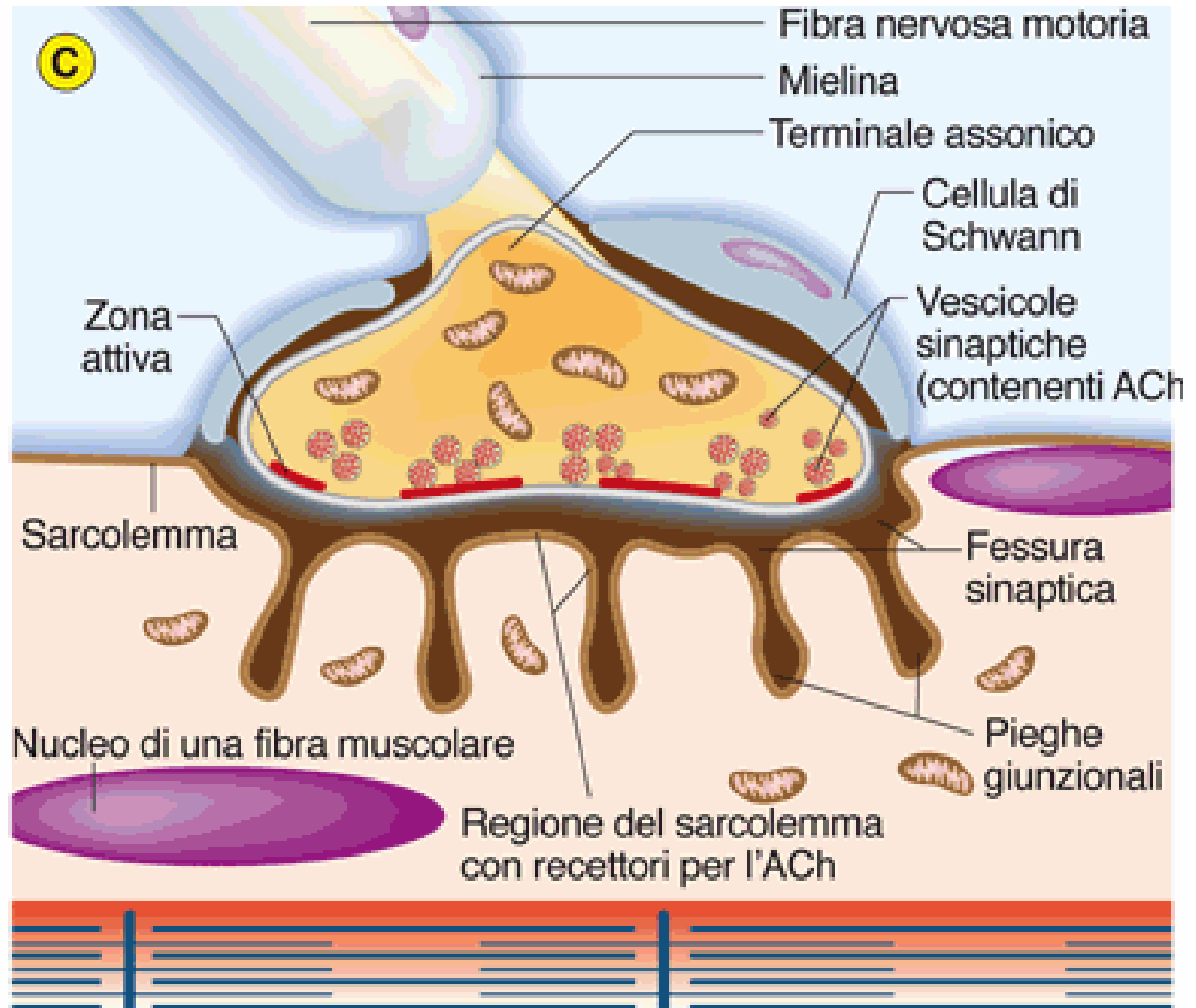
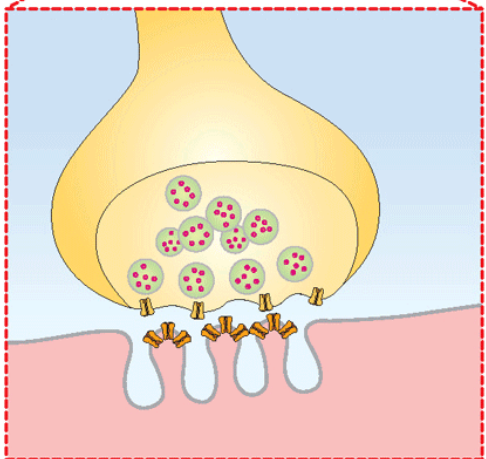
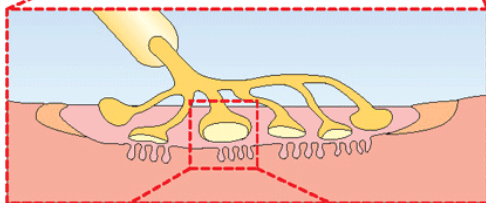
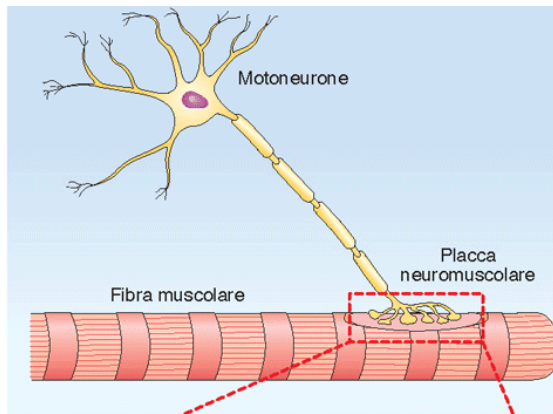
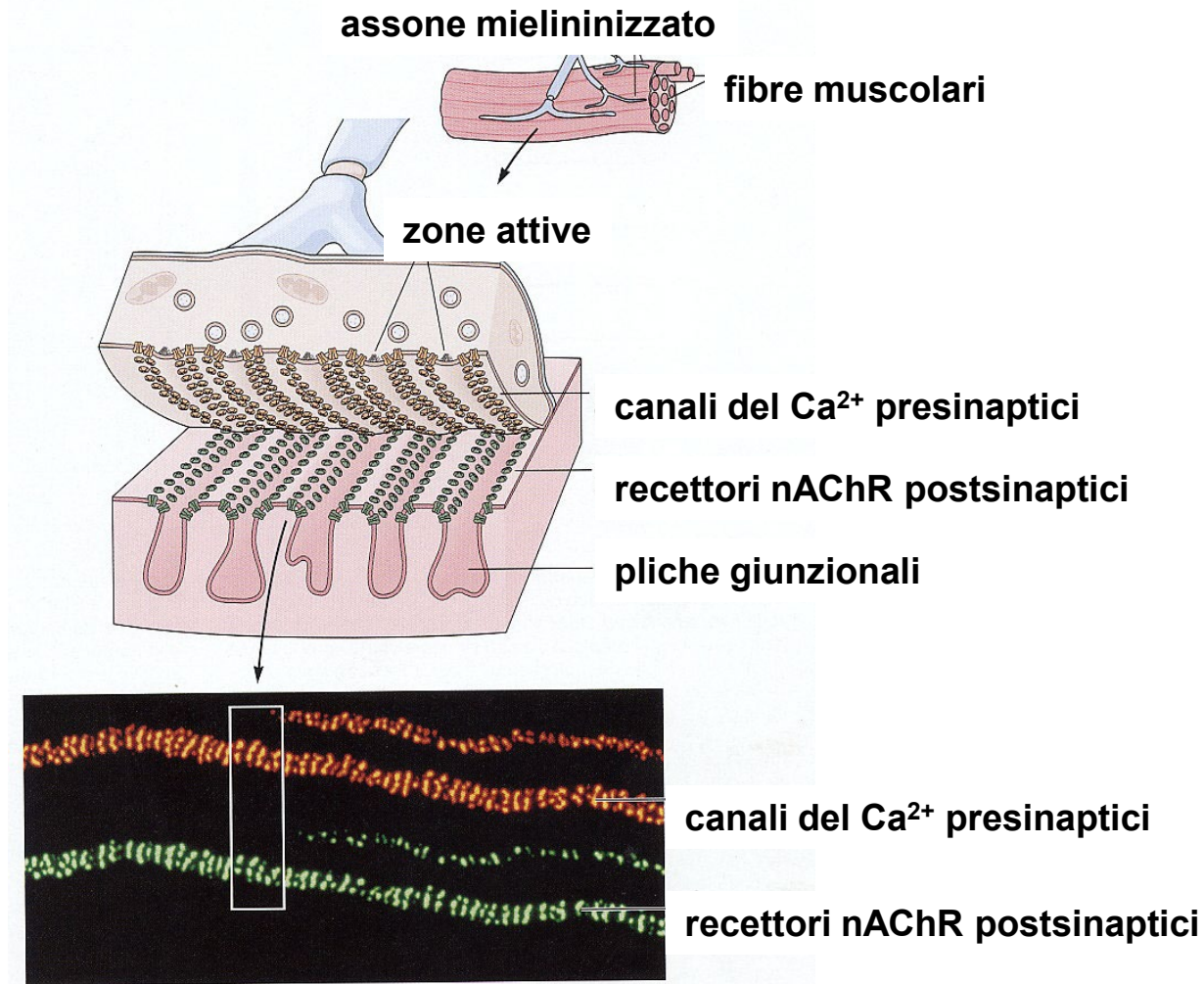


2.2 ESEMPIO DI SINAPSI CHIMICA: LA GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE

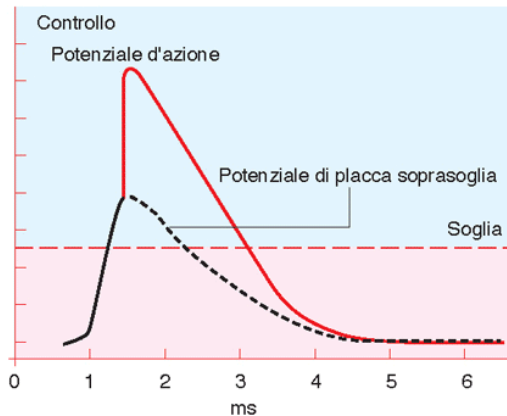


I canali Cav2.1, Cav2.2 sono localizzati nelle zone attive presinaptiche, allineati ai gruppi di recettori nAChR localizzati sulla membrana postsinaptica



IL POTENZIALE DI PLACCA

- Il potenziale di placca è il potenziale postsinaptico generato nella placca motrice
- Quando il motoneurone (presinaptico) genera un potenziale d'azione, questo si propaga fino al terminale assonico e nella cellula muscolare (postsinaptica) viene generato un **potenziale di placca** (EPP, end-plate potential).
- L'ampiezza di questo segnale postsinaptico è tale da depolarizzare la membrana fino alla soglia del potenziale d'azione.



EPP è segnale **sopra soglia** (ha un'ampiezza elevata, 40 mV): causa sempre l'insorgenza di un PA sulla fibra muscolare.

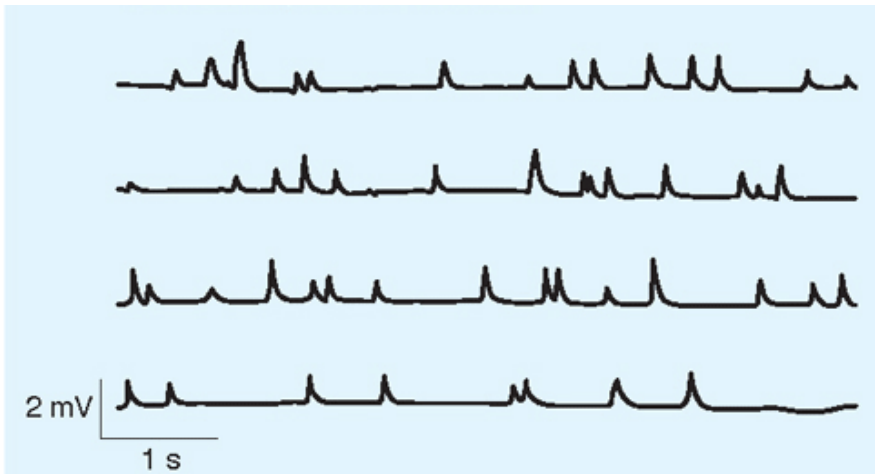
È un segnale eccitatorio, causato da un flusso di corrente positiva entrante.



L' EPP è causata da un aumento della concentrazione di **ACh** nella fessura sinaptica che si lega ai recettori nicotinici.

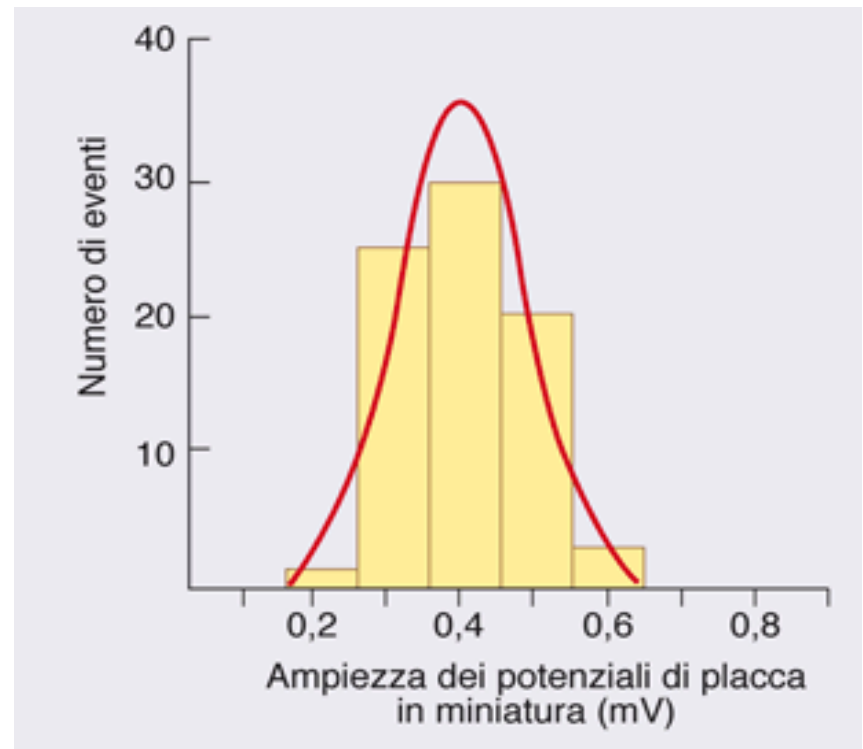
Utilizzando il **curaro** (antagonista recettore nicotinico ACh), EPP si riduce ad un segnale sottosoglia.

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



- rispetto ai potenziali di placca, i mepp hanno ampiezza inferiore ($<1\text{mV}$), ma stessa farmacologia: sono bloccati dal curaro

- anche **in assenza di stimolazione** presinaptica, sulla membrana postsinaptica (cellula muscolare) si registrano **depoarizzazioni spontanee** del potenziale di membrana (potenziali di placca in miniatura, **mepp**).



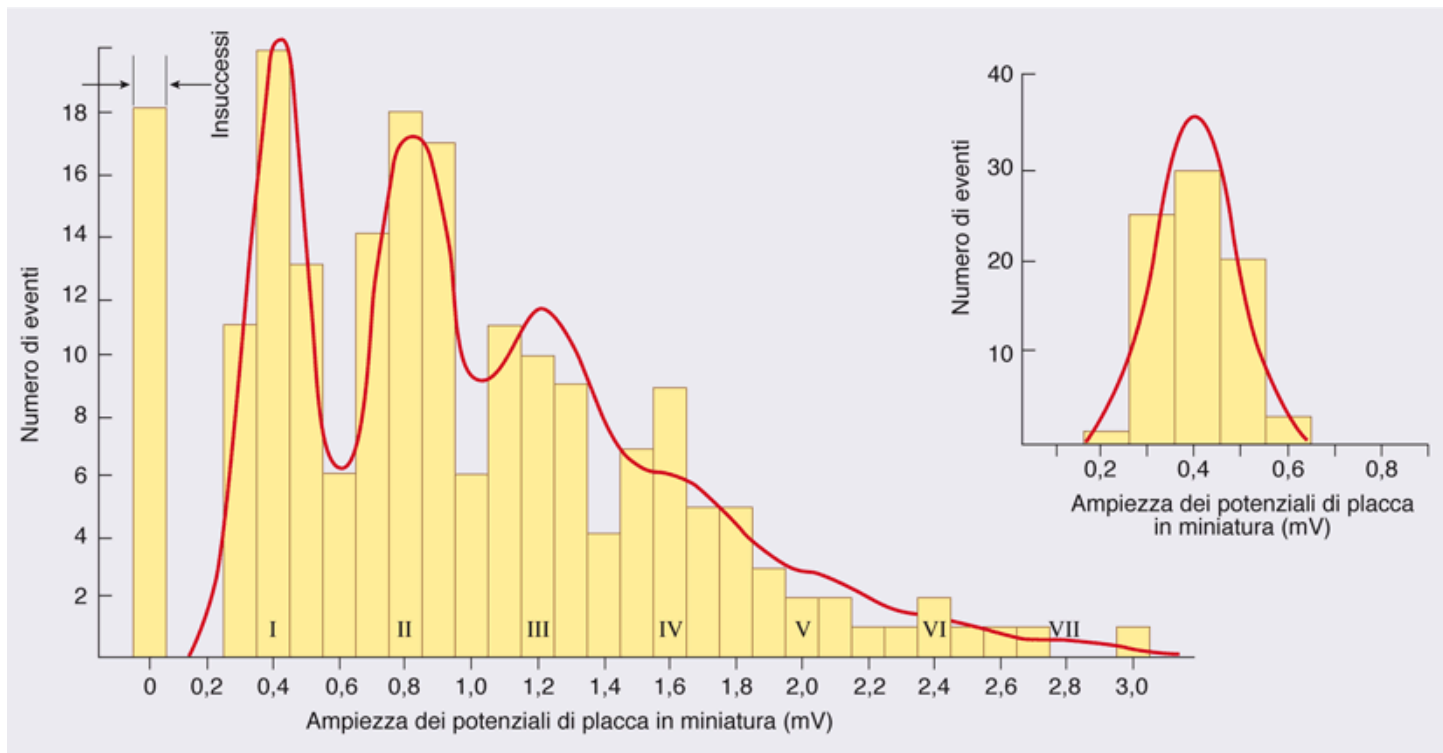


Figura 4.13 Distribuzione delle ampiezze dei potenziali postsinaptici. L'istogramma mostra le ampiezze dei potenziali postsinaptici misurati in una sinapsi neuromuscolare. Si noti che i picchi delle ampiezze (0,4, 0,8, 1,2, ...) corrispondono a multipli interi dell'ampiezza media dei potenziali in miniatura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

- Stimolando il motoneurone e riducendo $[Ca]_e$, i potenziali di placca (risposta postsinaptica) si riducono in ampiezza: la distribuzione delle loro ampiezze mostra fluttuazioni. Gli eventi postsinaptici più piccoli corrispondono ai mepp.
- I picchi di queste fluttuazioni sono in corrispondenza dei multipli dell'ampiezza dei mepp (0.2 mV).
- Con la microscopia elettronica si osservarono vescicole presinaptiche

- queste osservazioni sperimentali portarono alla formulazione della

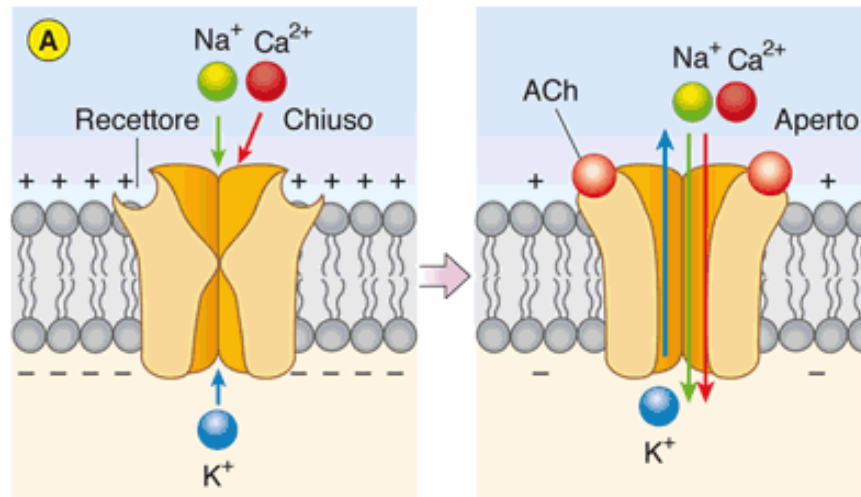
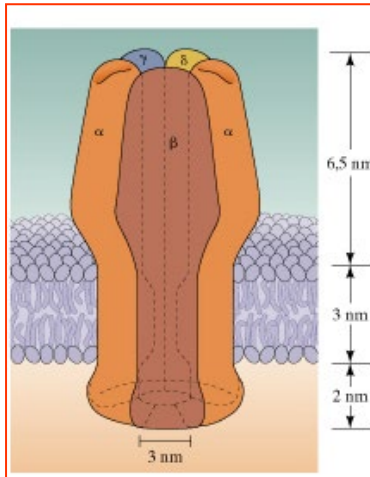
TEORIA DEL RILASCIO QUANTALE:

- Del Castillo, Miledi e Katz formularono l'ipotesi l'ACh fosse rilasciata per mezzo di pacchetti (quanti)
- ogni «quanto» rilasciato dal terminale presinaptico genera un potenziale di placca in miniatura (**miniature end-plate potential, mepp**) a livello postsinaptico.
- i **mepp** quindi sono piccole depolarizzazioni associate al rilascio di un **quanto**, ovvero al contenuto di una **vescicola presinaptica** (10.000-40.000 molecole di ACh).
- Il potenziale di placca (EPP) è una depolarizzazione associata al rilascio sincrono di centinaia di vescicole di ACh
- L'ampiezza del potenziale di placca è tale da permettere il raggiungimento della soglia di eccitabilità.

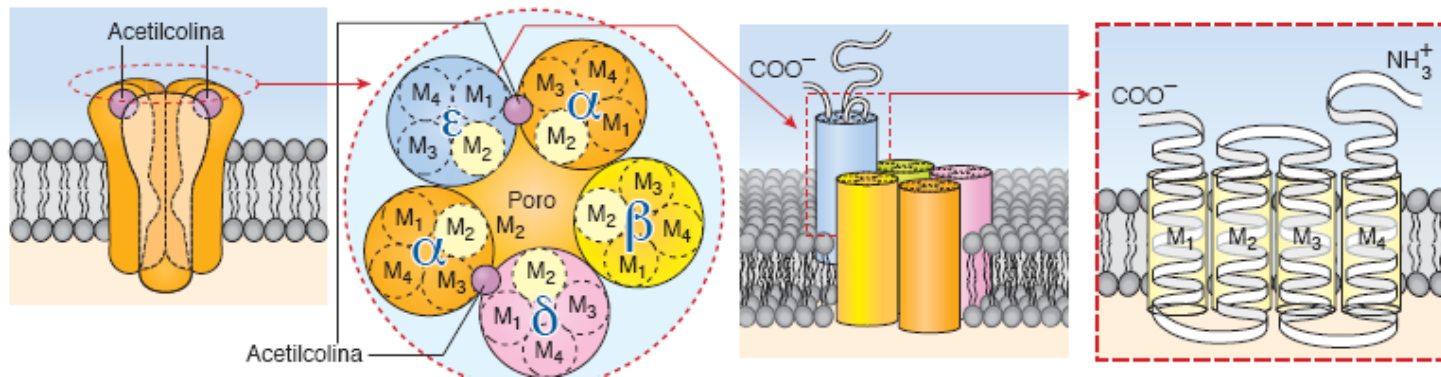
Recettore nicotino dell'acetilcolina (AChR)

Il recettore nicotino è il recettore postsinaptico dell'ACh nella giunzione neuromuscolare

Struttura del recettore nicotino



- costituito da **5 subunità**
- è un recettore ionotropo attivato da **2 molecole di ACh**
- permeabile ad una corrente aspecifica **Na^+ , K^+ , Ca^{2+}**
- bloccato da:
 - d-tubocurarina** (alcaloide del curaro)
 - α -bungarotossina** (tossina peptidica presente nel veleno di alcuni serpenti)
 - α -conotossina** (tossina peptidica presente in molluschi marini)
- bloccando il recettore nicotino, impediscono l'attivazione del muscolo, causando paralisi flaccida



- I recettori nicotinici dell'acetilcolina (nAChR) sono canali ionici formati da cinque subunità disposte intorno a un poro centrale.
- ciascuna subunità è formata da 4 STM (M_1 - M_4)
- Nel muscolo (adulto): 2α , β , ϵ , δ ; fetale: 2α , β , γ , δ
- Nel neurone: due subunità (α , β) , $3\alpha:2\beta$



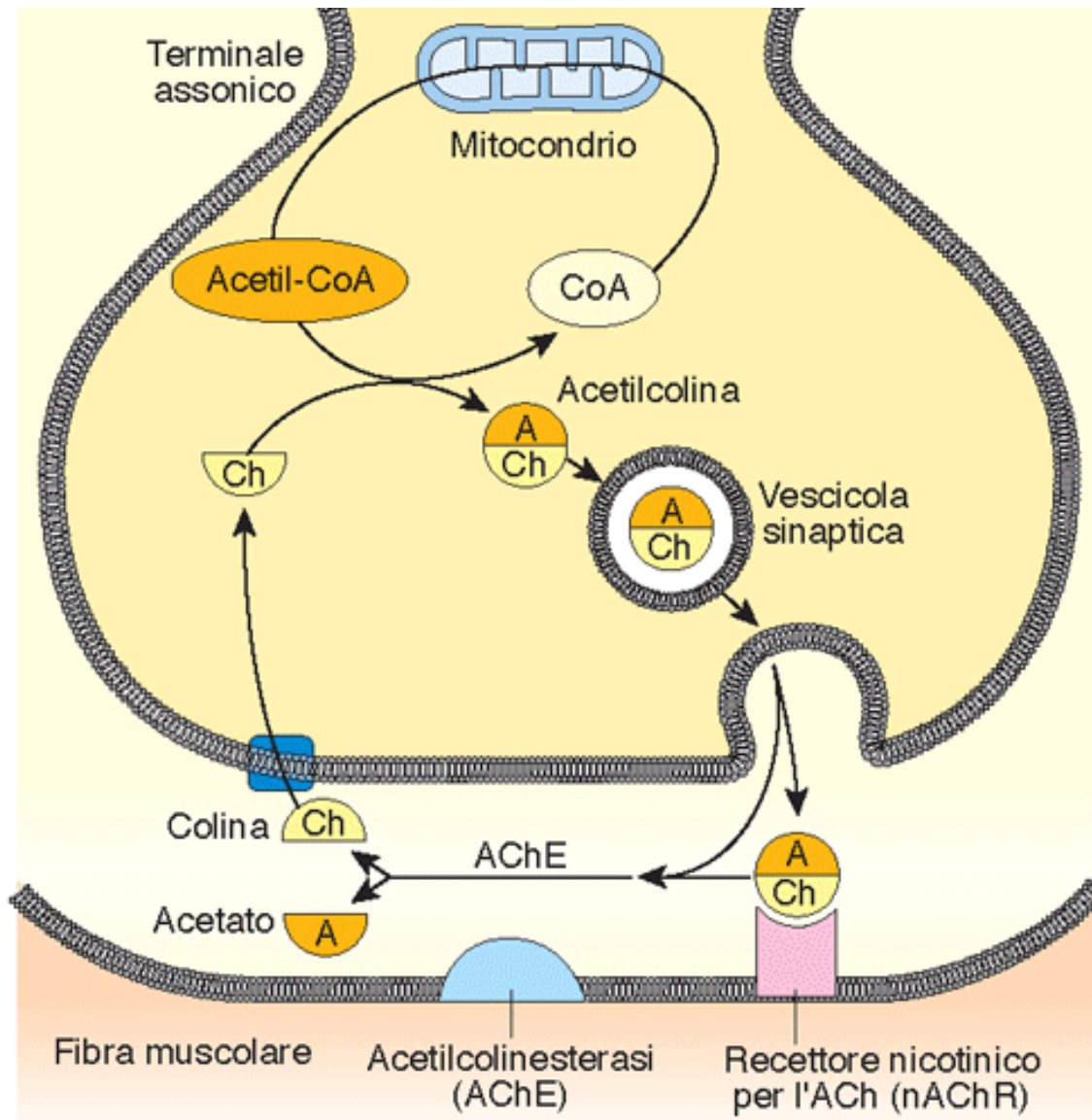
Bungarus multicinctus: Il suo veleno contiene la α -bungarotossina che blocca con alta affinità l'nAChR



- **Conus geographus:** il suo 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)

Chondrodendron tomentosum, una delle piante da cui si ricava il curaro.



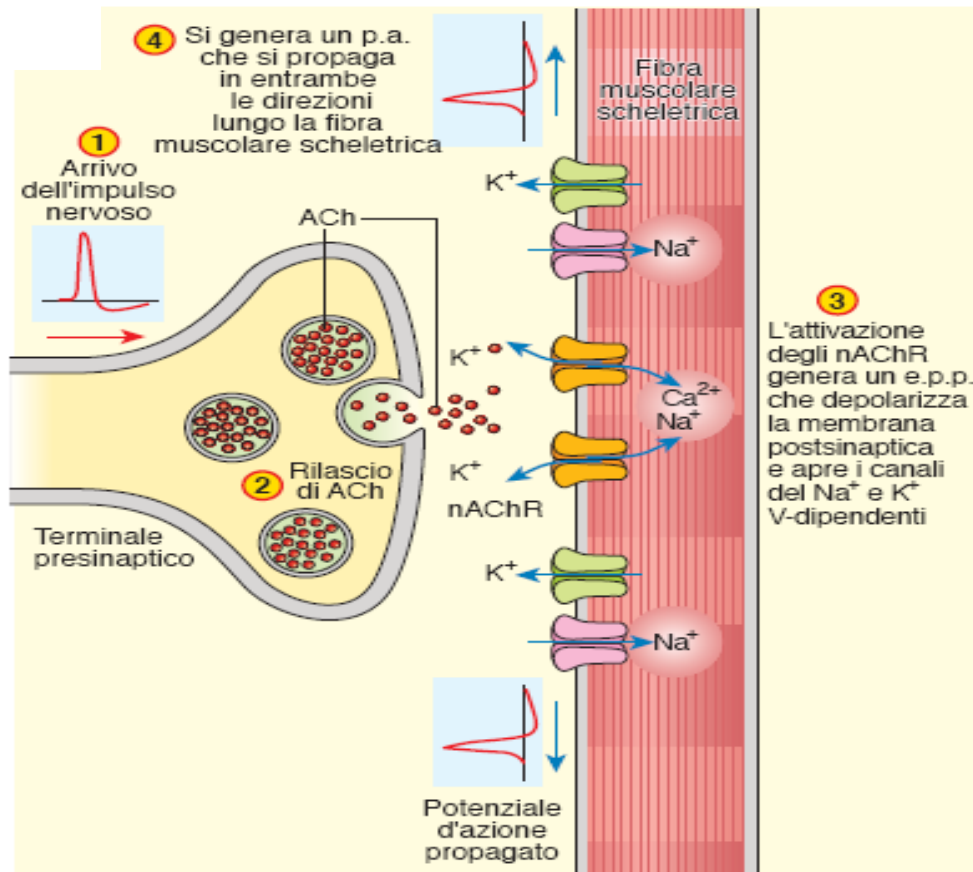


ACh è rilasciata da neuroni periferici e centrali; sintetizzata nel terminale assonico dall'enzima **Acetilcolina-transferasi**.

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 .

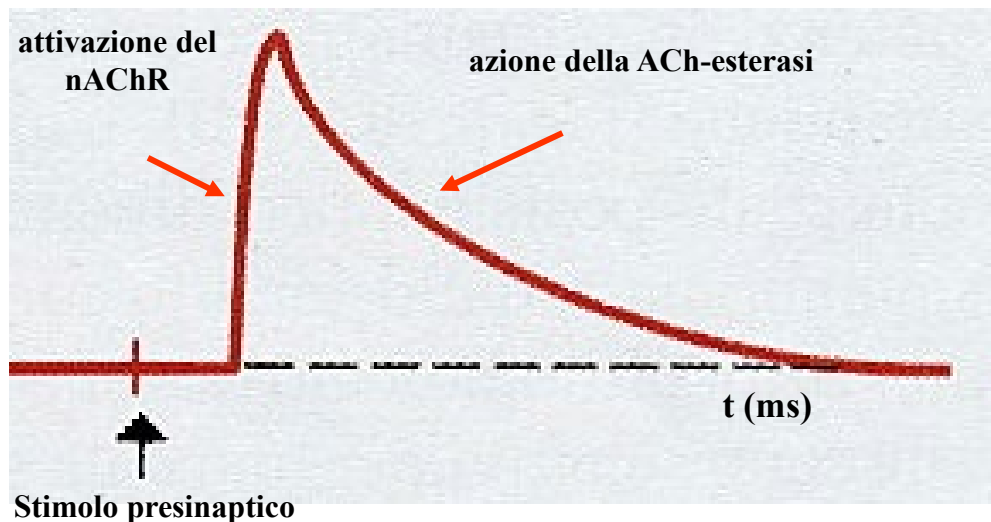
Funzione del nAChR muscolare



- **rilascio di ACh** dalla terminazione del motoneurone
- **legame dell'ACh** con nAChR (cellula muscolare)
- **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
- **genesì e propagazione** del p. d'azione lungo la fibra muscolare

L'enzima ACh-esterasi

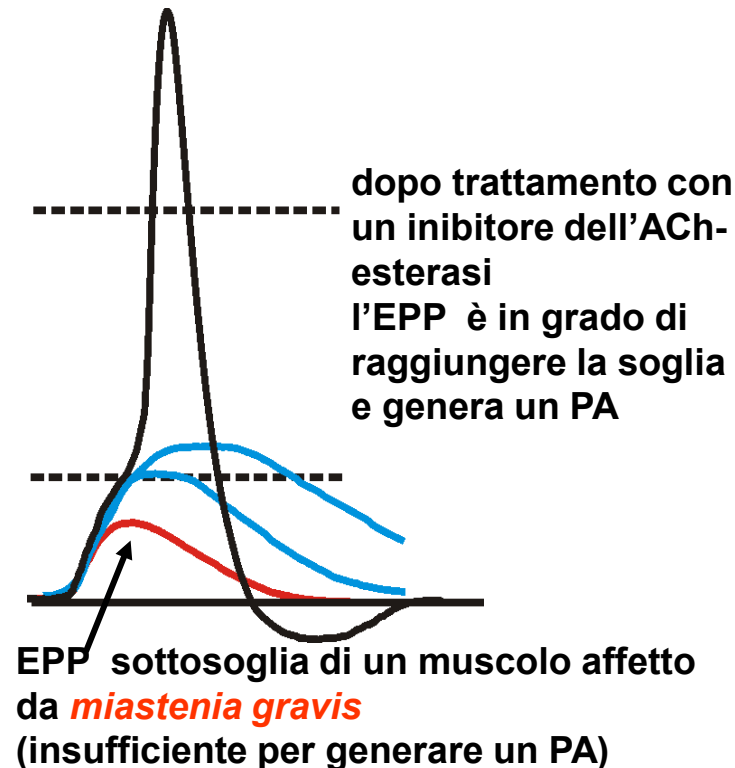
- l'**ACh-esterasi** (*acetilcolinesterasi*) è presente sulla membrana post-sinaptica
- idrolizza l'ACh in **acetato + colina**
- è responsabile della fase decrescente del p. di placca
- inibitori dell'ACh-esterasi potenziano l'attività della sinapsi



Inibitori dell'ACh-esterasi

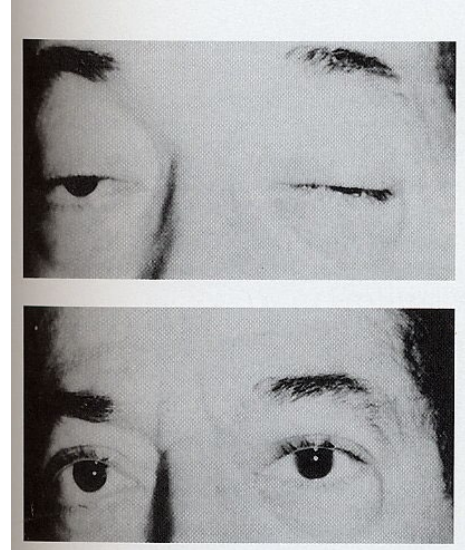
- sono molecole usate in terapia che bloccano l'enzima che degrada l'ACh in colina + acetato
- aumentano i livelli di ACh a livello postsinaptico
- il potenziale di placca decade meno velocemente ed aumenta di ampiezza,
- si generano più facilmente PA che fanno contrarre il m. scheletrico e permettono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

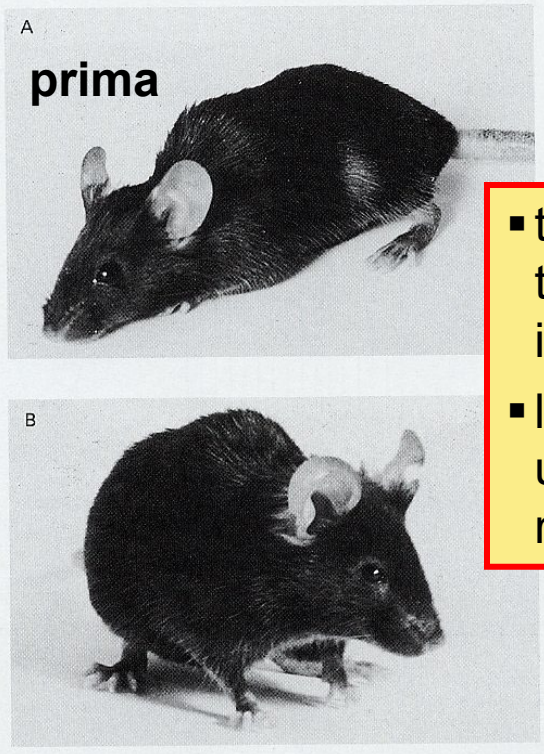


Miastenia gravis

- 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

Impiego degli anticolinesterasici nella terapia della miastenia grave

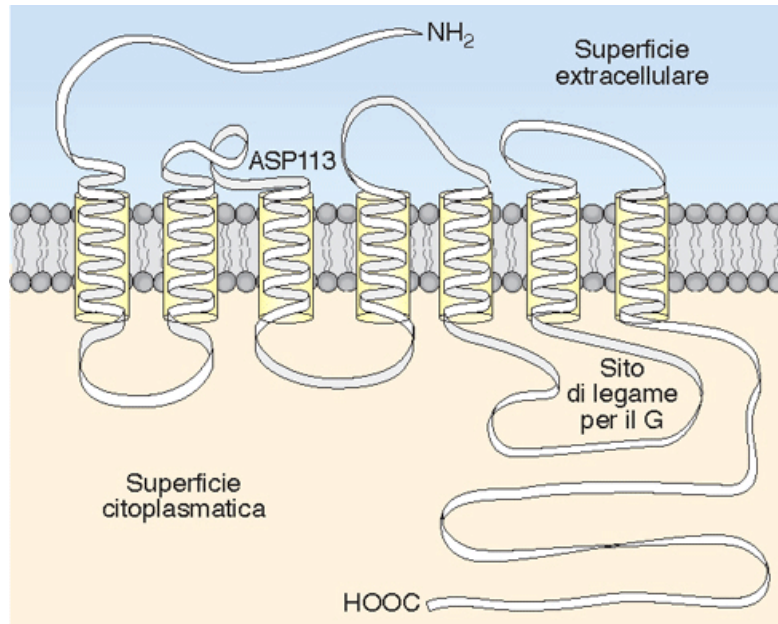
La miastenia grave è una malattia caratterizzata da debolezza e affaticabilità muscolare. Colpisce una persona su 10.000. È una malattia autoimmune caratterizzata dalla presenza di autoanticorpi che riconoscono il nAChR di tipo muscolare. Le ragioni che inducono il sistema immunitario del paziente miastenico a produrre anticorpi che riconoscono il recettore-canale come "estraneo" (*non-self*) rimangono ancora in larga parte sconosciuti. La produzione di autoanticorpi e la reazione autoimmune che ne consegue causano una diminuzione del numero di nAChR nella regione di placca. Molto probabilmente, i recettori riconosciuti dall'autoanticorpo vengono internalizzati e distrutti dalla fibra muscolare scheletrica stessa. Il risultato è un calo dell'eccitabilità della membrana postsinaptica anche se la quantità di ACh secreta dal motoneurone rimane normale.

La miastenia grave può presentarsi in due forme. La **forma oculare pura** è la meno grave. Essa si manifesta come circoscritta ai muscoli scheletrici extraoculari, stato che si associa a una visione sdoppiata (diplopia) e/o a un abbassamento anomalo della palpebra superiore (ptosi) e strabismo. La **forma generalizzata** colpisce l'intera muscolatura scheletrica compresi i muscoli respi-

ratori e rappresenta il quadro clinico più grave. La miastenia grave generalizzata è potenzialmente letale poiché può condurre a blocco respiratorio. Tuttavia, l'eventualità che la patologia possa risultare fatale è oggi rara soprattutto se la malattia viene diagnosticata precocemente e se il paziente miastenico viene sottoposto a un adeguato trattamento terapeutico.

La terapia farmacologica rappresenta un aspetto molto importante del trattamento terapeutico della miastenia. Sebbene non sia sempre risolutiva (soprattutto nella forma generalizzata), con essa si ottiene un buon controllo della sintomatologia. Accanto a farmaci immunosoppressori, vengono impiegati anche inibitori dell'acetilcolina esterasi (**fisostigmina, rivastigmina, edrofonio, galantamina, tacrina, donepezil**). Essi compensano la riduzione del numero dei canali acetilcolinici prolungando la permanenza dell'ACh ad alte concentrazioni nella fessura sinaptica. Ne risulta un potenziale di placca capace di raggiungere la soglia di attivazione del potenziale d'azione postsinaptico e permettere la contrazione del muscolo scheletrico, altrimenti compromessa dal ridotto numero di recettori nAChR funzionanti.

Recettore muscarinico dell'acetilcolina (mAChR)



Il recettore muscarinico dell'ACh è un recettore metabotropo, accoppiato a proteine G e formato da una sola subunità composta da **7 segmenti** di catena polipeptidica transmembranari.

Agonista: muscarina (alcaloide naturale di origine vegetale)

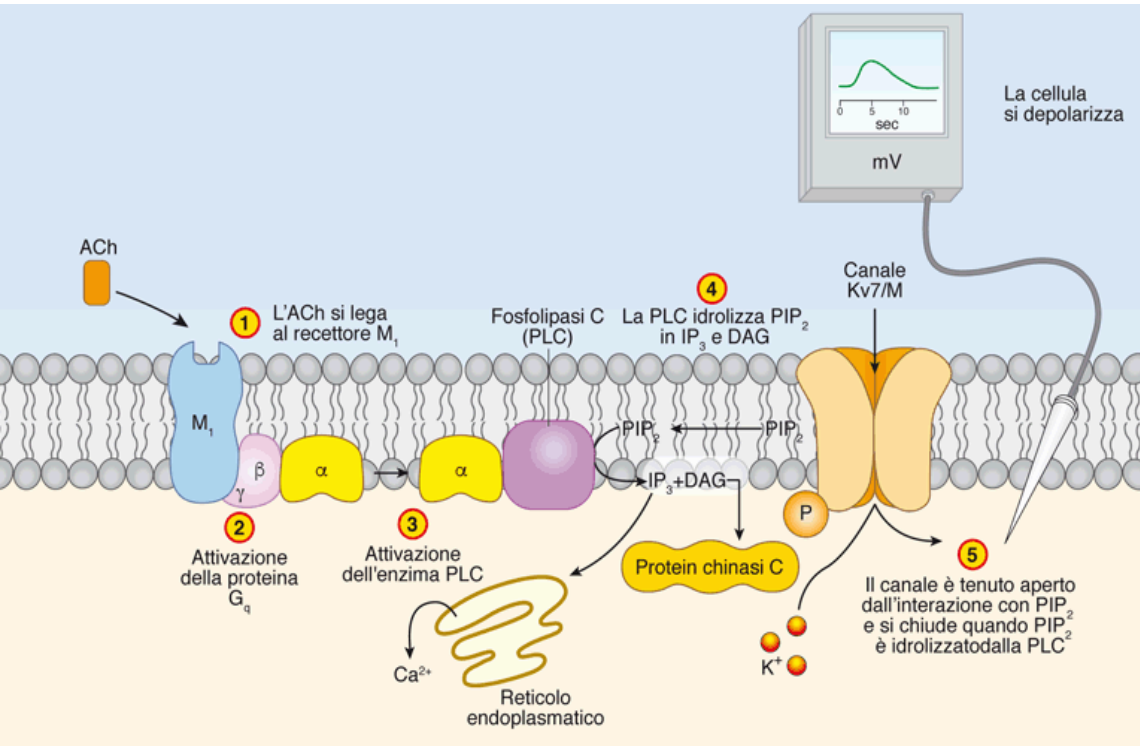
Il sito di legame per la proteina G: III loop intracellulare.

I recettori muscarinici sono di 5 tipi diversi (m₁,...m₅)

m₁,m₃,m₅ (attivazione PLC, tramite Gq)

m₂,m₄ (inibizione AC, tramite Gi/Go) e regolazione diretta di canali (K atriale)

RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACh: azione eccitatoria



RECETTORE MUSCARINICO DELL'ACh: azione inibitoria

