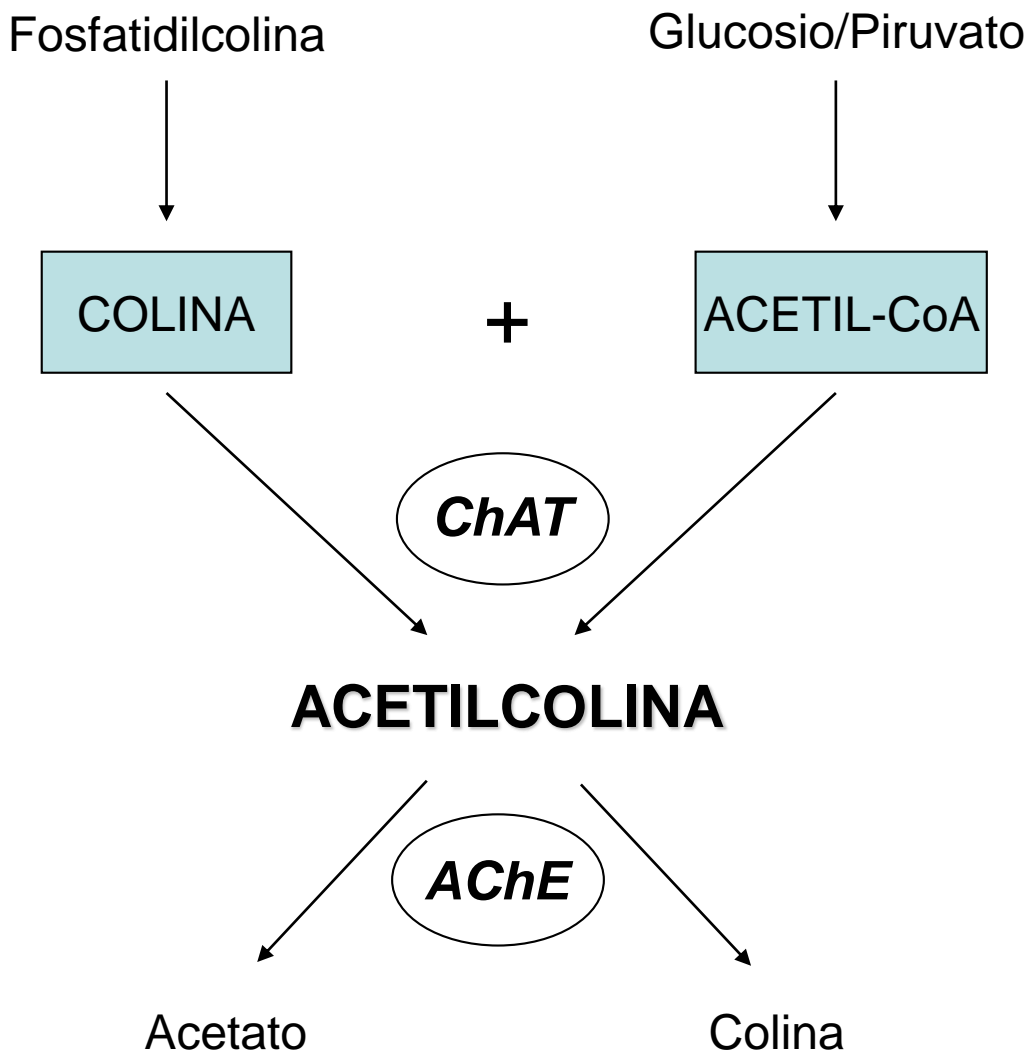


TRASMISSIONE COLINERGICA

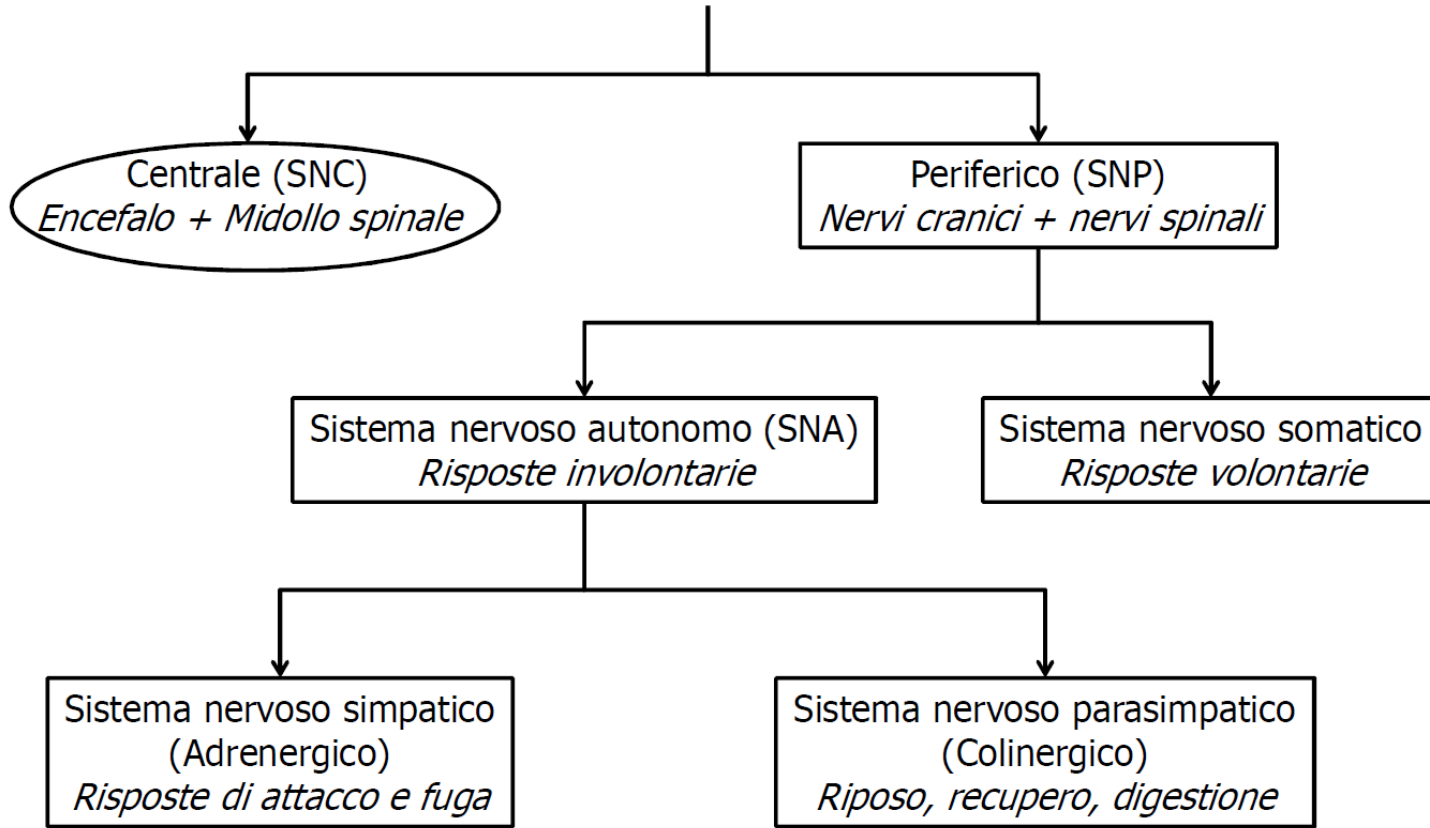


ChAT=Colina-acetil trasferasi

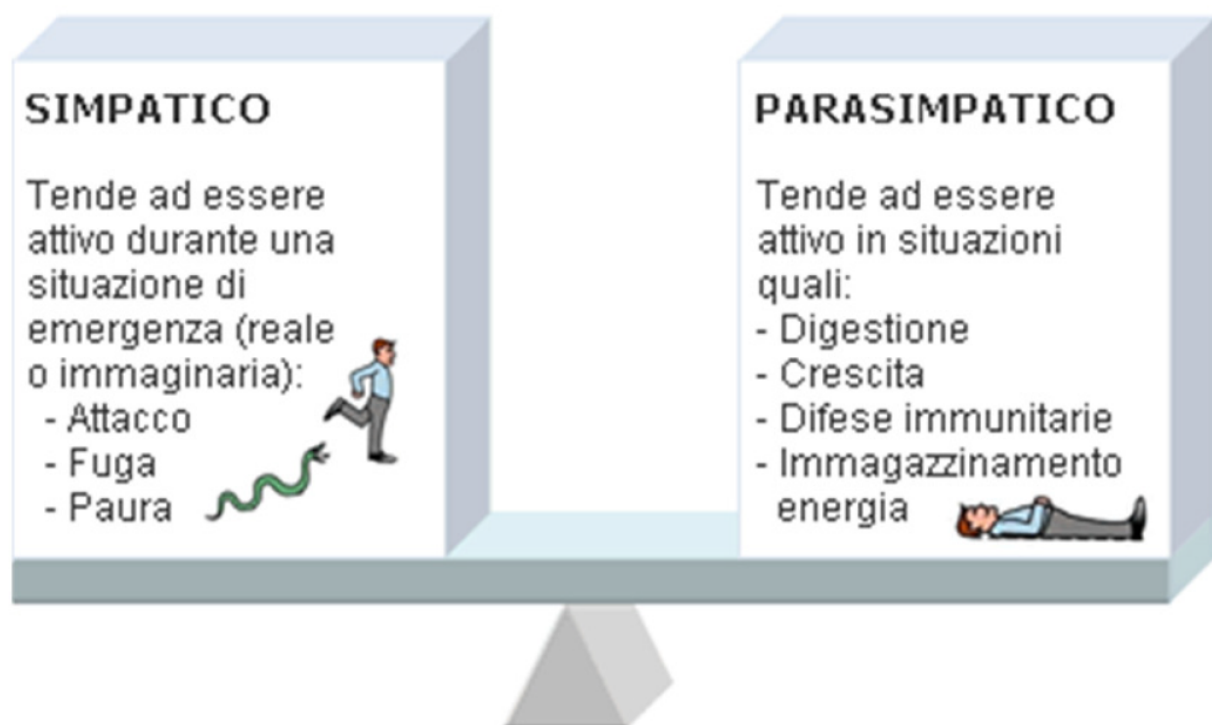
AChE=Acetilcolina esterasi

Nel cervello: [ACh] ~ 5-70 nmol/g

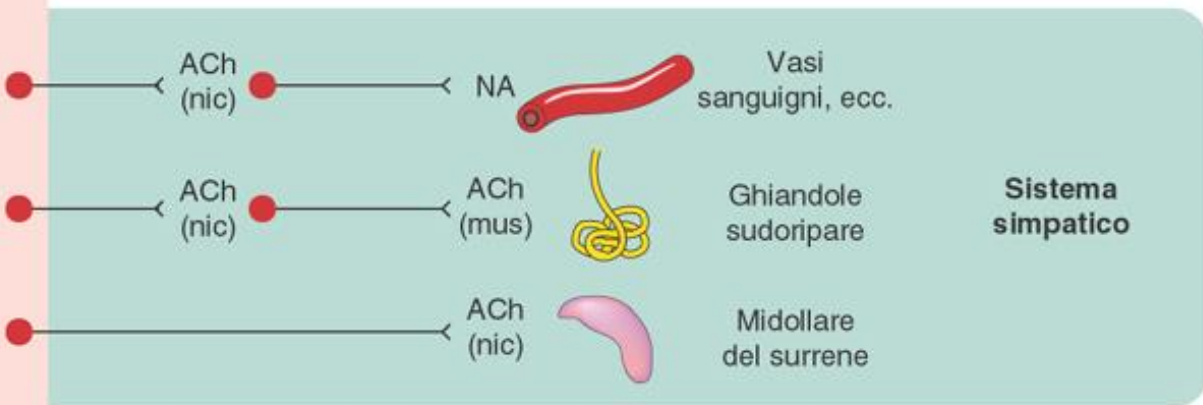
Sistema nervoso



Equilibrio adrenergico/colinergico



SISTEMA NERVOSO CENTRALE



Trasmissione colinergica nel sistema nervoso periferico

1) **Fibre parasimpatiche** —⟨ ACh → cellule effettrici →

→ {
ghiandolari ⊕ ⇒ ↑ secrezione salivare
pace-maker cardiache ⊖ ⇒ bradicardia
muscolari lisce ⊕ ⇒ ↑ tono e motilità intestinale

2) **Fibre (anatomicamente) simpatiche** —⟨ ACh → ghiandole sudoripare

3) **Fibre pregangliari** —⟨ ACh → nAChR (fibre postgangliari) —⟨ ACh o NA

4) **Fibre simpatiche** —⟨ ACh → Midollare del surrene (↑ secrez. CA)
(*nervo splanchnico*)

5) **Motoneuroni spinali** —⟨ ACh → Cellule muscolari striate (contrazione)
Placca neuromuscolare

6) ACh → Cellule endoteliali ⇒ ↑ NO ⇒ VD

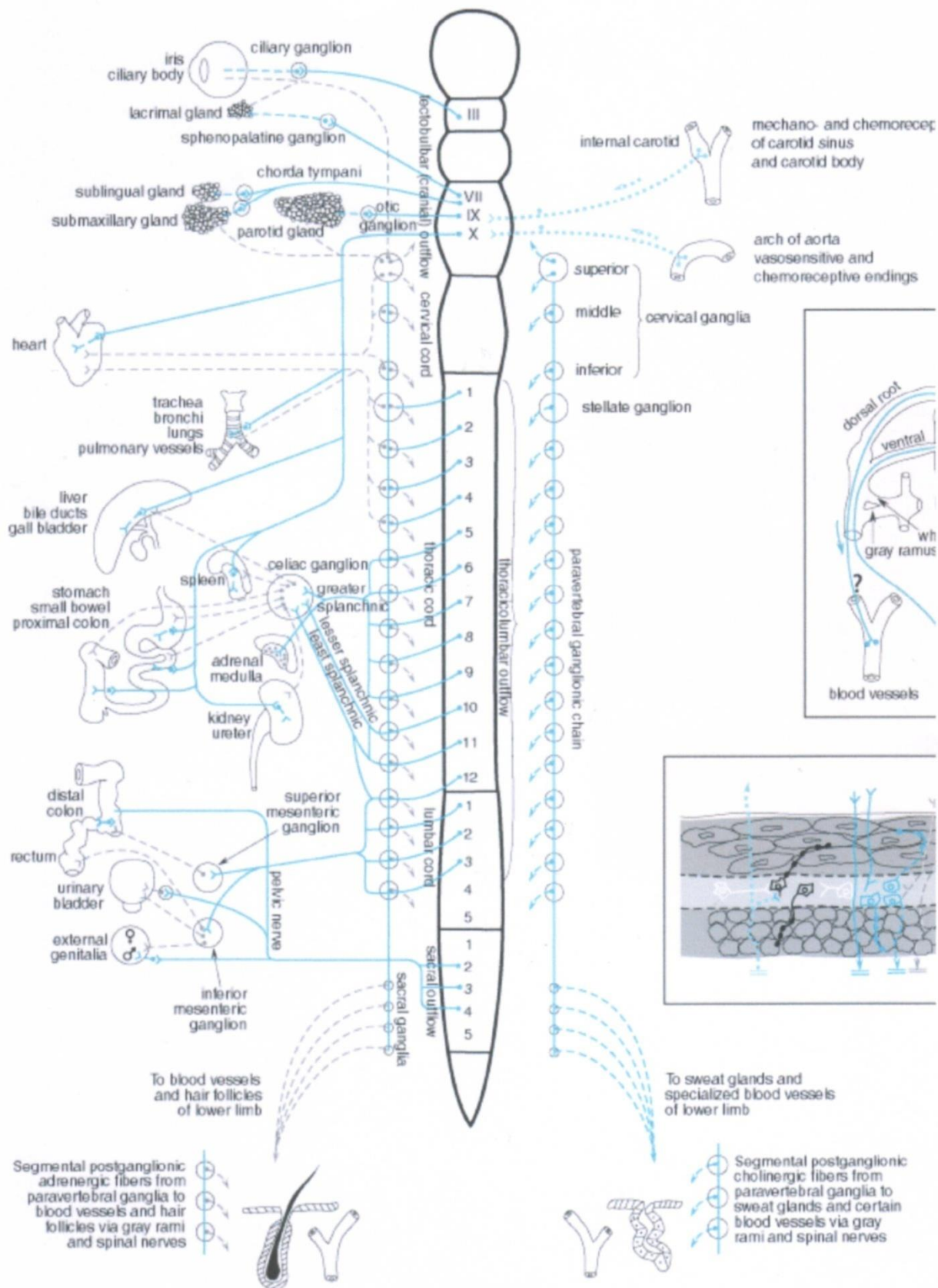
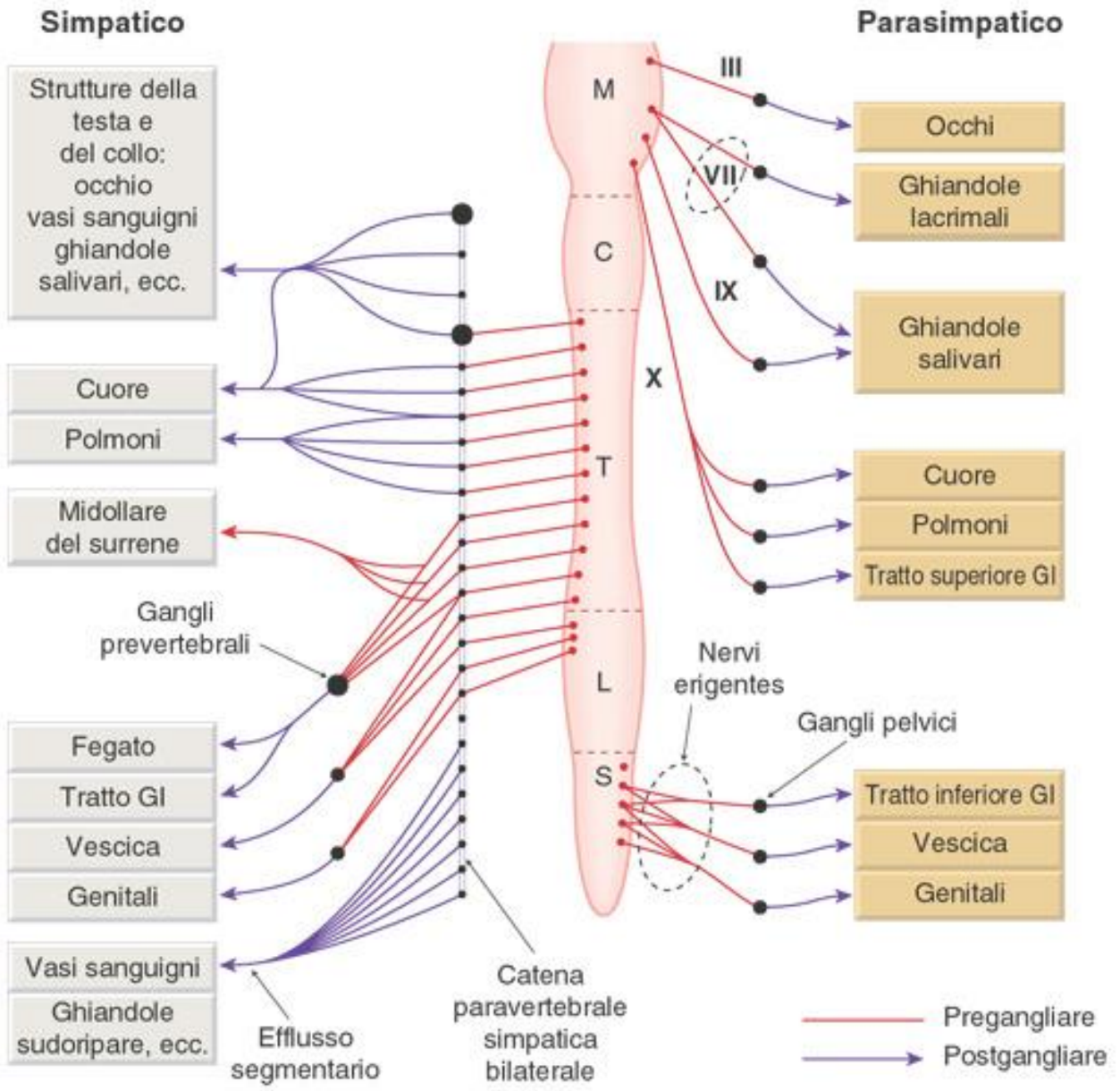


Figure 6-1. The autonomic nervous system.

Schematic representation of the autonomic nerves and effector organs based on chemical mediation of nerve impulses. Blue, cholinergic; gray, adrenergic; dotted blue, visceral afferent; solid lines, preganglionic; broken lines, postganglionic. In the upper rectangle at the right are



Simpatico

Parasimpatico

Strutture della testa e del collo: occhio, vasi sanguigni, ghiandole salivari, ecc.

Cuore

Polmoni

Midollare del surrene

Fegato

Tratto GI

Vescica

Genitali

Vasi sanguigni

Ghiandole sudoripare, ecc.

Occhi

Ghiandole lacrimali

Ghiandole salivari

Cuore

Polmoni

Tratto superiore GI

Tratto inferiore GI

Vescica

Genitali

M

C

X

T

L

S

III

VII

IX

Nervi erigentes

Gangli pelvici

Catena paravertebrale simpatica bilaterale

Efflusso segmentario

— Pregangliare

— Postgangliare

Table 9-3

Usual Predominance of Sympathetic (Adrenergic) or Parasympathetic (Cholinergic) Tone at Various Effector Sites, with Consequent Effects of Autonomic Ganglionic Blockade

SITE	PREDOMINANT TONE	EFFECT OF GANGLIONIC BLOCKADE
Arterioles	Sympathetic (adrenergic)	Vasodilation; increased peripheral blood flow; hypotension
Veins	Sympathetic (adrenergic)	Dilation; peripheral pooling of blood; decreased venous return; decreased cardiac output
Heart	Parasympathetic (cholinergic)	Tachycardia
Iris	Parasympathetic (cholinergic)	Mydriasis
Ciliary muscle	Parasympathetic (cholinergic)	Cycloplegia—focus to far vision
Gastrointestinal tract	Parasympathetic (cholinergic)	Reduced tone and motility; constipation; decreased gastric and pancreatic secretions
Urinary bladder	Parasympathetic (cholinergic)	Urinary retention
Salivary glands	Parasympathetic (cholinergic)	Xerostomia
Sweat glands	Sympathetic (cholinergic)	Anhidrosis

Table 6-1. Responses of Effector Organs to Autonomic Nerve Impulses

ORGAN SYSTEM	SYMPATHETIC EFFECT	ADRENERGIC RECEPTOR TYPE	PARASYMPATHETIC EFFECT	CHOLINERGIC RECEPTOR TYPE
Eye				
Radial muscle, iris	Contraction (mydriasis)++	α_1		
Sphincter muscle, iris			Contraction (miosis)+++	M_3, M_2
Ciliary muscle	Relaxation for far vision ⁺	β_2	Contraction for near vision+++	M_3, M_2
Lacrimal glands	Secretion+	α	Secretion+++	M_3, M_2
Heart^c				
Sinoatrial node	↑ in heart rate++	$\beta_1 > \beta_2$	Decrease in heart rate+++	$M_2 \gg M_3$
Atria	↑ in contractility and conduction velocity++	$\beta_1 > \beta_2$	Decrease in contractility++ and shortened AP duration	$M_2 \gg M_3$
Atrioventricular node	↑ in automaticity and conduction velocity++	$\beta_1 > \beta_2$	Decrease in conduction velocity; AV block+++	$M_2 \gg M_3$
His-Purkinje system	↑ in automaticity and conduction velocity	$\beta_1 > \beta_2$	Little effect	$M_2 \gg M_3$
Ventricle	↑ in contractility, conduction velocity, automaticity and rate of idioventricular pacemakers+++	$\beta_1 > \beta_2$	Slight decrease in contractility	$M_2 \gg M_3$
Blood vessels				
(Arteries and arterioles) ^d				
Coronary	Constriction+; dilation ^e ++	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_2$	No innervation ^h	—
Skin and mucosa	Constriction+++	α_1, α_2	No innervation ^h	—
Skeletal muscle	Constriction; dilation ^{ef} ++	$\alpha_1; \beta_2$	Dilation ^h (?)	—
Cerebral	Constriction (slight)	α_1	No innervation ^h	—
Pulmonary	Constriction+; dilation	$\alpha_1; \beta_2$	No innervation ^h	—
Abdominal viscera	Constriction +++; dilation +	$\alpha_1; \beta_2$	No innervation ^h	—
Salivary glands	Constriction+++	α_1, α_2	Dilation ^h ++	M_3
Renal	Constriction++; dilation++	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_1, \beta_2$	No innervation ^h	
(Veins) ^d	Constriction; dilation	$\alpha_1, \alpha_2; \beta_2$		
Endothelium			Activation of NO synthase ^h	M_3

Lung

Tracheal and bronchial smooth muscle	Relaxation	β_2	Contraction	$M_2 = M_3$
Bronchial glands	Decreased secretion, increased secretion	α_1	Stimulation	M_3, M_2
		β_2		

Stomach

Motility and tone	Decrease (usually) $i +$	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$	Increase $i + + +$	$M_2 = M_3$
Sphincters	Contraction (usually)+	α_1	Relaxation (usually)+	M_3, M_2
Secretion	Inhibition	α_2	Stimulation++	M_3, M_2

Intestine

Motility and tone	Decrease $h +$	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$	Increase $i + + +$	M_3, M_2
Sphincters	Contraction+	α_1	Relaxation (usually)+	M_3, M_2
Secretion	Inhibition	α_2	Stimulation++	M_3, M_2

Gallbladder and ducts**Kidney**

Renin secretion	Decrease+; increase++	$\alpha_1; \beta_1$	No innervation	—
-----------------	-----------------------	---------------------	----------------	---

Urinary bladder

Detrusor	Relaxation+	β_2	Contraction+++	$M_3 > M_2$
Trigone and sphincter	Contraction++	α_1	Relaxation++	$M_3 > M_2$

Ureter

Motility and tone	Increase	α_1	Increase (?)	M
-------------------	----------	------------	--------------	---

Uterus

	Pregnant contraction;	α_1		
	Relaxation	β_2	Variable j	M
	Nonpregnant relaxation	β_2		

Sex organs, male**Skin**

Pilomotor muscles	Contraction++	α_1		
Sweat glands	Localized secretion $k + +$	α_1		
	Generalized secretion+++			M_3, M_2

Spleen capsule

	Contraction+++	α_1	—	—
	Relaxation+	β_2	—	

Adrenal medulla	—			
	Secretion of epinephrine and norepinephrine			N (α_3) ₂ (β_4) ₃ ; M (secondarily)
Skeletal muscle	Increased contractility; glycogenolysis; K ⁺ uptake	β_2	—	—
Liver	Glycogenolysis and gluconeogenesis+++	α_1, β_2	—	—
Pancreas		α		
Acini	Decreased secretion ⁺	α	Secretion ⁺⁺	M ₃ , M ₂
Islets (β cells)	Decreased secretion ⁺⁺⁺	α_2	—	
	Increased secretion ⁺	β_2		
Fat cells^l	Lipolysis+++; (thermogenesis)	$\alpha_1, \beta_1, \beta_2, \beta_3$	—	—
	Inhibition of lipolysis	α_2		
Salivary glands	K ⁺ and water secretion ⁺	α_1	K ⁺ and water secretion+++	M ₃ , M ₂
Nasopharyngeal glands	—		Secretion ⁺⁺	M ₃ , M ₂
Pineal glands	Melanton synthesis	β	—	
Posterior pituitary	Antidiuretic secretion	β_1	—	
Autonomic nerve endings				
Sympathetic terminals				
Autoreceptor	Inhibition of NE release	$\alpha_{2A} > \alpha_{2C} (\alpha_{2B})$		
Heteroreceptor	—		Inhibition of NE release	M ₂ , M ₄
Parasympathetic terminal	—			
Autoreceptor			Inhibition of ACh release	M ₂ , M ₄
Heteroreceptor	Inhibition ACh release	$\alpha_{2A} > \alpha_{2C}$		

Trasmissione colinergica nel SNC

- 1) Neuroni magnocellulari colinergici del cervello anteriore (vari nuclei)
- Cx cerebrale
 - Ippocampo
 - Bulbo olfattorio
 - Amigdala

Esempi:

- Nucleo basale di Meynert
- Cx => Attenzione (soprattutto visiva)
 - Amy => Ritenzione del condizionamento affettivo

Nuclei del setto mediale —> Hip => Modulazione della memoria spaziale a breve termine

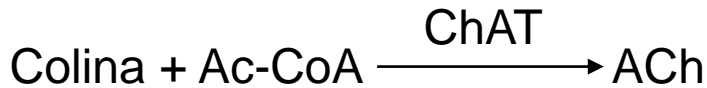
Nuclei della banda diagonale di Broca —> Cx cingolata => acquisizione e uso di regole di risposta nella discriminazione condizionata

- 2) Interneuroni colinergici del nucleo caudato e putamen => regolazione extrapiramidale dei movimenti (*in assenza di inibizione da parte della DA => iperattività colinergica => rigidità e tremori nel M. Parkinson*)

- 3) Nuclei colinergici del tronco bulbo-mesencefalico
- Talamo => Regolaz. ciclo sonno-veglia
 - Nuclei DAergici mesencefalici => attivazione comportamentale

- 4) Sist. Colinergico bulbo-mesencefalico e spinale => regolazione cardiovascolare (\uparrow ACh => \uparrow Part)

Sintesi dell'Acetilcolina



La velocità di sintesi è regolata in modo da mantenere costante la quantità di ACh nel terminale ($V_{\text{sintesi}} \sim V_{\text{liberazione}}$)

Colina acetiltrasferasi (ChAT):

- Enzima di 60-70 KDa
- Presente quasi esclusivamente nei neuroni (placenta, spermatozoi ?)
- Conc elevate nei neuroni => non è fattore limitante per la sintesi di ACh

Ormoni tiroidei }
Estrogeni } => ↑ espressione ChAT neuronale
NGF } (regolazione a lungo termine)

- La > parte della ChAT è citosolica (< legata a membrane)

*Precursore della forma
legata alle membrane* *Forma + imp dal punto
di vista fisiologico*

I precursori dell'ACh:

- Acetil-CoA: origina dal glucosio e dal piruvato
si forma nei mitocondri
- Colina: deriva dalla colina libera nel plasma e da quella dei fosfolipidi
35-50% della colina che si forma per idrolisi dell'ACh viene ricaptata
e riutilizzata per la sintesi di ACh

La disponibilità di colina è il **fattore limitante** la sintesi di ACh (La V_{max} del trasportatore della colina riflette l'attività dei neuroni colinergici)

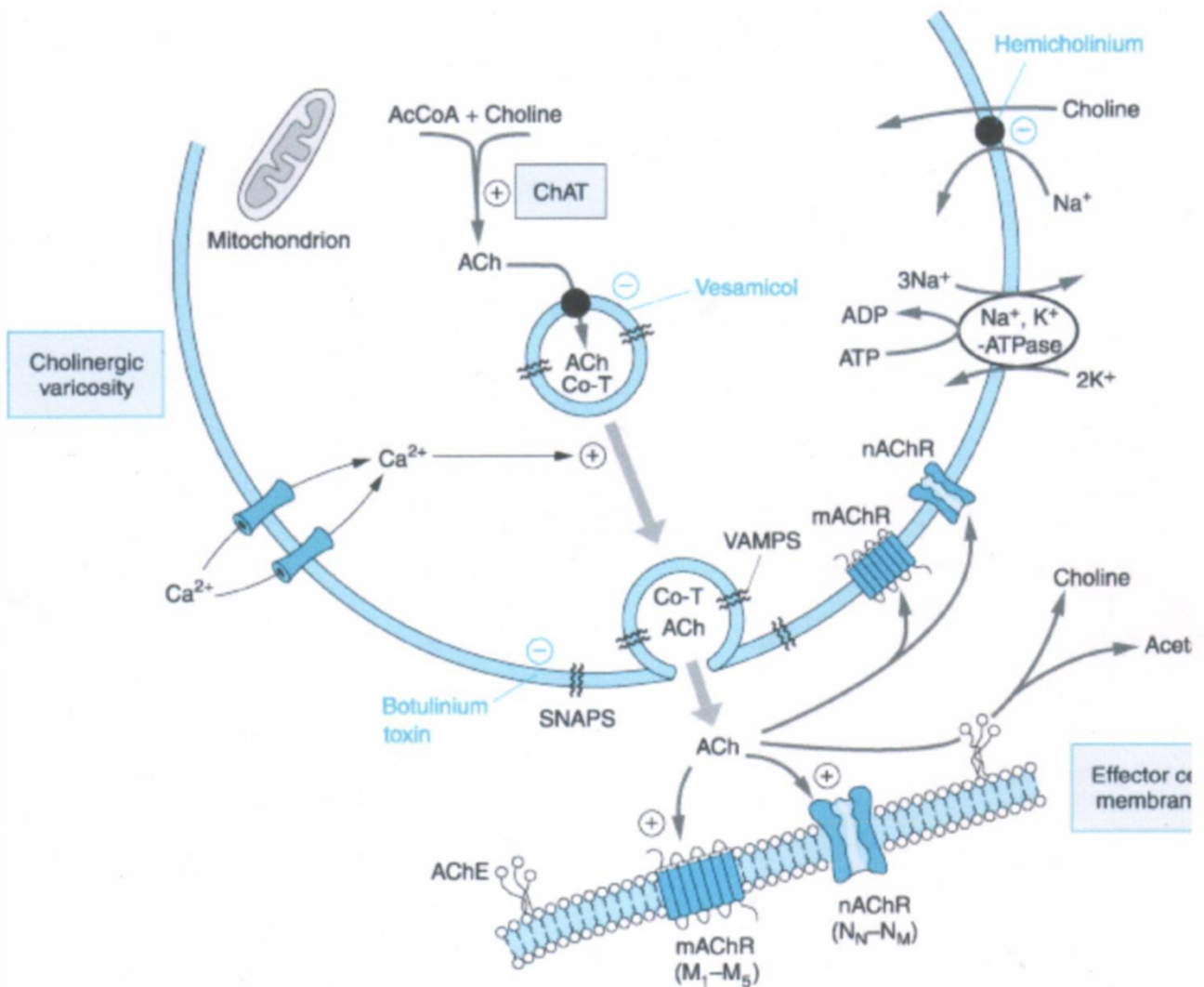
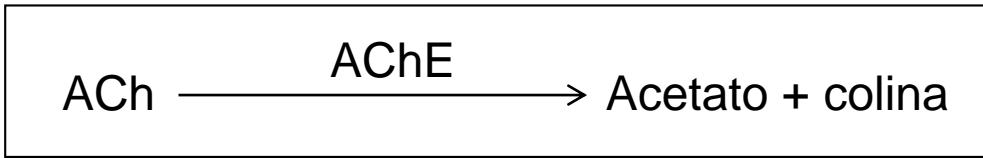


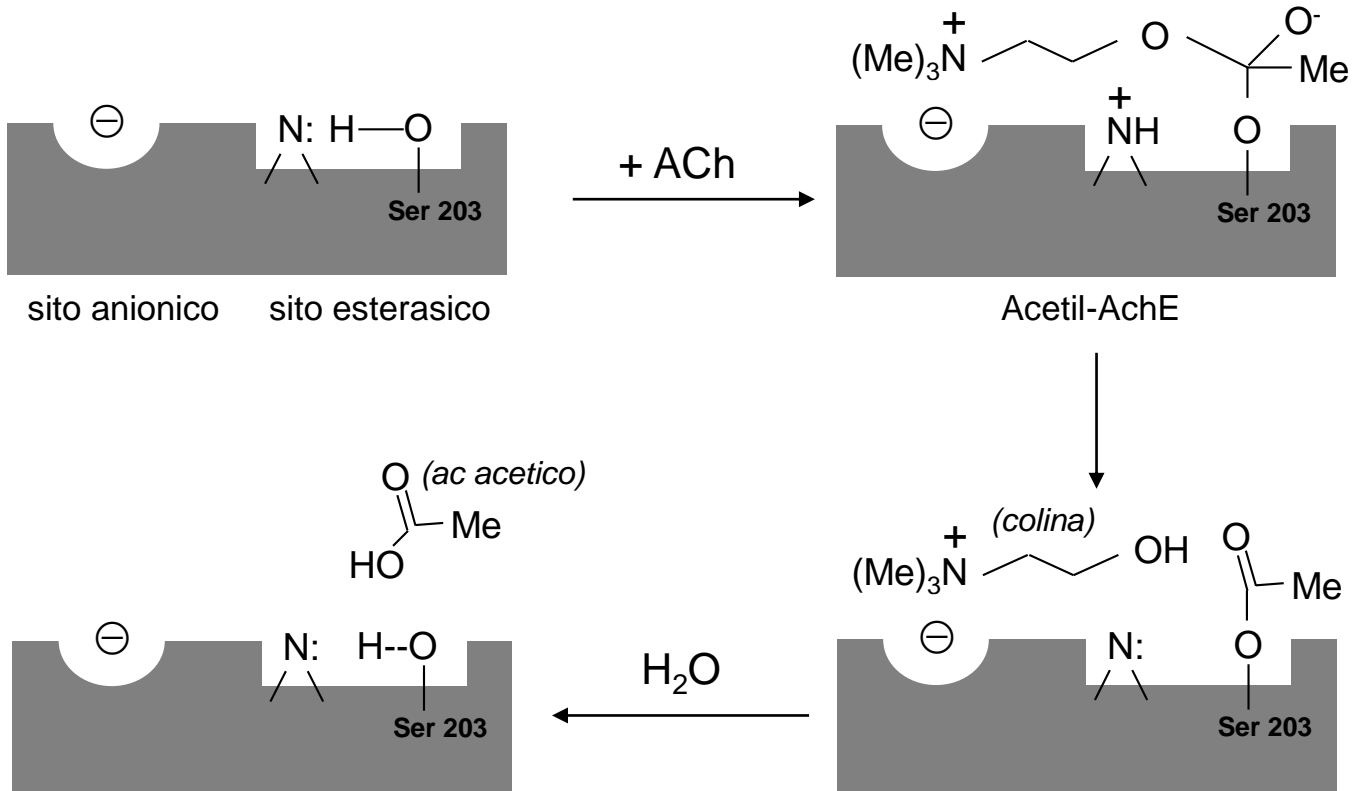
Figure 6-3. Schematic representations of a cholinergic neuroeffector junction showing features of the synthesis, storage, and release of acetylcholine (ACh) and receptors on which ACh acts.

The synthesis of ACh in the varicosity depends on the uptake of choline *via* a sodium-dependent carrier. This uptake can be blocked by *hemicholinium*. Choline and the acetyl moiety of acetyl coenzyme A, derived from mitochondria, form ACh, a process catalyzed by the enzyme choline acetyltransferase (ChAT). ACh is transported into the storage vesicle by another carrier that can be inhibited by *vesamicol*. ACh is stored in vesicles along with other potential cotransmitters (Co-T) such as ATP and VIP at certain neuroeffector junctions. Release of ACh and the Co-T occurs on depolarization of the varicosity, which allows the entry of Ca²⁺ through voltage-dependent Ca²⁺ channels. Elevated [Ca²⁺]_{in} promotes fusion of the vesicular membrane with the cell membrane, and exocytosis of the transmitters occurs. This fusion process involves the interaction of specialized proteins associated with the vesicular membrane (VAMPs, vesicle-associated membrane proteins) and the membrane of the varicosity (SNAPS, synaptosome-associated proteins). The exocytotic release of ACh can be blocked by *botulinium toxin*. Once released, ACh can interact with the muscarinic receptors (mAChR), which are GPCRs, or nicotinic receptors (nAChR), which are ligand-gated ion channels, to produce the characteristic response of the effector. ACh also can act on presynaptic mAChRs or nAChRs to modify its own release. The action of ACh is terminated by metabolism to choline and acetate by acetylcholinesterase (AChE), which is associated with synaptic membranes.

Metabolismo dell'Acetilcolina



AChE: Espressa nel tessuto nervoso e nei globuli rossi
 Localizzata a livello sinaptico (-) ed extragiunzionale (++)
 Enzima molto rapido (5.000-10.000 molecole di ACh idrolizzate
 x sec x sito enzimatico)



Butiril-colinesterasi: > affinità per la BuCh (composto di sintesi)
 < affinità per l'ACh

Distribuzione (neuroni, glia, plasma, fegato) e meccanismo d'azione ~AChE
 Gene ≠ da AChE (ma 65% omologia)

Inibitori selettivi BuChE (es: cimserina) => ↑ACh extracellulare

Topi knockout x AChE => sopravvivono grazie all'azione vicariante della
 BuChE (ma con numerose anomalie)

=> La BuChE "contribuisce" alla rimozione di ACh dallo spazio sinaptico!

Organizzazione molecolare delle colinesterasi

Splicing alternativo

Diverse forme molecolari di AChE con diversi domini C-terminali:

R (read through): ancorata mediante fosfolipidi di membrana alla superficie cellulare

H (hydrophobic): ancorata mediante glicofosfoinositolo (GPI)

T (tail): con una coda di collagene (~ BuChE) (presente nei muscoli e nel tessuto nervoso dei vertebrati)

S (soluble): presente nel veleno di serpenti

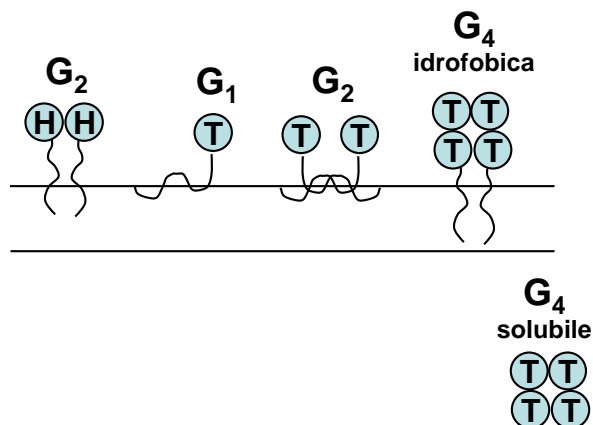
ORGANIZZAZIONE MOLECOLARE

Forme globulari (omomeriche):

G₁: monomeri (es: T₁)

G₂: dimeri (es: H₂ o T₂)

G₄: tetrameri (es: T₄)



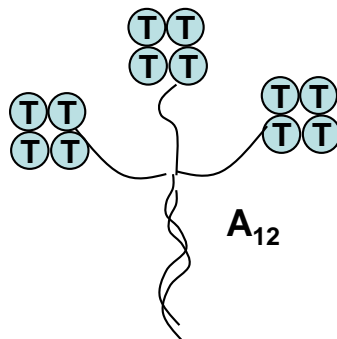
Forme asimmetriche (eteromeriche):

Un diverso numero (X) di tetrameri si lega ad una coda di collagene che lega l'enzima all'eparansolfato della membrana basale

X=1 (T₄-ColQ) → A₄

X=2 (T₈-ColQ) → A₈

X=3 (T₁₂-ColQ) → A₁₂ (giunzione neuromuscolare)



NB: 1 sito catalitico x ogni subunità

Inibitori dell'ACHÉ

INIBITORI REVERSIBILI:

Nella maggior parte dei casi, danno origine ad un enzima carbamitato (che viene idrolizzato lentamente)

Es: Fisostigmina, eserina, neostigmina, galantamina, tacrina e donepezil

Impieghi: miastenia grave

glaucoma

ileo paralitico post-operatorio

anestesia

demenza di Alzheimer (donepezil)

INIBITORI IRREVERSIBILI:

Danno origine ad un enzima fosforilato => molto stabile (il tempo per l'idrolisi supera quello della biosintesi e turnover di nuovo enzima)

Es: alchilfosfati (tabun, sarin, parathion)

Impieghi: aggressivi chimici (gas nervini)

insetticidi

demenza di Alzheimer (?) (metrifonato)

↓
< potenza

NB: la maggior parte degli anticolinesterasici ha maggiore affinità per la BuChE che per la AChE

Inibitori selettivi AChE → Donepezil, Ambinonio

PROPRIETÀ e IMPIEGHI TERAPEUTICI di alcuni AChE-I

Nome	Tipo di inibizione	Impieghi	Dosi
EDROFONIO	Reversibile	Diagnosi miastenia grave	2 mg + 8 mg dopo 30 s e.v.
FISOSTIGMINA O ESERINA	Reversibile, non selettivo	Intossicazione da anticolinergici Glaucoma	1 mg/e.v.
NEOSTIGMINA	Reversibile non selettivo	Miastenia, ileo postoperatorio, atonia vescicale.	7,5-15 mg/os
PIRIDOSTIGMINA	Reversibile non selettivo	Miastenia grave	30-60 mg/os
AMBENONIO	Reversibile non selettivo	Miastenia grave	2-12 mg/os
DEMECARIO	Reversibile non selettivo	Glaucoma	2-10 gtt
RIVASTIGMINA	Reversibile non selettivo	Malattia di Alzheimer	3-6 mg x 2/os
DONEPEZIL	Reversibile Affinità per AChE > BuChE	Malattia di Alzheimer	5-10 mg/os
GALANTAMINA	Reversibile Affinità per AChE> BuChE	Malattia di Alzheimer	16-32 mg/os

TABLE 22-3 • Cholinesterase Inhibitors Used in Alzheimer's Disease

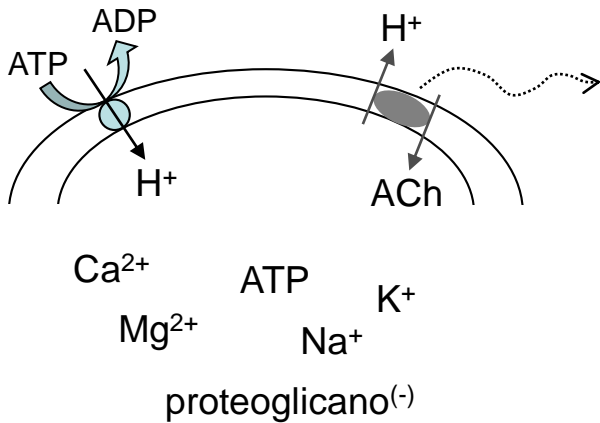
Drug	Year Approved	Dosing Schedule	Mode of Metabolism	Comments
Tacrine [Cognex]	1993	4 times a day, apart from food	Hepatic P450	Rarely used owing to hepatotoxicity and dosing 4 times a day
Donepezil [Aricept]	1996	Once daily at bedtime	Hepatic P450	Well tolerated with convenient dosing, hence drug of choice
Rivastigmine [Exelon]	2000	Twice a day, with AM and PM meal	Cholinesterase	Causes "irreversible" inhibition of cholinesterase; no drug interactions
Galantamine [Razadyne*]	2001	Twice a day, with AM and PM meal	Hepatic P450	

*Formerly named Reminyl.

Accumulo intracellulare e liberazione dell'ACh

$[ACh]_{vescicolare} \sim 100 \times [ACh]_{citoplasmatica}$

Ogni vescicola contiene circa 2000 molecole di ACh



VACHT:

Inibito dal vesamicolo

glicoproteina di 500-600 aa e PM~75 KDa

Gene contiguo a quello che codifica x ChAT
("operon colinergico")

ATP: 1 molecola x 5-10 molecole di ACh
viene liberato insieme all'ACh (ruolo???)

Proteoglicano: ricco di cariche negative
contribuisce a mantenere sia l'equilibrio osmotico
che elettrico delle vescicole

L'ACh viene liberata dalle terminazioni nervose assieme all'ATP (significato?)
La liberazione avviene per esocitosi ed è bloccata dalla tossina botulinica

NEUROTOSSINE DEL TETANO E DEL BOTULINO

Tetano → paralisi spastica dovuta alla spasmodica contrazione di muscoli scheletrici opposti, che lavorano l'uno contro l'altro

TeNT: prodotta dal *Clostridium tetani* blocca il rilascio di neurotrasmettitori (GABA o glicina) dagli interneuroni inibitori spinali

La TeNT viene rilasciata in circolo dal batterio che infetta ferite, anche minori, in cui si realizzano condizioni di anaerobiosi

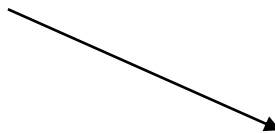
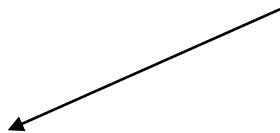
Botulismo → paralisi flaccida dei muscoli scheletrici e inattivazione dei terminali colinergici autonomici

BoNT: 7 tipi (A-G) prodotti da diverse specie di Clostridi, bloccano il rilascio di ACh a livello delle giunzioni neuromuscolari

Le BoNT vengono ingerite con gli alimenti contaminati da Clostridi e conservati in anaerobiosi (botulismo alimentare) o da Clostridi che proliferano nell'intestino (botulismo infantile)

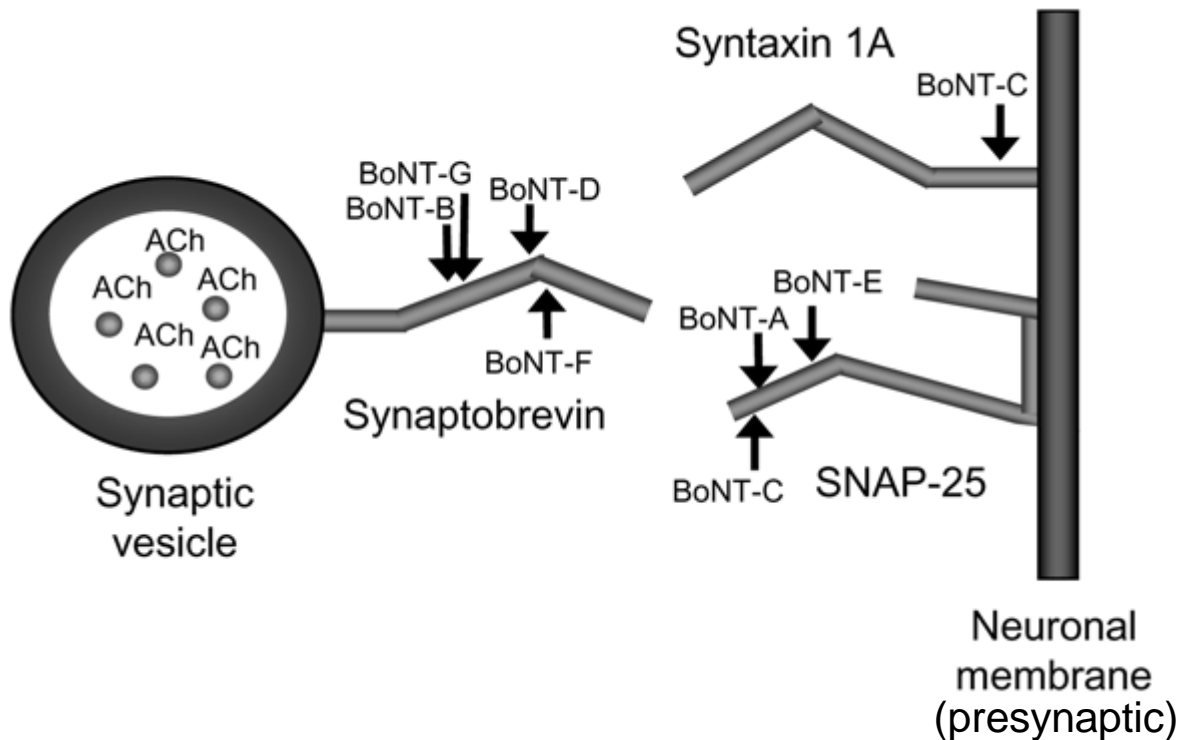
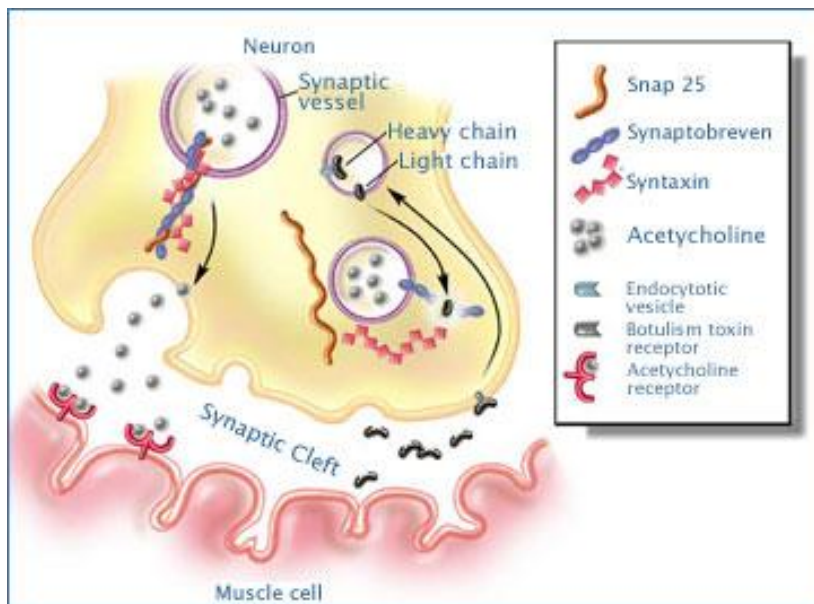
Le tossine tetanica e botulinica non agiscono su diverse cellule come le altre tossine, ma piuttosto sono dotate di un'elevata neurospecificità che le rende anche molto potenti (fra le più potenti note)

Catena H: responsabile della neurospecificità. Si lega attraverso la porzione C-terminale a recettori ignoti localizzati sul versante esterno della membrana presinaptica della giunzione neuromuscolare => internalizzazione attraverso un compartimento intracellulare a pH acido



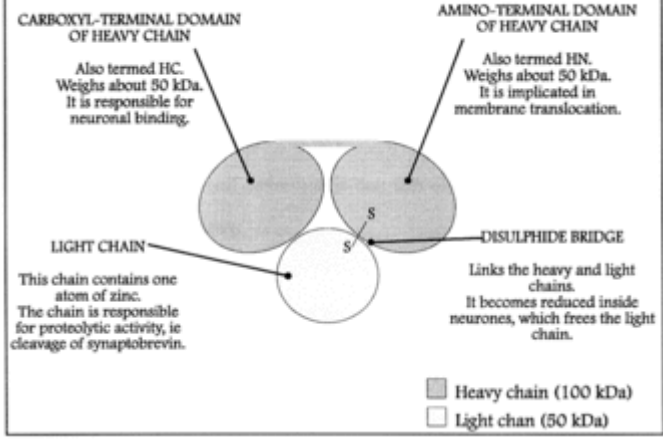
BoNT: fuoriuscita delle catene L nel citosol => blocco esocitosi

TeNT: rimane all'interno delle vescicole del motoneurone che vengono trasportate con movimento retroassonico fino a fondersi con regioni della membrana plasmatica che formano sinapsi con gli interneuroni inibitori. Rilasciata nello spazio sinaptico, la TeNT si lega alla membrana dell'interneurone del midollo spinale, penetra nel citosol e blocca il rilascio di neurotrasmettitori

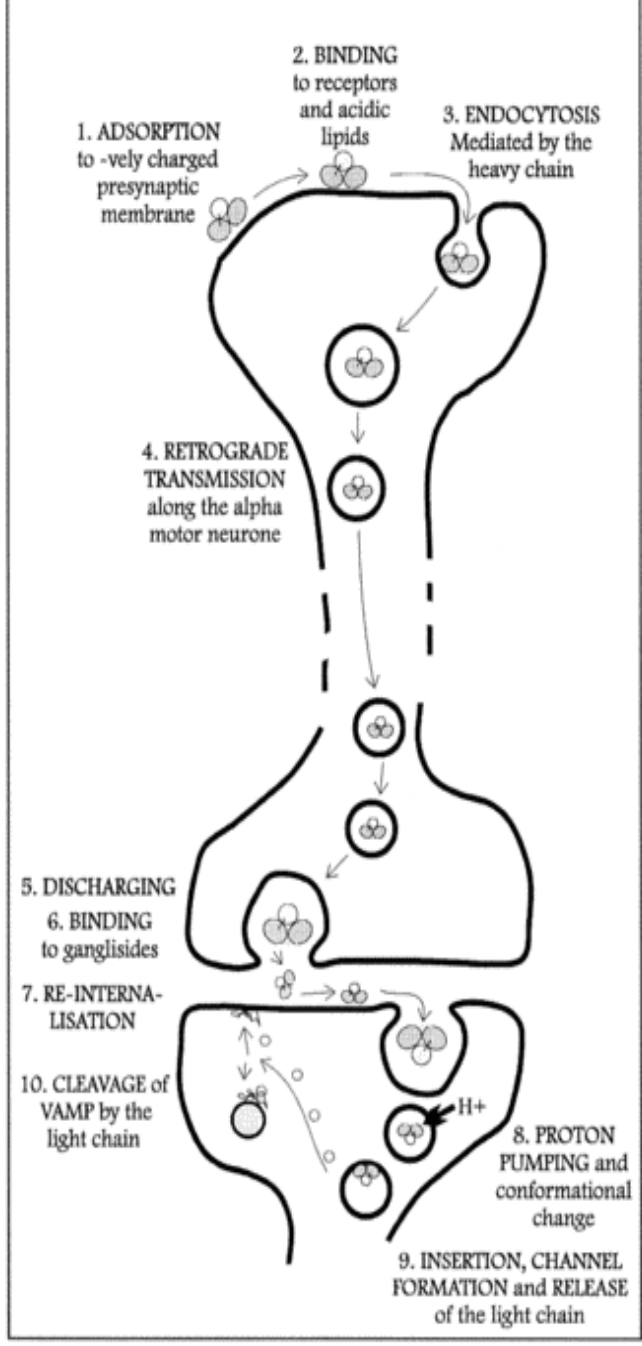


Synaptobrevin on the synaptic vesicle must interact with syntaxin and SNAP (synaptosomal-associated protein)-25 on the neuronal membrane for fusion to occur, which allows the nerve impulse to be delivered across the synaptic junction. The botulinum neurotoxin serotypes cleave the peptide bonds at specific sites on the 3 proteins, as indicated. Cleavage of anyone of these proteins prevents vesicle membrane docking and nerve impulse transmission.

DIAGRAMMATIC REPRESENTATION OF TETANOSPASMIN



MECHANISM OF ACTION



Le catene L di TeNT e BoNT sono metalloproteasi altamente specifiche per tre proteine che giocano un ruolo fondamentale nei processi esocitotici:

- VAMP/sinaptobrevina (risiede sulla membrana delle vescicole)
- SNAP-25 e syntaxina (si trovano sul lato citosolico della membrana plasmatica)

TeNT e BoNT (B, D, F e G): tagliano in un singolo punto la VAMP

BoNT (A ed E) tagliano SNAP-25

BoNT (C) taglia syntaxina e SNAP-25

L'effetto di queste tossine è generalmente reversibile, specialmente per la BoNT (il motoneurone non muore => se il paziente non soccombe per paralisi respiratoria, la giunzione neuromuscolare riacquista la sua piena funzionalità in seguito alla completa rigenerazione della sinapsi)

Proteine SNARE (acronimo di “soluble NSF attachment receptor”):
Ampia famiglia (~ 60 membri) di grosse proteine presenti nelle cellule dei lieviti e dei mammiferi.

Il ruolo principale delle SNARE è di mediare la fusione di vescicole di trasporto con la membrana cellulare o con compartimenti target (come i lisosomi)

NSF (N-ethylmaleimide sensitive fusion protein):

Presente nel citoplasma delle cellule eucariotiche, è implicata nel trasferimento delle vescicole da un compartimento membranario ad un altro. In particolare contribuisce alla dissociazione dei complessi SNARE dopo la fusione della vescicola con la membrana => riciclo dei componenti di SNARE per altri processi di fusione

RECETTORI COLINERGICI

RECETTORI NICOTINICI
recettori-canale
(specifici per i cationi)

RECETTORI MUSCARINICI
recettori accoppiati a prot G

RECETTORI NICOTINICI (nAChR):

Localizzazione: giunzione neuromuscolare (recettori muscolari N_M)

gangli

cellule cromaffini

SNC



(recettori neuronali N_N)

GANGLIOPLEGICI: Bloccano la trasmissione gangliare (es: Trimetafano, usato x gravi crisi ipertensive e x indurre ipotensione controllata durante interventi chirurgici)

CURARI: Bloccano la trasmissione a livello della giunz neuromuscolare

COMPETITIVI

Si legano al rec N_M su un sito adiacente a quello di legame x l'ACh (es: d-tubocurarina, pancuronio)

DEPOLARIZZANTI

Attivano i rec N_M => inizialmente: depolarizzazione della fibra muscolare (fascicolazioni) inizialmente. Successivamente: desensitizzazione N_M => paralisi (es: succinilcolina, decametonio)

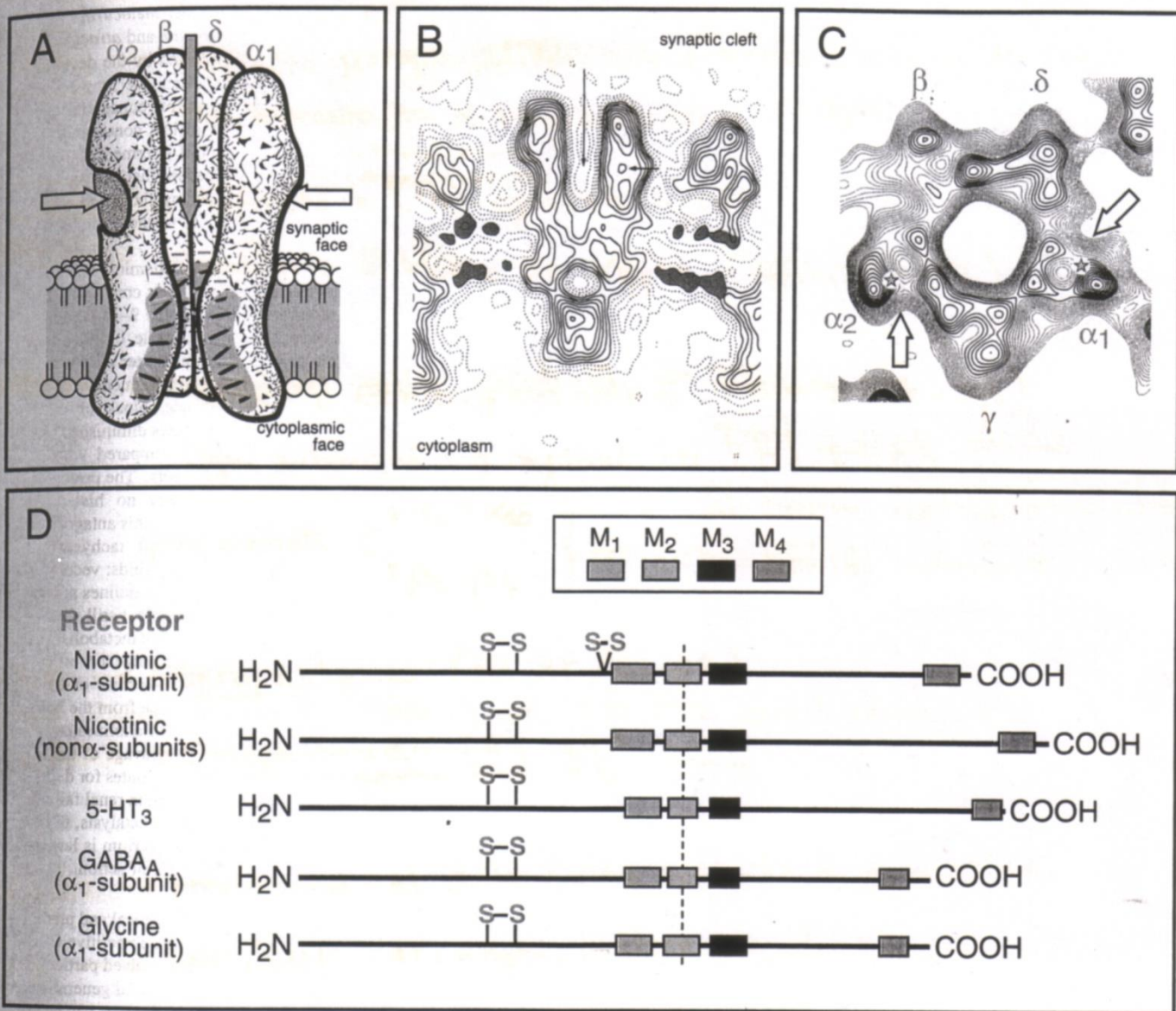


Figure 9-1. Molecular structure of the nicotinic cholinergic receptor. The structure of the receptor is described in the text.

A. Longitudinal view with the γ subunit removed. The remaining subunits, two copies of α , one of β , and one of γ , are shown to surround an internal channel with an outer vestibule and its constriction located deep in the membrane bilayer region. Spans of α -helices with slightly bowed structures form the perimeter of the channel and come from the M2 region of the linear sequence (see panel **D**). Acetylcholine binding sites, indicated by arrows, are found at the $\alpha\gamma$ and $\alpha\delta$ (not visible) interfaces. Panels **B** and **C** show data on which the structure is based. Panel **D** presents the sequence similarities in ligand-gated ion channel receptors. **B.** Longitudinal view of the electron density of receptor molecules packed in a tubular membrane. Arrows indicate the synaptic surface entry to the pore and agonist site. The additional density in the cytoplasmic region below the receptor arises from an anchoring protein attached to the receptor. **C.** Cross-sectional view of the image reconstructed electron density taken 30 Å above the plane of the membrane. Pseudo five-fold symmetry is evident. The arrows denote the presumed route of entry of the ligand (ACh) to the binding site shown by the star. α_1 and α_2 in this panel are identical in sequence; the subscripts show that there are copies of the α subunit in the pentamer. **D.** For each receptor the amino terminal region of about 200 amino acids is found in the extracellular surface. It is then followed by four hydrophobic regions that span the membrane (M_1 – M_4), leaving the small carboxyl-terminus on the extracellular surface. The M_2 region is α -helical, and M_2 regions from each subunit of the pentameric receptor line the internal pore of the receptor. Two disulfide loops at positions 128–142 and 192–193 are found in the α -subunit of the nicotinic receptor. The 128–142 motif is conserved in the family of receptors, while the vicinal cysteines at 192 and 193 distinguish α subunits from β , γ , δ , and ϵ in the nicotinic receptor. (Adapted from Unwin, 1993, with permission.)

Table 6-2. Characteristics of Subtypes of Nicotinic Acetylcholine Receptors (nAChRs)

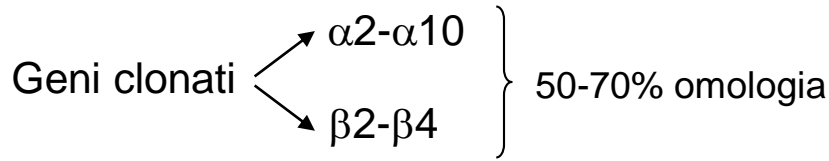
RECEPTOR (PRIMARY RECEPTOR SUBTYPE)*	MAIN SYNAPTIC LOCATION	MEMBRANE RESPONSE	MOLECULAR MECHANISM	AGONISTS	ANTAGONISTS
Skeletal muscle (N_M)	Skeletal neuromuscular junction (postjunctional)	Excitatory; end-plate depolarization; skeletal muscle contraction	Increased cation permeability (Na^+ ; K^+)	ACh	Atracurium
$(\alpha_1)_2\beta_1\varepsilon\delta$ adult				Nicotine	Vecuronium
$(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$ fetal				Succinylcholine	<i>d</i> -Tubocurarine Pancuronium α -Conotoxin α -Bungarotoxin
Peripheral neuronal (N_N)	Autonomic ganglia; adrenal medulla	Excitatory; depolarization; firing of postganglion neuron; depolarization and secretion of catecholamines	Increased cation permeability (Na^+ ; K^+)	ACh	Trimethaphan
$(\alpha_3)_2(\beta_4)_3$				Nicotine Epibatidine Dimethylphenyl piperazinium	Mecamylamine
Central neuronal (CNS)	CNS; pre- and postjunctional	Pre- and postsynaptic excitation Prejunctional control of transmitter release	Increased cation permeability (Na^+ ; K^+)	Cytisine, epibatidine	Mecamylamine
$(\alpha_4)_2(\beta_4)_3$ (α -btox-insensitive)				Anatoxin A	Dihydro- β -erythrodrine Erysodine Lophotoxin
$(\alpha_7)_5$ (α -btox-sensitive)	CNS; Pre- and postsynaptic	Pre- and postsynaptic excitation Prejunctional control of transmitter release	Increased permeability (Ca^{2+})	Anatoxin A	Methyllycaconitine α -Bungarotoxin α -Conotoxin IMI

*Nine individual subunits have been identified and cloned in human brain, which combine in various conformations to form individual receptor subtypes. The structure of individual receptors and the subtype composition are incompletely understood. Only a finite number of naturally occurring functional nAChR constructs have been identified. α -btox, α -bungarotoxin.

Recettori nicotinici neuronali

STRUTTURA: omo- o etero-pentamero (5 sub α o $2\alpha+3\beta$)

Ogni subunità è formata da 4 regioni TM (TM1 \rightarrow TM4)



Vengono classificati in due famiglie:

nAChR \blacktriangleright Affinità x $[^3\text{H}]$ -agonisti \sim nM

Insensibile al blocco da α -bungarotossina (α Bgtx)

Etero pentamero ($\alpha 2-\alpha 6/\beta 2-\beta 4$)

α -Bgtx-nAChR \blacktriangleright Affinità x $[^3\text{H}]$ -agonisti \sim μ M

Sensibile al blocco da α Bgtx (affinità \sim nM)

Omopentameri ($\alpha 7-\alpha 9$)

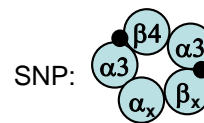
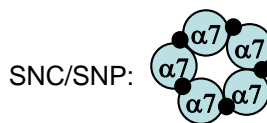
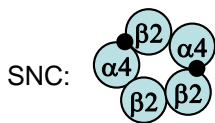
$\alpha 4\beta 2$ \rightarrow predomina nel SNC (alta affinità x la nicotina)

$\alpha 7$ \rightarrow SNC/SNP (AT: α Bgtx, Metillilcaconitina)

$\alpha 3\beta 4$ \rightarrow predomina nel SNP (gangli)

($\beta 4$: alta affinità x la Citisina \gg nicotina)

SITI di LEGAME x l'ACH:

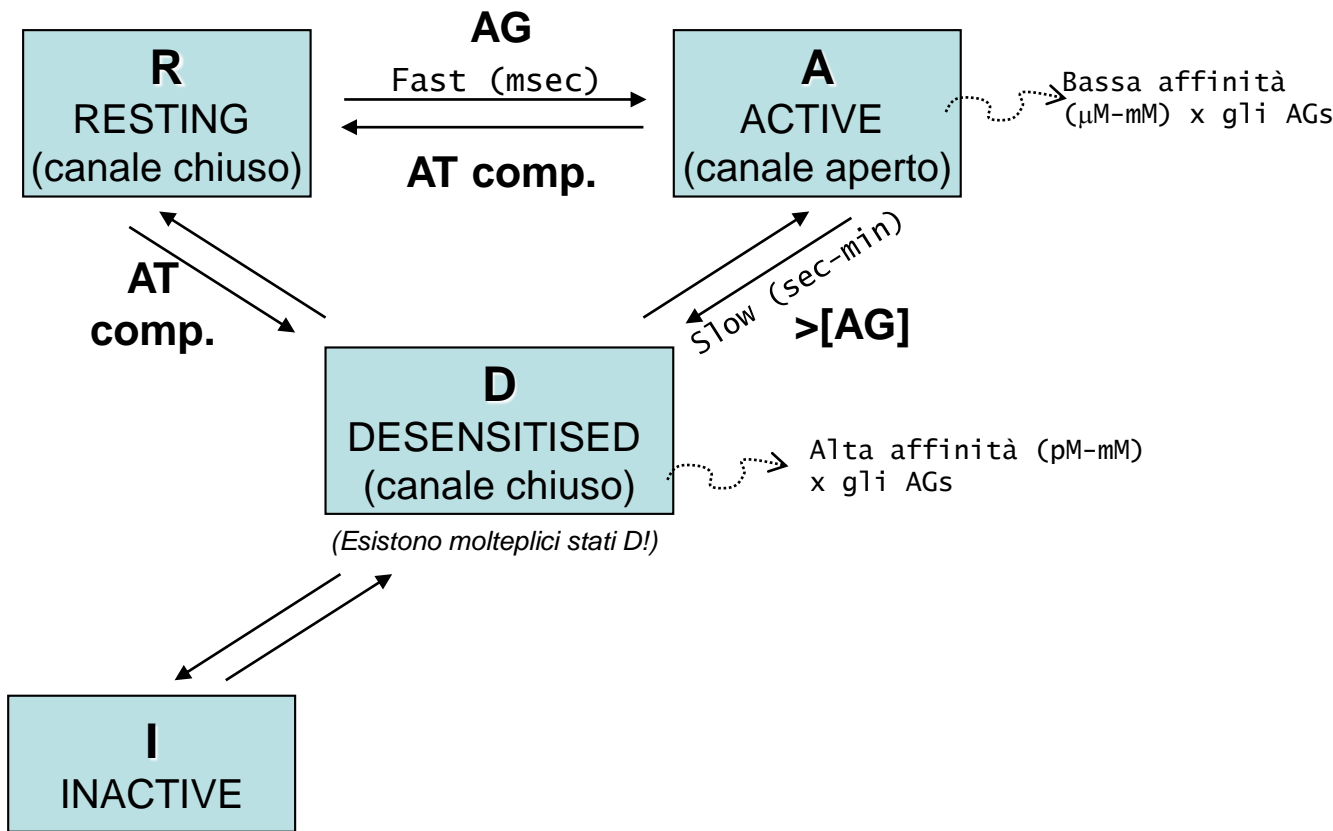


Eteropentameri $\left\{ \begin{array}{l} \alpha 2-\alpha 4, \alpha 6: \text{ sito principale} \\ \beta 2 \text{ o } \beta 4: \text{ sito complementare} \end{array} \right.$

Omopentameri \rightarrow $\alpha 7-\alpha 9$: fungono sia da siti principali che complementari

NB: $\alpha 5$ e $\beta 3$ non contribuiscono al sito di legame \Rightarrow subunità ausiliarie (controllano la permeabilità ionica e probabilmente la localizzazione recettoriale)

STATI DI TRANSIZIONE DEL RECETTORE NICOTINICO



La velocità di desensitizzazione/risensitizzazione differisce a seconda del sottotipo recettoriale:

$\alpha 7$: desensitizza rapidamente

$\alpha 4\beta 2$: si inattiva a seguito di esposizione cronica a nicotina

PERMEABILITA' IONICA

$\text{Ca}^{2+}:\text{Na}^+$ permeability ratio \nearrow = 0,1-1,6 x i rec eteromerici (> in presenza di $\alpha 5$)
 \searrow = 10-20 x i recettori omomerici ($\alpha 7$ o $\alpha 9$)

NB: i recettori $\alpha 7$ hanno una permeabilità al Ca^{2+} ~ NMDA, ma non richiedono depolarizzazione di membrana x generare l'influsso di Ca^{2+}

Poichè la desensitizzazione dei recettori $\alpha 7$ è molto rapida, non si verifica un eccessivo ingresso di Ca^{2+} => impedisce che si verifichino fenomeni di eccitotossicità

RECETTORI MUSCARINICI

Localizzazione: organi innervati dal parasimpatico
gangli simpatici (=> eccitazione lenta)
SNC

5 sottotipi: M1 → M5

Recettori accoppiati a proteine G => monomeri

7TM ad α -elica

N-term extracellulare

C-term intracellulare

Legame con l'ACh: tasca al centro dell'anello formato dai 7TM

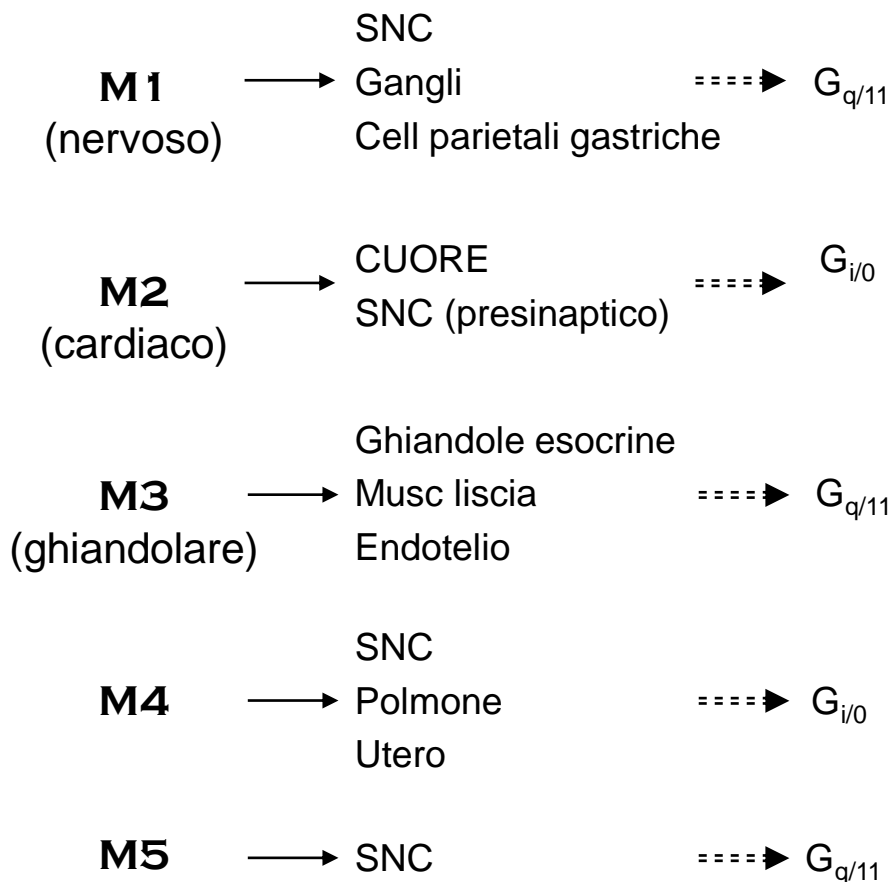


Table 6-3. Characteristics of Muscarinic Acetylcholine Receptor Subtypes (mAChRs)

RECEPTOR	SIZE; CHROMOSOM E LOCATION	CELLULAR AND TISSUE LOCATION*	CELLULAR RESPONSE ^a	FUNCTIONAL RESPONSE ^b
M₁	460 aa	CNS; Most abundant in cerebral cortex, hippocampus and striatum	Activation of PLC; ↑ IP ₃ and ↑ DAG → ↑ Ca ²⁺ and PKC	Increased cognitive function (learning and memory)
	11q 12-13	Autonomic ganglia	Depolarization and excitation (↑rsEPSP)	Increased seizure activity
		Glands (gastric and salivary)	Activation of PLD ₂ , PLA ₂ ; ↑ AA	Decrease in dopamine release and locomotion
		Enteric nerves	Couples <i>via</i> G _{q/11}	Increase in depolarization of autonomic ganglia Increase in secretions
M₂	466 aa	Widely expressed in CNS, heart, smooth muscle, autonomic nerve terminals	Inhibition of adenylyl cyclase, ↓cAMP	<i>Heart:</i>
	7 q 35-36		Activation of inwardly rectifying K ⁺ channels	SA node: slowed spontaneous depolarization; hyperpolarization, ↓HR
			Inhibition of voltage-gated Ca ²⁺ channels	AV node: decrease in conduction velocity
			Hyperpolarization and inhibition	Atrium: ↓ refractory period, ↓ contraction
			Couples <i>via</i> G _i /G _o (PTX-sensitive)	Ventricle: slight ↓ contraction
				<i>Smooth muscle:</i> ↑ Contraction
		<i>Peripheral nerves:</i> Neural inhibition <i>via</i> autoreceptors and heteroreceptor ↓ Ganglionic transmission. <i>CNS:</i> Neural inhibition ↑ Tremors; hypothermia; analgesia		
M₃	590 aa	Widely expressed in CNS (< than other mAChRs)	Activation of PLC; ↑ IP ₃ and ↑ DAG → ↑ Ca ²⁺ and PKC	<i>Smooth muscle</i>
	1q 43-44	Abundant in smooth muscle and glands	Depolarization and excitation (↑ sEPSP)	↑ contraction (predominant in some, e.g. bladder)
		Heart	Activation of PLD ₂ , PLA ₂ ; ↑ AA	<i>Glands:</i> ↑ secretion (predominant in salivary gland) Increases food intake, body weight fat deposits Inhibition of dopamine release Synthesis of NO
		Couples <i>via</i> G _{q/11}		

M₄

479 aa

Preferentially expressed in CNS, particularly forebrain

Inhibition of adenylyl cyclase, ↓cAMP

Autoreceptor- and heteroreceptor-mediated inhibition of transmitter release in CNS and periphery.

11p 12-11.2

Activation of inwardly rectifying K⁺ channels

Analgesia; cataleptic activity

Inhibition of voltage-gated Ca²⁺ channels

Facilitation of dopamine release

Hyperpolarization and inhibition

Couples *via* G_i/G_o (PTX-sensitive)**M₅**

532 aa

Expressed in low levels in CNS and periphery

Activation of PLC; ↑ IP₃ and ↑ DAG → ↑ Ca²⁺ and PKC

Mediator of dilation in cerebral arteries and arterioles (?)

15q 26

Predominant mAChR in dopamine neurons in VTA and substantia nigra

Depolarization and excitation (↑ sEPSP)

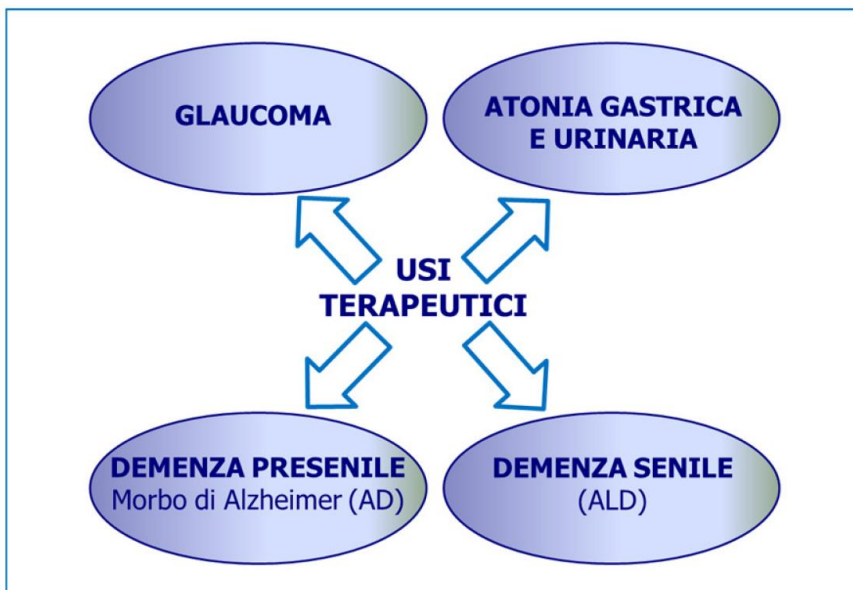
Facilitates dopamine release

Activation of PLD₂, PLA₂; ↑ AAAugmentation of drug seeking behavior and reward (*e.g.*, opiates, cocaine)Couples *via* G_{q/11}

*Most organs, tissues, and cells express multiple mAChRs.

^aM₁, M₃, and M₅ mAChRs appear to couple to the same G proteins and signal through similar pathways. Likewise, M₂ and M₄ mAChRs couple through similar G proteins and signal through similar pathways.^bDespite the fact that in many tissues, organs, and cells multiple subtypes of mAChRs coexist, one subtype may predominate in producing a particular function; in others, there may be equal predominance.ABBREVIATIONS: PLC, phospholipase C; IP₃, inositol-1,4,5-triphosphate; DAG, diacylglycerol; PLD₂, phospholipase D; AA, arachidonic acid; PLA, phospholipase A; cAMP, cyclic AMP; SA node, sinoatrial node; AV node, atrioventricular node; HR, heart rate; PTX, pertussis toxin; VTA, ventral tegmentum area.

Agonisti muscarinici



AGONISTI DIRETTI DEI RECETTORI MUSCARINICI

FARMACO	Specificità recettoriale		Idrolisi AChE	Usò clinico
	Muscarinico	Nicotinico		
ACETICOLINA	+++	+++	+++	nessuno
CARBACOLO	++	+++	-	nessuno
METACOLINA	+++	+	++	<i>Vasodilatatore nelle vasculopatie periferiche</i>
BETANECOLO	+++	-	-	<i>Ipotonia vescicale e gastrointest</i>
MUSCARINA	+++	-	-	nessuno
PILOCARPINA	++	-	-	<i>Miotico, glaucoma</i>
OXOTREMORINA	++	-	-	nessuno

Accanto alla acetilcolina, caratterizzata da brevissima emivita, anche altri agonisti muscarinici con emivita maggiore hanno un impiego limitato per la scarsa selettività nei confronti dei sottotipi di recettore.

Usi clinici degli antagonisti muscarinici

- **Cardiovascolare:**
- Trattamento della bradicardia sinusale [*atropina* i.v.]
- **Oftalmologico:**
- Dilatazione della pupilla [*tropicamide* (breve durata), *ciclopentolato* (lunga durata)]
- **Neurologico:**
- Prevenzione della cinetosi [*scopolamina* os, transdermica]
- Trattamento del Parkinsonismo (specie da antipsicotici) [*benztropina*]
- **Respiratorio:**
- Trattamento dell'asma [*ipratropio* spray]
- Premedicazione nell'anestesia generale [*atropina*]
- **Gastrointestinale:**
- Rilassamento della parete intestinale (antispastico) nelle coliche. Inibizione della secrezione gastrica.
- Coadiuvante nelle indagini radiologiche intestinali e gastroscopia [*scopolamina butilbromuro* (Buscopan)]
- Nel colon irritabile e diverticolosi
- Nell'ulcera peptica [*pirenzepina*]
- **Genitourinario:**
- Rilassamento della muscolatura liscia ureterale nelle coliche [*scopolamina butilbromuro* (Buscopan)]

Table 6-2

Characteristics of Subtypes of Cholinergic Receptors*

RECEPTOR	AGONISTS	ANTAGONISTS	TISSUE	RESPONSES	MOLECULAR MECHANISMS
Nicotinic Muscle (N _M)	Phenyltrimethyl- ammonium	Tubocurarine Elapid α -neurotoxins (α -Bungarotoxin)	Neuromuscular junction	End-plate de- polarization, skeletal muscle contraction	Opening of cation channel in N _M receptor. Compositions of α_1 , β_1 , δ , γ , or ϵ , ?
Neuronal (N _N)	Dimethylphenyl- piperazinium Cytisine Epibatidine ¹	Trimethaphan	Autonomic ganglia	Depolarization and firing of postgang- lionic neuron	Opening of cation channel in N _N receptor. Compositions of α_2 to α_9 and β_2 to β_4
			Adrenal medulla	Secretion of catecholamines	
			CNS	Undefined	
Muscarinic M ₁	Oxotremorine McN-A-343 ¹	Atropine Pirenzepine ¹	Autonomic ganglia	Depolarization (late EPSP)	Stimulation of PLC through G _{q/11} with formation of IP ₃ and DAG; increased cytosolic Ca ²⁺
			CNS	Undefined	
M ₂	—	AF-DX 116 ¹	Heart SA node	Slowed spontaneous depolarization; hyperpolarization	Activation of K ⁺ channels through $\beta\gamma$ subunits of G _i ; inhibition of adenylyl cyclase through G _i
			Atrium	Shortened duration of action potential; decreased contractile force	
			AV node	Decreased conduction velocity	
			Ventricle	Slight decrease in contractile force	
M ₃	—	Hexahydro- siladifenidol ¹	Smooth muscle	Contraction ³	Similar to M ₂
			Secretory glands	Increased secretion	
M ₄	—	Himbacine	SNC, utero, palmone	—	Similar to M ₂
M ₅	—	—	SNC	—	Similar to M ₁

* Abbreviations are: excitatory postsynaptic potential (EPSP); phospholipase C (PLC); inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃); diacylglycerol (DAG).

¹ Denotes the more selective agent.

² The CNS contains all known subtypes of muscarinic receptors.

³ Relaxation occurs in sphincters in the urinary and gastrointestinal tracts, but this may result from the release of peptides from intrinsic ganglia or parasympathetic nerves; blood vessels relax as a consequence of release of factors from the endothelium (see text).

Sottotipi di recettori colinergici.

	Nicotinici		Muscarinici		
	Muscolare	Neuronale	M ₁ «Neuronale»	M ₂ «Cardiaco»	M ₃ «Ghiandole»
Localizzazione principali	Giunzione neuromuscolare scheletrica	Gangli del SNA Terminazioni nervose sensoriali SNC (molte aree)	Neuronale SNC (corteccia, ippocampo) Gangli (enterici, autonomi) Gastrica Cellule parietali	Cardiaca Atri Tessuto di conduzione Neuronale Terminazioni presinaptiche	Ghiandole Muscolo Endotelio
Effetti	Apertura dei canali cationici Depolarizzazione di membrana (epsp veloce)		↑IP ₃ , DAG Depolarizzazione Eccitazione (epsp lento) (↓G _K)	↓cAMP Inibizione (↑G _o , ↓Ca ²⁺) Ipsilento	↑IP ₃ Stimolazione (↑[Ca ²⁺] _i)
Funzioni	Trasmissione neuromuscolare	Trasmissione gangliare Facilitazione presinaptica nel SNC	Eccitazione SNC (memoria?) Secrezione acida gastrica Motilità gastrointestinale	Inibizione cardiaca Inibizione presinaptica Inibizione neuronale	Secrezione Contrazione muscolare Vasodilatazione (medie)
Neurotrasmettitori	Acetilcolina (ACh) Carbamilcolina (CCh)	ACh CCh	ACh Oxotremorina McNA343	ACh CCh	ACh CCh
Antagonisti	Sussametonio Decametonio	Nicotina Lobelina Citisina Epibatidina DMPP*			
Antagonisti	Tubocurarina Pancuronio Atracurio Vecuronio α-bungarotossina	Trimetafano Mecamilamina Esametonio	Atropina Pirenzepina Diciclomina	Atropina Gallamina AF-DX116	Atropina HHSD**

metilfenilpiperazinio
hidrosiladifenolo