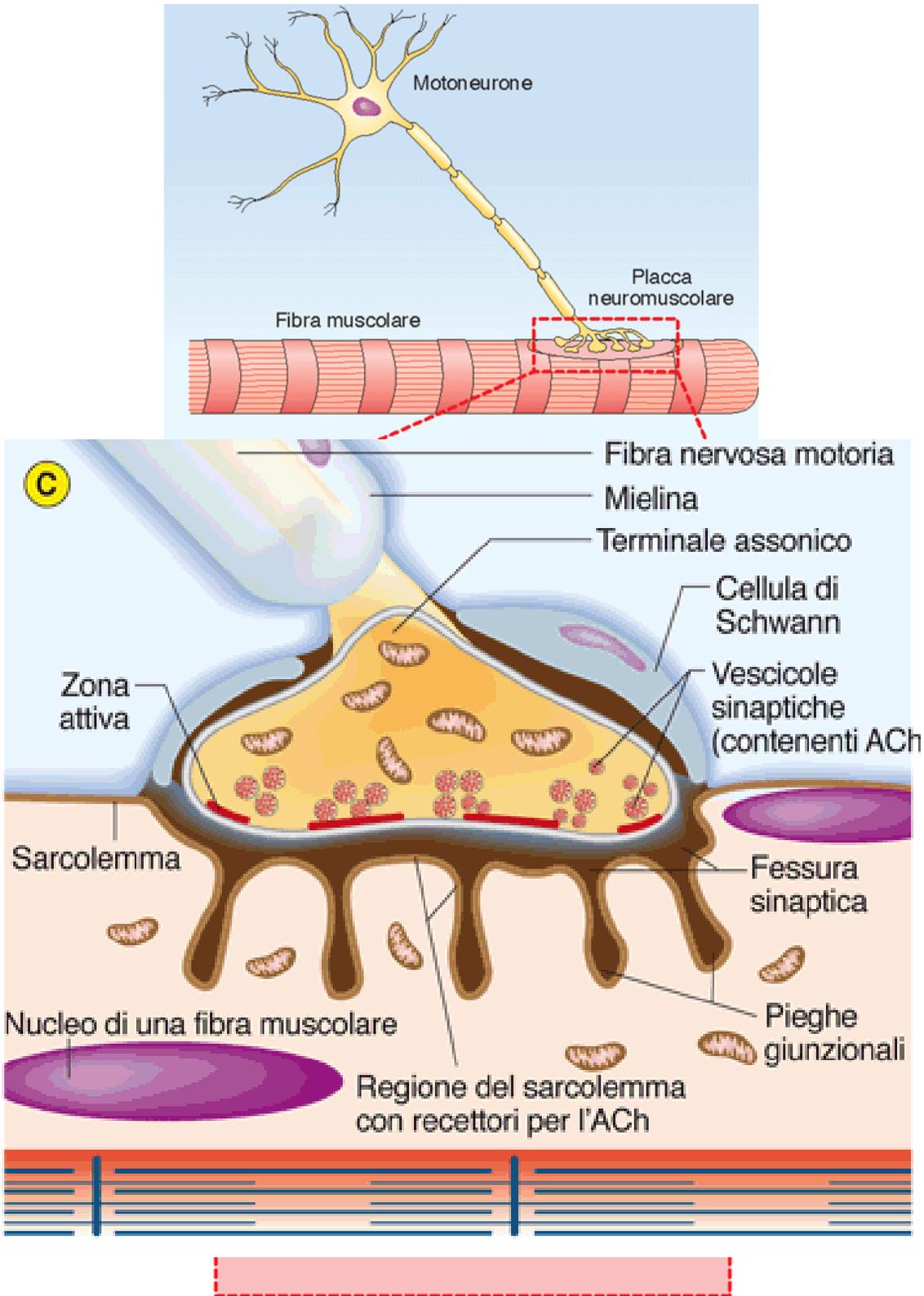


2.2 GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE

- **Struttura della giunzione neuromuscolare**
- **Il potenziale di placca**
- **Rilascio quantale di neurotrasmettitore**
- **Recettore nicotico dell'acetilcolina: struttura, funzione e farmacologia**
- **Recettore muscarinico dell'acetilcolina: struttura ed esempi funzionali**

• Struttura della giunzione neuromuscolare

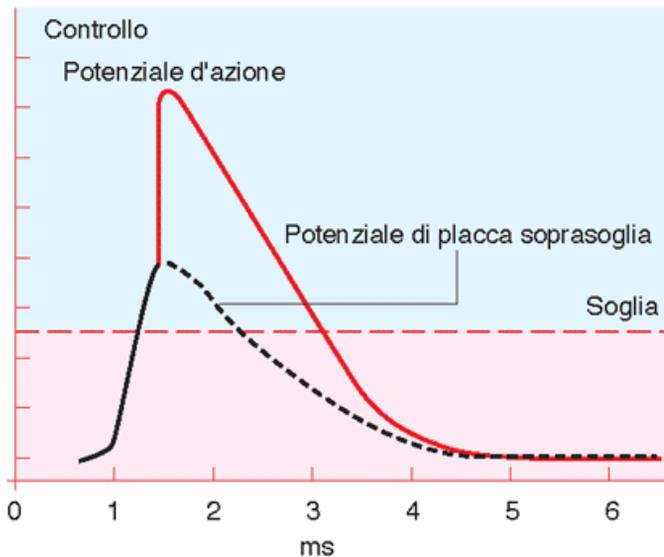


2.2_GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE

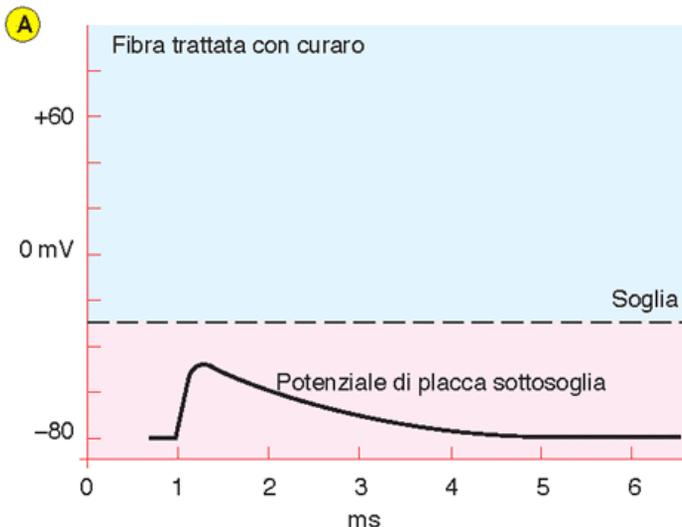
• Il potenziale di placca

IL POTENZIALE DI PLACCA: generazione

stimolando il motoneurone (presinaptico) si registra a livello della cellula muscolare (postsinaptica) un **potenziale di placca** (EPP, end-plate potential), che depolarizza la membrana fino alla soglia del potenziale d'azione.

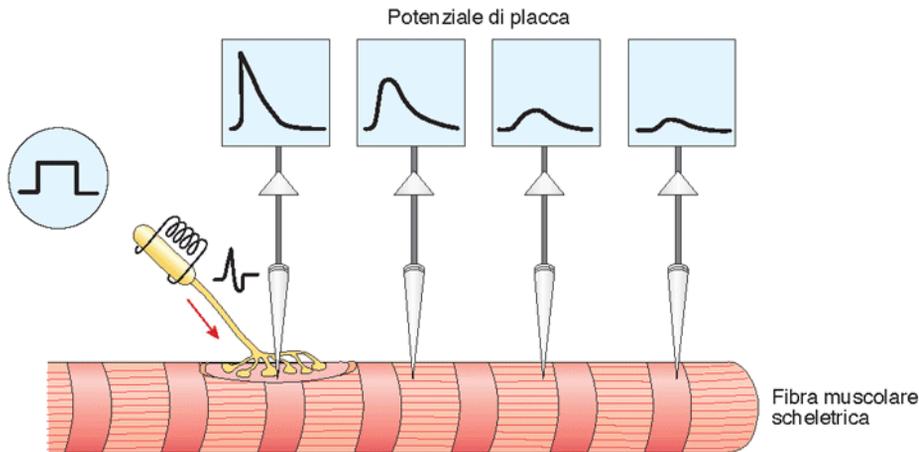


- EPP è **eccitatorio** e ha un'ampiezza elevata (40 mV)
- EPP è **sopra soglia**, quindi causa l'insorgenza di un PA sulla fibra muscolare



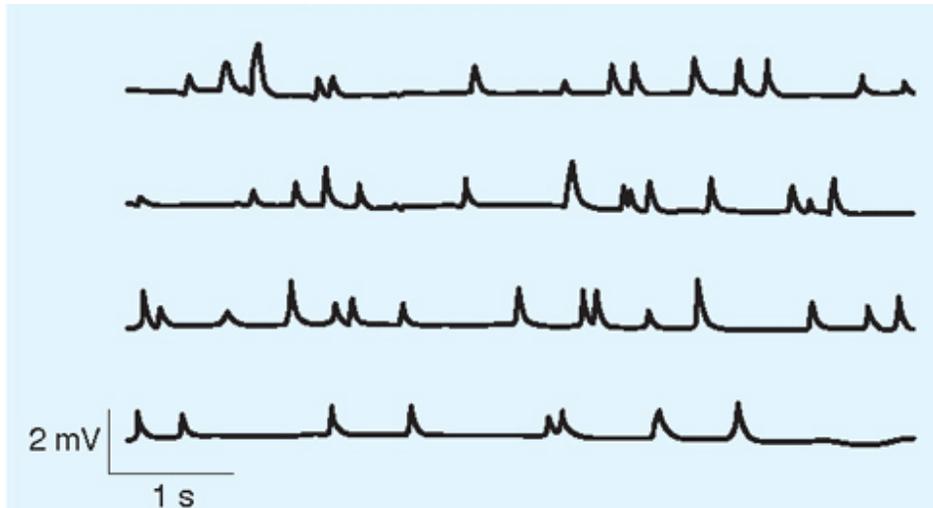
- **il curaro** riduce **sotto soglia** l'ampiezza dell'EPP.

IL POTENZIALE DI PLACCA: propagazione



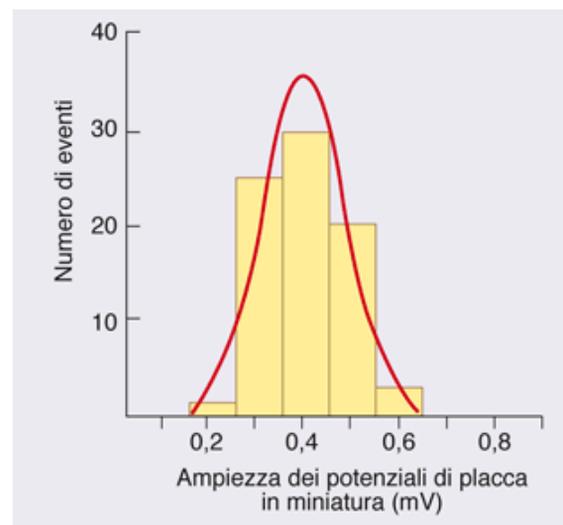
- il potenziale di placca (endplate potential, EPP) ha la **massima ampiezza nel sito di insorgenza**: a livello della placca motrice
- è dovuto ad un flusso di corrente positiva entrante
- si propaga **passivamente** e diminuisce in funzione della distanza
- l'insorgenza del EPP è causata da un aumento della concentrazione di **ACh** nella fessura sinaptica che si lega ai recettori nicotinici
- la concentrazione di **ACh** si riduce rapidamente ad opera dell'enzima **acetilcolinesterasi** (ACh-esterasi) e per diffusione

IL POTENZIALE DI PLACCA IN MINIATURA (miniature end plate potential, mepp)



- anche **in assenza di stimolazione** presinaptica, si registrano sulla cellula muscolare **modificazioni spontanee** del potenziale di membrana.

- sono analoghe al EPP come cinetica ma di ampiezza notevolmente inferiore ($<1\text{mV}$)
- sensibili al curaro (come EPP)



Rilascio quantale di neurotrasmettitore

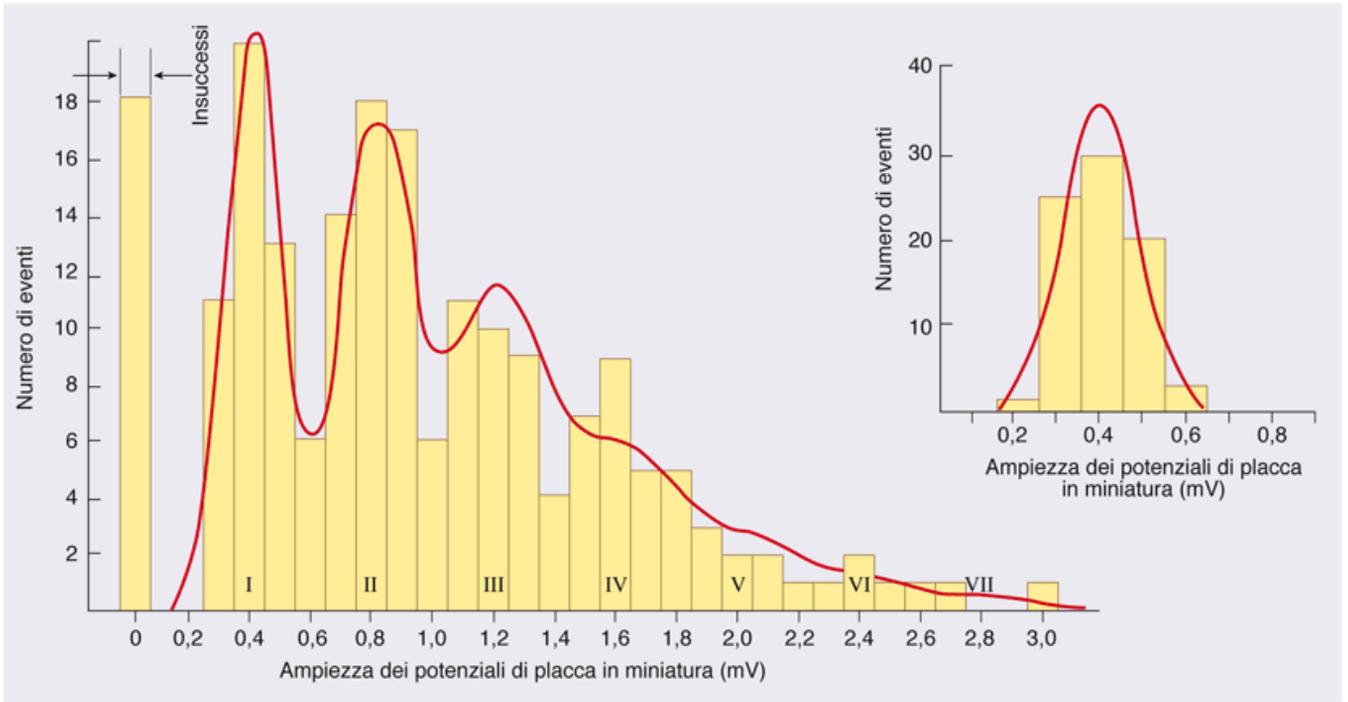


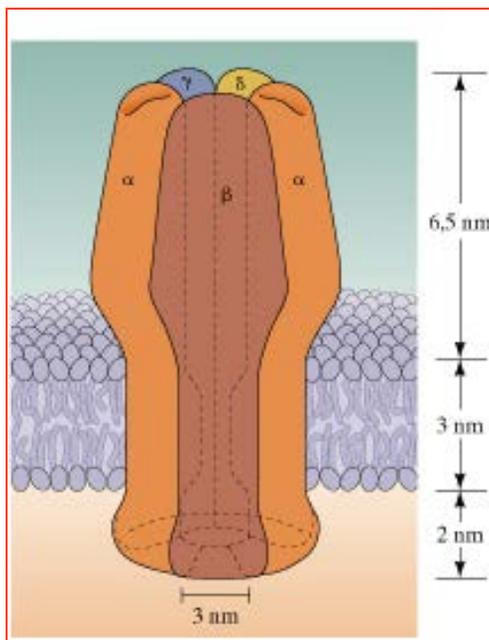
Figura 4.13 Distribuzione delle ampiezze dei potenziali postsinaptici. L'istogramma mostra le ampiezze dei potenziali postsinaptici misurati in una sinapsi neuromuscolare. Si noti che i picchi delle ampiezze (0,4, 0,8, 1,2, ...) corrispondono a multipli interi dell'ampiezza media dei potenziali in miniatura (inserto). La curva rappresenta l'andamento teorico della distribuzione delle ampiezze, calcolato mediante l'equazione di Poisson, assumendo che i potenziali postsinaptici corrispondono alla somma di più miniature indipendenti.

- Del Castillo, Miledi e Katz formularono l'ipotesi che la liberazione di ACh corrispondesse alla liberazione di pacchetti (quanti) contenenti neurotrasmettitore
- i **mepp** sono piccole depolarizzazioni associate al rilascio di una **quanto**, ovvero al contenuto di una **vescicola presinaptica** (10.000-40.000 molecole).
- Il potenziale di placca (EPP) sono depolarizzazioni associate al rilascio di centinaia di vescicole, che depolarizzano la membrana fino al raggiungimento della soglia del PA.
- Per confronto: nelle **sinapsi neuronali**, il numero di vescicole che si fondono e rilasciano il loro contenuto è molto ridotto (1-3 per contatto sinaptico). Si creano dei potenziali postsinaptici di piccola entità 1-2 mV.

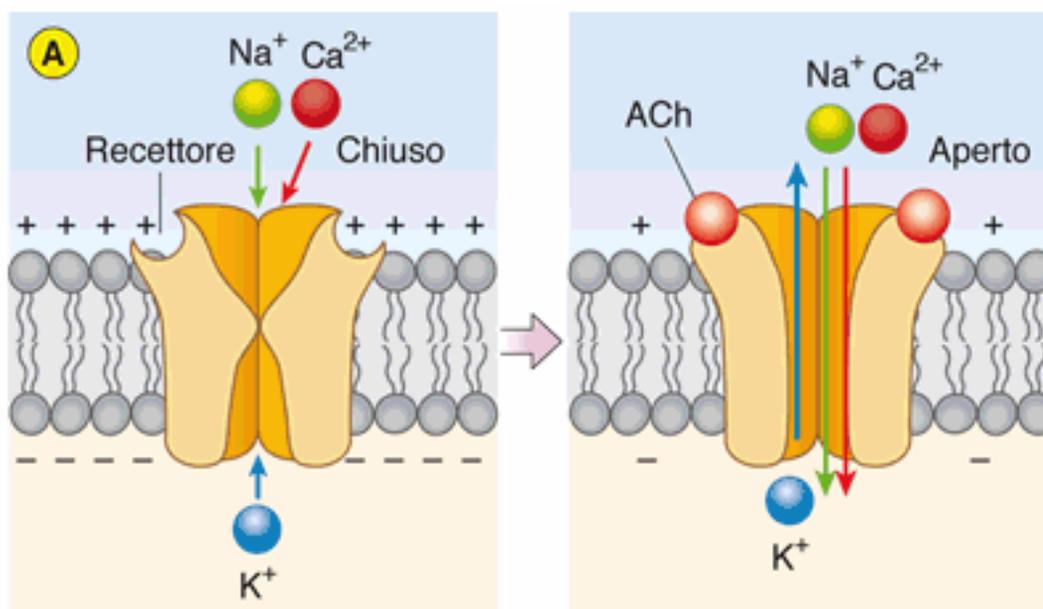
• Recettore nicotnico dell'acetilcolina (AChR)

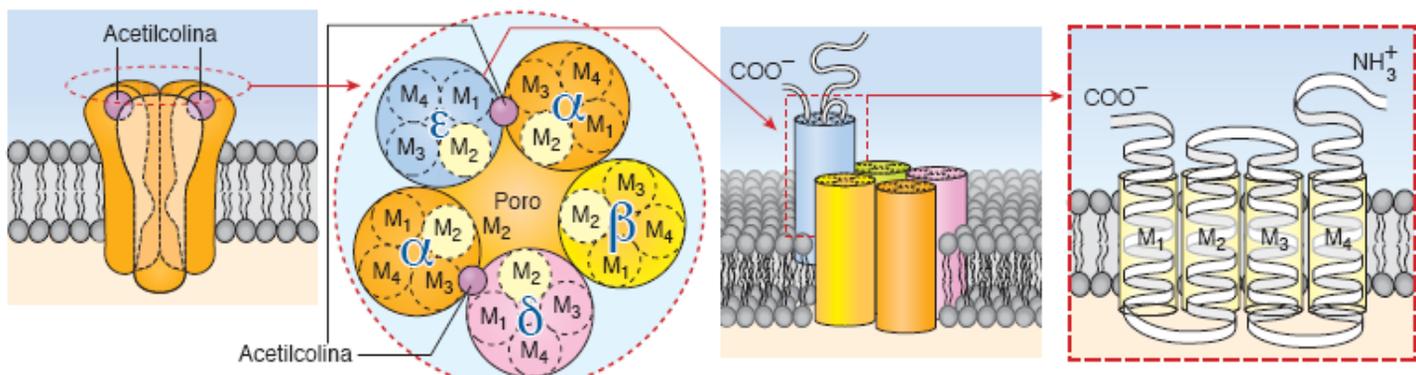
Il recettore nicotnico dell'ACh è il recettore postsinaptico a livello della giunzione neuromuscolare

Struttura del recettore nicotnico



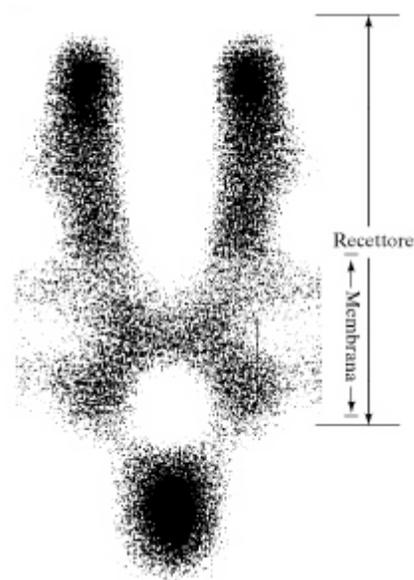
- costituito da **5 subunità** (2α , β , γ , δ) (P.M. 250 kD)
- forma un poro acquoso attivato da **2 molecole di ACh**
- permeabile a **Na^+ , K^+ , Ca^{2+}**
- bloccato da:
d-tubocurarina
 α -bungarotossina





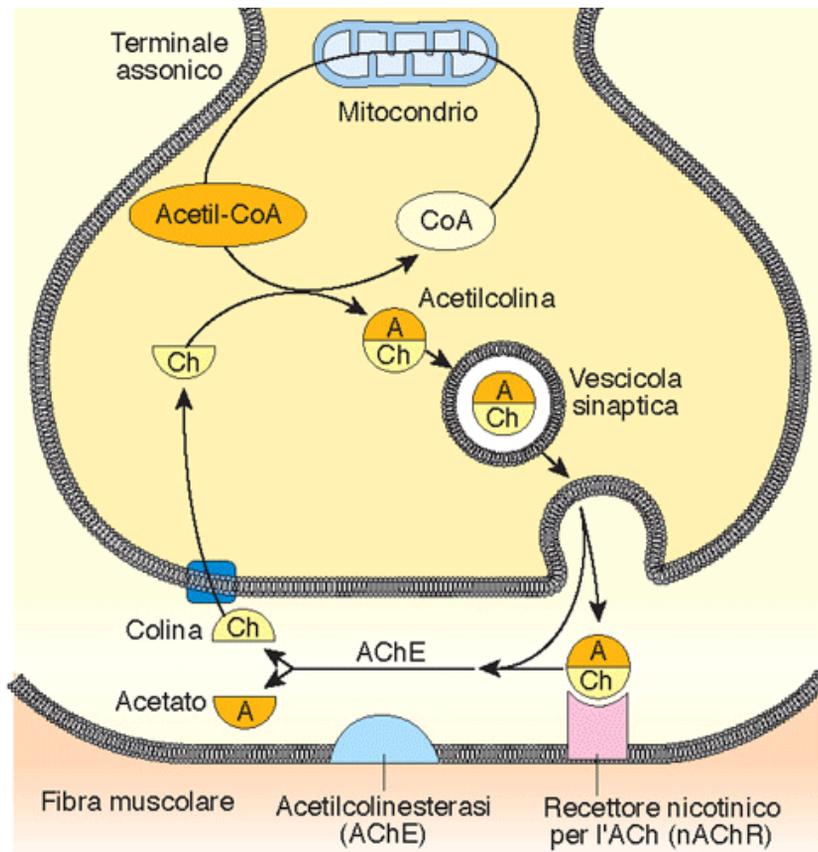
- nei vertebrati è costituito da **5 subunità** (2α , β , ϵ , δ) (P.M. 250 kD)
- negli invertebrati la subunità ϵ è sostituita dalla subunità γ (2α , β , γ , δ)
- ciascuna subunità è formata da 4 STM (M_1 - M_4)
- forma un poro acquoso
- attivato da **2 molecole di ACh**
- permeabile a Na^+ , K^+ , Ca^{2+}
- bloccato da:
 - δ -tubocurarina** (alcaloide)
 - α -bungarotossina** (proteina)
 - α -conotossina** (proteina)

fotografia al microscopio elettronico dell'nAChR



Gli nAChR neuronali

- gli *nAChR* dei neuroni sono formati da due subunità (α , β) secondo un rapporto $3\alpha:2\beta$
- sono coinvolti nella malattia di Alzheimer (*agonisti* dell'nAChR e *inibitori* dell'ACh-esterasi ritardano l'insorgenza della patologia)



ACh è rilasciata da neuroni periferici e centrali; sintetizzata nel terminale assonico dall'enzima **Acetilcolina-transferasi**.

Dopo il rilascio si lega ai recettori colinergici e viene idrolizzata dall'enzima **acetilcolina-esterasi**, che la scinde in acetato+colina.

Media la trasmissione sinaptica alla giunzione neuromuscolare, nelle sinapsi dei gangli simpatici e parasimpatici del SNA, in varie sedi del SNC.

Le neurotossine antagoniste di AChR

Sono peptidi prodotti come arma di attacco da alcuni animali esotici



Il bungaro a strisce
(**Bungarus multicinctus**)

Il suo veleno contiene la α -bungarotossina che blocca con alta affinità l'nAChR

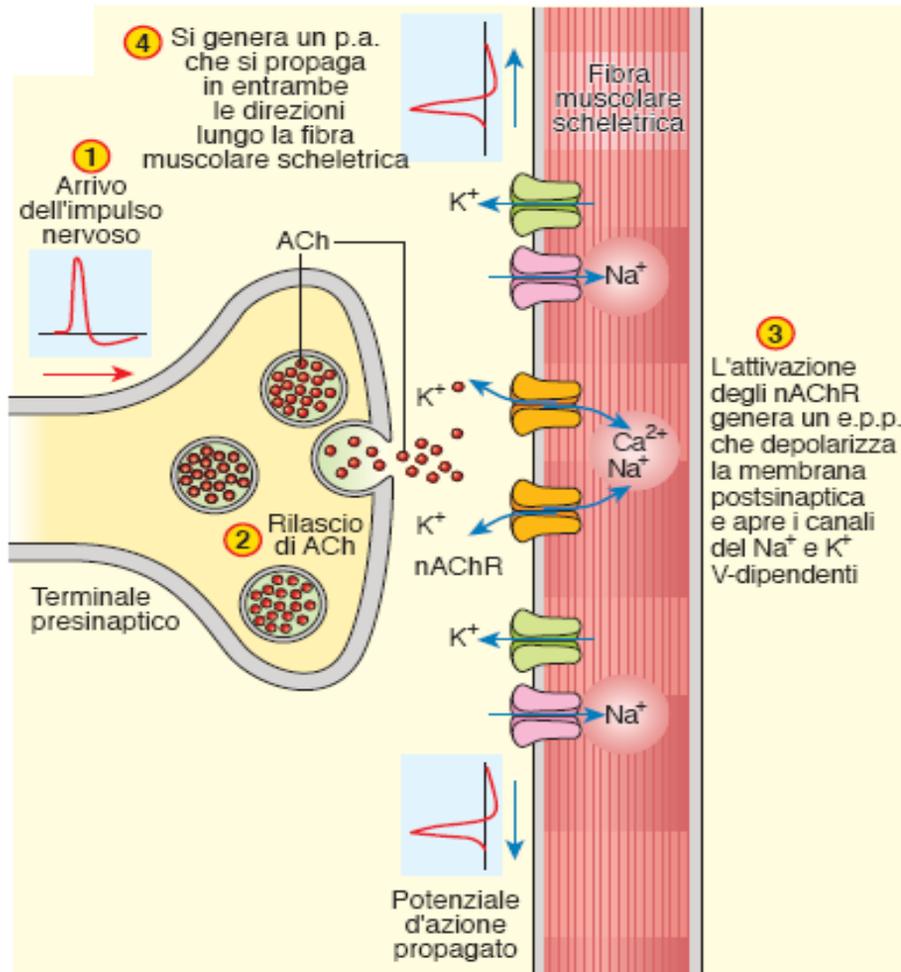


La conchiglia conica
(**Conus geographus**)

- il veleno contiene la α -conotossina che blocca l'nAChR
- contiene anche altre neurotossine che bloccano i canali del Ca^{2+} (ω -conotossina), del Na^+ (μ -conotossina) e del K^+ (κ -conotossina)



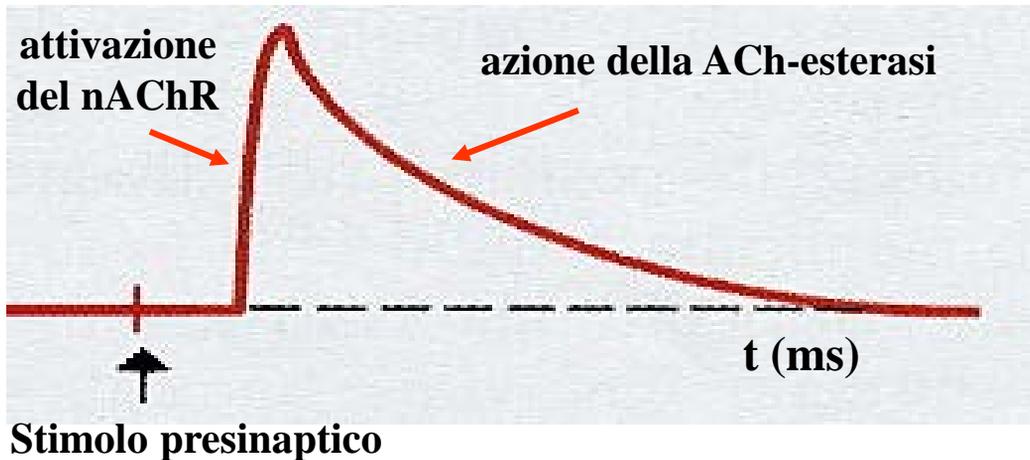
• Funzione dell' AChR muscolare



- **rilascio di ACh** dalla placca motrice
- **legame dell'ACh** con nAChR a livello della placca motrice
- **apertura di nAChR:** entrata di Na⁺ e Ca²⁺, uscita di K⁺
- **generazione del potenziale di placca** (depol. postsinaptica)
- **apertura dei canali del Na⁺ e K⁺ V-dipendenti** muscolari
- **genesi e propagazione del p. d'azione** lungo la fibra muscolare

L'enzima ACh-esterasi

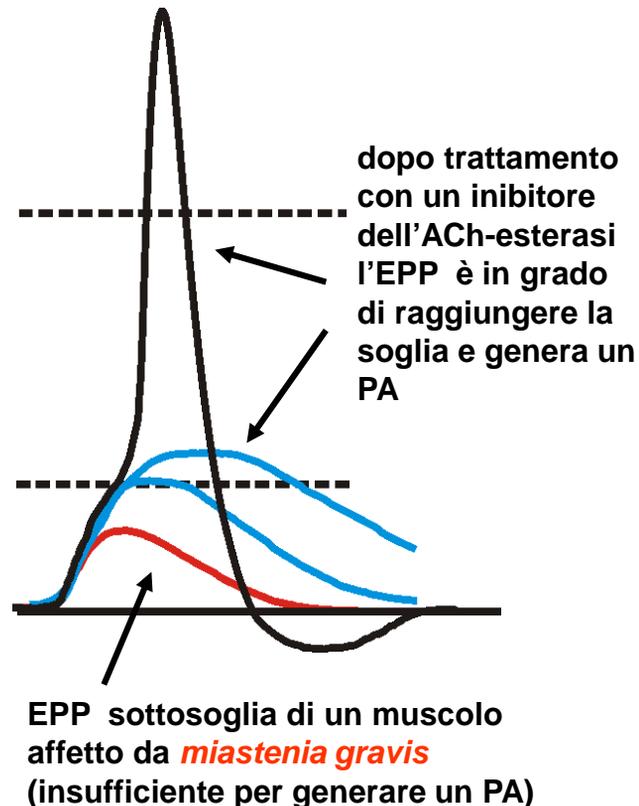
- l'**ACh-esterasi** (*acetilcolinesterasi*) è presente sulla membrana post-sinaptica
- idrolizza l'ACh in **acetato + colina**
- è responsabile della fase decrescente del p. di placca
- inibitori dell'ACh-esterasi potenziano l'attività della sinapsi



Inibitori dell'ACh-esterasi

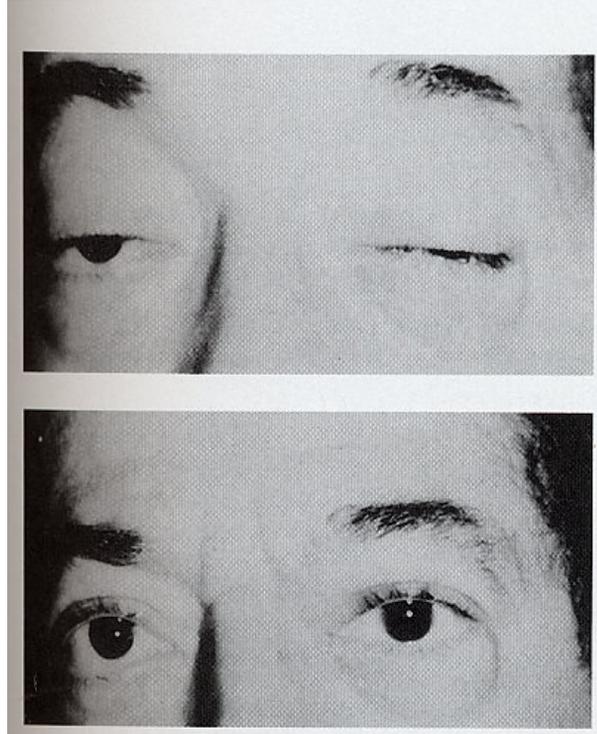
- sono molecole usate in terapia che bloccano l'enzima che degrada l'ACh in colina + acetato
- aumentano i livelli di ACh a livello postsinaptico
- il potenziale di placca decade meno velocemente ed aumenta di ampiezza,
- si generano più facilmente PA che fanno contrarre il m. scheletrico e permettono una contrazione muscolare sostenuta

- **i gas nervini e gli insetticidi** sono inibitori covalenti dell'ACh-esterasi (composti organofosfati)
- gli inibitori reversibili dell'ACh-esterasi (**piridostigmina, neostigmina, galantamina**) sono utilizzati per la cura della **miastenia gravis** e la malattia di **Alzheimer**

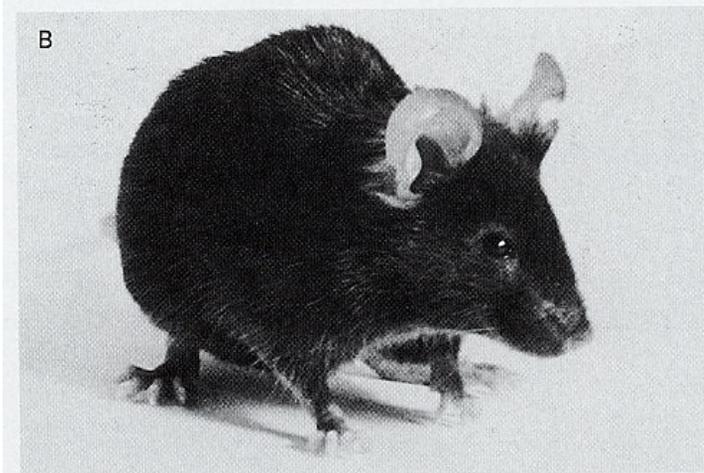
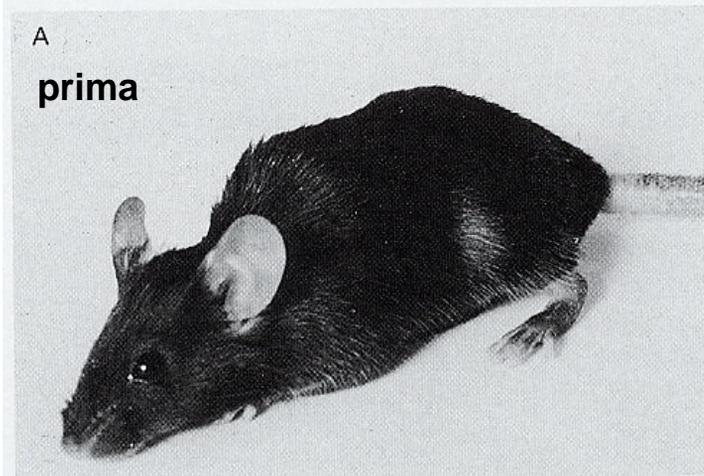


Miastenia gravis

- patologia associata ad una **ridotta densità di nAChR** causata da una reazione autoimmune (anticorpi) contro il recettore nicotinico.
- trasmissione sinaptica gravemente compromessa.
- **inibitori della ACh-esterasi** come agenti terapeutici potenziano la risposta sinaptica

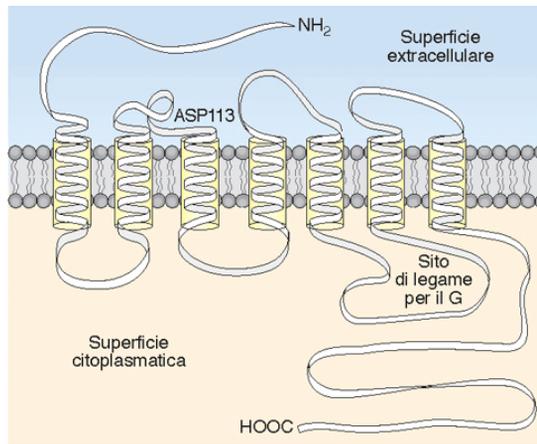


paziente miastenico trattato con un inibitore della ACh-esterasi



- topo miastenico prima e dopo trattamento con **neostigmina**: un inibitore reversibile dell'ACh-esterasi
- la sindrome è stata indotta iniettando una dose di *Torpedo californica*, ripetuta dopo 45 giorni

• Recettore muscarinico dell'acetilcolina



I recettori accoppiati a proteine *G* sono formati da una sola subunità composta da **7 segmenti** di catena polipeptidica transmembrana

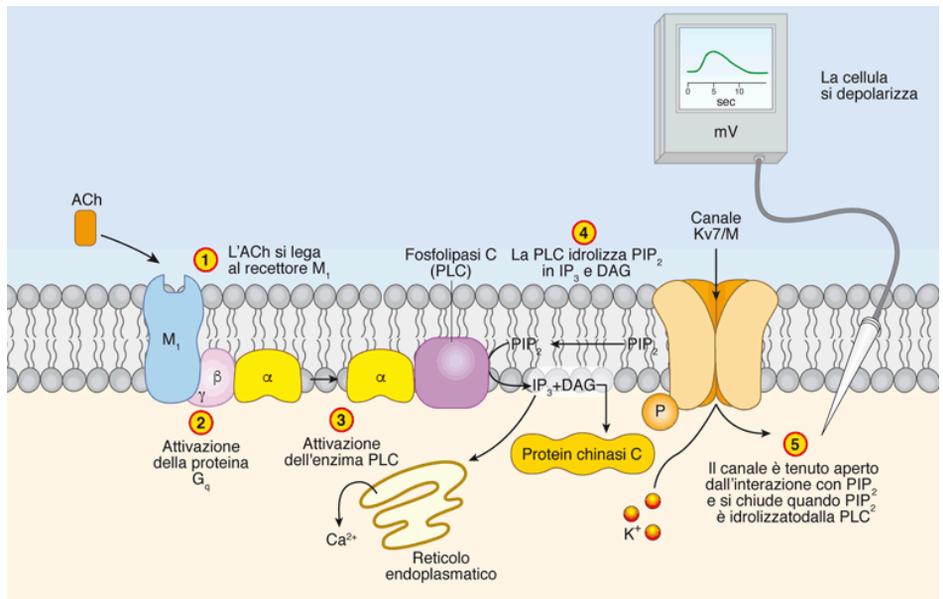
Il sito di legame per il neurotrasmettitore: sulla porzione extracellulare

Il sito di legame per la proteina *G*: III loop intracellulare

I recettori muscarinici sono di 5 tipi diversi (m_1, \dots, m_5)
 m_1, m_3, m_5 (attivazione PLC)

m_2, m_4 (inibizione AC) e regolazione diretta di canali (K atriale)

RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACH: azione eccitatoria



RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACH: azione inibitoria

