

# **I RECETTORI PER NEUROTRASMETTITORI E ORMONI: CARATTERISTICHE GENERALI**

Classificazione per:

**1.Localizzazione: recettori di membrana e recettori intracellulari**

**2.Struttura**

**3.Modalità di funzionamento**

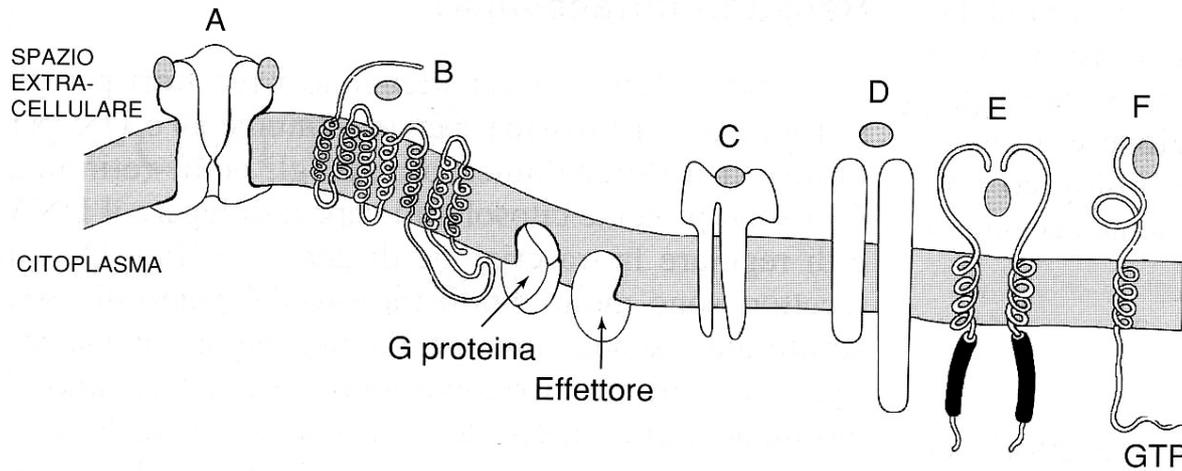
**4.Agonista naturale**

Recettori aventi la stessa struttura molecolare generalmente funzionano in modo analogo

# Tipi di recettori distinti per struttura/funzione

64

*Recettori e trasduzione del segnale*



**Fig. 5.2.** Schema che illustra le varie famiglie di recettori di membrana. *A)* Canali ionici aperti dal legame con il neurotrasmettitore. *B)* Recettori accoppiati a proteine G con la caratteristica struttura a sette zone transmembranaie. *C)* Recettori per la matrice extracellulare (integrine). *D)* Recettori per le citochine. *E)* Recettori che possiedono attività protein chinasi intrinseca (cilindri neri) che fosforilano residui aminoacidici tirosinici. *F)* Recettori che possiedono una attività guanilato ciclasica intrinseca. Il simbolo colorato rappresenta il ligando.

Recettori-canale: quando attivati lasciano passare ioni

Recettori a proteina G: quando attivati producono i messaggeri

Recettori tirosinchinasici: quando attivati fosforilano substrati in tirosina

Vi sono ulteriori classi di recettore distinguibili per struttura e meccanismo di trasduzione del segnale

# Tipi di recettori distinti per struttura/funzione

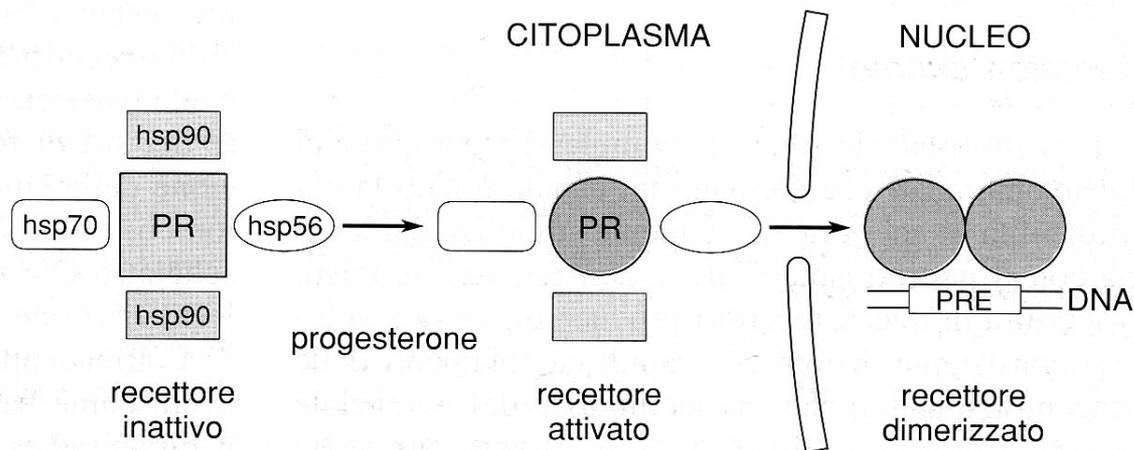
## Recettori intracellulari

Sono recettori per ligandi lipofili che penetrano passivamente nel citoplasma e/o nel nucleo per diffusione passiva

Legano il DNA modulando la trascrizione genica

Recettori per androgeni, estrogeni, progesterone cortisolo, aldosterone, vit D

**Fig. 5.1.** Schema del meccanismo di trasduzione del segnale dei recettori per gli ormoni steroidei. In questo esempio il recettore per il progesterone (PR) è associato con tre *heat-shock proteins* (hsp) ed è inattivo. Quando il progesterone si lega al recettore, esso cambia conformazione, si dissocia dalle HSP, dimerizza ed è quindi trasportato nel nucleo. Qui interagisce con sequenze specifiche di DNA, dette *progesteron-responder element* (PRE) presenti nel promotore di geni sensibili al progesterone. In tal modo viene attivata la trascrizione del gene.



## Uno stesso neurotrasmettitore può avere recettori di classe diversa

Neurotrasmettitore	Risposta veloce	Risposta lenta
Acetilcolina	Nicotinici	Muscarinici
GABA	GABA <sub>A</sub>	GABA <sub>B</sub>
Glutammato	Ionotropi	Metabotropi
Serotonina	5-HT <sub>3</sub>	5-HT <sub>1,2,4,5</sub>
ATP	P <sub>2x</sub>	P <sub>2y</sub>

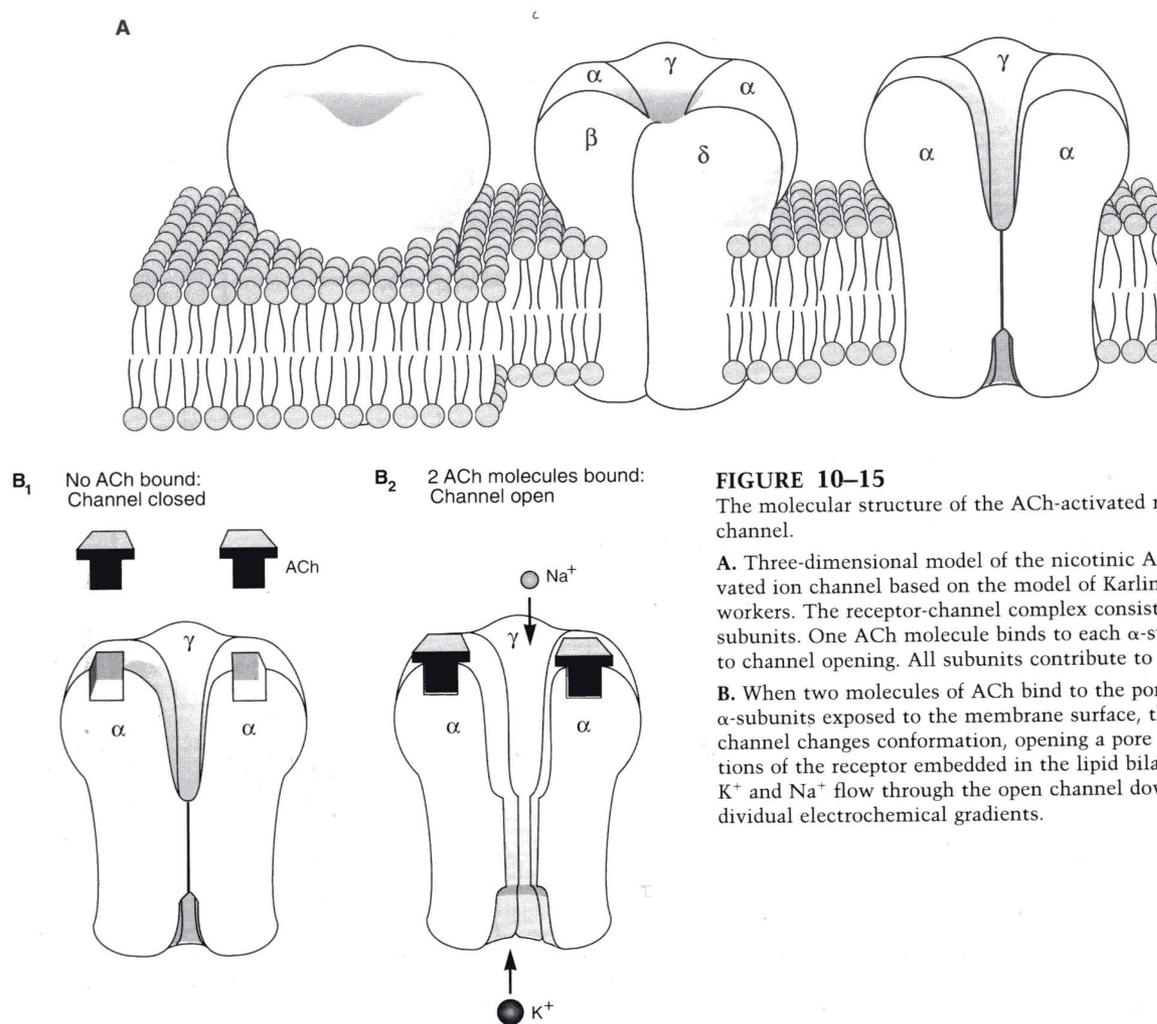
Generalmente recettori di classe diversa mediano risposte di classe diversa

# **I RECETTORI CANALE**

## **IL RECETTORE NICOTINICO PER L'ACETILCOLINA E IL RECETTORE-CANALE PER IL GABA**

**ASPETTI GENERALI SULL'ORGANIZZAZIONE MOLECOLARE, SUL  
MODO DI FUNZIONARE E SULLA MODULAZIONE FARMACOLOGICA  
DEI RECETTORI CANALE**

# I recettori-canale sono proteine multimeriche (fatte da più subunità) che attraversano da parte a parte la membrana plasmatica



**FIGURE 10-15**

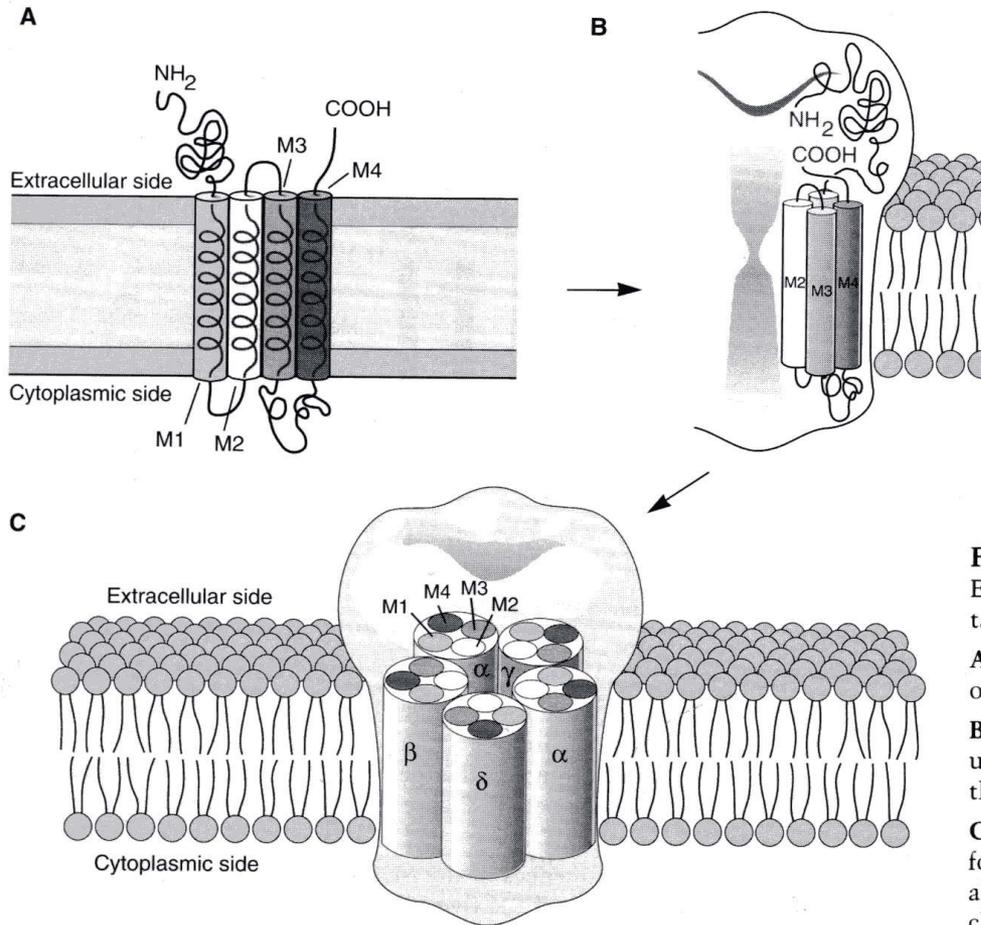
The molecular structure of the ACh-activated receptor-channel.

**A.** Three-dimensional model of the nicotinic ACh-activated ion channel based on the model of Karlin and co-workers. The receptor-channel complex consists of several subunits. One ACh molecule binds to each  $\alpha$ -subunit prior to channel opening. All subunits contribute to the pore.

**B.** When two molecules of ACh bind to the portions of the  $\alpha$ -subunits exposed to the membrane surface, the receptor-channel changes conformation, opening a pore in the portions of the receptor embedded in the lipid bilayer. Both K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> flow through the open channel down their individual electrochemical gradients.

# I recettori canale sono multimerici

(sono composti da più subunità)



**FIGURE 10-16**

Each subunit of the ACh receptor-channel contains four membrane-spanning  $\alpha$ -helices.

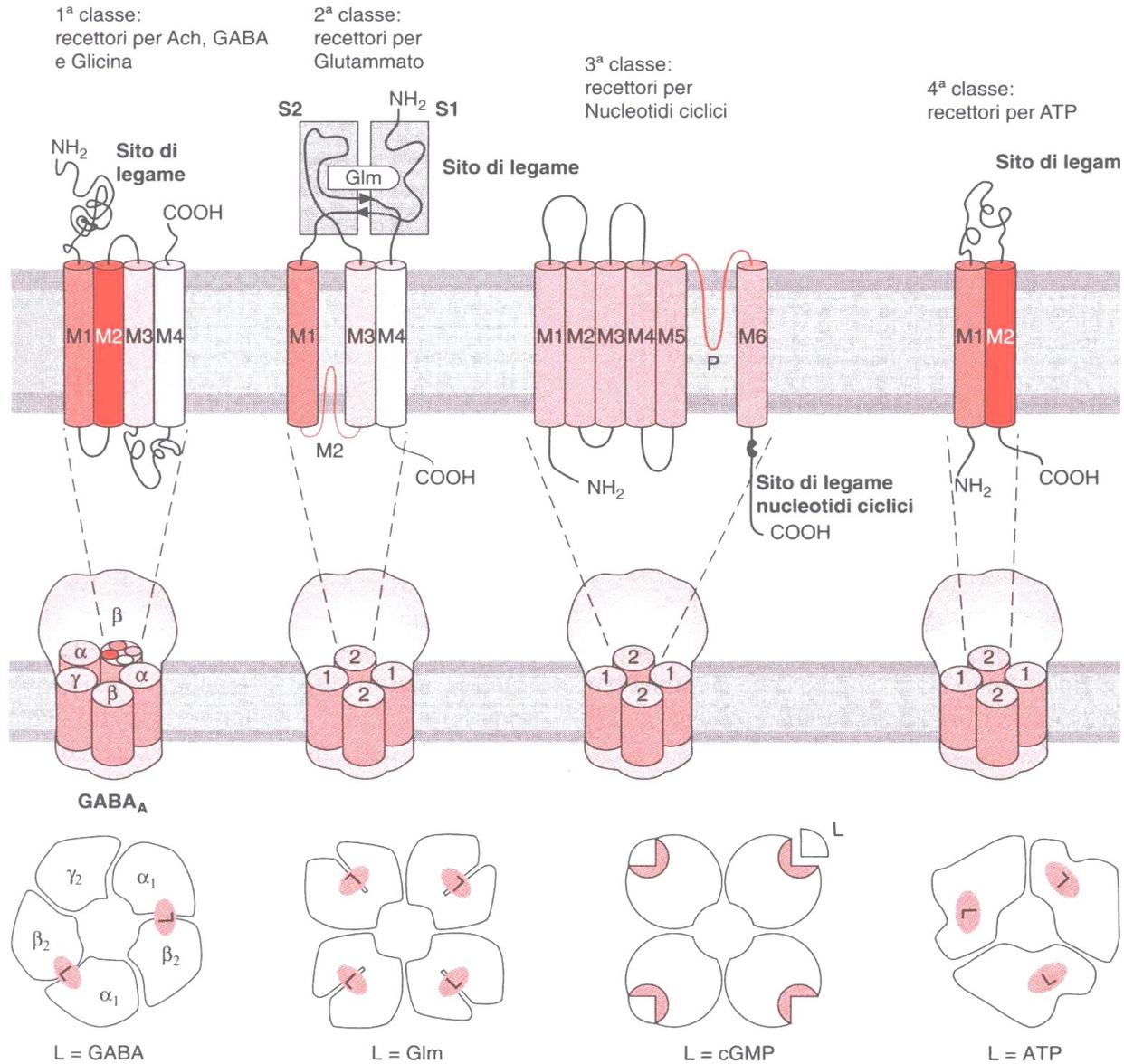
**A.** The four membrane-spanning components of one subunit (labeled M1–M4).

**B.** A hypothetical folding arrangement for one subunit in the channel with the M2 segment facing the channel.

**C.** A hypothetical arrangement of the five subunits forming an aqueous channel, with the M2 segment always on the inside forming the lining of the channel.

Il numero di subunità varia tra recettori

# Struttura molecolare dei recettori-canale



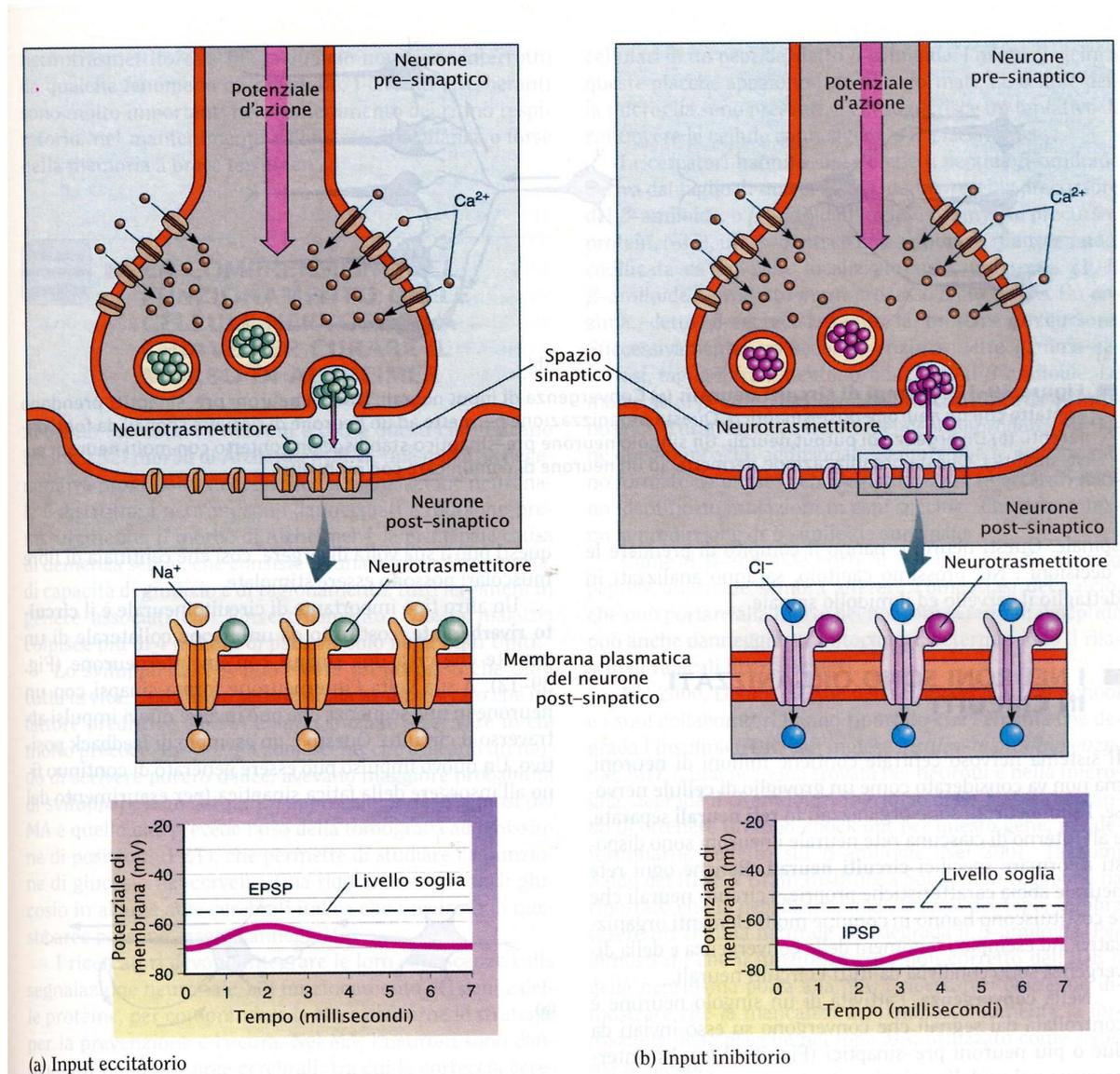
# I recettori-canale sono selettivi per carica

I recettori-canale si dividono in base alla carica che lasciano passare in:

1- cationici (fanno passare cariche positive come sodio e calcio; esempi: recettore per l'acetilcolina, recettori per il glutammato, recettori per purine, per serotonina)

2- anionici (fanno passare cariche negative come cloro) ;  
esempi: recettore per il GABA, per glicina

A seconda della carica permeante, la stimolazione recettoriale può portare a depolarizzazione o iperpolarizzazione



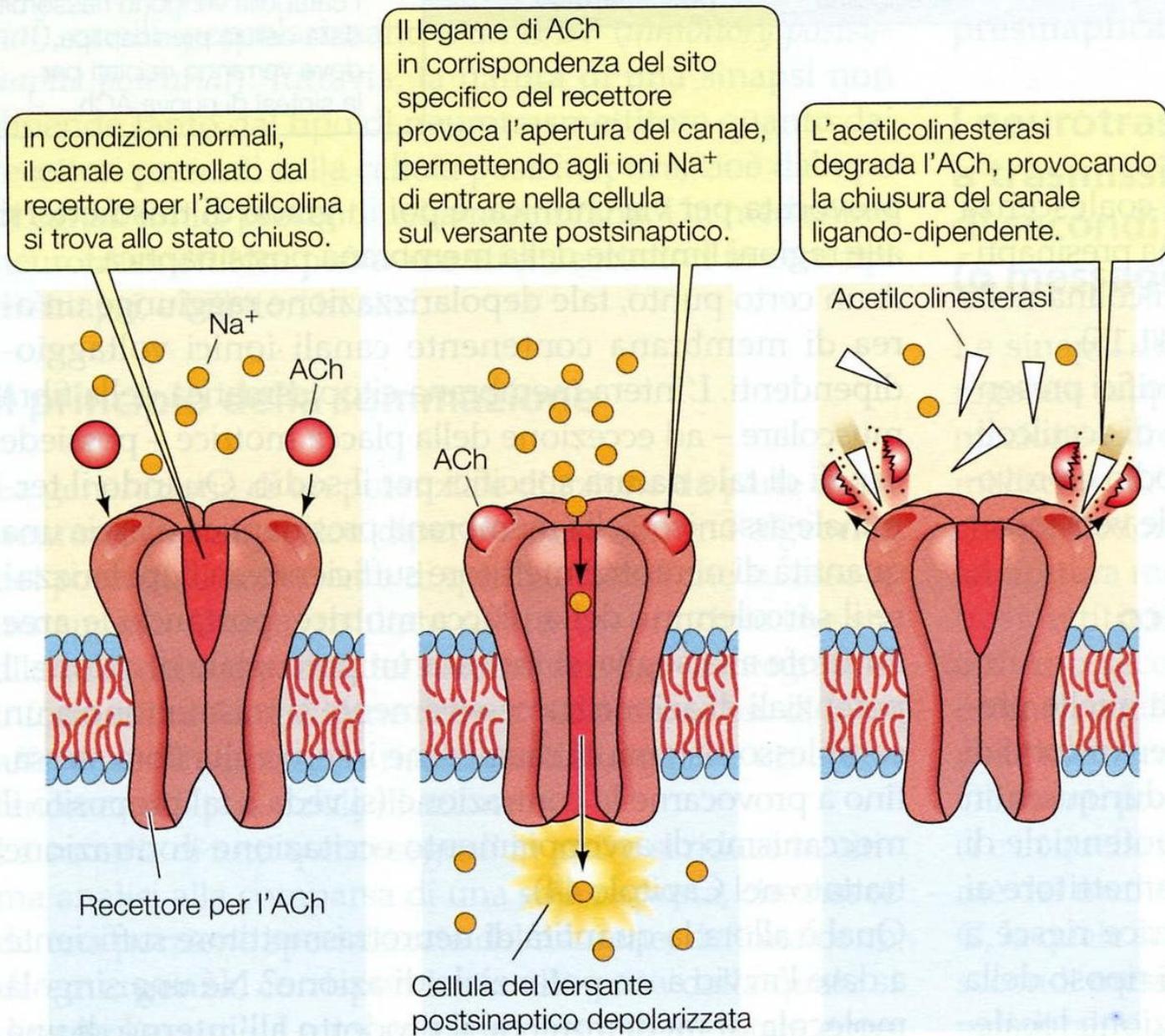
(a) Input eccitatorio

(b) Input inibitorio

■ **Figura 39-11 Confronto tra (a) un potenziale post-sinaptico eccitatorio (EPSP) e (b) un potenziale post sinaptico inibitorio (IPSP).** Da notare che un neurotrasmettitore, che apre i canali per il Na<sup>+</sup> genera EPSP. Questo porta alla genesi di un potenziale d'azione. Un neurotrasmettitore che apre i canali per il Cl<sup>-</sup> genera IPSP e in questo modo iperpolarizza la membrana.

# La risposta postsinaptica

Ogni molecola di recettore-canale contribuisce all'influsso di ioni



La quantità di corrente che ciascun canale lascia passare dipende dalla conduttanza e dal tempo di apertura

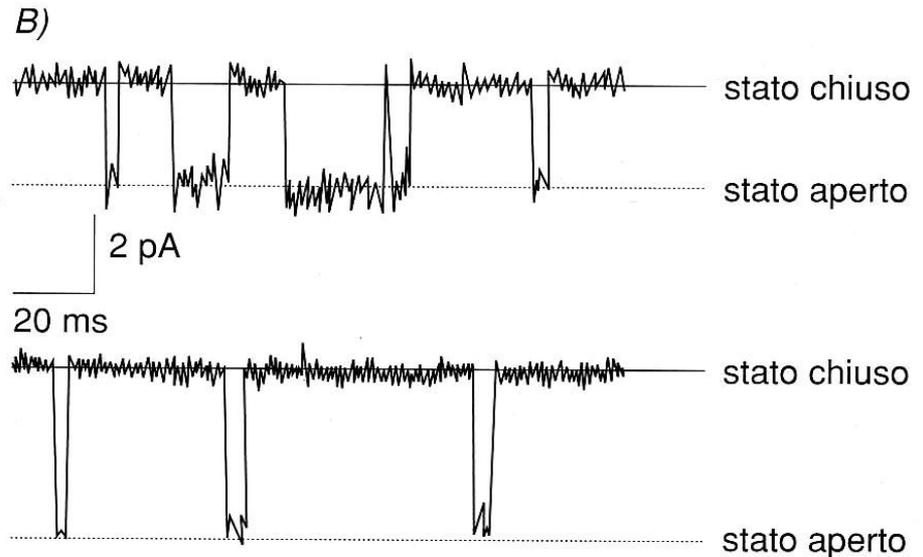
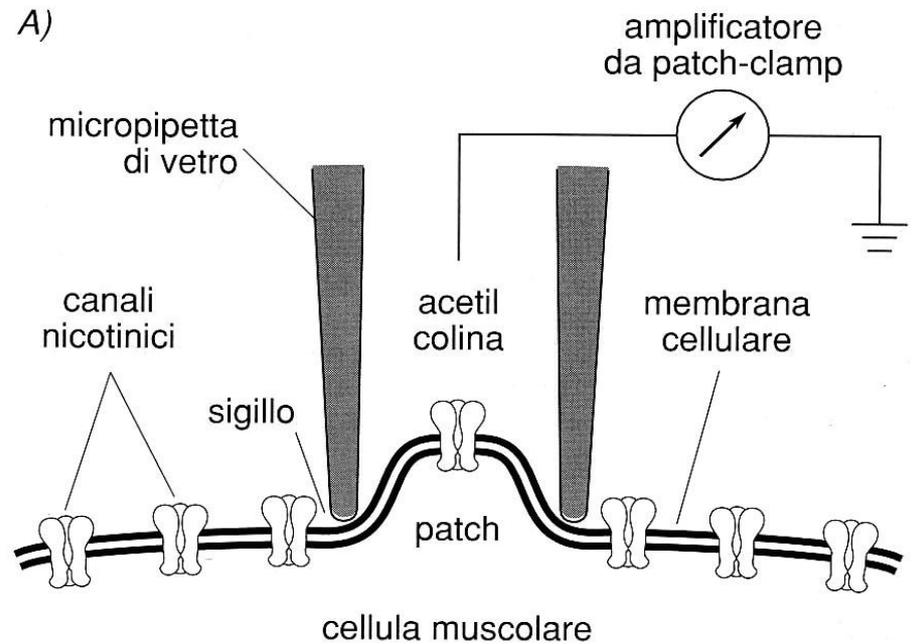


Fig. 6.8. Le proprietà funzionali del recettore nicotinico muscolare.

# Il recettore per l'acetilcolina muscolare AChR

E' detto nicotinico in quanto attivabile da nicotina

Il recettore nicotinico muscolare è un eteropentamero fatto da :

- 2 subunità alfa

- una subunità beta

- una subunità delta

- una subunità epsilon (nell'embrione o nel muscolo denervato è presente una subunità gamma al posto della subunità epsilon).

## AChR nervoso

Il recettore nicotinico è presente anche nel Sistema Nervoso Centrale ma differisce da quello muscolare per le subunità che lo compongono (solo subunità alfa e beta) e per la sensibilità ai farmaci

Nel SNC esistono 3 diverse subunità beta e 9 diverse subunità alfa che possono associarsi in combinazioni che sono specifiche per varie zone del SNC

I recettori nicotinici del SNC partecipano a modulare importanti funzioni come memoria e affettività

# Trasmissione sinaptica: la giunzione neuromuscolare

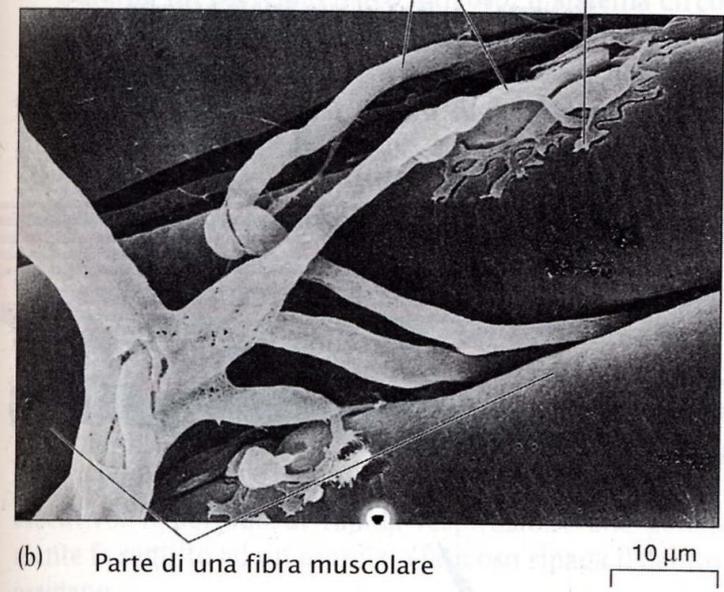
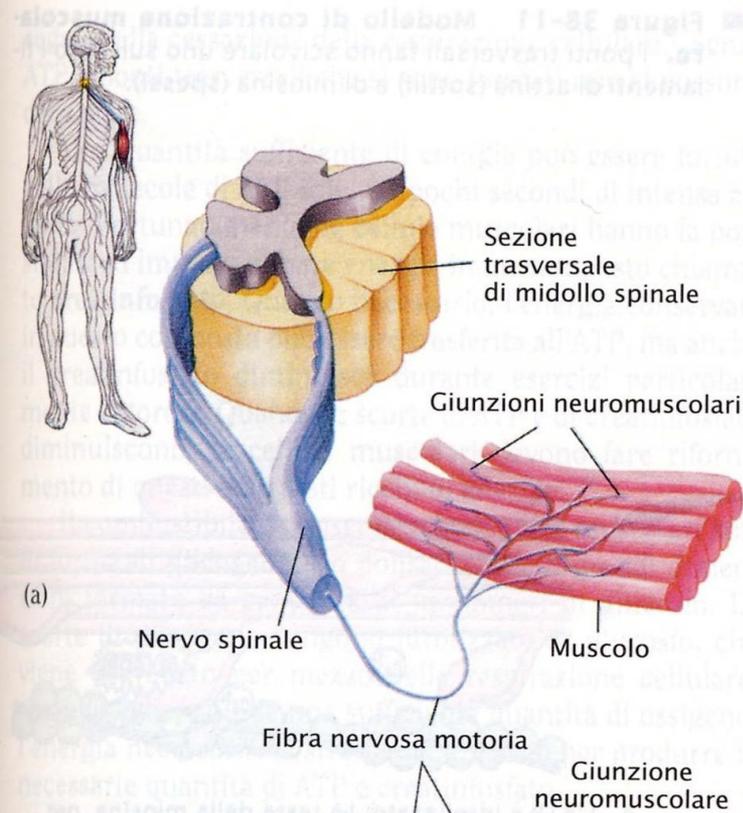


FIGURE 15-1. Electron micrograph of normal human NMJ. The right side of the nerve terminal is covered by a Schwann cell (S); the left side of the terminal faces the postsynaptic region of clefts and folds. Junctional sarcoplasm (X) contains glycogen granules, ribosomes, small tubular profiles, and nucleus. The arrow and asterisk mark primary and secondary synaptic clefts, respectively. ( $\times 30,600$ .) (Engel AG, *Handbook of Clinical Neurology*, vol 41, part II. New York: North Holland; 1979, pp 95-145. With permission.)

I recettori post-sinaptici sono concentrati ad alta densità

A

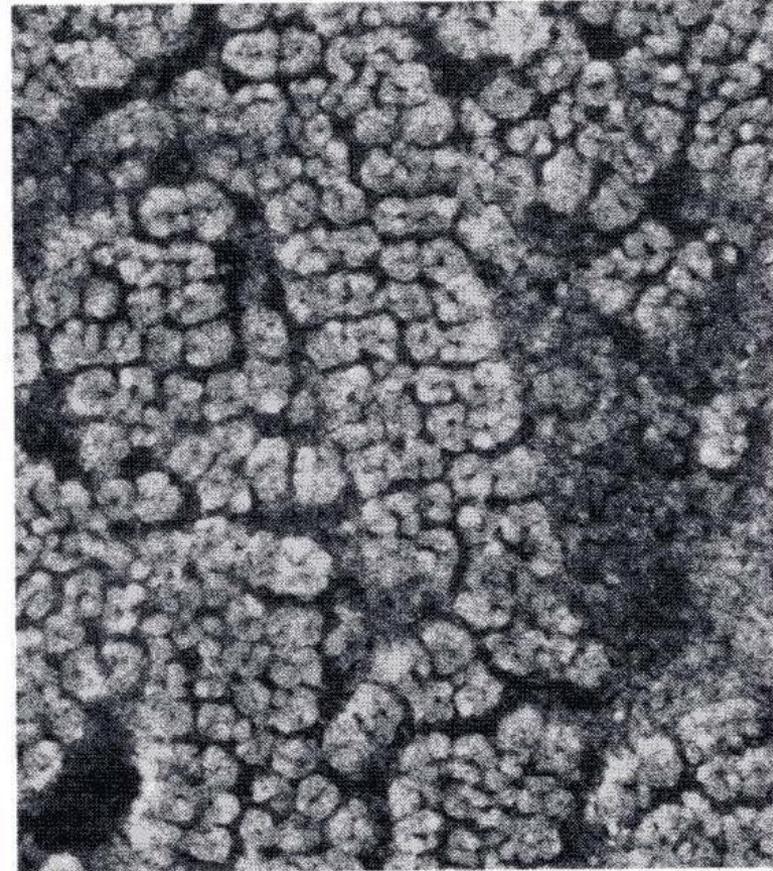


FIGURE 10-2

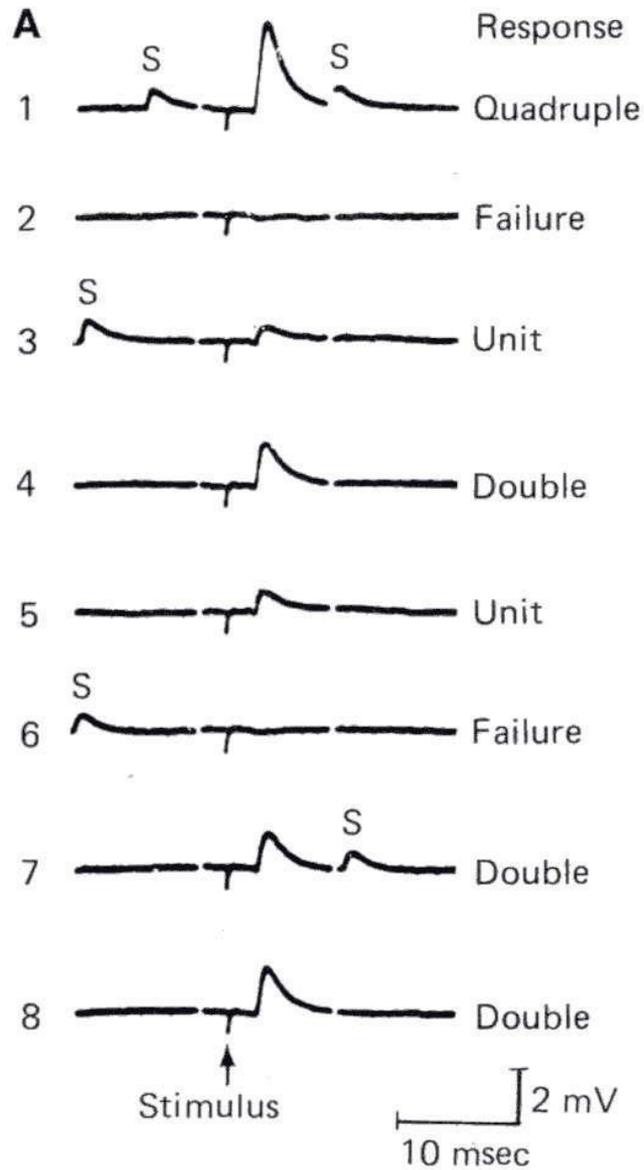


FIGURE 13-6

## Il rilascio quantale e i m.e.p.p.s

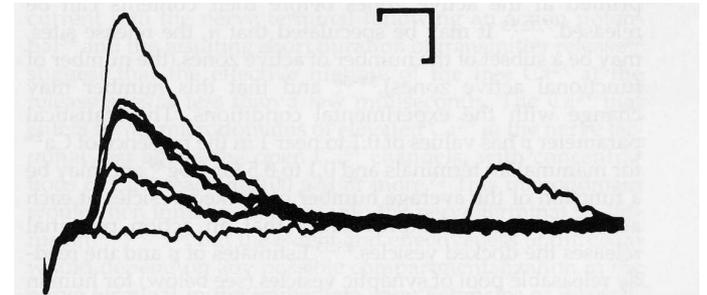
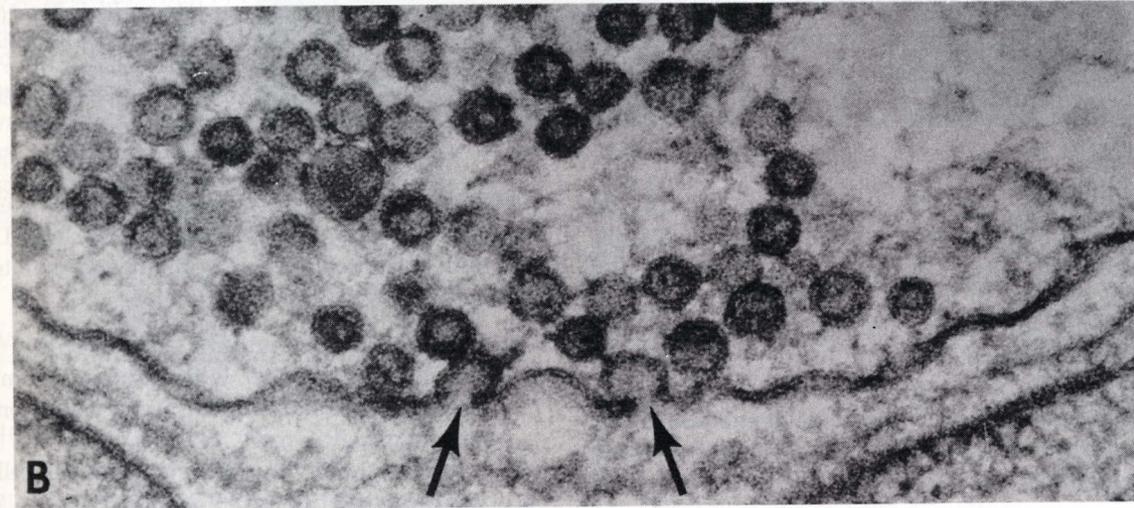
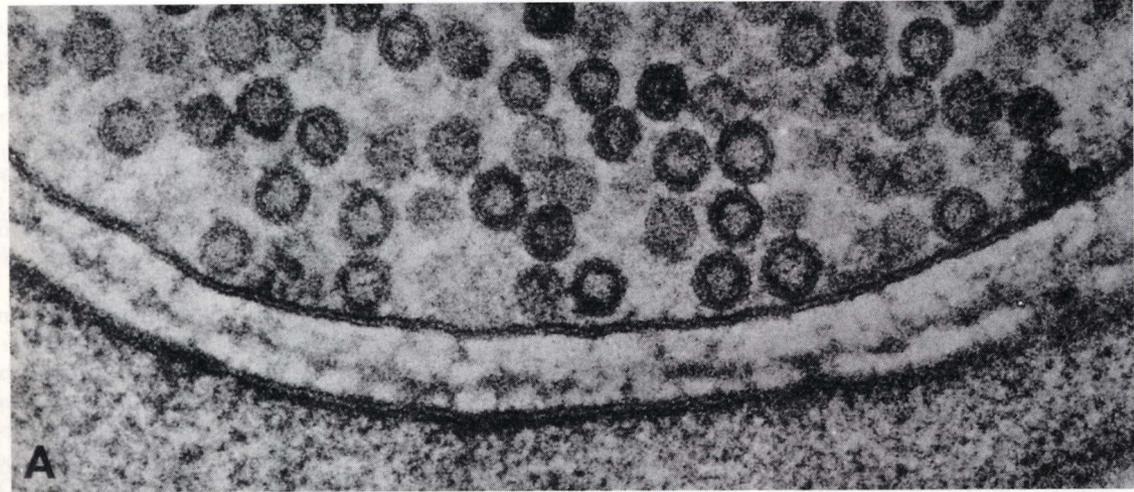


FIGURE 16-3. Quantal fluctuations in transmitter release. Intracellular recording from frog sartorius muscle under conditions of greatly reduced transmitter release obtained by raising  $[Mg^{2+}]_o$  to 5 mM and reducing  $[Ca^{2+}]_o$  to 0.5 mM. The responses obtained by stimulating the nerve seven consecutive times are superimposed. The EPP amplitude fluctuated from trial to trial in quantal steps of similar amplitude to the spontaneously occurring MEPP at the right of the figure. Three quanta were released in one trial, two quanta were released in three trials, one quantum was released in two trials, and one trial was a failure in which no quanta were released. The average quantal content of these seven trials was 1.57. Horizontal bar: 2.5 ms. Vertical bar: 0.3 mV. See Del Castillo and Katz<sup>15</sup> for first experiments of this type. (From Barrett EF, Magleby KL, in Goldberg AM, Hanin I (eds): *Biology of Cholinergic Function*. New York: Raven Press, 1976, pp 29-100. With permission.)

I quanta

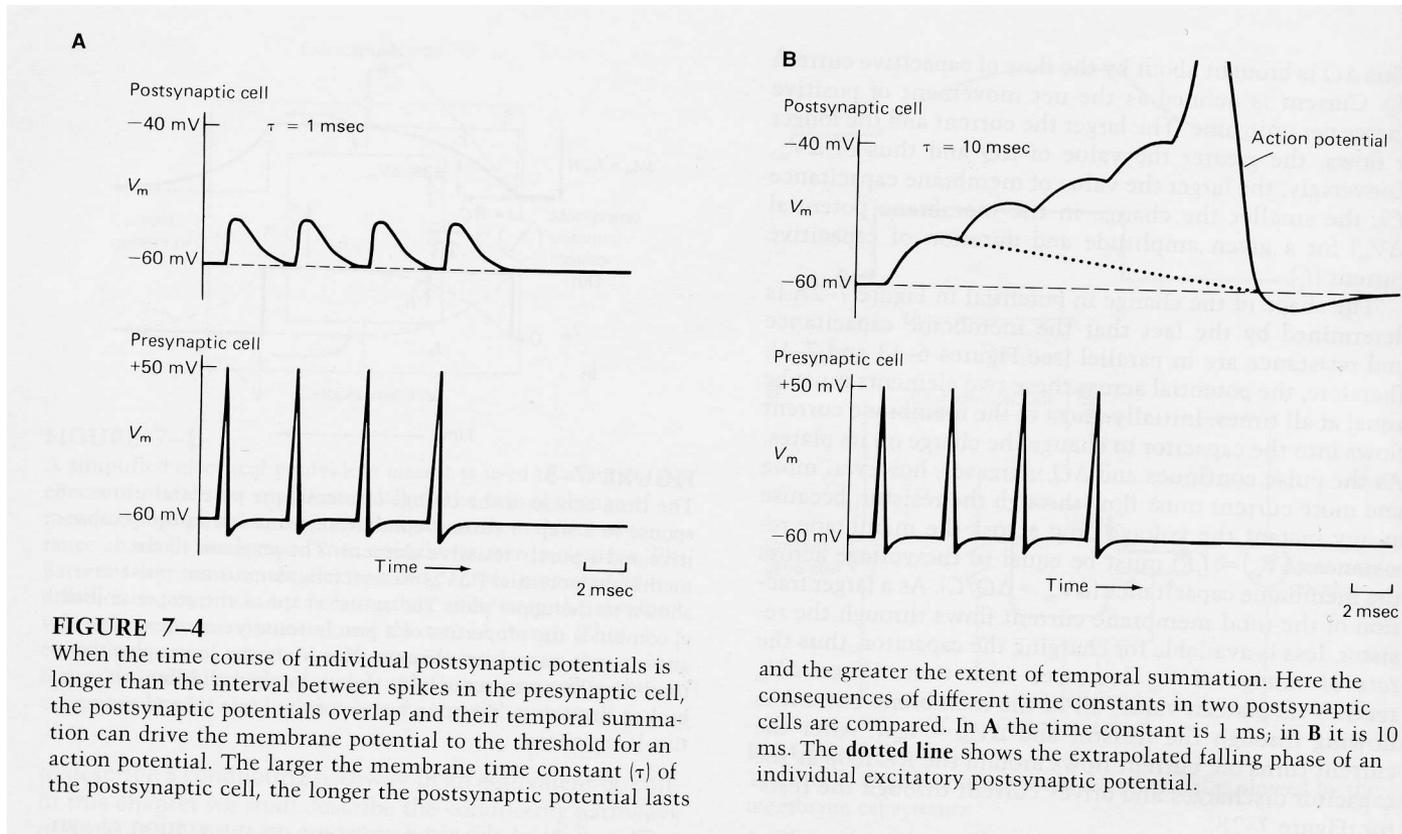
relazione con  
la secrezione  
vescicolare



21. Frog NMJ (A) at rest and (B) after stimulation in 4-line before ultrarapid freezing followed by freeze substitution. The stimulated nerve terminal is sectioned through zone. It displays two omega-shaped exocytotic images and many pockets. The smaller of these pockets have the center and curvature as synaptic vesicles. The larger, shall-

lower pockets look like collapsing vesicles. In both A and B the synaptic space shows a central, feathery layer of basal lamina connected by lateral extensions to the pre- and postsynaptic membranes. ( $\times 153,000$ .) These micrographs were prepared by Dr. John Heuser. (Heuser JE, Reese TS, *J Cell Biol* 88:564, 1981. With permission.<sup>231</sup>)

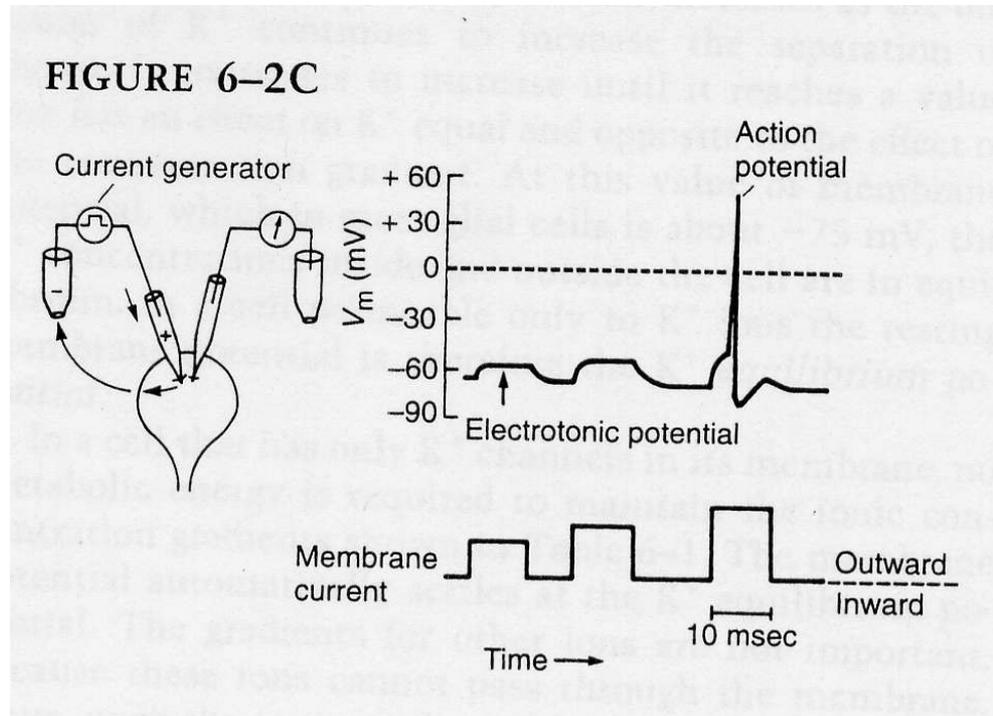
# La generazione del potenziale d'azione



Integrale dei canali attivi in uno stesso tempo

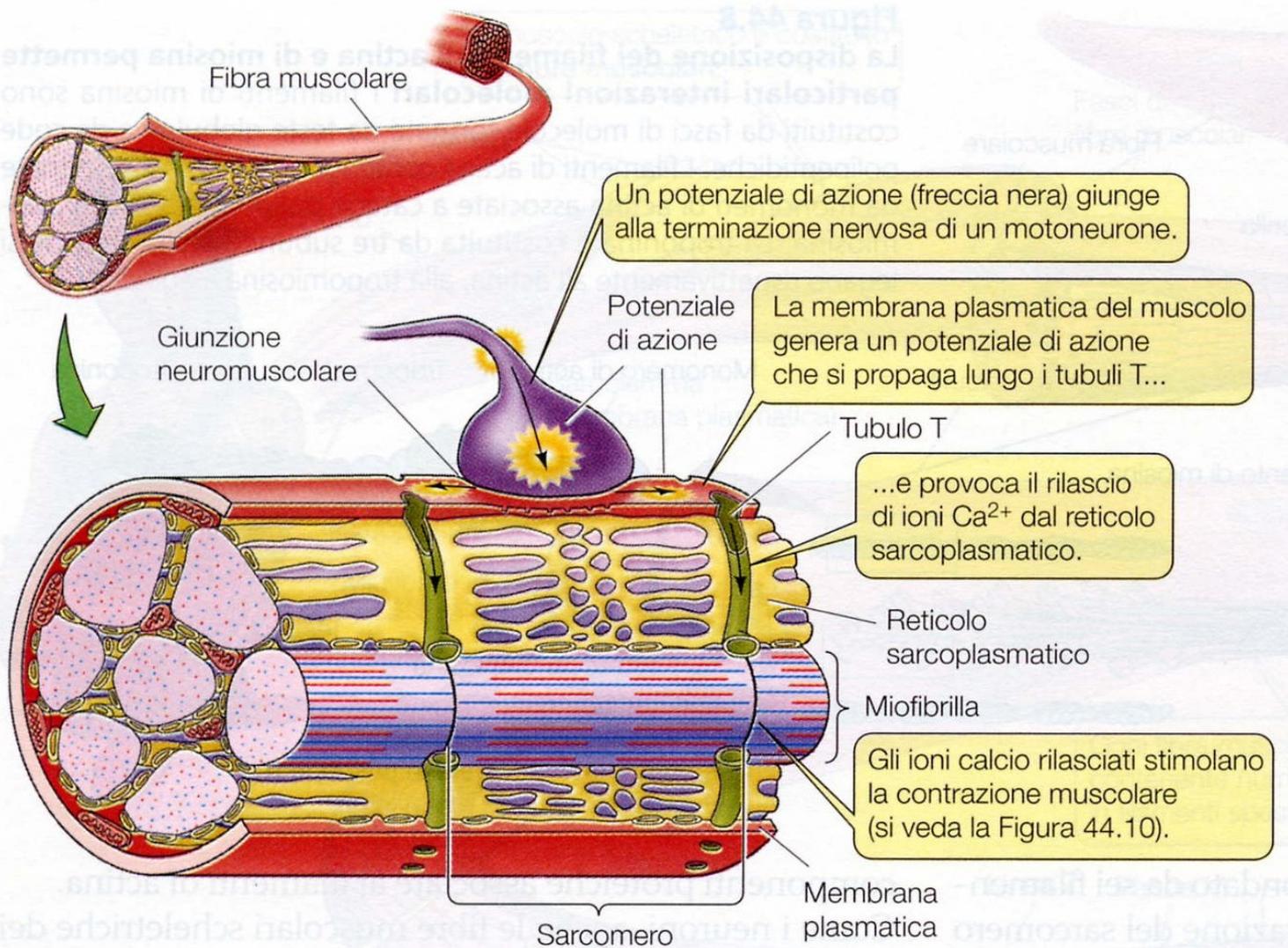
Integrale delle depolarizzazioni indotte in una stessa area

Quando la depolarizzazione indotta dai recettori post-sinaptici raggiunge un valore critico si genera il potenziale d'azione

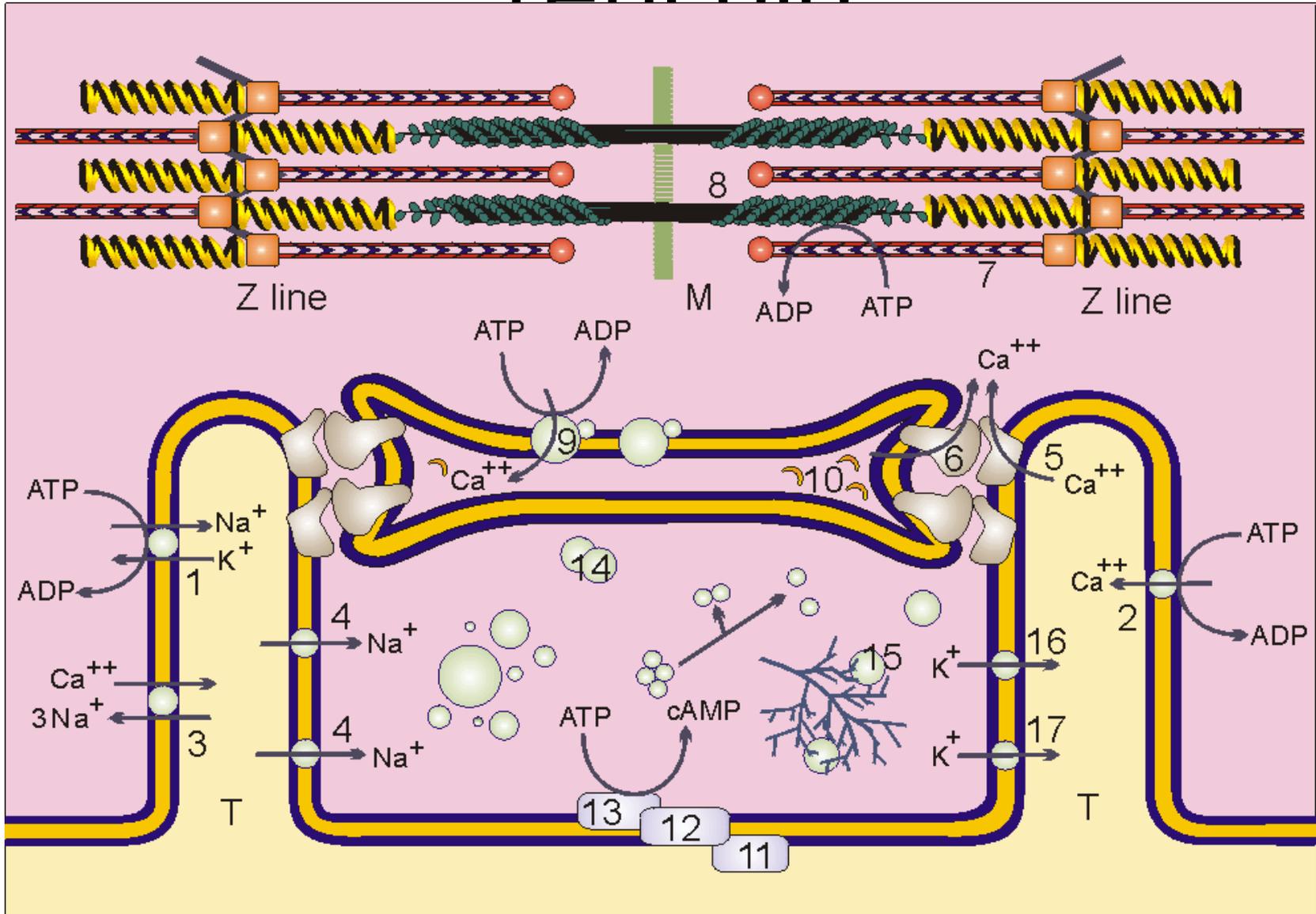


Il potenziale d'azione si genera quando il potenziale post-sinaptico porta il potenziale di membrana al valore soglia dei canali al sodio voltaggio-dipendenti

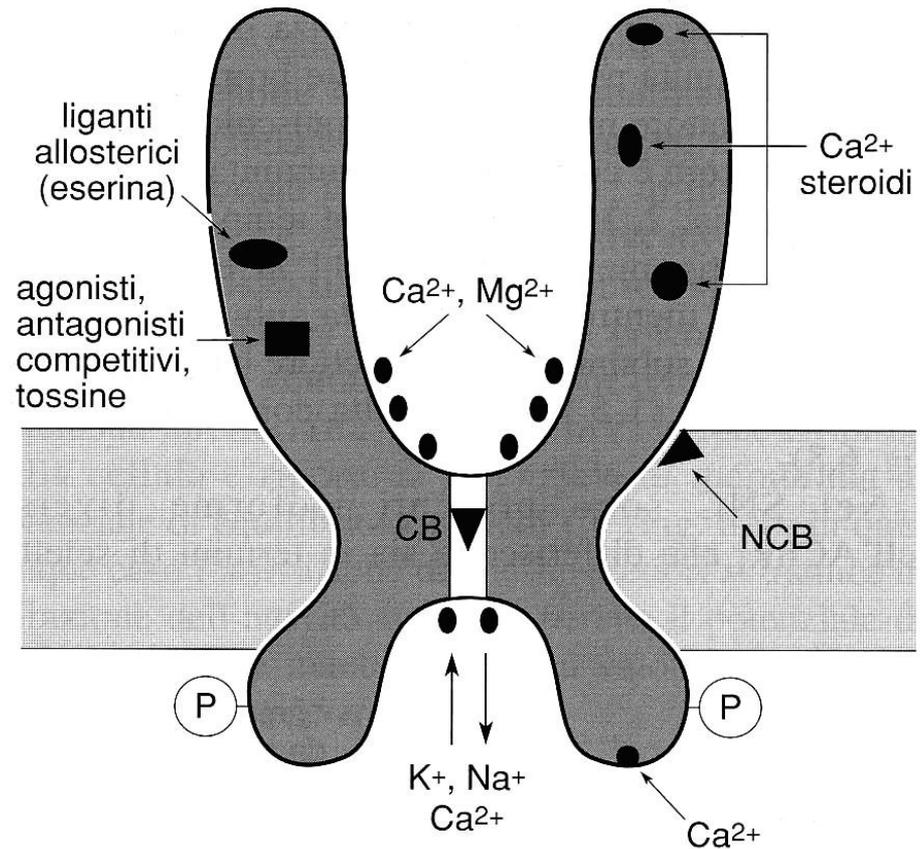
# La trasmissione dell'impulso sinaptico



# Il rilascio di $\text{Ca}^{2+}$ dal reticolo



# Modulazione farmacologica dell'AChR muscolare



Antagonisti competitivi:  
d-tubocurarina e analoghi  
impediscono l'attivazione  
dell'AChR da parte  
dell'acetilcolina

Utilizzati come paralizzanti  
in anestesia

**Fig. 6.9.** Rappresentazione schematica del sito di legame di agonisti, antagonisti e dei numerosi siti allosterici che modulano a funzionalità del recettore nicotinico. I siti allosterici che legano il Ca<sup>2+</sup>, gli steroidi, l'eserina e i bloccanti non competitivi, sono distribuiti sulla parte esterna del canale, nel canale stesso, all'interfaccia con la membrana e nella parte citoplasmatica del recettore. P = sito di fosforilazione, CB = bloccanti del canale, NCB = bloccanti non competitivi.

# Modulazione farmacologica di AChR: esempio di desensitizzazione

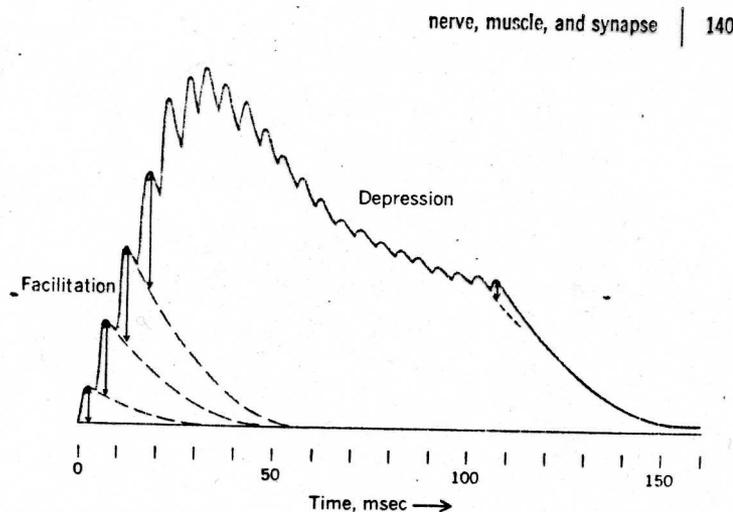
## Desensitizzazione

Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore

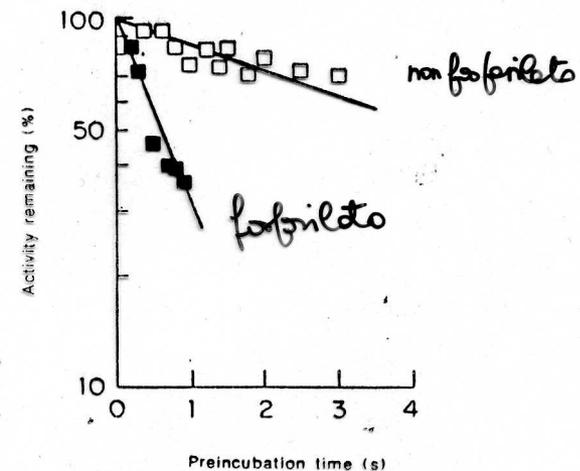
Fenomeno che ha luogo per molti recettori (anche non di tipo recettore-canale)

Spesso legato a fosforilazione modulata da altri recettori

Può causare depressione sinaptica



Progressive changes of postsynaptic potentials (for example, e.p.p.'s) during repetitive impulse bombardment, illustrating "facilitation" followed by "depression."



# Farmaci depolarizzanti

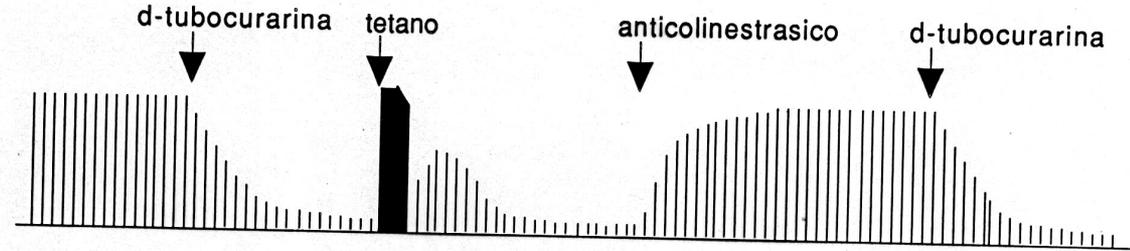
La stimolazione prolungata dei recettori canale provoca nel giro di pochi secondi desensitizzazione

(incapacità del recettore a rispondere al neurotrasmettitore)

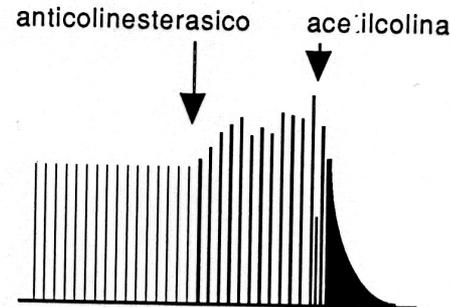
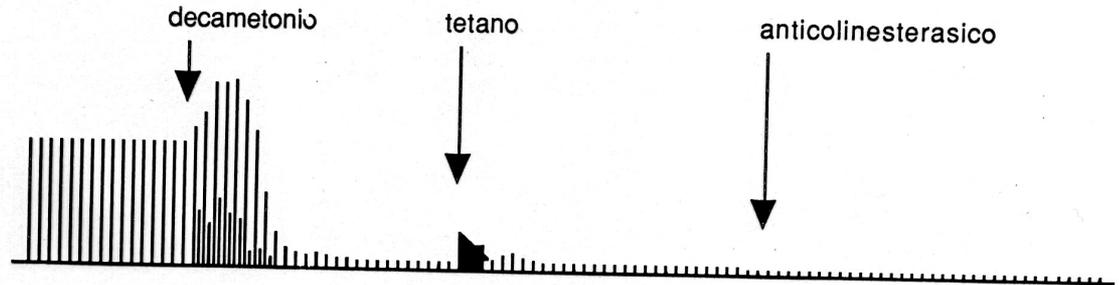
Decametonio ed analoghi

Utilizzati in anestesia

I depolarizzanti inducono paralisi spastica (attivano il recettore nicotino)

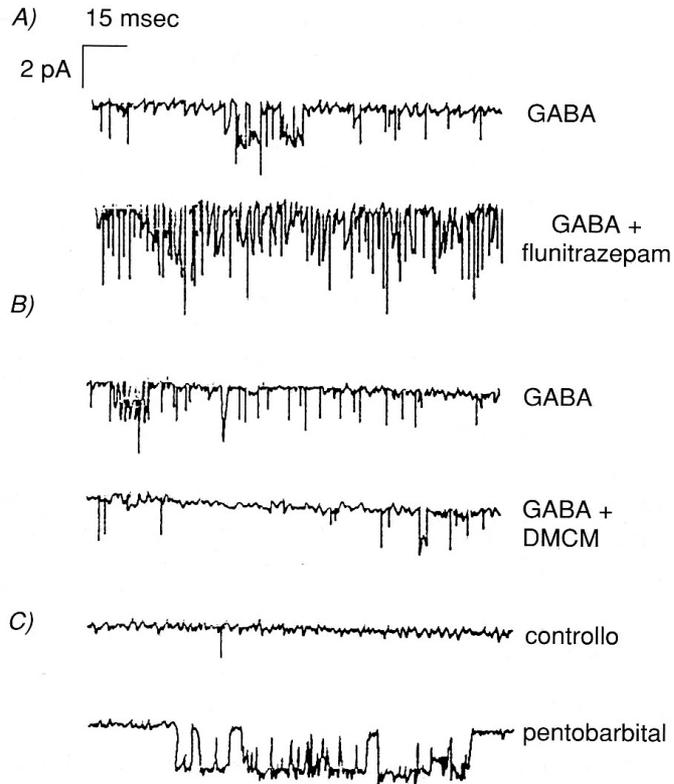


Descrivi accuratamente le variazioni di trasmissione sinaptica e formula delle ipotesi sul meccanismo d'azione. Nel grafico successivo viene provato un farmaco per te nuovo; decametonio: classificato come curaro in quanto il suo effetto finale è di inibire la trasmissione neuromuscolare. Tuo compito è di formulare un'ipotesi sul suo meccanismo d'azione. A tal proposito, dovrebbe esserti d'aiuto l'ultimo esperimento (anticolinesterasico + acetilcolina)



# Recettore canale per il GABA

Esempio di modulazione allosterica da parte di benzodiazepine



Le benzodiazepine non attivano il recettore GABA ma ne potenziano l'attivazione da parte del GABA

**Fig. 29.3.** Correnti di singolo canale al cloro attivate da vari modulatori del recettore GABA<sub>A</sub> in un "outside-out patch" staccato dalla membrana di cellule di corteccia cerebrale di ratto (A e B) o di cellule di midollo spinale di topo (C). A) La corrente attivata dal GABA (1  $\mu$ M) è potenziata dalla benzodiazepina flunitrazepam (1  $\mu$ M). B) La corrente attivata dal GABA (1  $\mu$ M) è inibita dalla  $\beta$ -carbolina DCMC (5  $\mu$ M). C) Corrente attivata dal barbiturico pentobarbital (150  $\mu$ M); in questo caso il tracciato di controllo è ottenuto in assenza di GABA. I barbiturici inducono apertura del canale del recettore GABA<sub>A</sub> anche in assenza del neurotrasmettitore e lo mantengono aperto per un tempo maggiore.

Recettori accoppiati a Proteina G

GPCR

**ovvero**

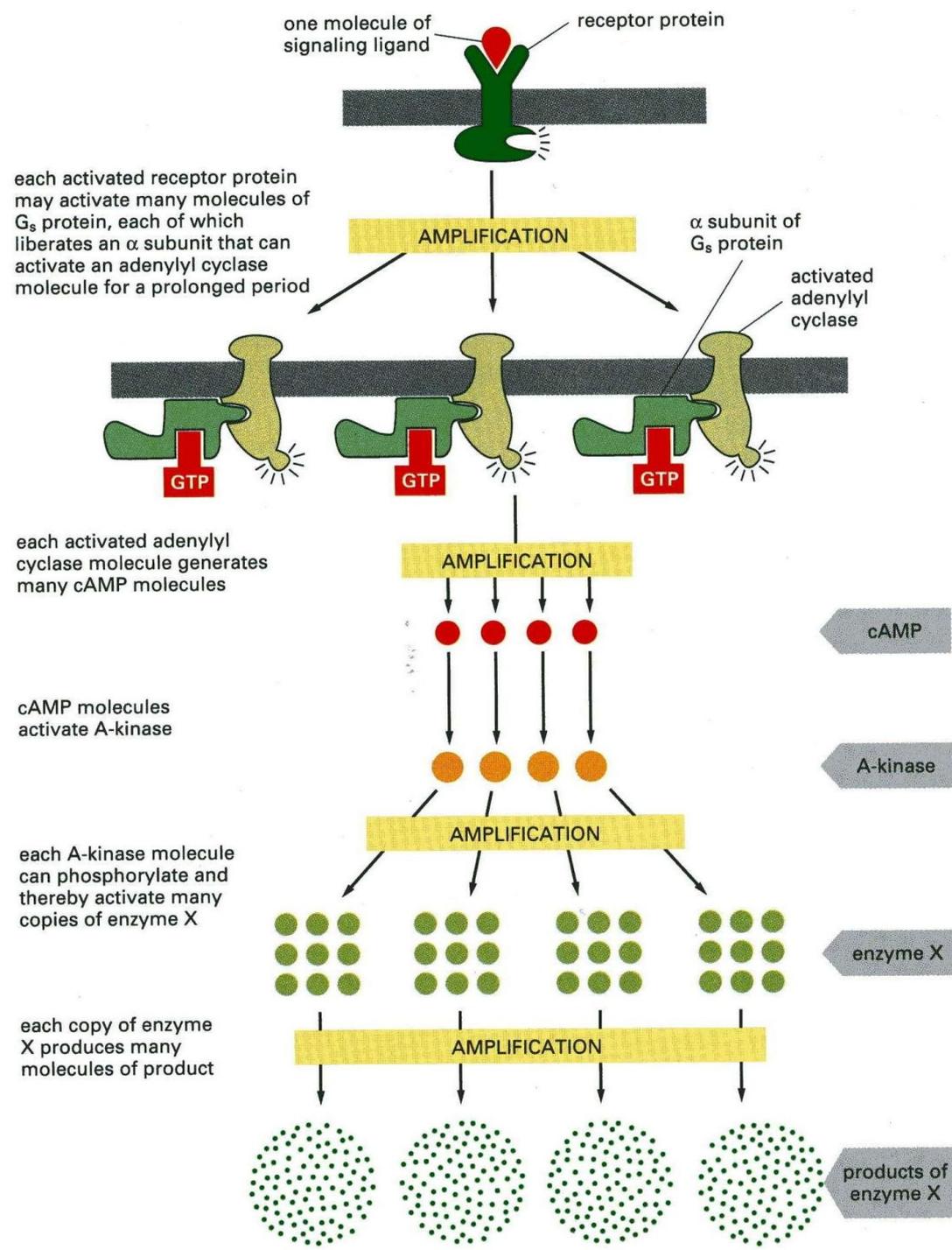
**Recettori che trasducono il segnale generando**

**Il messaggeri**

# GPCR

Recettore per	Proteina G	Effettore	Recettore per	Proteina G	Effettore
<b>Neurotrasmettitori:</b>					
Catecolamine Adrenergico $\beta_1$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi ↑ Canali al $Ca^{2+}$	Ormone di rilascio del TSH (TRH)	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
Adrenergico $\beta_2, \beta_3$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	Fattore di rilascio dell'ACTH (CRF)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
Adrenergico $\alpha_1$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C	Somatostatina	$G_i/G_o$	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al $K^+$ ↓ Canali al $Ca^{2+}$
Adrenergico $\alpha_2$	$G_i/G_o$	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al $K^+$ ↓ Canali al $Ca^{2+}$	Vasopressina		
Dopamina			$V_1$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
$D_1$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	$V_2$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
$D_2$	$G_i/G_o$	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al $K^+$ ↓ Canali al $Ca^{2+}$	Glucagone	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
Serotonina			Ormone paratiroideo (PTH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
$5-HT_1$	$G_i$	↓ Adenilato ciclasi	Calcitonina	$G_q?$	↑ Fosfolipasi C
$5-HT_2$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C		$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
$5-HT_4$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi		$G_q?$	↑ Fosfolipasi C
Acetilcolina			<b>Altri fattori di regolazione:</b>		
Muscarinico $M_1, M_3, M_5$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C	Trombina	$G_i$	↓ Adenilato ciclasi
Muscarinico $M_2, M_4$	$G_i$	↓ Adenilato ciclasi ↑ Canali al $K^+$		$G_q$	↑ Fosfolipasi C
<b>Ormoni peptidici:</b>			Bradichinina		
Ormone adrenocorticotropo (ACTH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	$B_2$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
Ormone luteinizzante (LH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	<b>Eicosanoidi:</b>		
	$G_q?$	↑ Fosfolipasi C	Prostaglandina $PGE_2$		
Ormone follicolo-stimolante (FSH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	$EP_1$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
Ormone tireotropo (TSH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	$EP_2$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
	$G_q$	↑ Fosfolipasi C	$EP_3$	$G_i$	↓ Adenilato ciclasi
Ormone di rilascio del GH (GHRH)	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi	Prostaglandina $PGF_{2a}$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
Ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH)	$G_q$	↑ Fosfolipasi C	Prostaciclina $PGI_2$	$G_s$	↑ Adenilato ciclasi
			Leucotrieni $LTC_4, LTD_4$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
			Trombossano $TXA_2$	$G_q$	↑ Fosfolipasi C
			<b>Fotoni</b>		
			Rodopsina	$G_t$	↑ cGMP fosfodiesterasi

I secondi messaggeri rappresentano un sistema di amplificazione del messaggio del neurotrasmettitore



# Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

## Tipi di II messaggeri

Nucleotidi ciclici: cAMP

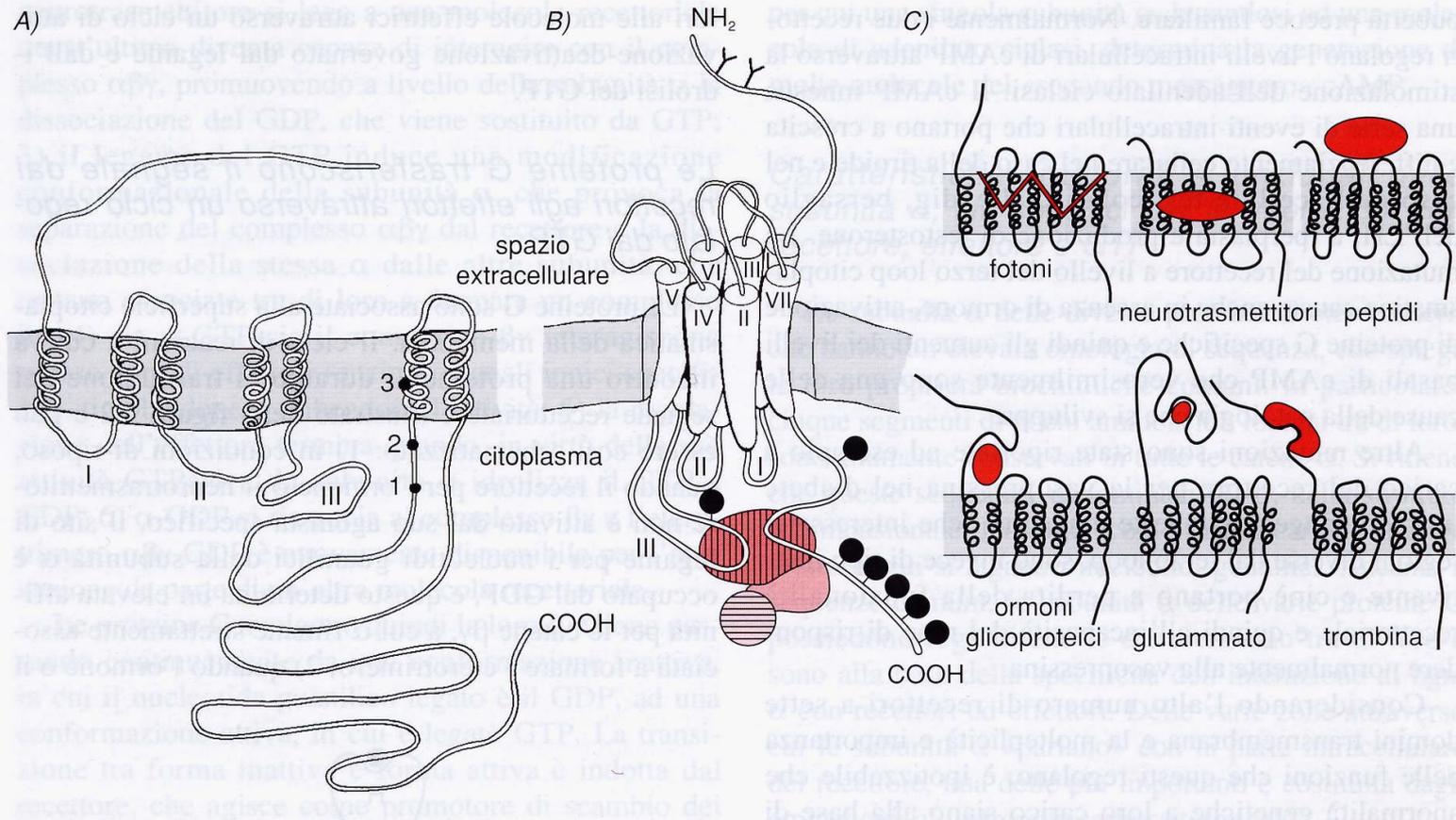
Costituenti della membrana cellulare: IP3

Ioni: Ca<sup>2+</sup>

# Struttura dei GPCR

Recettori accoppiati alle proteine G

89



Recettori monomerici con 7 domini transmembrana

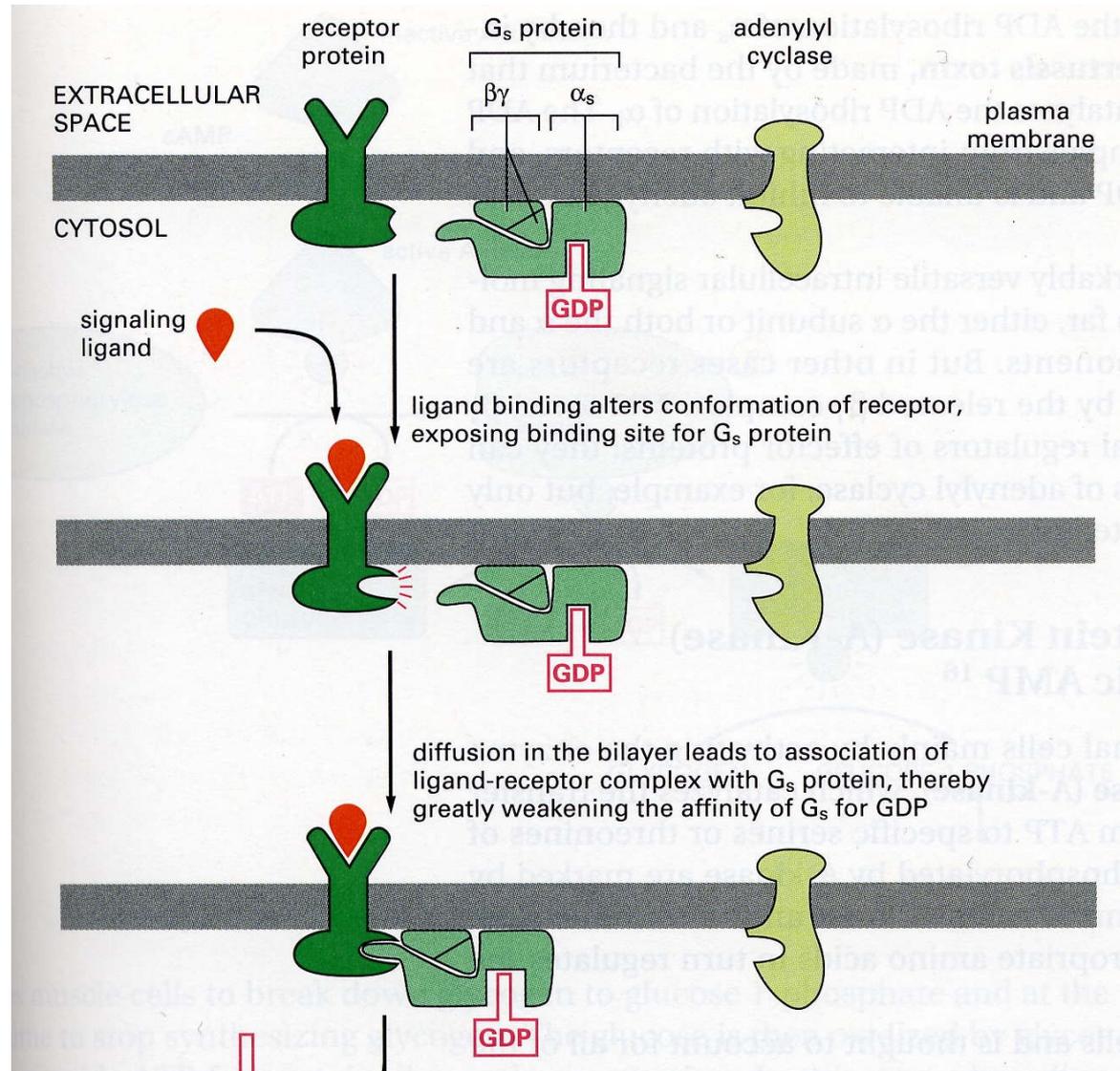
# Il ciclo delle proteine G

La proteina G

Famiglia di  
proteine  
trimeriche

Subunità  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$

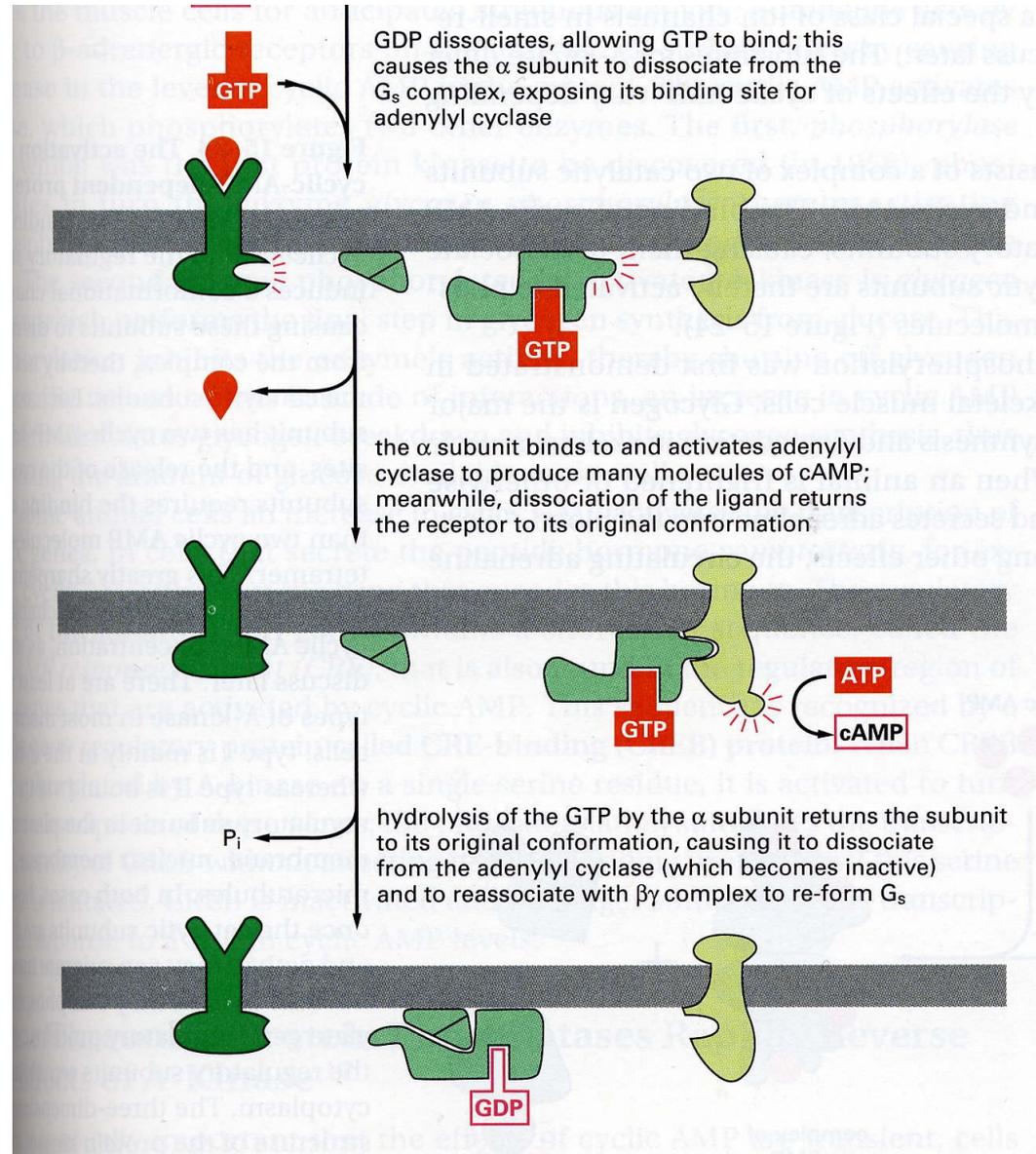
La subunità  $\alpha$   
possiede attività  
GTPasica



# Il ciclo delle proteine G

La durata del segnale indotto dall'attivazione del GPCR è funzione dell'attività GTPasica della proteina G con cui interagisce

Vedi movie



# GPCR

La subunità  $\alpha$  e il complesso  $\beta/\gamma$  attivano effettori che possono essere

Enzimi:

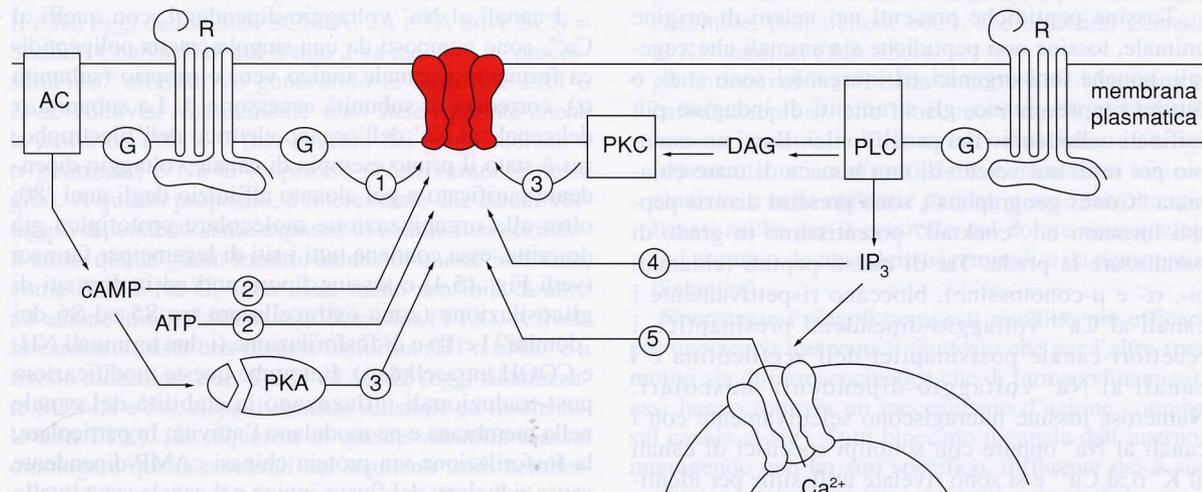
Adenilati ciclasi  
Fosfolipasi

Canali ionici

Es. canale Na e K in cuore per controllo

frequenza

controllo



# Il messaggeri: cAMP

**Table 15-1** Some Hormone-induced Cellular Responses Mediated by Cyclic AMP

<b>Target Tissue</b>	<b>Hormone</b>	<b>Major Response</b>
Thyroid gland	thyroid-stimulating hormone (TSH)	thyroid hormone synthesis and secretion
Adrenal cortex	adrenocorticotrophic hormone (ACTH)	cortisol secretion
Ovary	luteinizing hormone (LH)	progesterone secretion
Muscle	adrenaline	glycogen breakdown
Bone	parathormone	bone resorption
Heart	adrenaline	increase in heart rate and force of contraction
Liver	glucagon	glycogen breakdown
Kidney	vasopressin	water resorption
Fat	adrenaline, ACTH, glucagon, TSH	triglyceride breakdown

# cAMP

Prodotto da enzima Adenilatociclasasi attivato da proteina  $G\alpha$

cAMP attiva

Enzimi (es proteinkinasi A, fosfatasi)

Canali (es Na f di cuore che regola frequenza)

Trascrizione genica (CREB)

La durata degli effetti di cAMP dipende:

dalla velocità dei sistemi che riducono la concentrazione di cAMP (fosfodiesterasi inibiti da thé, Viagra)

dall'attività dei sistemi che contrastano gli effetti dell'attivazione di enzimi

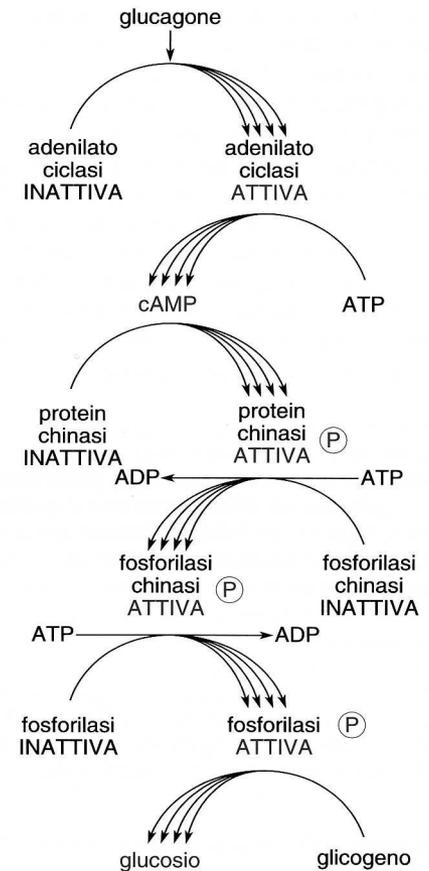
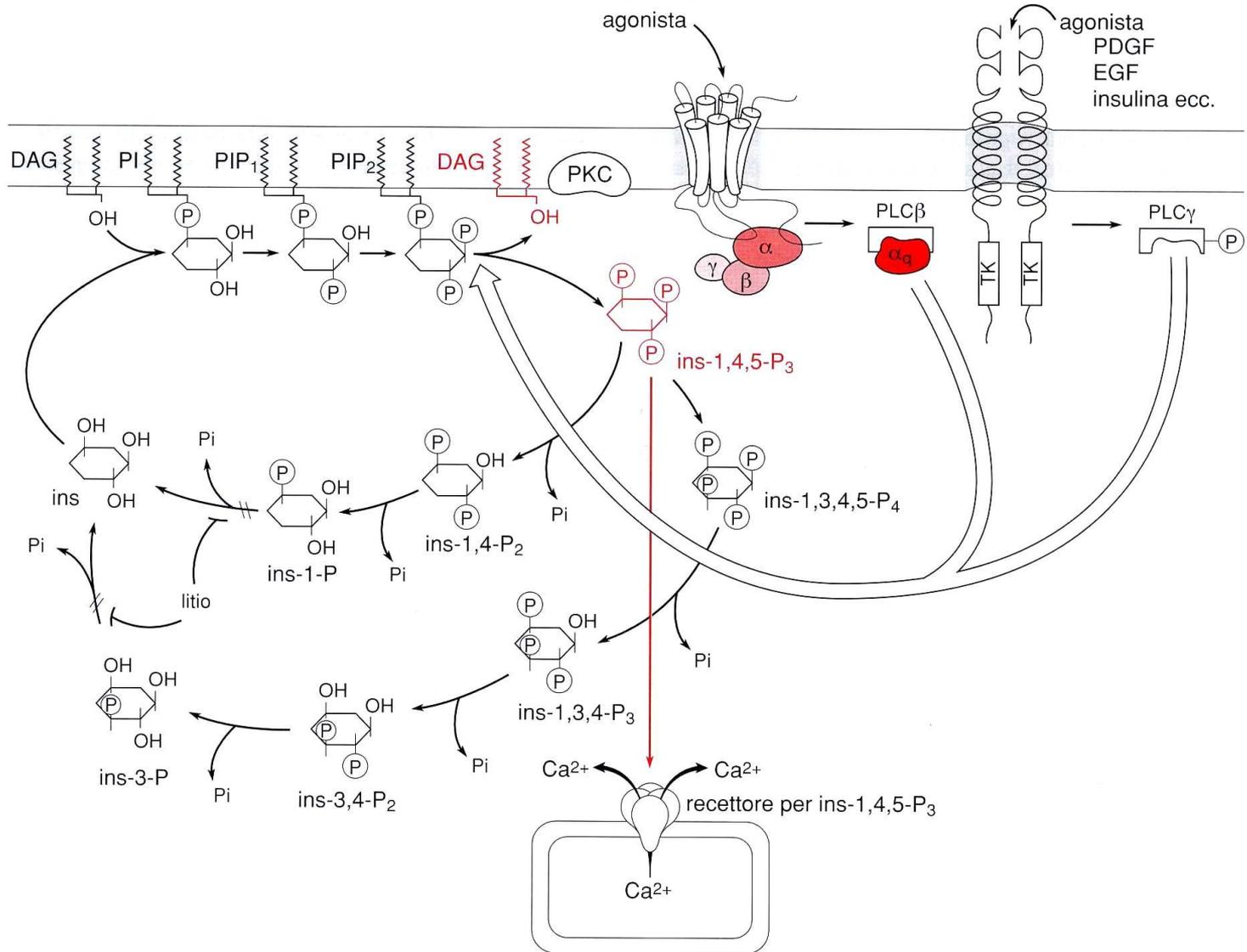
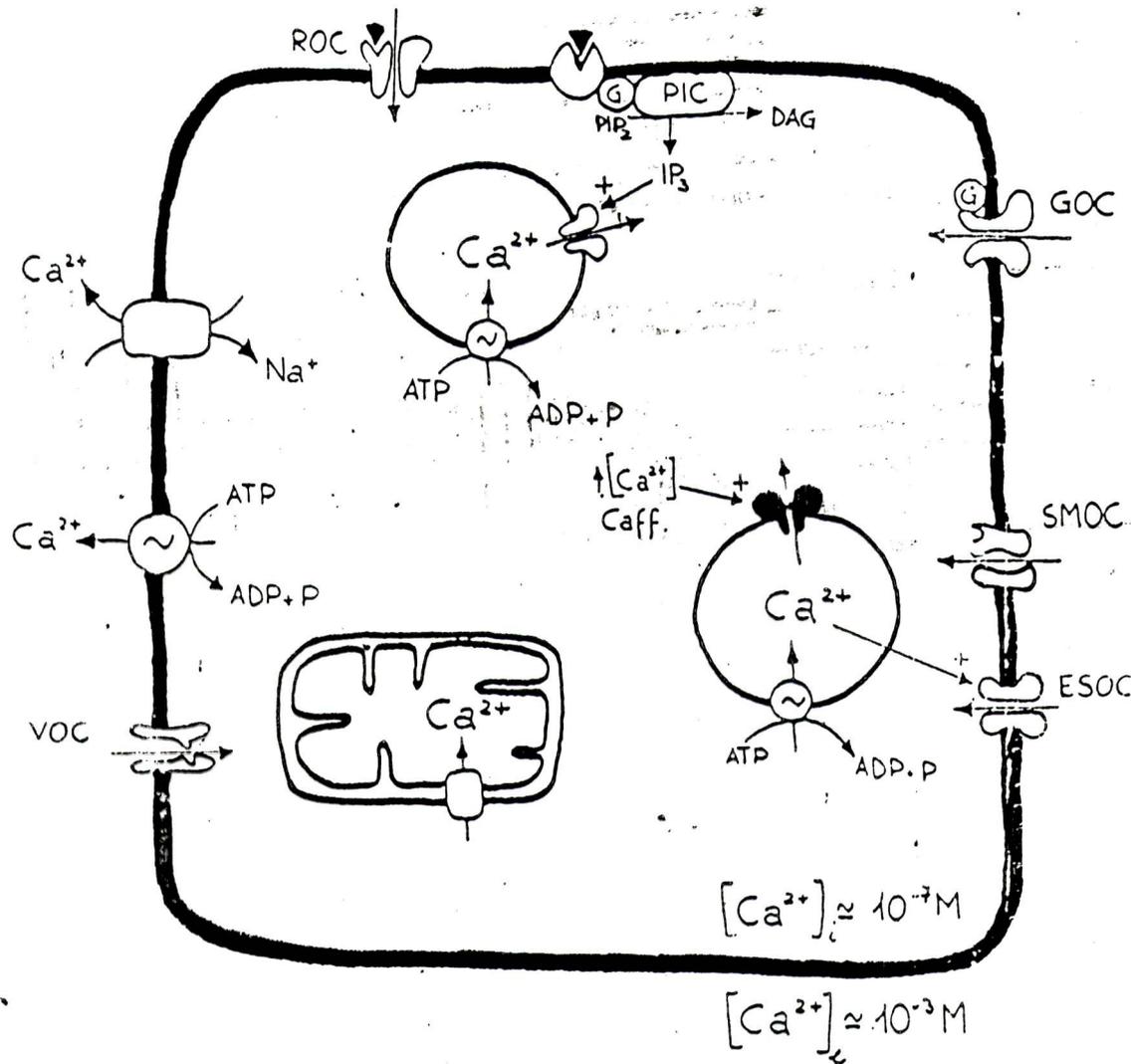


Fig. 4.9. Meccanismo di amplificazione a cascata del segnale. L'esempio riguarda l'attivazione della glicogenolisi da parte del glucagone. Il fattore di amplificazione della risposta ad ogni passaggio varia fra  $10^2$  e  $10^6$ .

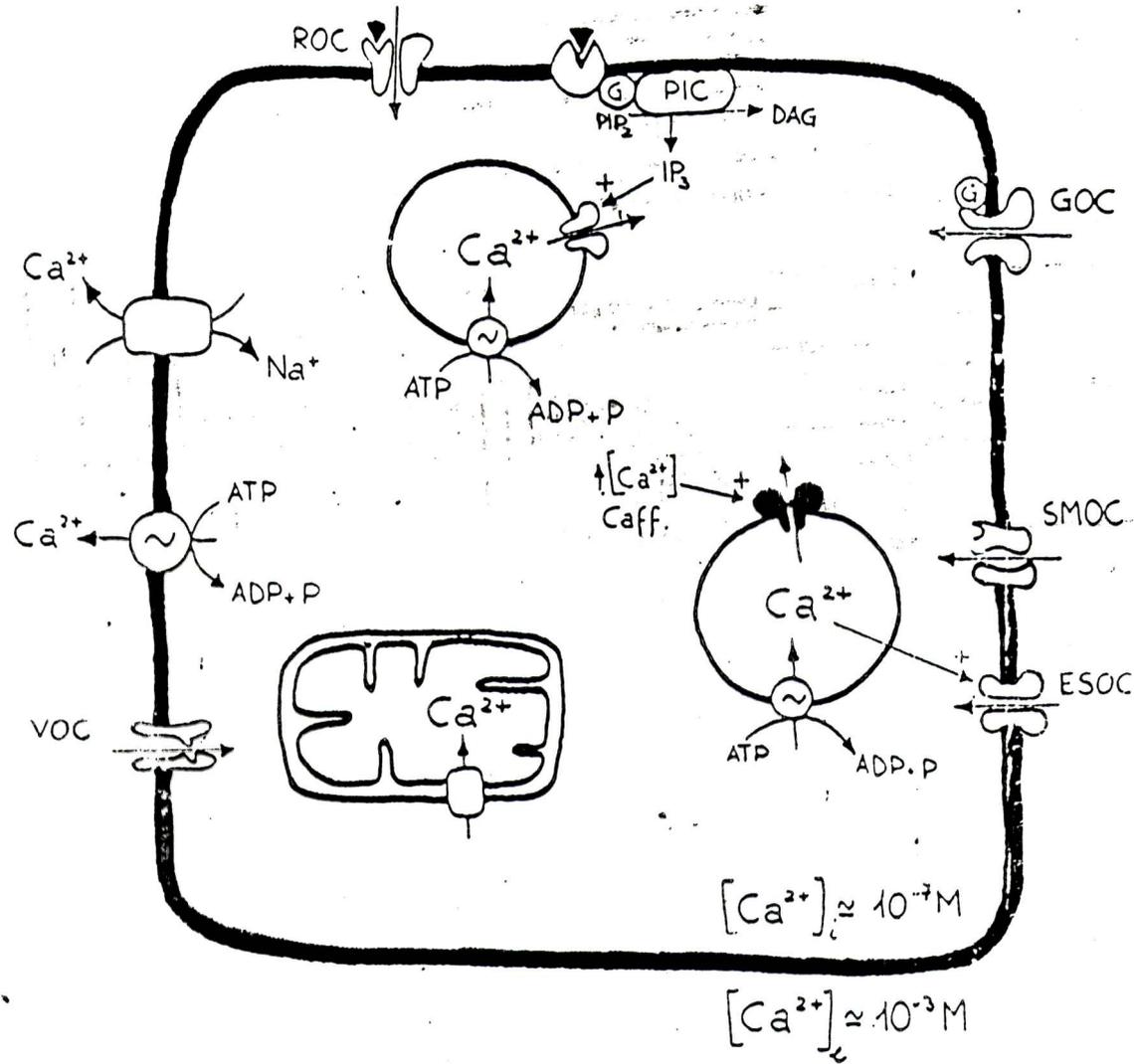
# Il messaggeri: IP3



# Il messaggeri: lo ione $\text{Ca}^{2+}$



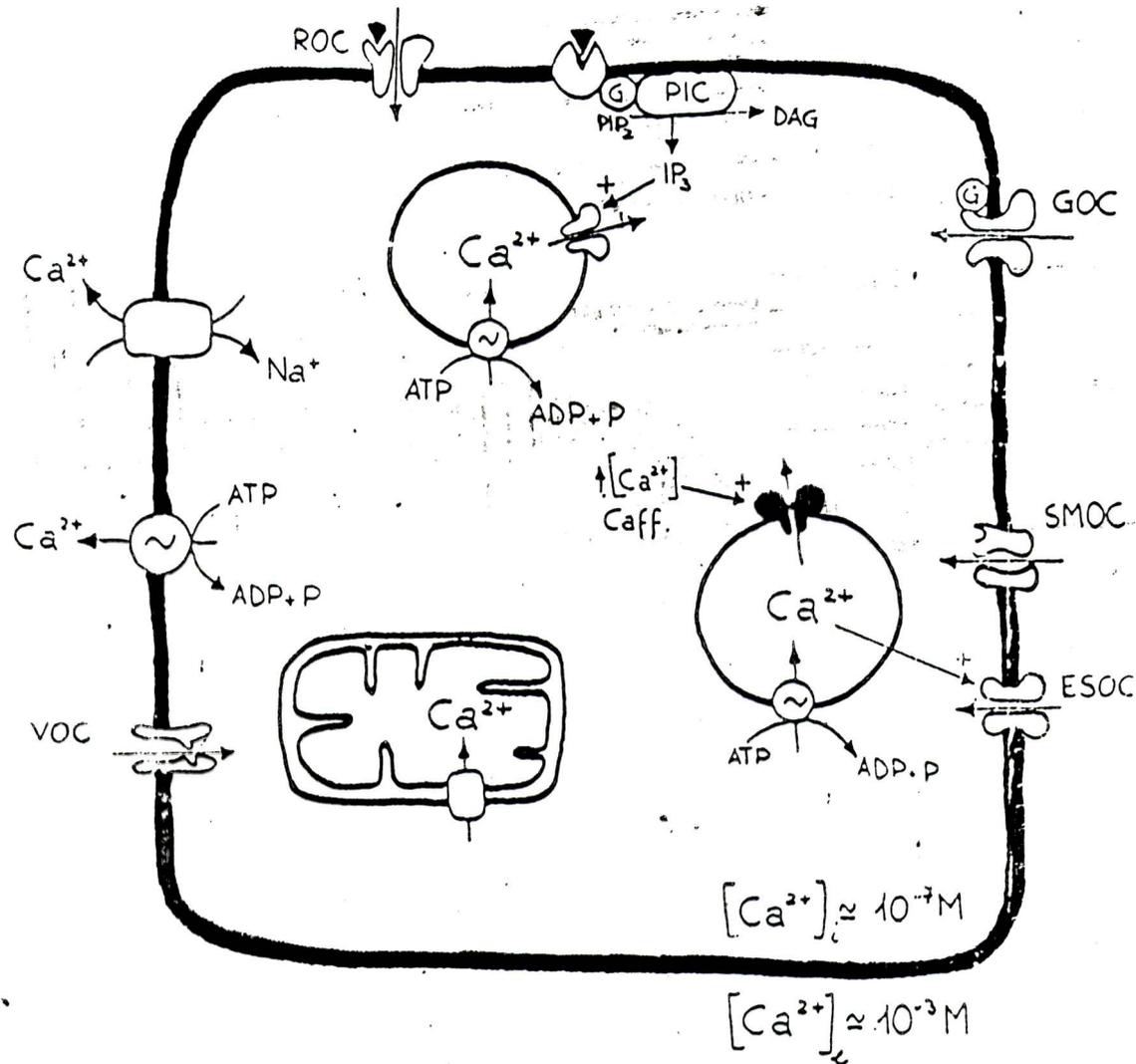
La  
concentrazione  
intracellulare di  
 $\text{Ca}^{2+}$  libero è  
10.000 volte più  
bassa che nello  
spazio  
extracellulare



Sistemi molecolari per abbassare la concentrazione intracellulare di  $\text{Ca}^{2+}$

Estrusione e sequestro

Sistemi molecolari per alzare la concentrazione intracellulare di  $\text{Ca}^{2+}$



# Omeostasi del $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

## POMPE AL CALCIO

$\text{Ca}^{2+}$ ATPASI DI MEMBRANA

Alta affinità ma bassa capacità per lo ione  $\text{Ca}^{2+}$

SERCA

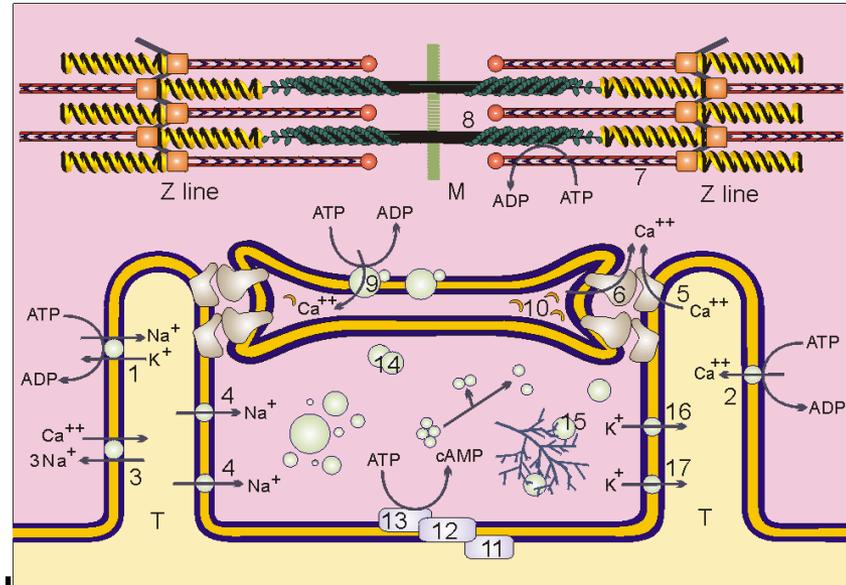
## TRASPORTATORI AL $\text{Ca}^{2+}$

SCAMBIATORE  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

L'entità e la direzione del movimento del  $\text{Ca}^{2+}$  dipendono dai gradienti di  $\text{Na}^+$ , di  $\text{Ca}^{2+}$  e dal potenziale di membrana.

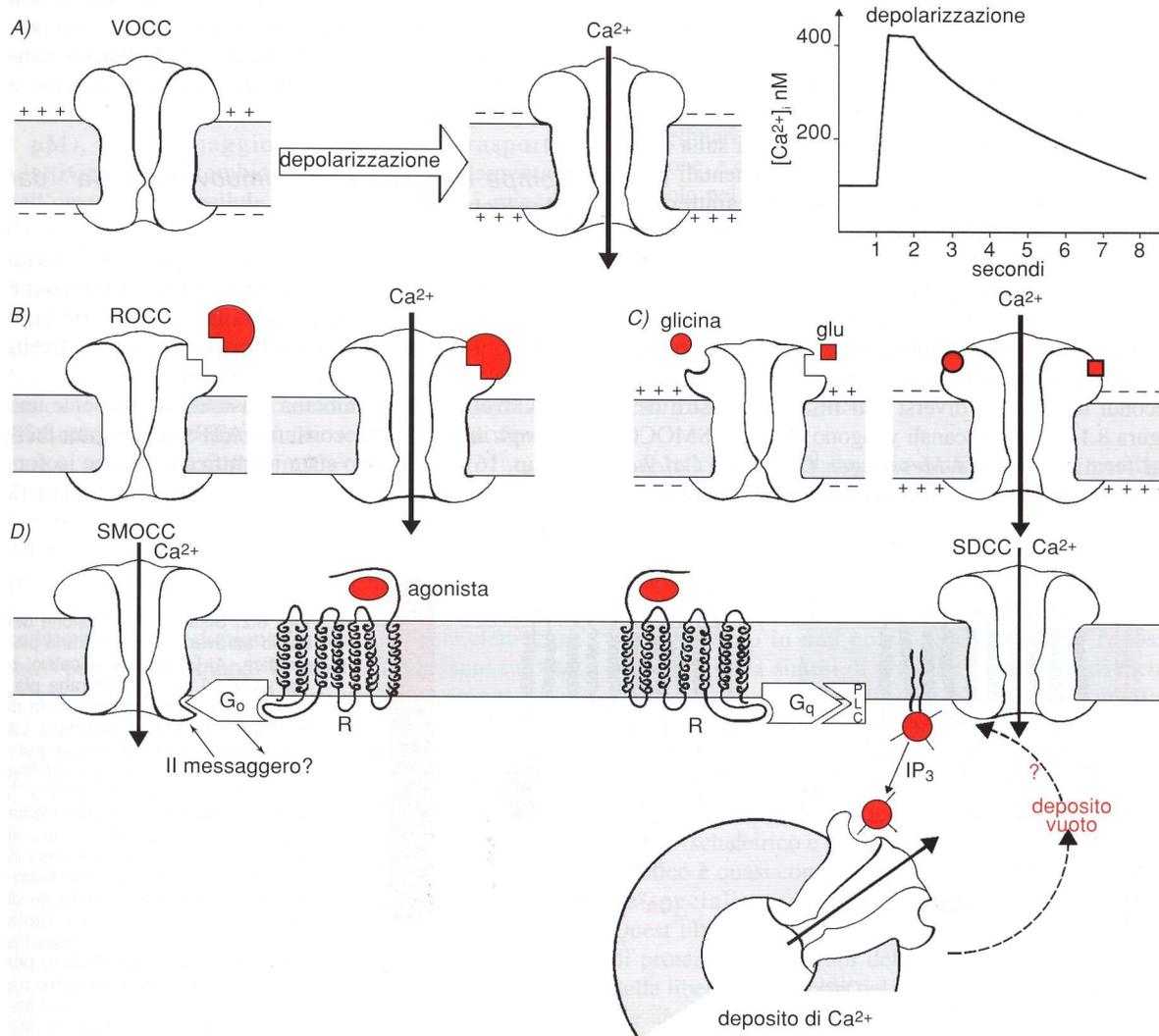
Scambio avviene con stechiometria di  $3\text{Na}^+ : 1\text{Ca}^{2+}$  : il sistema è elettrogenico.

Quando si riduce il gradiente  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (controllato dalla pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi) lo scambiatore è inibito e si accumula  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare: morte cellulare



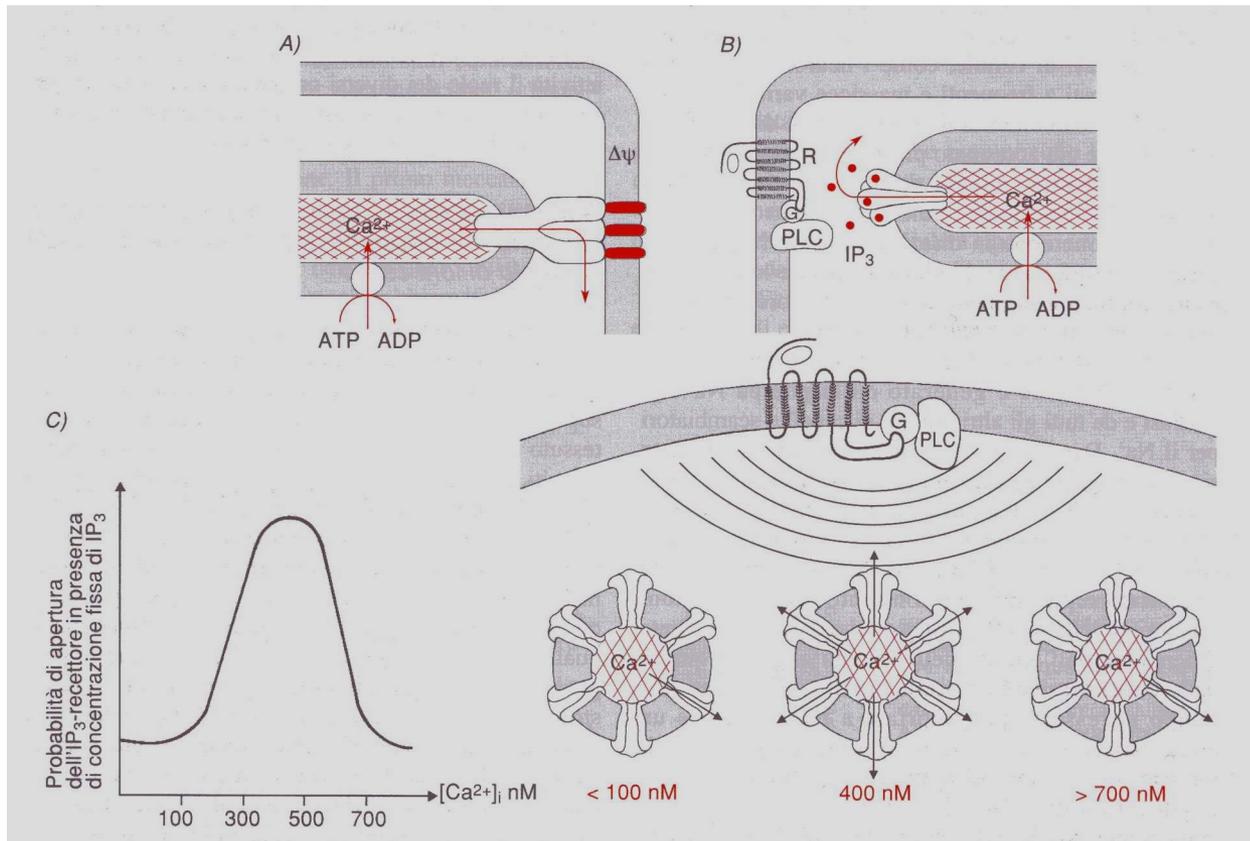
# Omeostasi del $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

## Influsso e rilascio



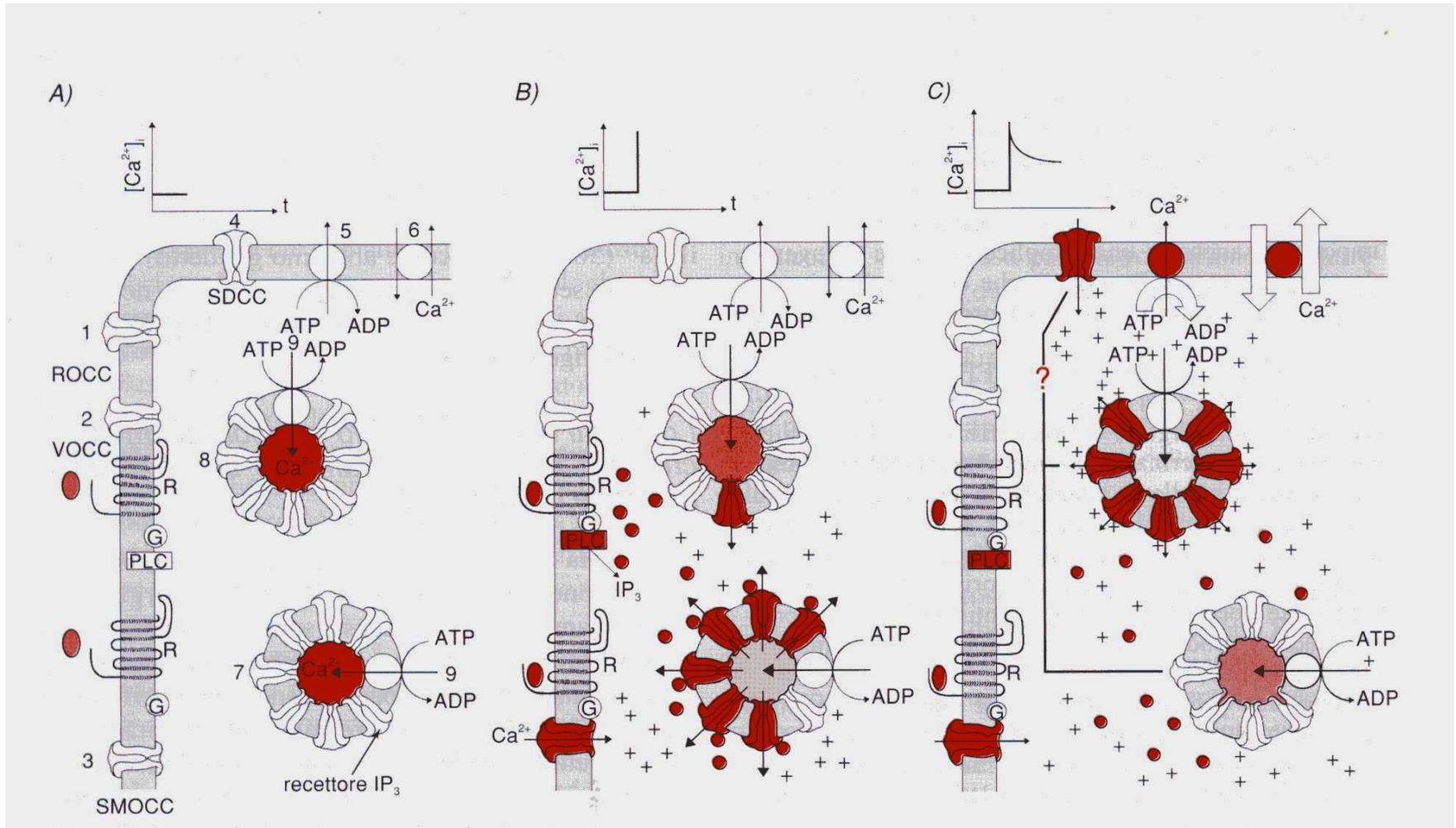
# Omeostasi del $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

## Il rilascio

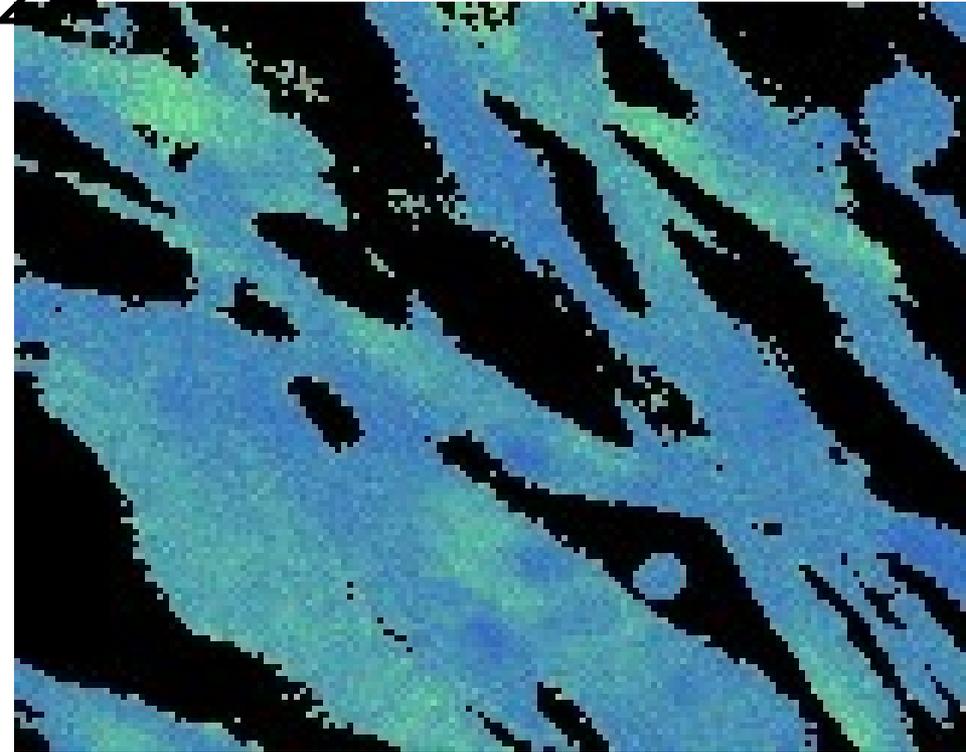
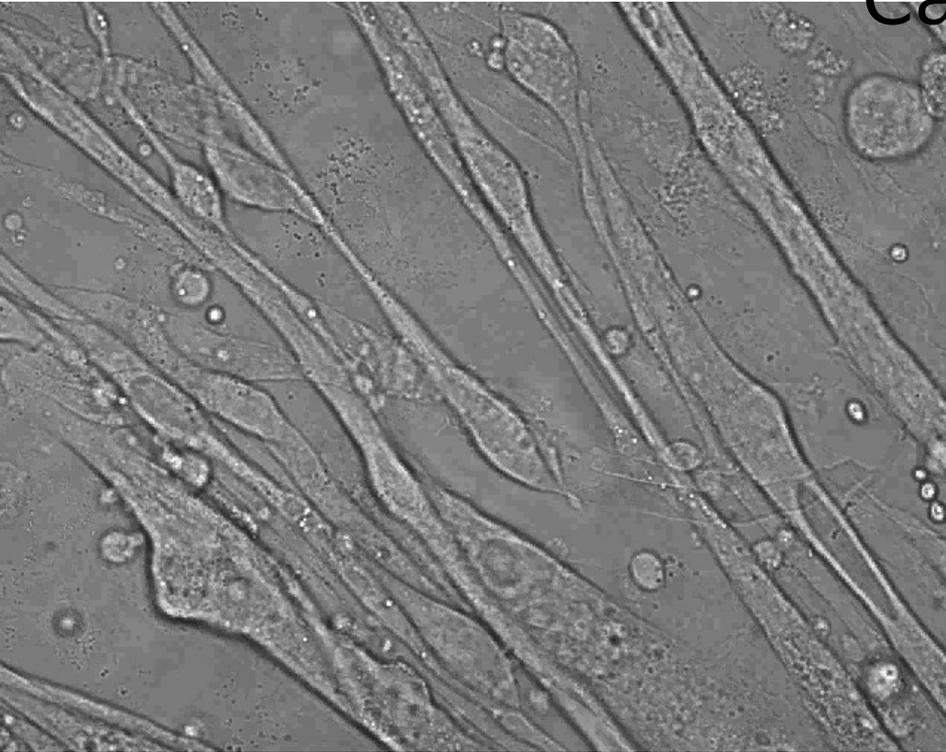


# Omeostasi del $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

## I transienti di $\text{Ca}^{2+}$



La contrazione muscolare è mediata dall'aumento della concentrazione intracellulare dello ione  $\text{Ca}^{2+}$



Nel muscolo scheletrico l'aumento di  $\text{Ca}^{2+}$  avviene per rilascio dalle cisterne

Nel muscolo cardiaco per influsso attraverso canali VOCC

Nei muscoli lisci per rilascio dal reticolo e/o per influsso

# Funzioni modulate da aumenti discreti e temporanei di $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

- Contrazione
- Secrezione
- Trascrizione genica

# Alterazione indotte da aumenti prolungati ed elevati di $\text{Ca}^{2+}$ intracellulare

- Contratture muscolari
- Rilascio incontrollato di neurotransmettitori in SNC
- Attivazioni di proteasi, lipasi, DNAsi
- Morte cellulare: necrosi

# Modulazione delle risposte recettoriali

## Causate da eccesso di stimolazione

### **Desensitizzazione**

Condizione per cui un recettore non risponde più all'agonista pur essendo presente sia il farmaco che il recettore

Fenomeno che ha luogo per molti recettori (anche non di tipo recettore-canale)

Spesso legato a fosforilazione modulata da altri recettori

### **Downregulation**

Condizione per cui una cellula riduce la risposta ad un agente/farmaco riducendo il numero di recettori presenti per quella sostanza

## Causate da mancanza di stimolazione

### **Upregulation**

Condizione per cui una cellula aumenta la propria sensibilità all'agente/farmaco mancante aumentando il numero di recettori presenti per quella sostanza

Provoca iperreattività

Situazione classica: denervazione o uso cronico di antagonisti