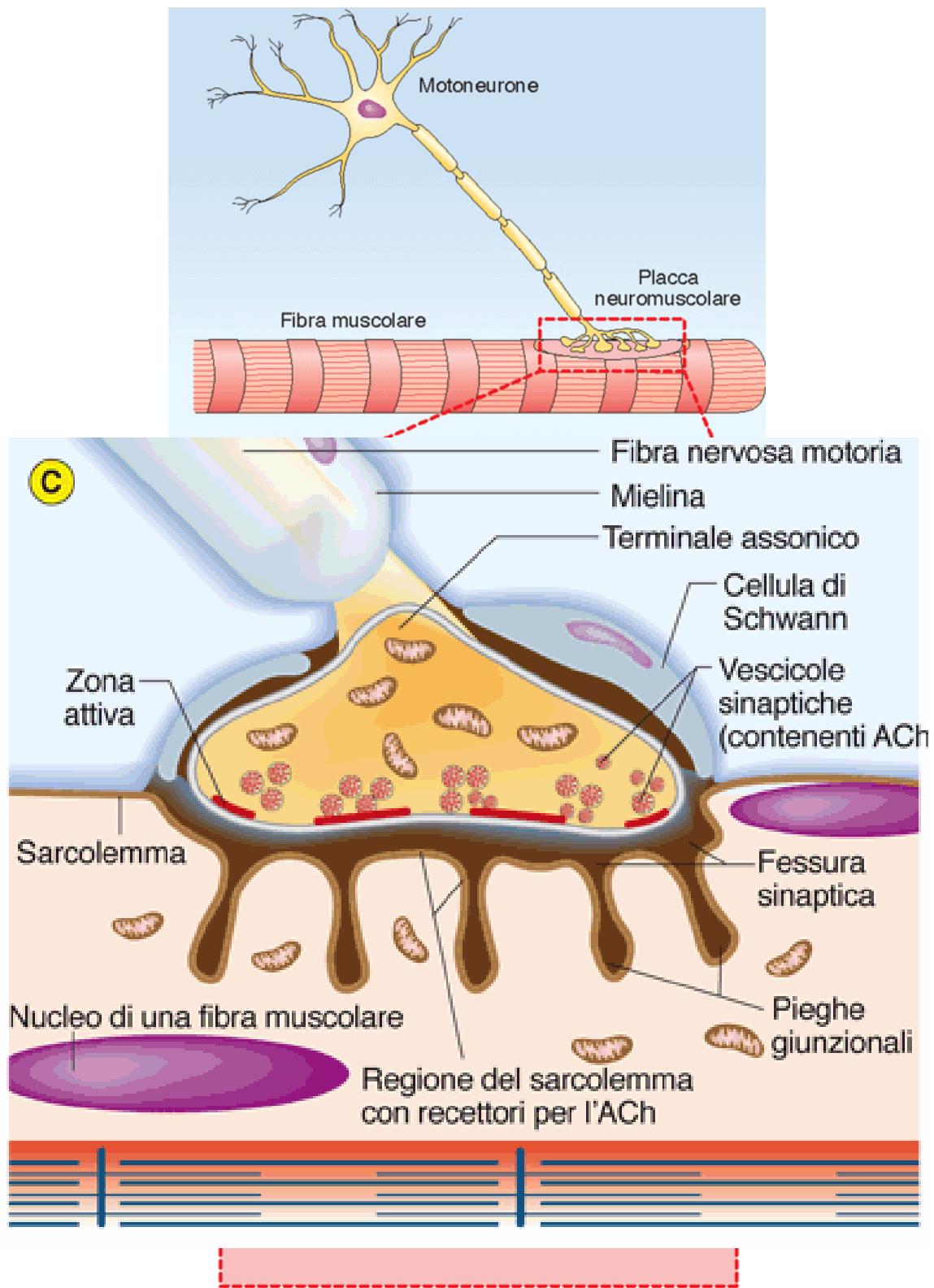
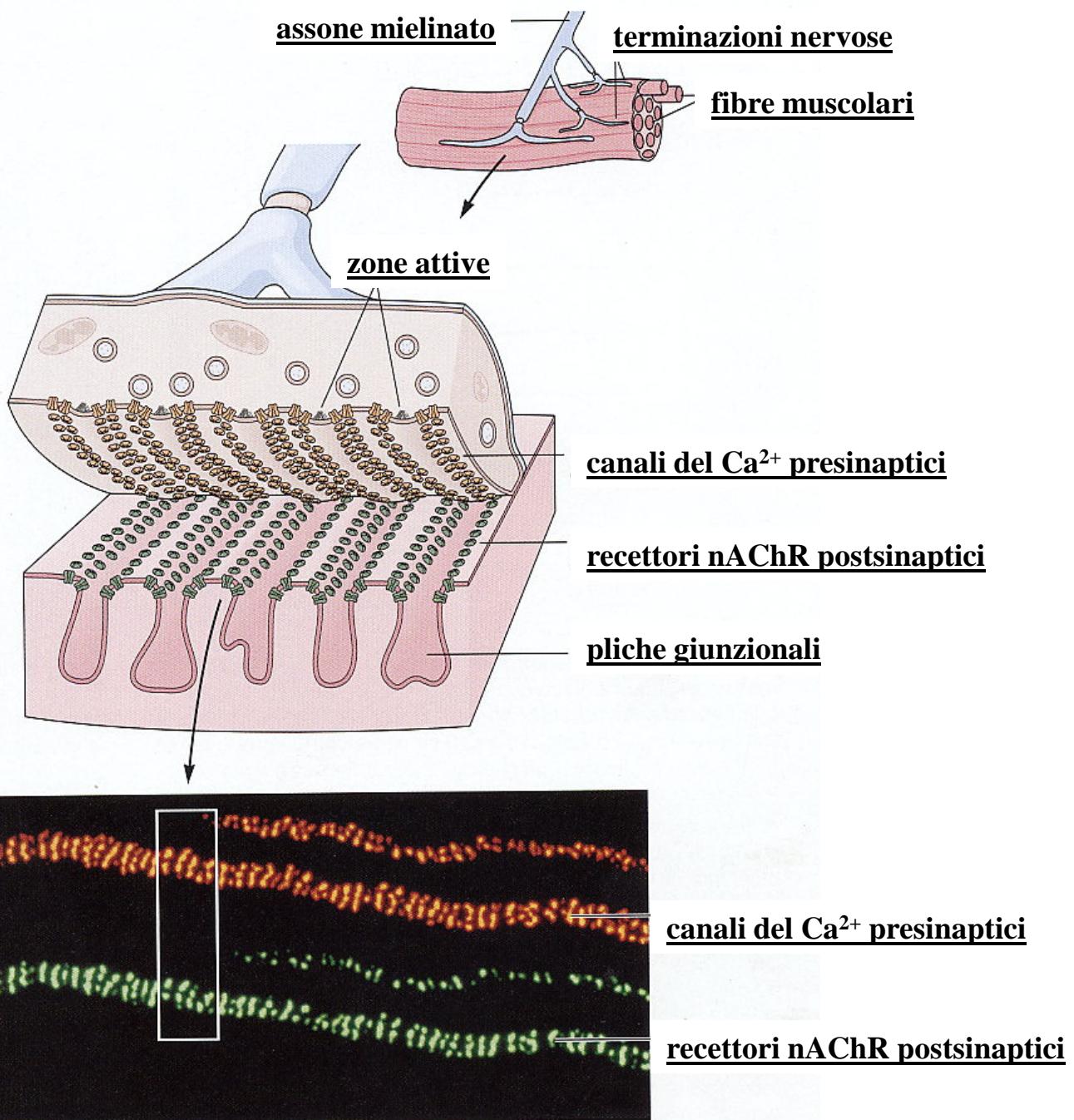


Capitolo 2.2 GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE



Co-localizzazione dei canali del Ca^{2+} presinaptici e dei nAChR postsinaptici

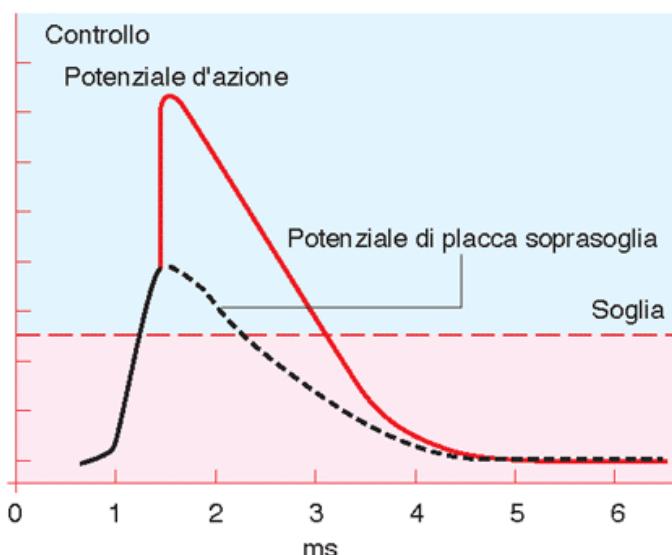
- i canali del Ca^{2+} V-dipendenti sono localizzati nelle zone attive presinaptiche, allineati ai gruppi di recettori nAChR localizzati sulla membrana postsinaptica



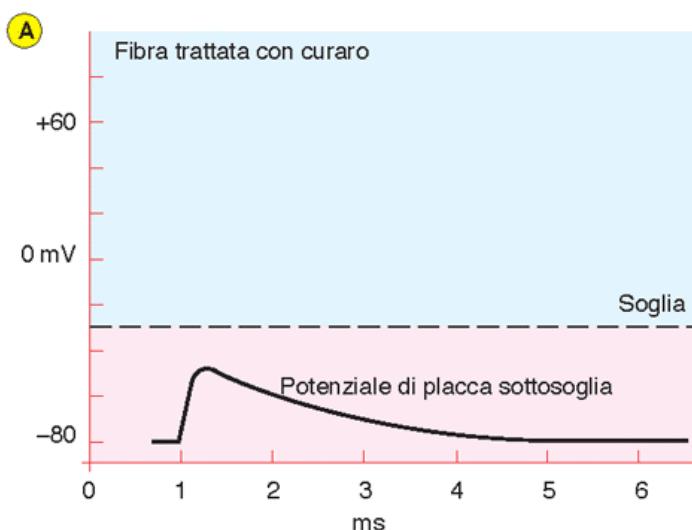
• Il potenziale di placca

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.

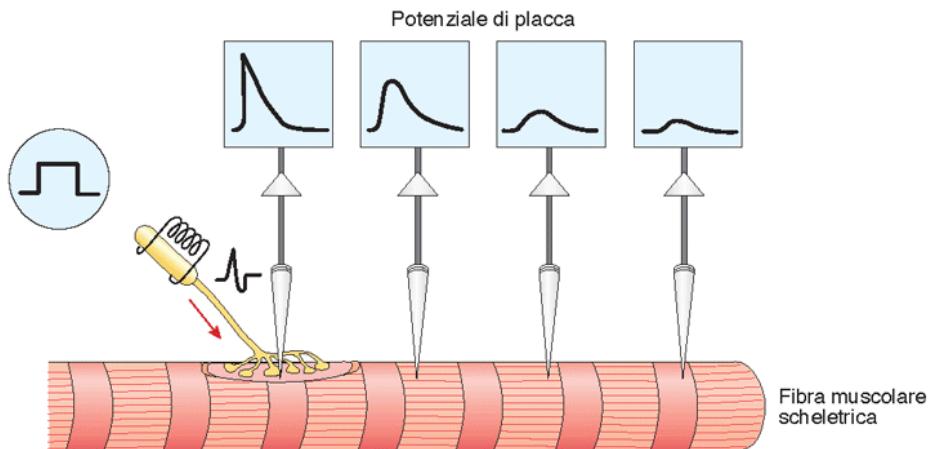


- EPP è **eccitatorio** e ha un'ampiezza elevata (40 mV)
 - EPP è **sopra soglia**, quindi causa l'insorgenza di un PA sulla fibra muscolare



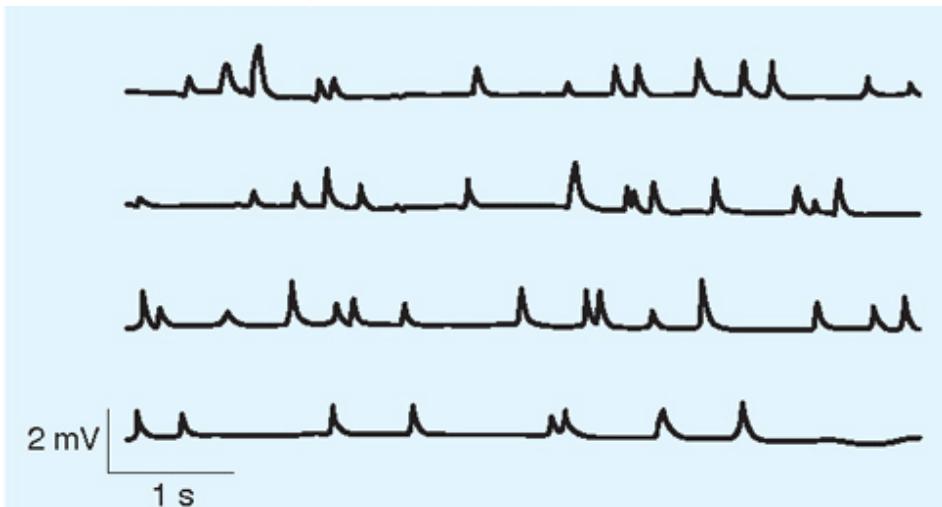
- **il curaro** riduce **sotto soglia** l'ampiezza dell'EPP.

IL POTENZIALE DI PLACCA: propagazione



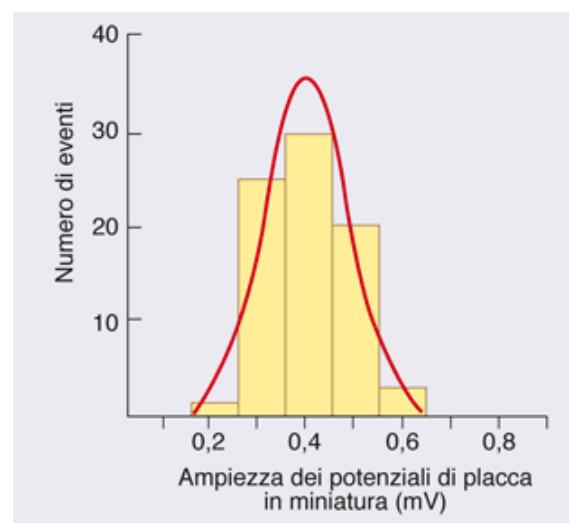
- il potenziale di placca (endplate potential, EPP) **ha la massima ampiezza nel sito di insorgenza**: a livello della placca motrice
- è dovuto ad un flusso di corrente positiva entrante
- si propaga **passivamente** e diminuisce in funzione della distanza
- l'insorgenza del EPP è causata da un aumento della concentrazione di **ACh** nella fessura sinaptica che si lega ai recettori nicotinici
- la concentrazione di **ACh** si riduce rapidamente ad opera dell'enzima **aceticolinesterasi** (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 kinetica ma di ampiezza notevolmente inferiore (<1mV)
- sensibili al curaro (come EPP)



• Rilascio quantale di neurotrasmettore

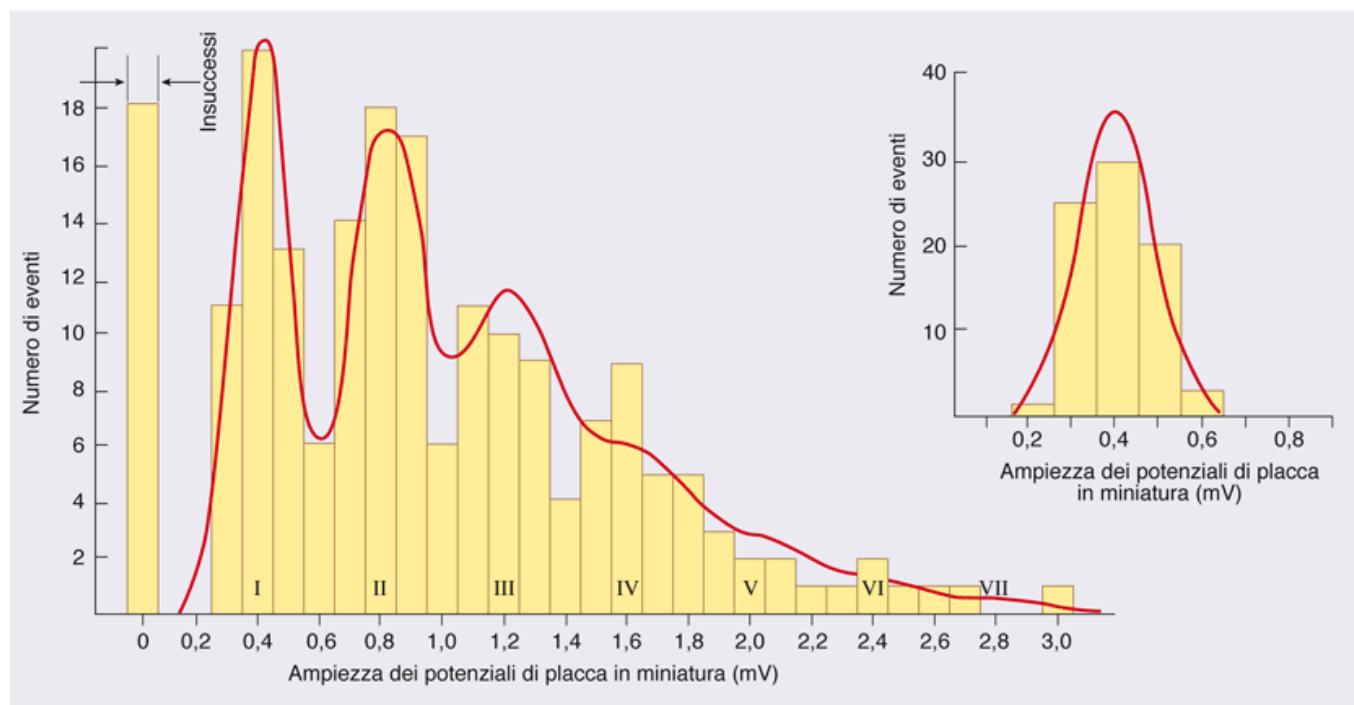


Figura 4.13 Distribuzione delle ampiezze dei potenziali postsinaptici. L'istogramma mostra le ampiezze dei potenziali postsinaptici misurati in una sinapsi neuromuscolare. Si noti che i picchi delle ampiezze (0,4, 0,8, 1,2, ...) corrispondono a multipli interi dell'ampiezza media dei potenziali in miniatura (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.

- riducendo $[Ca^{2+}]_e$, i potenziali di placca si riducono in ampiezza: la distribuzione delle loro ampiezze mostra fluttuazioni.
- I picchi di queste fluttuazioni sono in corrispondenza dei multipli dell' ampiezza media dei mep (0.4 mV).
- La distribuzione di Poisson predice le ampiezze degli epp assumendo che gli epp siano formati da eventi unitari (mep).

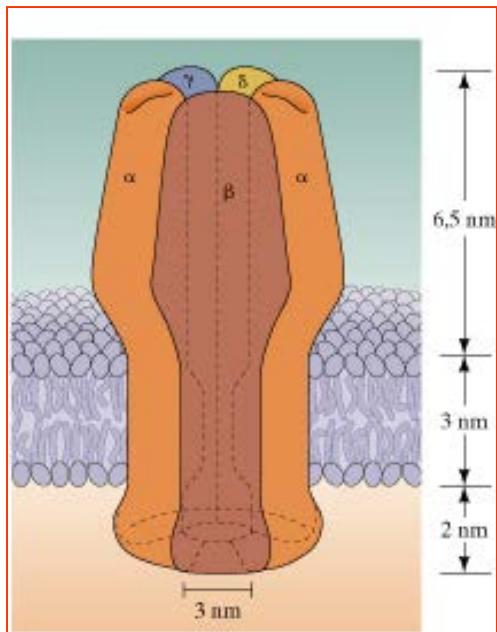
- Del Castillo, Miledi e Katz formularono l'ipotesi che la liberazione di ACh corrispondesse alla liberazione di pacchetti (quanti) contenenti neurotrasmettore
- i **mepp** sono piccole depolarizzazioni associate al rilascio di una **quanto**, ovvero al contenuto di una **vescicola presinaptica** (10.000-40.000 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.

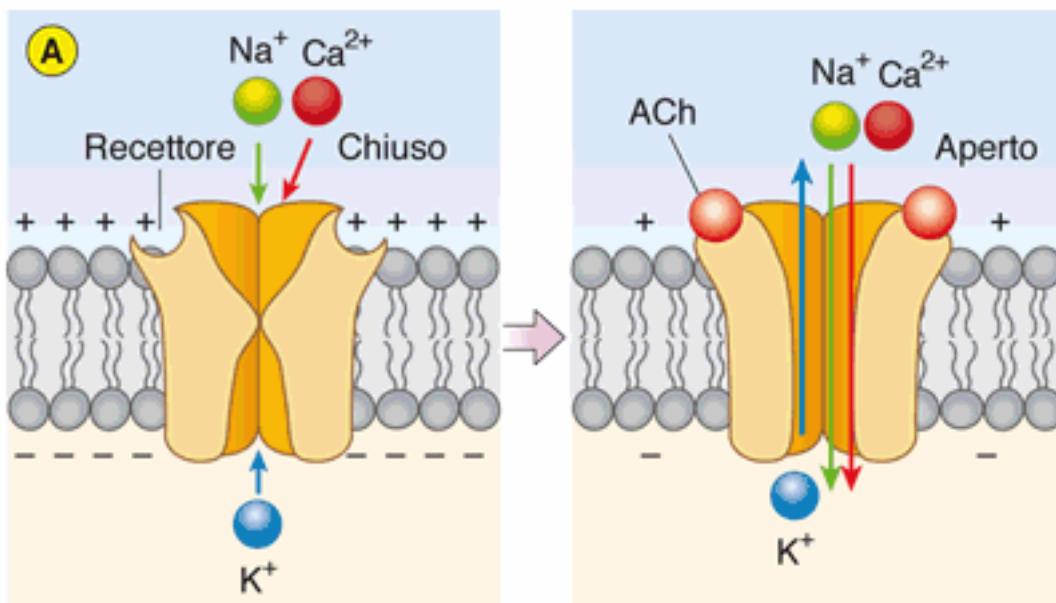
• Recettore nicotinico dell'acetilcolina (AChR)

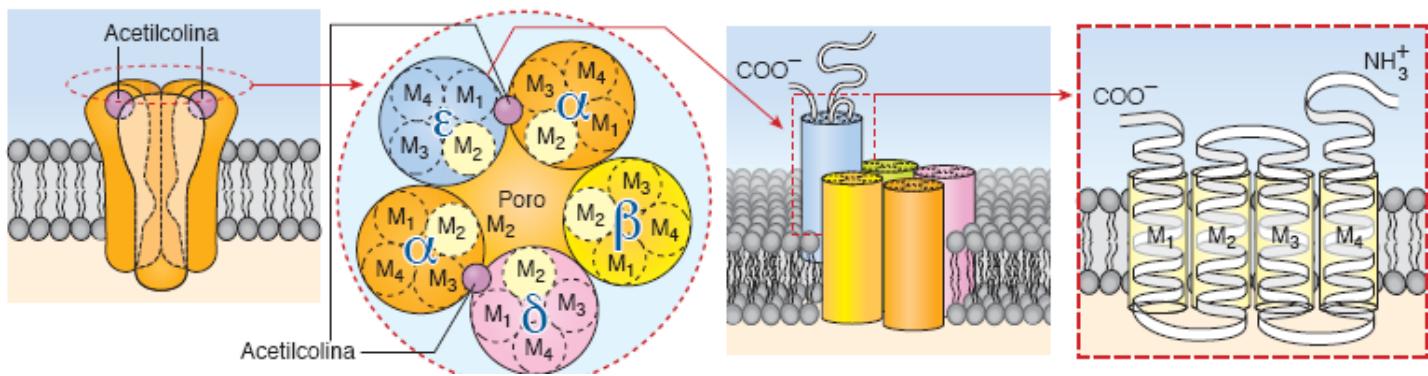
Il recettore nicotinico dell'ACh è il recettore postsinaptico a livello della giunzione neuromuscolare

Struttura del recettore nicotinico



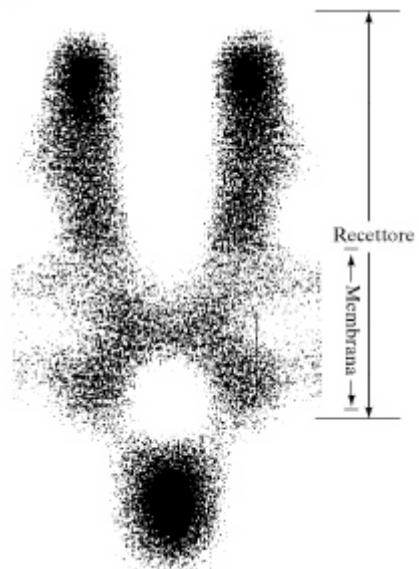
- costituito da **5 subunità** ($2\alpha, \beta, \gamma, \delta$) (P.M. 250 kD)
- forma un poro acquoso attivato da **2 molecole di ACh**
- permeabile a **Na^+ , K^+ , Ca^{2+}**
- bloccato da:
d-tubocurarina
 α -bungarotossina





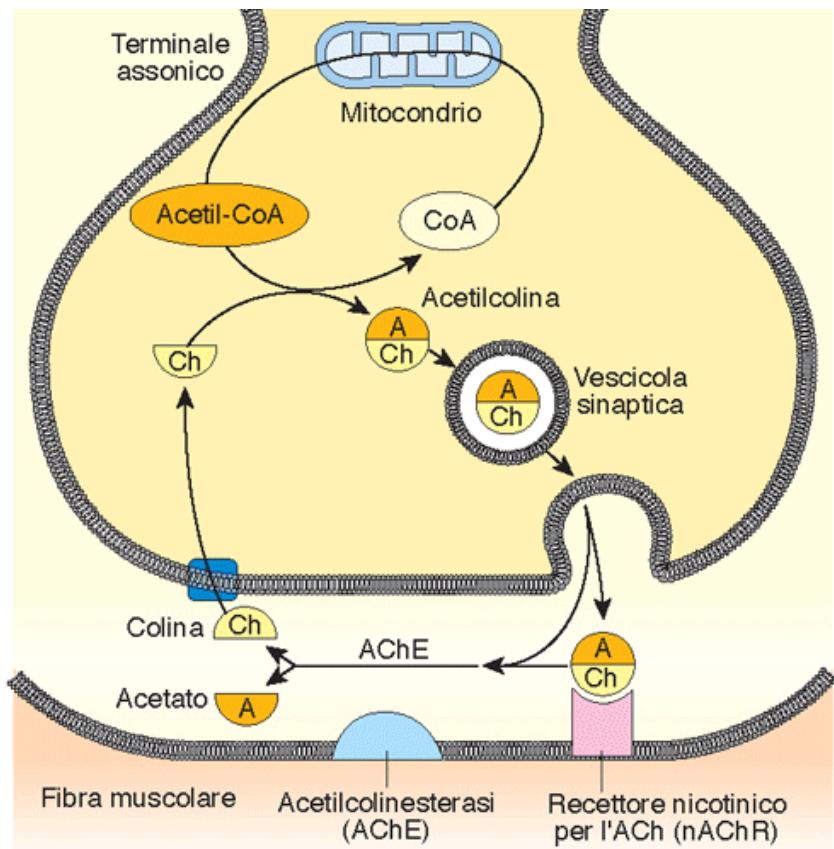
- nei vertebrati è costituito da **5 subunità** (2α , β , ϵ , δ) (P.M. 250 kD)
- negli invertebrati la subunità ϵ è sostituita dalla subunità γ (2α , β , γ , δ)
- ciascuna subunità è formata da 4 STM (M_1 - M_4)
- forma un poro acquoso
- attivato da **2** molecole di **ACh**
- permeabile a Na^+ , K^+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

fotografia al microscopio elettronico dell'nAChR



Gli nAChR neuronalni

- 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 **Acetylcolina-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 multicintus*)

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

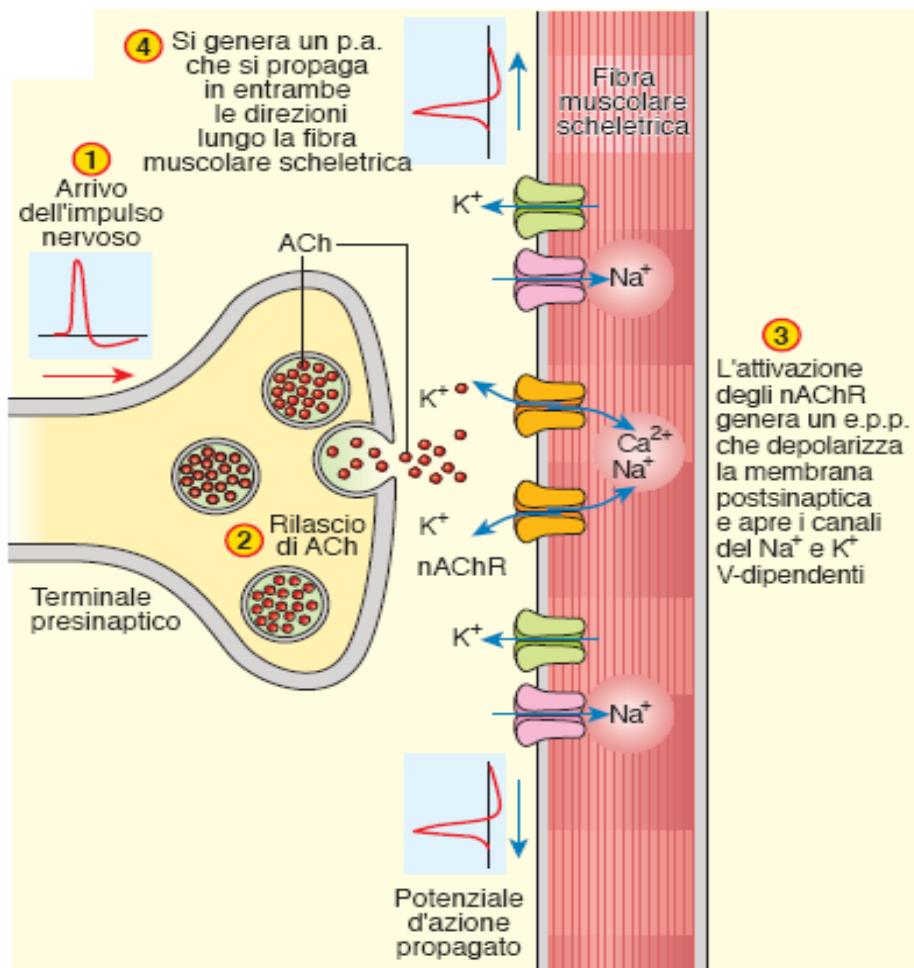


La conchiglia conica
(*Conus geographus*)

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



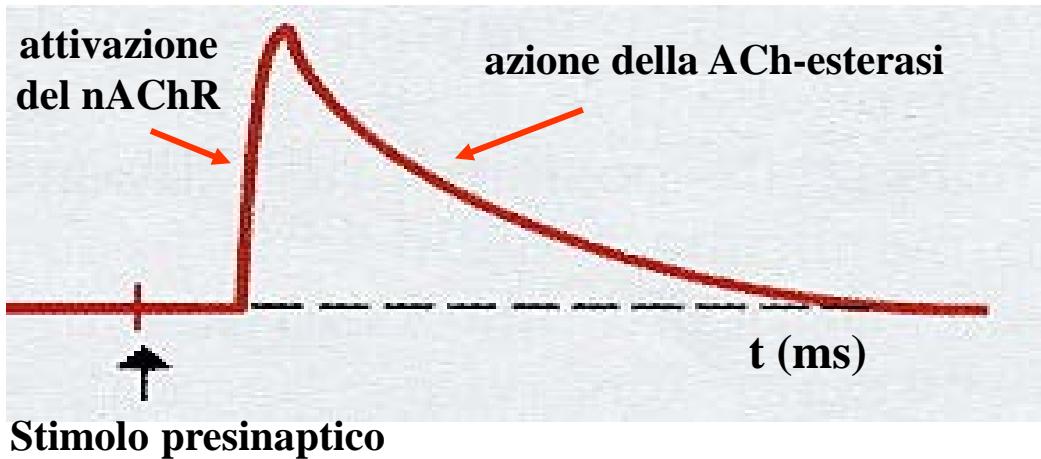
• Funzione dell' AChR muscolare



- **rilascio di ACh** dalla placca motrice
- **legame dell'ACh con nAChR** a livello della placca motrice
- **apertura di nAChR**: entrata di Na^+ e Ca^{2+} , 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

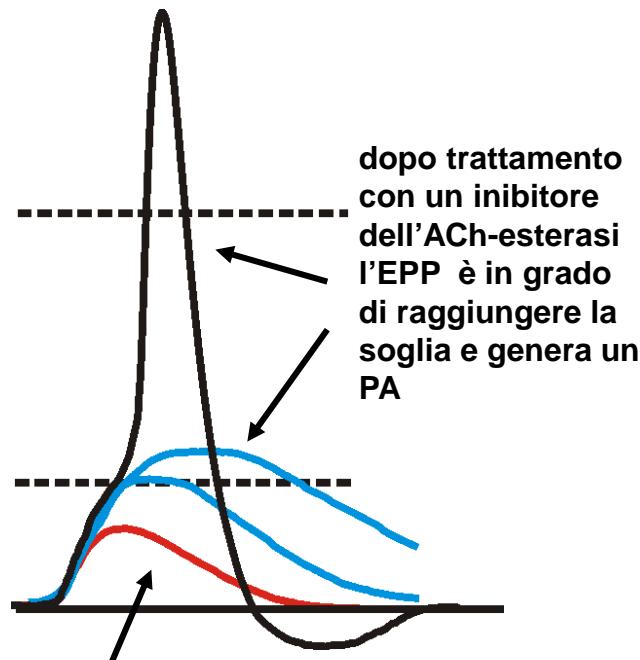
- l'**ACh-esterasi** (*acetilcolinesterasi*) è presente sulla membrana post-sinaptica
- idrolizza l'ACh in **acetato + colina**
- è responsabile della fase decrescente del p. di placca
- inibitori dell'ACh-esterasi potenziano l'attività della sinapsi



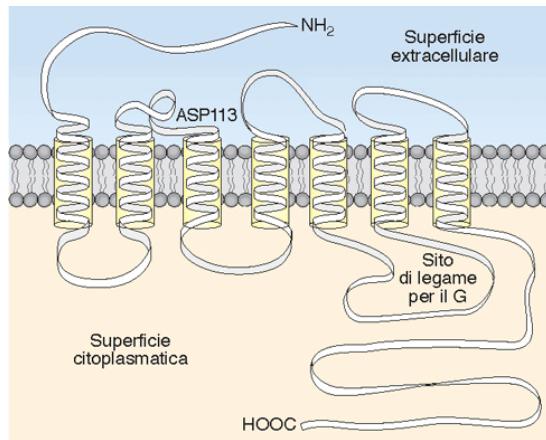
Inibitori dell'ACh-esterasi

- 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**



• Recettore muscarinico dell'acetilcolina



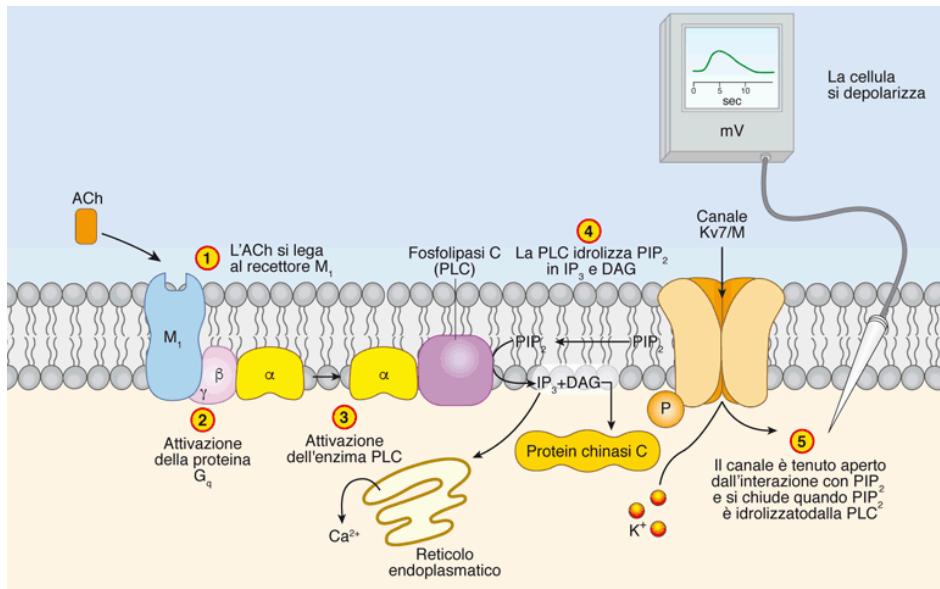
I recettori accoppiati a proteine G sono formati da una sola subunità composta da **7 segmenti** di catena polipeptidica trasmembranari

Il sito di legame per il neurotrasmettitore: sulla porzione extracellulare

I sito di legame per la proteina G: III loop intracellulare

I recettori muscarinici sono di 5 tipi diversi (m₁..m₅)
m₁,m₃,m₅ (attivazione PLC)
m₂,m₄ (inibizione AC) e regolazione diretta di canali (K atriale)

RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACH: azione eccitatoria



RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACH: azione inibitoria

