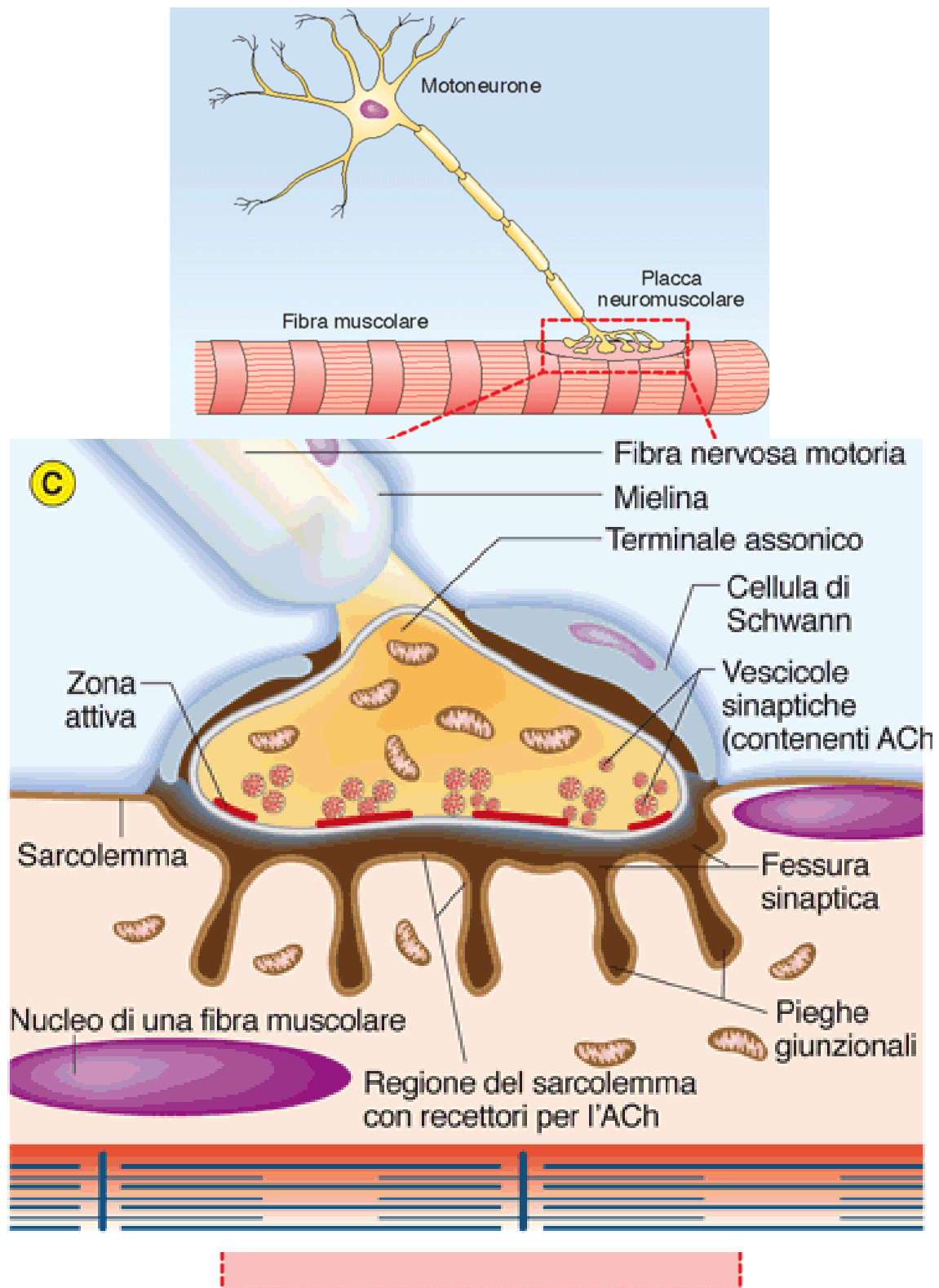
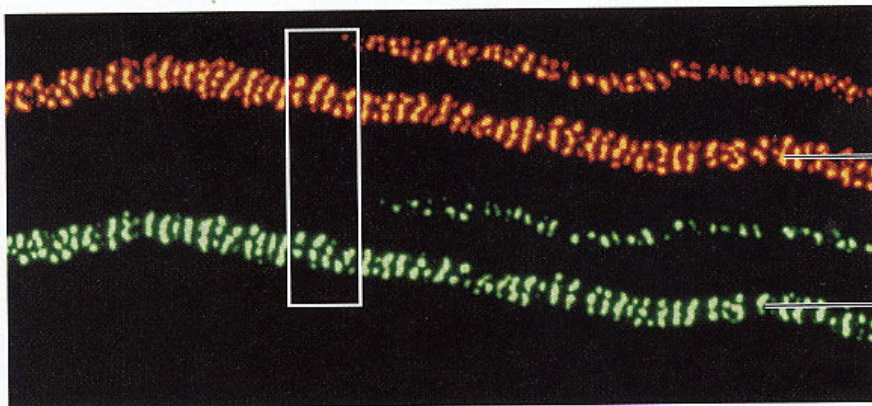
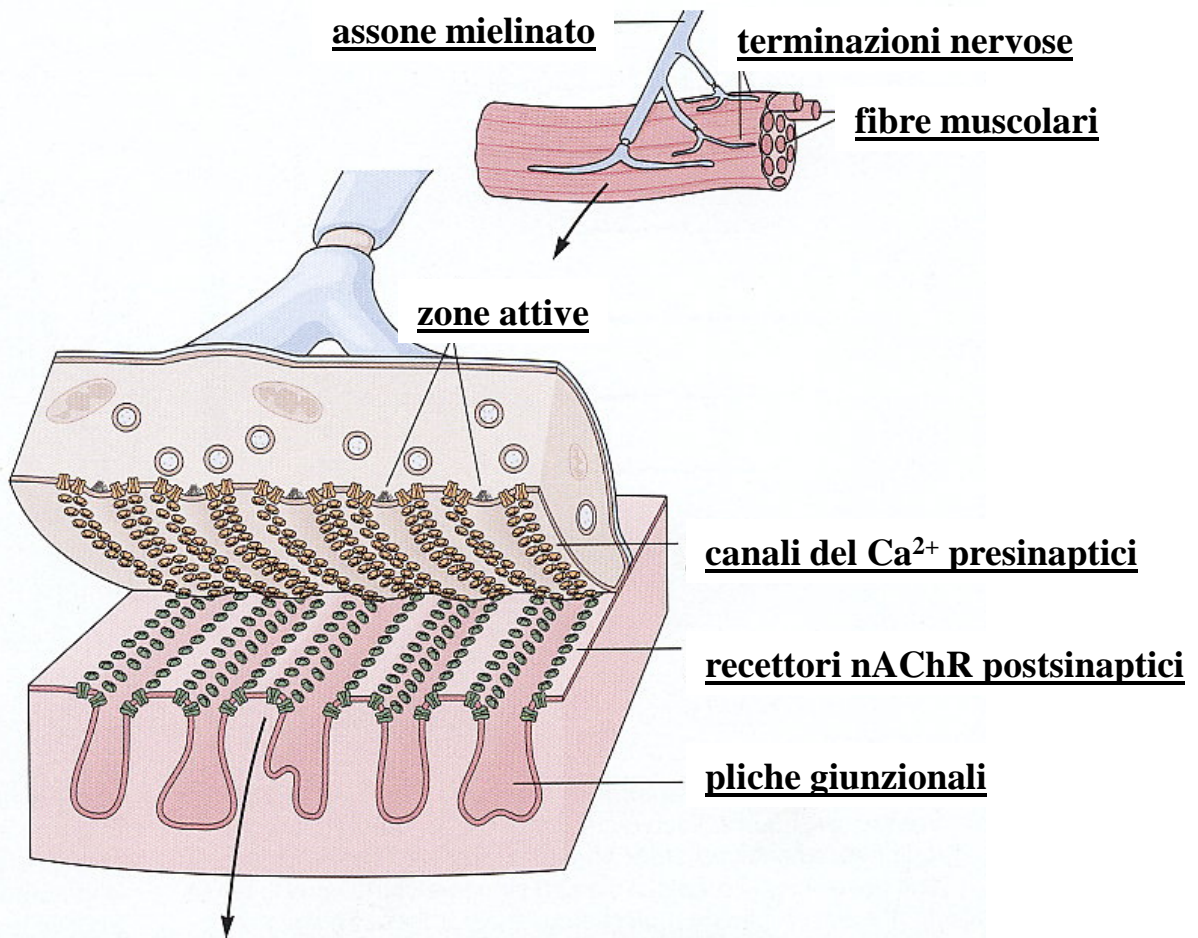


## Capitolo 2.2 GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE



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

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



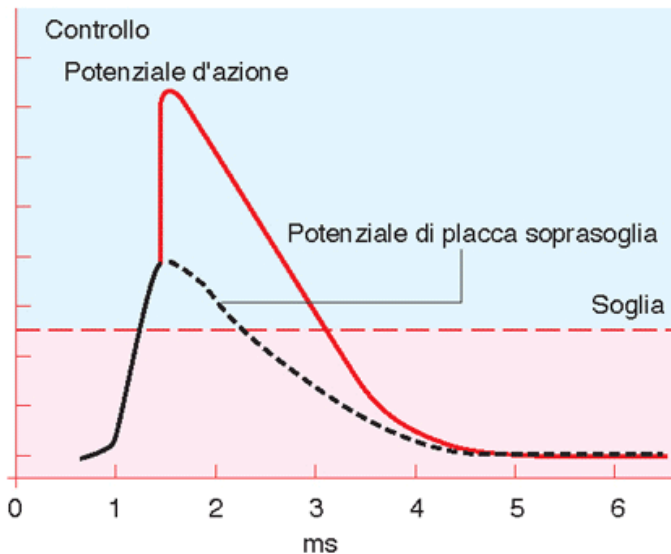
canali del  $\text{Ca}^{2+}$  presinaptici

recettori nAChR postsinaptici

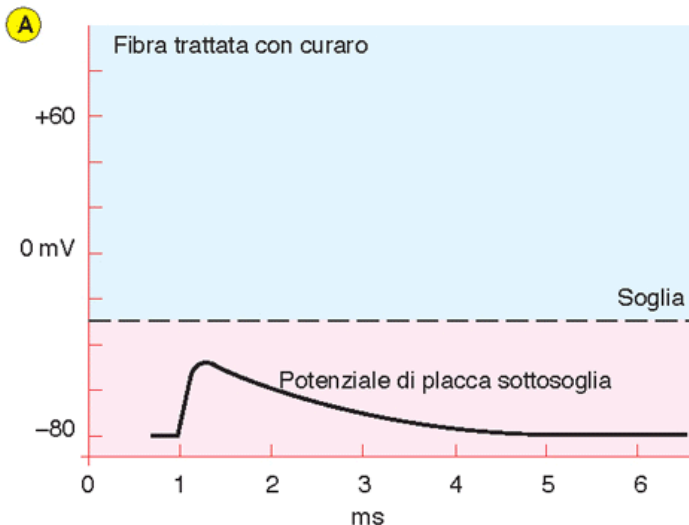
# • Il potenziale di placca

## 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.

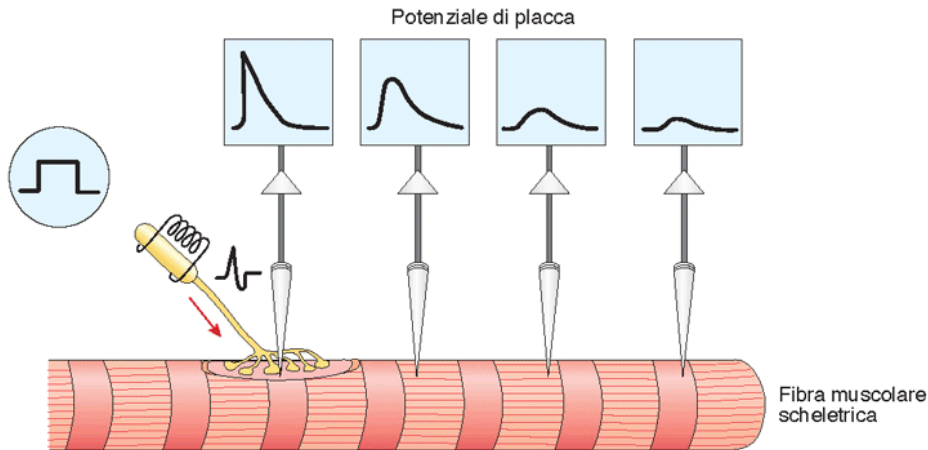


- EPP è **eccitatorio** e ha un'ampiezza elevata (40 mV)
- EPP è **sopra soglia**, quindi causa l'insorgenza di un PA sulla fibra muscolare



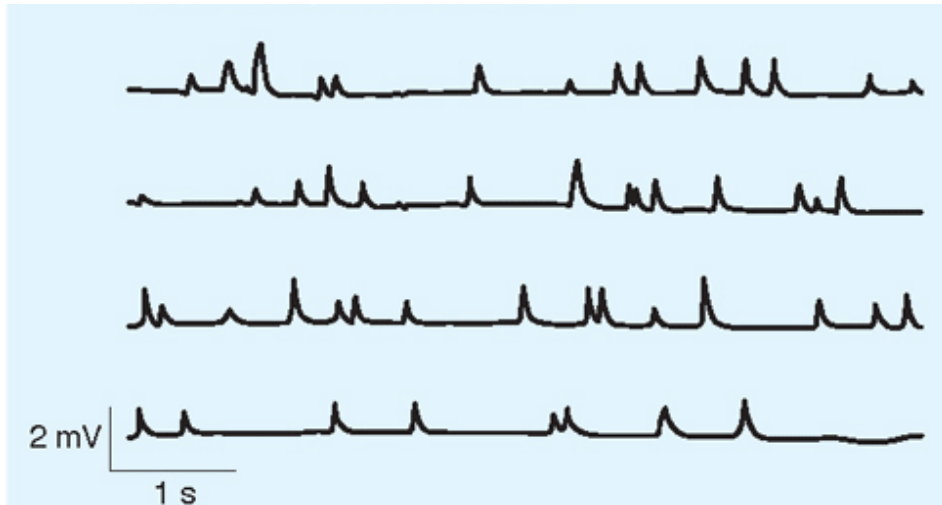
- **il curaro** riduce **sotto soglia** l'ampiezza dell'EPP.

## IL POTENZIALE DI PLACCA: propagazione



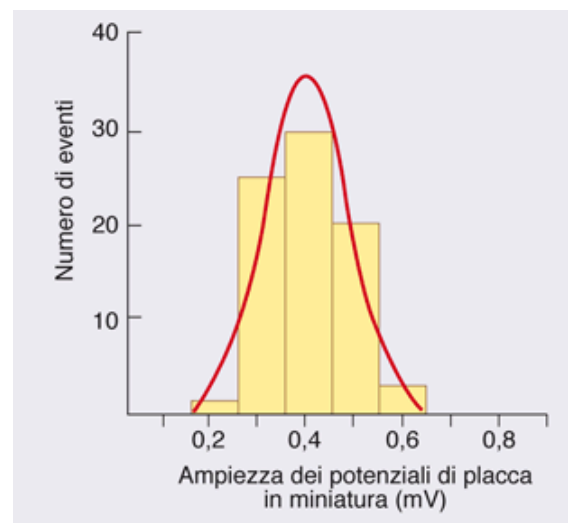
- il potenziale di placca (endplate potential, EPP) ha la **massima ampiezza nel sito di insorgenza**: a livello della placca motrice
- è dovuto ad un flusso di corrente positiva entrante
- si propaga **passivamente** e diminuisce in funzione della distanza
- l'insorgenza del EPP è causata da un aumento 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)

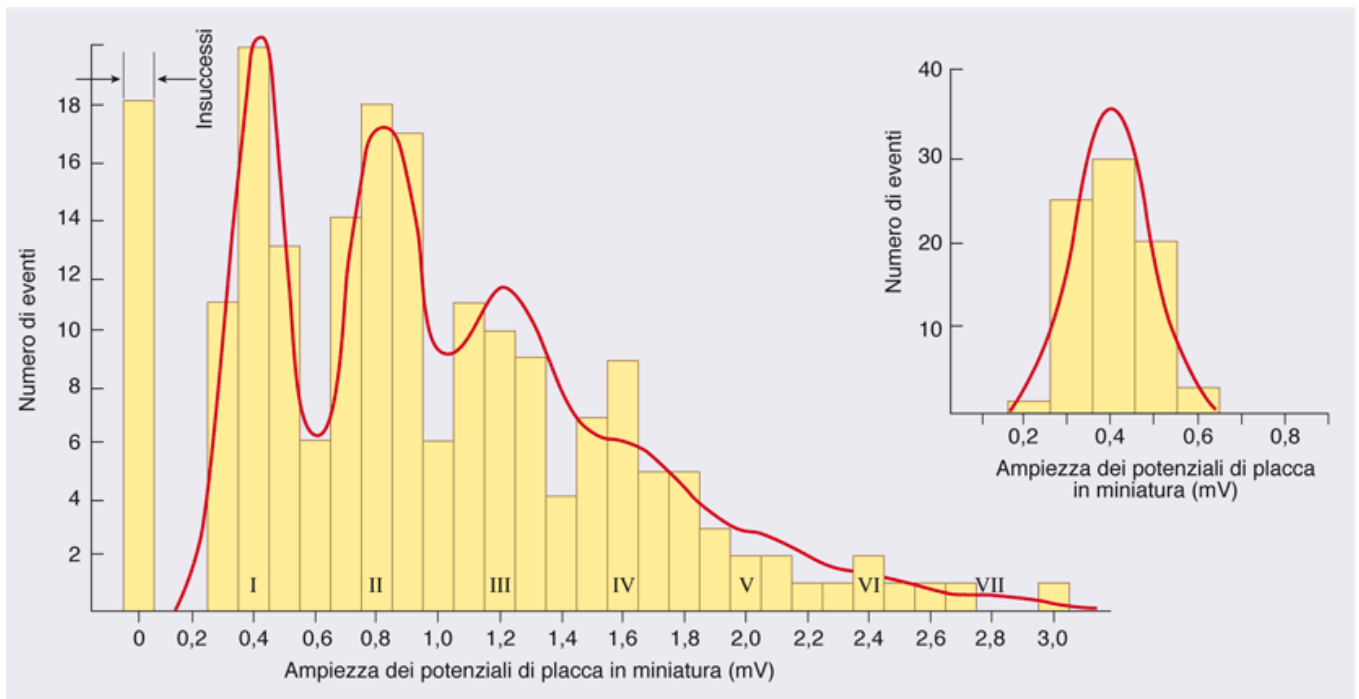


- anche **in assenza di stimolazione** presinaptica, si registrano sulla cellula muscolare **modificazioni spontanee** del potenziale di membrana.

- 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.

- 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 mepp (0.4 mV).
- La distribuzione di Poisson predice le ampiezze degli epp assumendo che gli epp siano formati da eventi unitari (mepp).

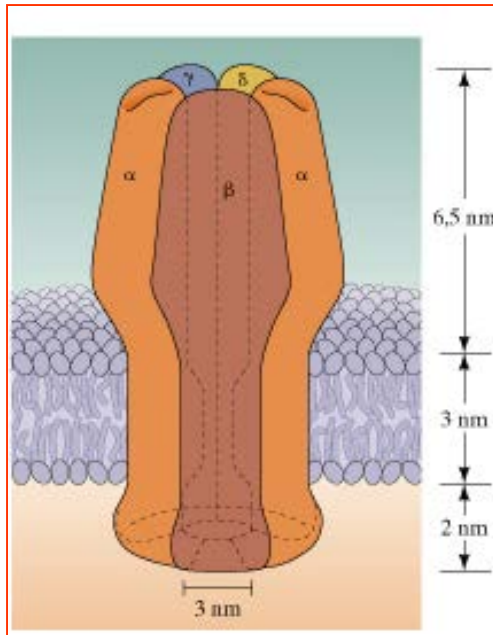


- Del Castillo, Miledi e Katz formularono l'ipotesi che la liberazione di ACh corrispondesse alla liberazione di pacchetti (quanti) contenenti neurotrasmettitore
- i **mepp** sono piccole depolarizzazioni associate al rilascio di una **quanto**, ovvero al contenuto di una **vescicola presinaptica** (10.000-40.000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

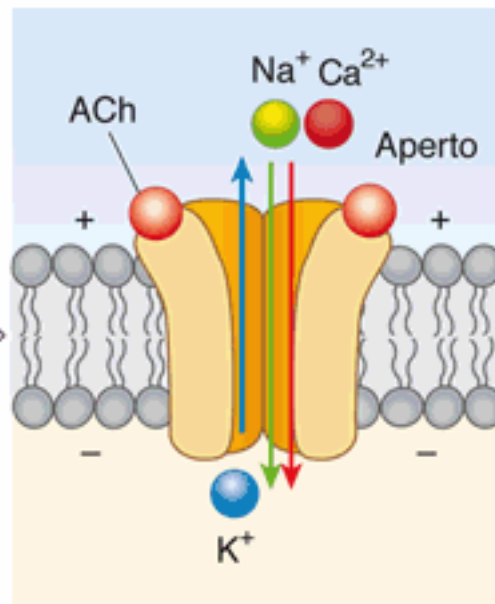
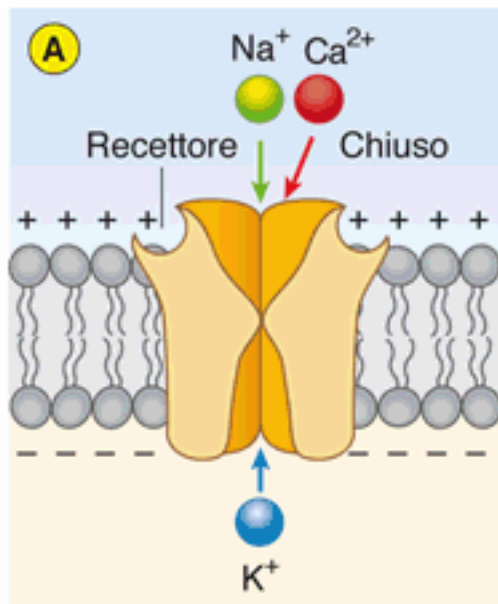
## • Recettore nicotnico dell'acetilcolina (AChR)

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

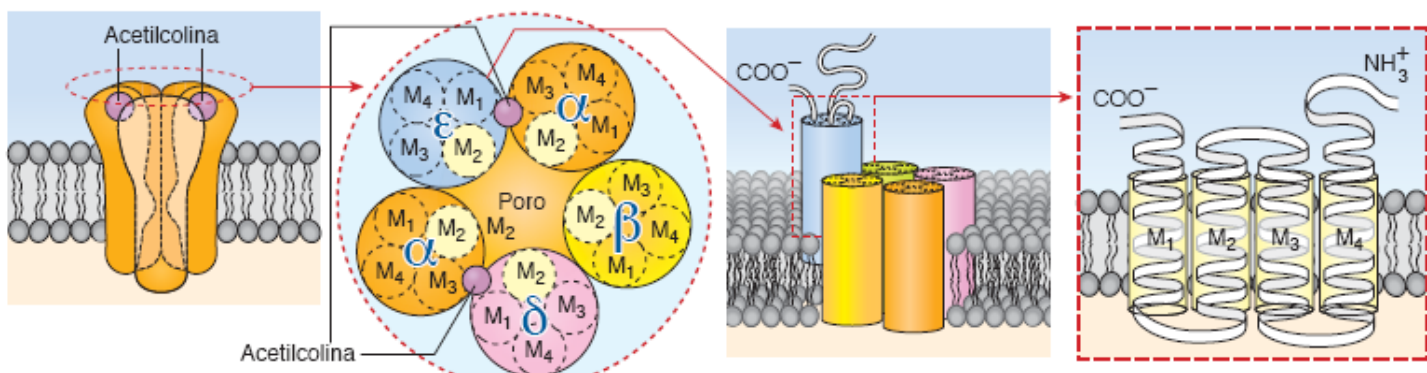
### Struttura del recettore nicotnico



- 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  **$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$**
- bloccato da:  
**d-tubocurarina**  
 **$\alpha$ -bungarotossina**

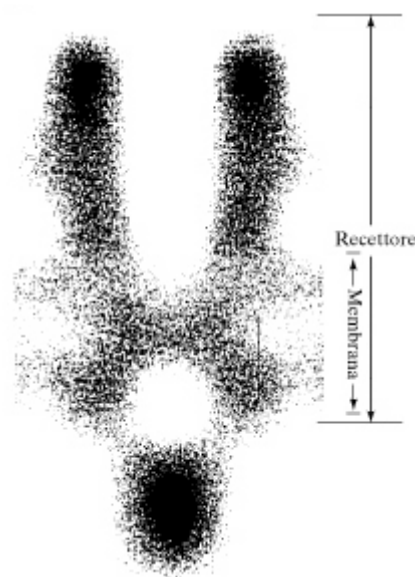






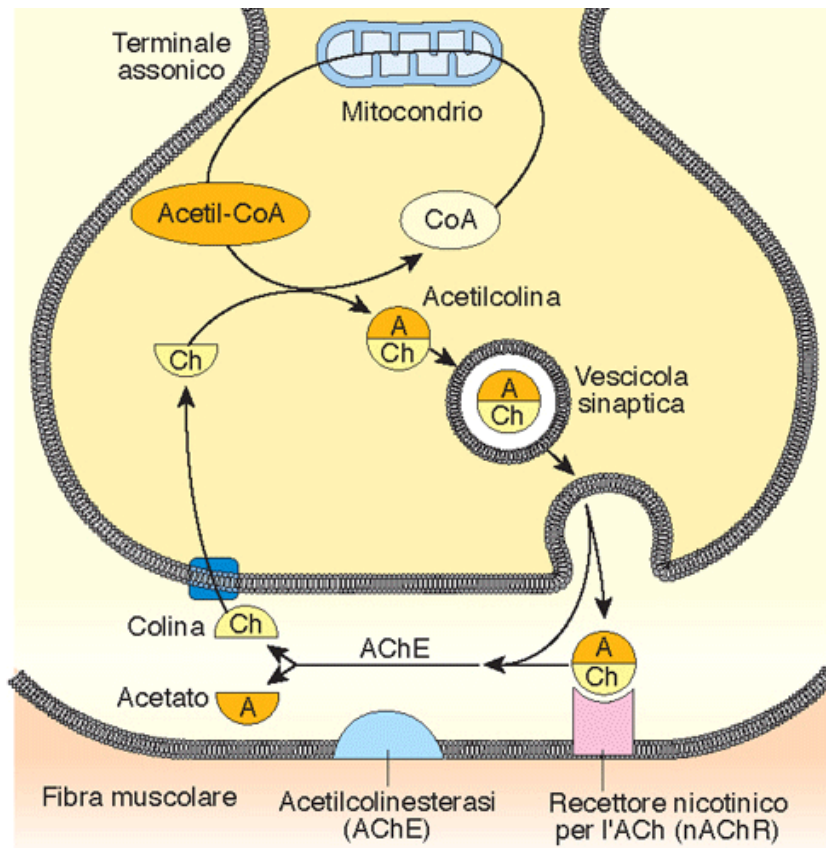
- nei vertebrati è costituito da **5 subunità** ( $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ ) (P.M. 250 kD)
- negli invertebrati la subunità  $\epsilon$  è sostituita dalla subunità  $\gamma$  ( $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ )
- ciascuna subunità è formata da 4 STM ( $M_1$ - $M_4$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

fotografia al microscopio elettronico dell'nAChR



## Gli nAChR neuronali

- gli **nAChR** dei neuroni sono formati da due subunità ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) 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  $\alpha$ -bungarotossina che blocca con alta affinità l'**nAChR**

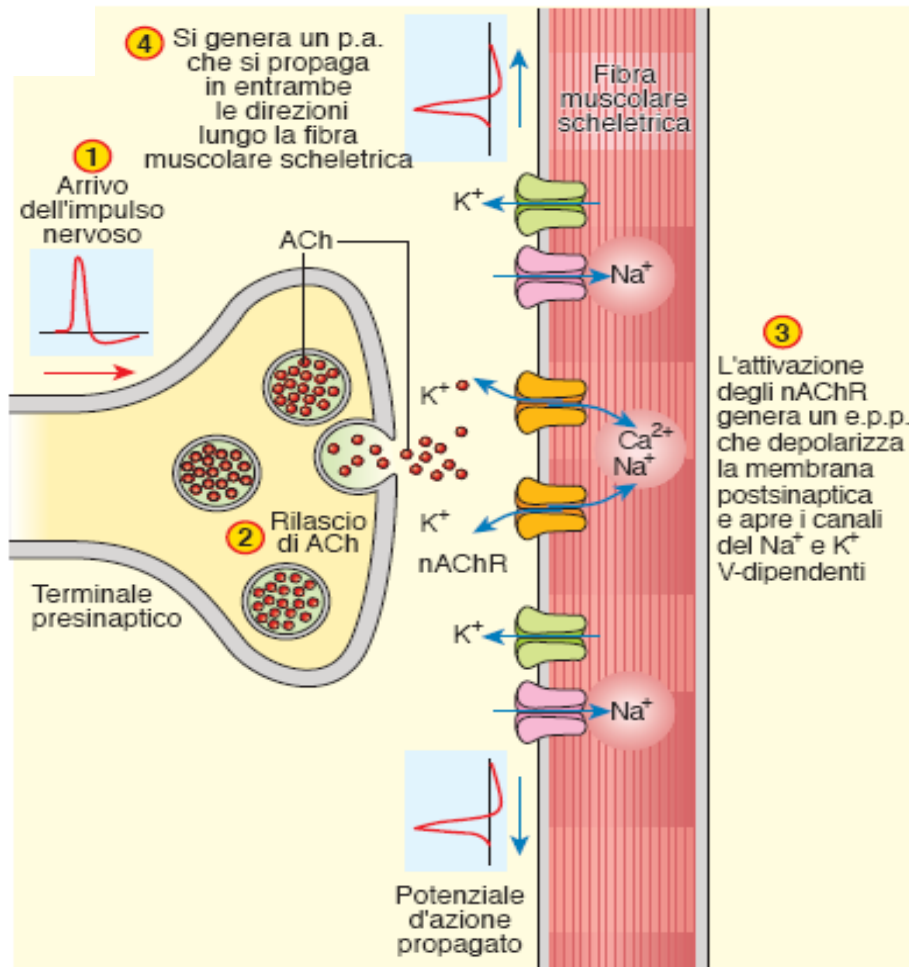


La conchiglia conica  
(**Conus geographus**)

- il veleno contiene la  $\alpha$ -conotossina che blocca l'**nAChR**
- contiene anche altre neurotossine che bloccano i canali del  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\omega$ -conotossina), del  $\text{Na}^{+}$  ( $\mu$ -conotossina) e del  $\text{K}^{+}$  ( $\kappa$ -conotossina)



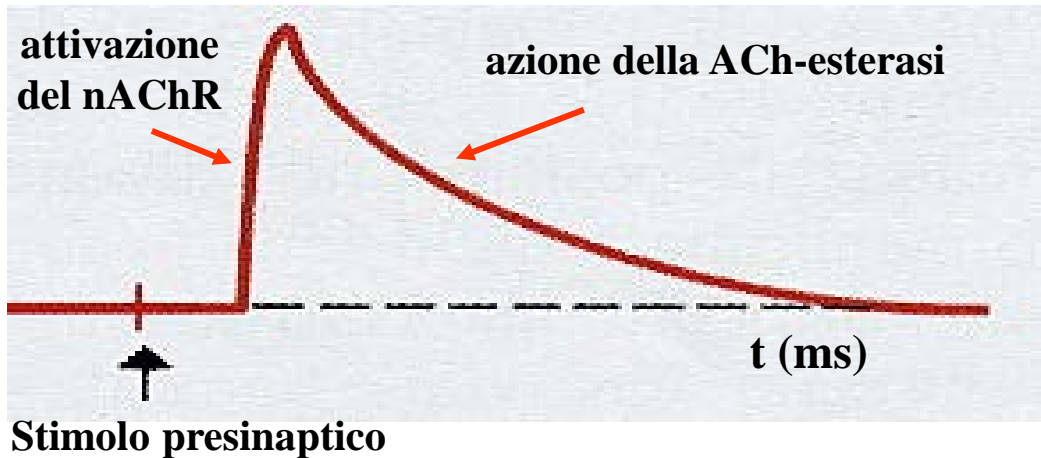
## • Funzione dell' AChR muscolare



- **rilascio di ACh** dalla placca motrice
- **legame** dell' **ACh** con nAChR a livello della placca motrice
- **apertura di nAChR**: entrata di Na<sup>+</sup> e Ca<sup>2+</sup>, uscita di K<sup>+</sup>
- **generazione del potenziale di placca** (depol. postsinaptica)
- **apertura dei canali** del Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> V-dipendenti muscolari
- **genesì e propagazione** del p. d'azione lungo la fibra muscolare

## L'enzima ACh-esterasi

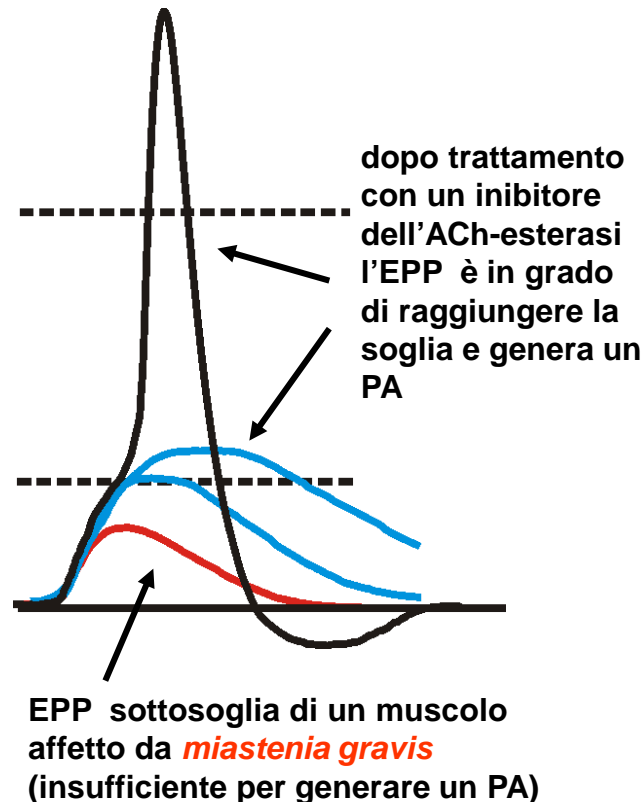
- l'**ACh-esterasi** (*acetilcolinesterasi*) è presente sulla membrana post-sinaptica
- idrolizza l'ACh in **acetato + colina**
- è responsabile della fase decrescente del p. di placca
- inibitori dell'ACh-esterasi potenziano l'attività della sinapsi



# Inibitori dell'ACh-esterasi

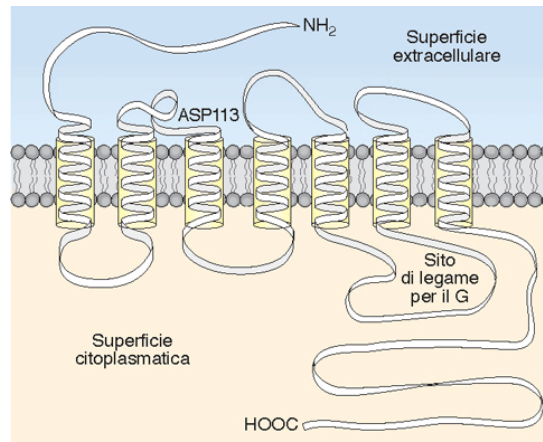
- sono molecole usate in terapia che bloccano l'enzima che degrada l'ACh in colina + acetato
- aumentano i livelli di ACh a livello postsinaptico
- il potenziale di placca decade meno velocemente ed aumenta di ampiezza,
- si generano più facilmente PA che fanno contrarre il m. scheletrico e permettono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

Il sito di legame per il neurotrasmettitore: sulla porzione extracellulare

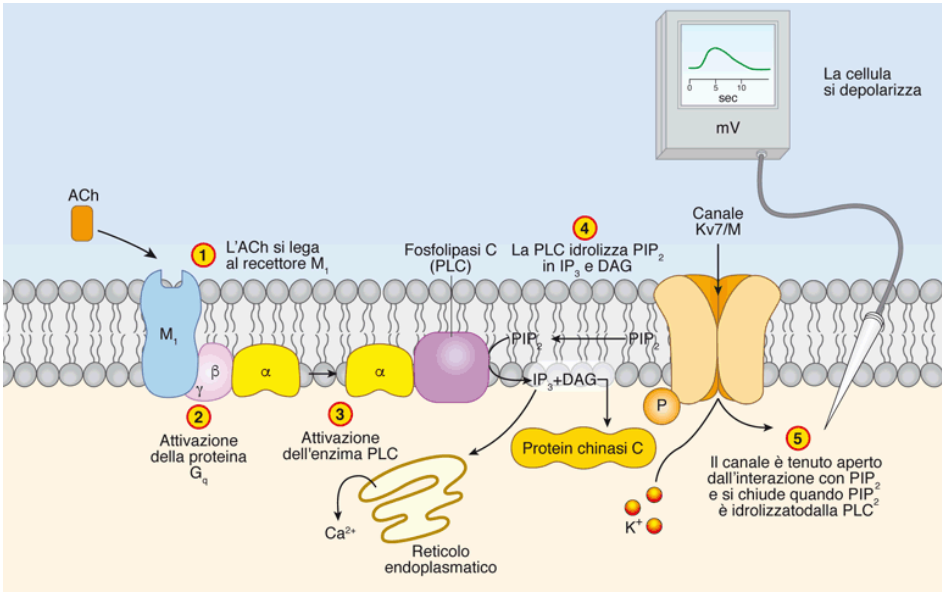
Il sito di legame per la proteina *G*: III loop intracellulare

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

