

Νευρομυϊκή Λειτουργία

ΝΙΚΟΣ ΓΟΡΓΙΑΣ

ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΝΕΥΡΟΜΥΙΚΗΣ ΣΥΝΑΨΗΣ

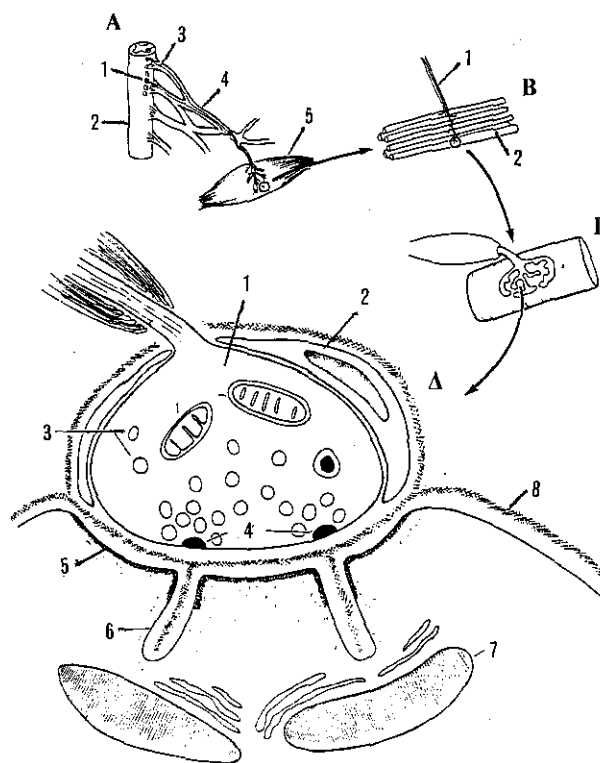
Η νευρομυϊκή σύναψη αποτελεί τη θέση όπου πραγματοποιείται η νευρομυϊκή μετάδοση, δηλαδή η μεταφορά μηνυμάτων μεταξύ κινητικής νευρικής απόληξης και μυϊκής ίνας. Όπως όλες οι χημικές συνάψεις χαρακτηρίζεται από ταχύτατη (milliseconds) μεταφορά πληροφοριών σε συγκεκριμένο στόχο, γεγονός που εξασφαλίζεται από την ύπαρξη εξειδικευμένων προ και μετα συναπτικών δομών, οι οποίες βρίσκονται σε απόλυτη αντιπαράθεση κατά μήκος της συναπτικής σχισμής¹.

Οι γραμμωτοί μύες δέχονται νεύρωση από κινητικούς νευρώνες τα σώματα των οποίων εντοπίζονται, είτε στους κινητικούς πυρήνες του εγκεφαλικού στελέχους, είτε στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού (Εικόνα 1Α). Κάθε νευράξονας φθάνοντας στο μυ στόχο διακλαδίζεται προκειμένου να κατανέμει νευρικές απολήξεις (μήκους 100 μ και διαμέτρου 10 μ περίπου), σε πολλές μυϊκές ίνες, που λειτουργικά σχηματίζουν την κινητική μονάδα (εικ. 1Β). Οι μυϊκές ίνες μιας κινητικής μονάδας δεν αποτελούν ένα συμπαγές σύνολο αλλά είναι διασκορπισμένες στο μυ, ο δε αριθμός τους κυμαίνεται από 5-15 (μικροί μύες δακτύλων, οφθαλμικοί μύες) μέχρι και 1000 μυϊκές ίνες (μεγάλοι μύες ράχης, άκρων).

Οι κινητικοί νευράξονες δεν περιορίζονται στη μεταφορά ηλεκτρικών ερεθισμάτων, αλλά εμπεριέχουν και τον απαραίτητο βιοχημικό εξοπλισμό για την μετατροπή των ηλεκτρικών σε χημικά σήματα κατά τις θέσεις των νευρικών απολήξεων. Για το σκοπό αυτό διάφορα ένζυμα, μακρομόρια καθώς και συστατικά των μεμβρανών, απαραίτητα για το μεταβολισμό του μεταβιβαστή, συντίθενται και μεταφέρονται από το σώμα του νευρικού κυττάρου στην περιφέρεια.

Οι νευρικές απολήξεις διαφοροποιούνται ουσιαστικά από τους νευράξονες καθώς είναι αμυύελες και καλύπτονται μόνο από τα κύτταρα του Schwann.

Κάθε τέτοιο ινίδιο εισδύει σε μια υποδοχή της επιφάνειας της μεμβράνης της μυϊκής ίνας (εικ. 1Γ). Το χάσμα που περιβάλλει το ινίδιο και συγχρόνως το χωρίζει από τη μυϊκή ίνα ανέρχεται στα 50 nm περίπου και ονομάζεται συναπτική σχισμή. Συνήθως η

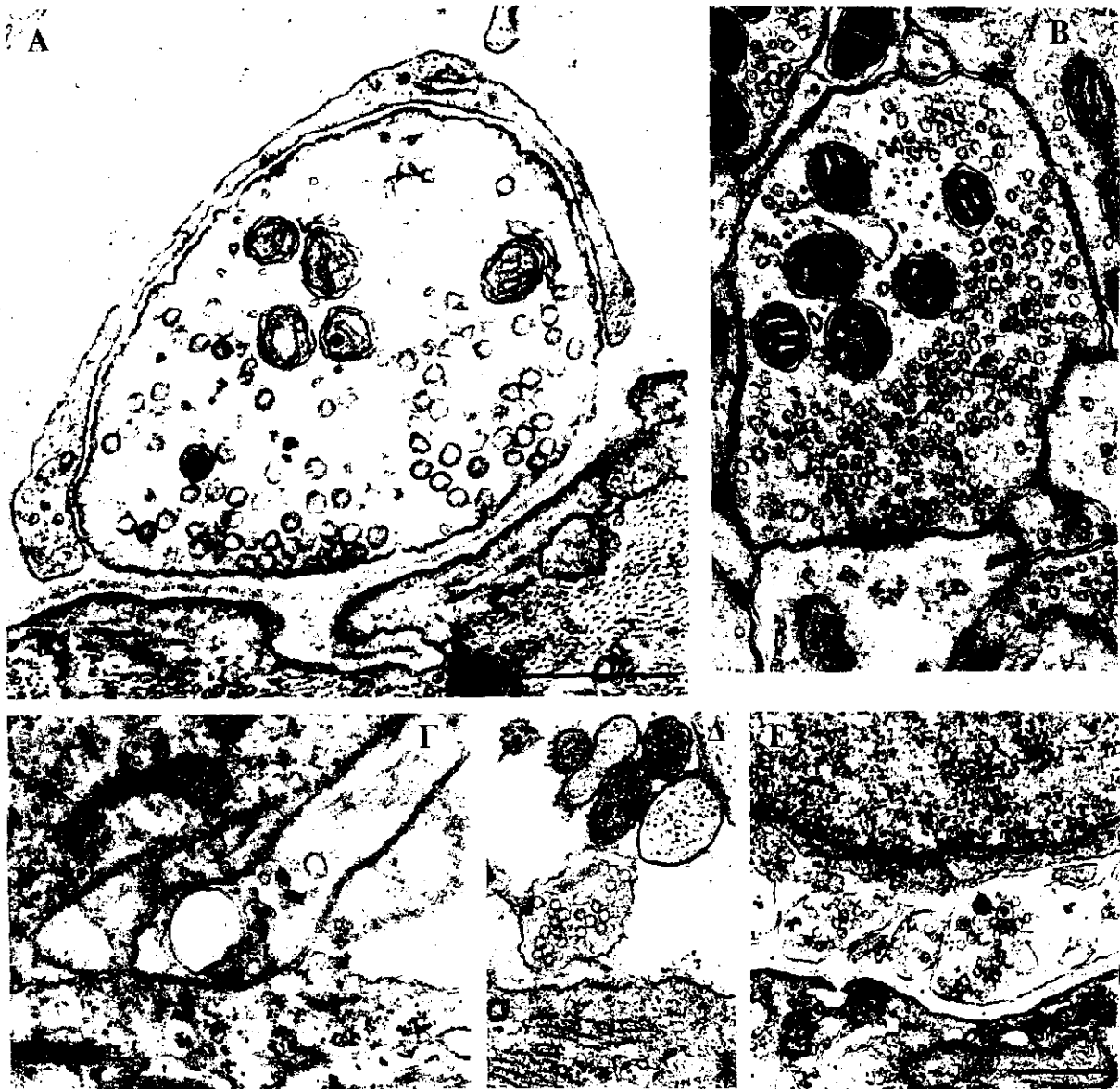


Εικ. 1.

(Α) 1: Κινητικός νευρώνας, 2: νωτιαίος μυελός, 3: πρόσθια ρίζα, 4: πλέγμα, 5: μυς. (Β) 1: κινητικός νευράξονας, 2: μυϊκή ίνα. (Γ) νευρομυϊκή σύναψη (Δ) 1: νευρική απόληξη, 2: κύτταρο Schwann, 3: συναπτικά κυστίδια, 4: ενεργείς ζώνες, 5: υποδοχείς ακετυλχολίνης 6: δεντρογενής σχισμή, 7: συναπτικός πυρήνας, 8: βασική μεμβράνη.

νευρική απόληξη αναφέρεται σαν προσυναπτική μεμβράνη, το παρακείμενο τμήμα της μυϊκής ίνας σαν μετασυναπτική μεμβράνη, ολόκληρος δε ο ο συναπτικός σχηματισμός ονομάζεται τελική κινητική πλακά (ΤΚΠ) (Εικ. 1Δ).

Στην τελευταία 10ετία η ηλεκτρονική μικροσκοπική



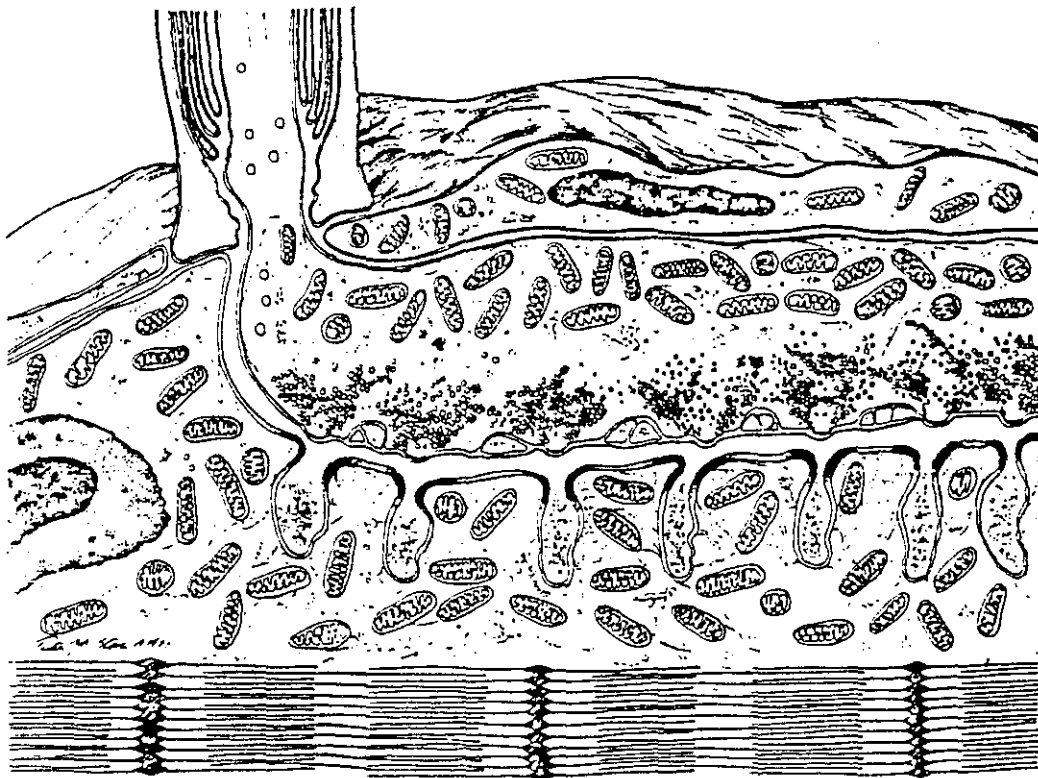
Εικ. 2.

(Α, Β) ώριμες νευρομυϊκές συνάψεις βατραχού. (Γ, Δ και Ε) νευρομυϊκές συνάψεις μεσοπλευρίων μυών επιμύων της 14ης, 17ης και 19ης εμβρυϊκής ημέρας αντίστοιχα. Οι ηλεκτρονικές μικροφωτογραφίες προέρχονται από τους: Zach W. H. and Sanes J. R. *Synaptic Structure and Development: The Neuromuscular Junction Cell*, Vol. 72 (Neuron, Vol. 10 (Suppl.) 99-121, 1993).

απεικόνιση της νευρομυϊκής σύναψης, έχει συμβάλει αποφασιστικά στη μελέτη των εξειδικευμένων συναπτικών δομών της²³ (εικ. 2). Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε ότι η νευρική απόληξη δεν έχει ομοιογενές περιεχόμενο, αλλά υπάρχουν σ' αυτή πολυάριθμα συναπτικά κυστίδια διαμέτρου 20nm, που περιέχουν ακετυλχολίνη (ACh). Μεγάλος αριθμός των κυστιδίων διατάσσεται σε επαναλαμβανόμενους τριγωνικούς σχηματισμούς, με την κορυφή καθε τριγώνου να περιβάλλεται από πεπαχυσμένες ταινίες της μεμβράνης που ονομάζονται ενεργείς ζώνες και αποτελούν τις θέσεις έκλυσης της ACh⁴. Ακόμη παρατηρούνται

ολιγάριθμα μεγαλύτερου μεγέθους κυστίδια που περιέχουν νευροπεπτίδια⁵ (calcitonin gene-related peptide CGRP), μικροσωληνάρια, μικροϊνίδια καθώς και πολυάριθμα μιτοχόνδρια, τα οποία παρέχουν την απαιτούμενη ενέργεια για τον μεταβολισμό του μεταβιασίου. (εικ. 3).

Η μετασυναπτική μεμβράνη εμφανίζει κυματοειδείς αναδιπλώσεις μέσα στη μυϊκή ίνα τις δευτερεύουσες σχισμές. Αυτές επικοινωνούν με την κύρια σχισμή μέσω στενών στομιών των πόρων, οι οποίοι διατάσσονται σε αντιπαράθεση με τις προσυναπτικές ενεργείς ζώνες. Στις θέσεις των στομιών παρατηρούνται



Εικ. 3.
Επιμήκης διατομή νευρομυϊκής σύναψης βατράχου. Ο εμύελος νευράξονας καταλήγει στη νευρική απόληξη, η οποία καλύπτεται από ένα κύτταρο Schwann (πάνω). Η νευρική απόληξη εμφανίζει αθροίσματα κυστιδίων γύρω από πεπαχυσμένες περιοχές της μεμβράνης τις ενεργείς ζώνες, ενώ σε κεντρικότερες θέσεις της παρατηρούνται μιτοχόνδρια και μικροσωληνάρια (μέσο). Η κύρια και οι δευτερεύουσες σχισμές χωρίζουν τη νευρική απόληξη από τον μυ (κάτω). Στα στόμια των δευτερευουσών σχισμών η μετασυναπτική μεμβράνη εμφανίζει πυκνές περιοχές, που αποτελούν τις θέσεις των υποδοχέων ακετυλχολίνης Heuser J. F. Morphology of synaptic vesicle discharge and reformantion of the frog neuromuscular junction. In Thesleff S. (ed) Motor Innervation of Muscle. Academic Press, Orlando, F. L. 1976.

παχύνσεις της μεμβράνης, που επεκτείνονται και στο εσωτερικό της μυϊκής ίνας και αποτελούν την χημειο-δεκτική ζώνη των υποδοχέων της ακετυλχολίνης (AChR). Η συνολική επιφάνεια της μετασυναπτικής μεμβράνης είναι εκτεταμένη, μεταξύ δε αυτής και των συσταλών στοιχείων της μυϊκής ίνας παρεμβάλεται μία ζώνη πλούσια σε συναπτικούς πυρήνες, μιτοχόνδρια, καθώς και άλλες δομές, που εξασφαλίζουν τη μετατροπή του χημικού μηνύματος σε μυϊκή σύσπαση. (εικ. 3). Παρά την ύπαρξη σαφούς μορφολογικής διαφοροποίησης μεταξύ της μετασυναπτικής μεμβράνης και της περί αυτήν μεμβράνης της μυϊκής ίνας, διαπιστώνεται και η παρουσία μιας ενδιάμεσης περισυναπτικής ζώνης. Αν και η μελέτη της περιοχής αυτής δεν έχει ολοκληρωθεί, αναφέρεται ήδη η παρουσία υποδοχέων ακετυλχολίνης καθώς και διαύλων Na^+ . Οι τελευταίοι υπάρχουν σε μεγαλύτερες πυκνότητες συγκριτικά με περιφερικότερα τμήματα της μεμβράνης, γεγονός που αυξάνει την ευαισθησία

της ζώνης στις μεταβολές του δυναμικού της τελικής κινητικής πλάκας⁶.

Το ενδιάμεσο τμήμα της νευρομυϊκής σύναψης η συναπτική σχισμή διασχίζεται από ένα είδος βασικής μεμβράνης, που αποτελεί συνέχεια των βασικών μεμβρανών της μυϊκής ίνας και των κυττάρων του Schwann (εικ. 1Δ). Αν και η συναπτική βασική μεμβράνη είναι μορφολογικά όμοια με την εξωσυναπτική, παρουσιάζει βιοχημική διαφοροποίηση. Συγκεκριμένα περιέχει την ακετυλχολινεστεράση (AChE) που αδρανοποιεί την ACh, καθώς και άλλα συστατικά που μεσολαβούν στις εξελικτικές αλληλεπιδράσεις των συναπτικών στοιχείων (Agrin) ή εξασφαλίζουν την ισχυρή τους συνάφεια^{7,1}.

Στο ανθρώπινο είδος υπάρχει μία νευρομυϊκή σύναψη για κάθε μυϊκή ίνα με εξαίρεση τους εξοφθαλμικούς μύες, όπου παρατηρούνται περισσότερες νευρομυϊκές συνάψεις σε κάθε μυϊκό κύτταρο. Εξ αιτίας της πολλαπλής νεύρωσης οι συγκεκριμένοι μύες

εμφανίζουν τονική συμπεριφορά, (βραδεία σύσπαση-χάλαση) η οποία είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του οφθαλμού σε σταθερή θέση.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΟΜΥΙΚΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Σε αντίθεση με την αποσπασματικού χαρακτήρα μελέτη της ανατομίας της νευρομυικής σύναψης, η κατανόηση της φυσιολογίας της νευρομυικής μετάδοσης επιβάλλει την αποδοχή της σύναψης σαν ένα ενιαίο σύμπλεγμα, το οποίο εκτείνεται από τα συναπτικά κυστίδια της νευρικής απόληξης μέχρι τον κυτταρικό σκελετό της μυϊκής ίνας¹.

Οι πρώτες γνώσεις σχετικά με την φυσιολογία της νευρομυικής μετάδοσης προέκυψαν κατά τα μέσα της 10ετίας του '60, με την παρατήρηση μικρών αυτόματων αποπολωτικών δυναμικών στις ΤΚΠς. Τα δυναμικά αυτά πέρα από το μικρό τους μέγεθος, που φθάνει μόνο στο 1/100 των δυναμικών που προκαλούνται από τη διέγερση του κινητικού νεύρου, δεν διαφέρουν ως προς την μορφολογία ή τον τρόπο που επηρεάζονται από διάφορα φάρμακα και ονομάζονται ελάχιστα δυναμικά της τελικής κινητικής πλάκας (ΕΔΤΚΠ). Από την ηλεκτροφυσιολογική μελέτη των ΕΔΤΚΠ και τη συσχέτιση τους με τα κυστίδια της ΑCh στις νευρικές απολήξεις, εδραιώθηκε η κβαντική θεωρία (Quantal Theory) σύμφωνα με την οποία²: α) η έκλυση της ΑCh από την προσυναπτική μεμβράνη γίνεται υπό μορφή πολυμοριακών πακέτων (quanta). β) το ΕΔΤΚΠ παράγεται από την έκλυση ενός quanta ΑCh, που περιέχεται σε ένα κυστίδιο και γ) το κατόπιν νευρικού ερεθίσματος παραγόμενο δυναμικό της ΤΚΠ προέρχεται από τη σύγχρονη κένωση πολλών κυστιδίων.

Η προσυναπτική μεμβράνη αποτελεί την αφετηρία της νευρομυικής μετάδοσης. Το δυναμικό δράσης της νευρικής απόληξης είναι το αρχικό γεγονός στη διαδικασία απελευθέρωσης της ΑCh χωρίς όμως να αποτελεί και την αιτία της. Η έκλυση της ΑCh πραγματοποιείται με την είσοδο Ca^{2+} στη νευρική απόληξη, έχει δε διαπιστωθεί ότι, η προσθήκη του ιόντος με τεχνικές εξωγενούς ιοντοφόρησης εκλύει τον μεταβιβαστή ακόμη και χωρίς εκπόλωση της προσυναπτικής μεμβράνης³.

Η ποσότητα των εκλυομένων quanta εξαρτάται απόλυτα από τον αριθμό των ιόντων Ca^{2+} που εισέρχονται στη νευρική απόληξη και που είναι ανάλογος, της εξωκυττάριας συγκέντρωσης του ιόντος, καθώς

και του χρονικού διαστήματος ενδοκυττάριας μετακίνησής του. Η εισροή του Ca^{2+} συμπίπτει χρονικά με την αιχμή του δυναμικού δράσης και σταματά με την επαναπόλωση της νευρικής απόληξης. Για το λόγο αυτό ουσίες που καθυστερούν την επαναπόλωση της προσυναπτικής μεμβράνης εμποδίζοντας την έξοδο K^+ (4-αμινοπυριδίνη, τετρααιθυλαμώνιο), αυξάνουν υπερπολλαπλάσια (X100-200) το ποσό της εκλυόμενης ΑCh⁴.

Η είσοδος του Ca^{2+} πραγματοποιείται μέσω ειδικών διαύλων, που όπως αναφέρθηκε διατάσσονται κατά μήκος των ενεργών ζωνών. Διαπιστώνεται η παρουσία δύο τουλάχιστον τύπων διαύλων, που η αγωγιμότητά τους επηρεάζεται από τις μεταβολές του δυναμικού της μεμβράνης⁵. Ο πρώτος τύπος διαύλων που χαρακτηρίζεται από ταχεία διακίνηση, επειδή η αγωγιμότητά τους αυξάνει άμεσα με την εκπόλωση της νευρικής απόληξης, είναι πρωταρχικής σημασίας για την έκλυση της ΑCh. Η διαπερατότητά τους επηρεάζεται αρνητικά ακόμη και από χαμηλές συγκεντρώσεις δισθενών ιόντων (Mg^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+}), τα οποία εμποδίζοντας την διέλευση των Ca^{2+} περιορίζουν τη νευρομυική μετάδοση. Αντίθετα, η λειτουργία του συγκεκριμένου τύπου διαύλων, δεν επηρεάζεται από τους ανταγωνιστές ασβεστίου. Ο δεύτερος τύπος διαύλων χαρακτηρίζεται από βραδεία διακίνηση επειδή η διαπερατότητά τους εμφανίζει καθυστερημένη έναρξη και παρατεινόμενη διάρκεια. Επιπλέον, καθώς η ενεργοποίηση των βραδέων διαύλων αποδίδεται στο σχηματισμό cAMP (κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης) κατά τη διάρκεια του προσυναπτικού δυναμικού δράσης, οι ανταγωνιστές ασβεστίου περιορίζουν την μέσω αυτών διακίνηση Ca^{2+} (ελάτωση cAMP) ενώ αντίθετα η επινεφρίνη την αυξάνει (αύξηση cAMP)¹¹.

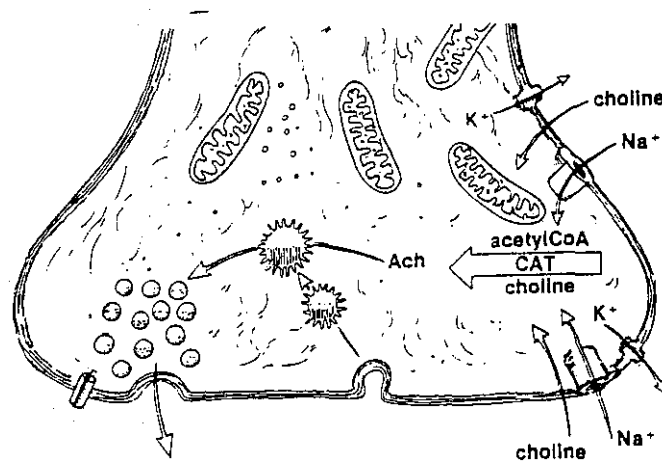
Αν και ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο τα Ca^{2+} προκαλούν την έκλυση της ΑCh δεν είναι απόλυτα σαφής, χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικές μεθόδους έχει αναγνωριστεί η ύπαρξη μίας ομάδας πρωτεϊνών (συναψίνη, συναπτοφυσίνη, SV_2 κ.ά.), που συμμετέχουν στη συγκεκριμένη διαδικασία^{12,13,14}. Ειδικά για τη συναψίνη είναι γνωστό ότι λειτουργεί σαν σύνδεσμος μεταξύ των συναπτικών κυστιδίων και των νηματίων της ακτίνης, που περιλαμβάνονται στον κυτταρικό σκελετό της νευρικής απόληξης. Η φωσφορύλιωσή της εξ αιτίας της ενεργοποίησης μιας πρωτεϊνικής κινάσης (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II) από την αύξηση του ελευθέρου Ca^{2+} , αφ' ενός

ελαττώνει τη συγγενεία της με τα συναπτικά κυστίδια και αφ' ετέρου εξασθενεί την σύνδεσή της με την ακτίνη. Με τον τρόπο αυτό πολυάριθμα συναπτικά κυστίδια ACh μετακινούνται προς τις θέσεις έκλυσης των ενεργών ζωνών¹⁵. Η αλληλουχία των πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων που αναφέρθηκαν αν και απόλυτα συντονισμένη είναι περίπλοκη και απαιτεί χρονικό διάστημα 1ms περίπου για την ολοκλήρωσή της. Το γεγονός αυτό δικαιολογεί την εμφάνιση της συναπτικής καθυστέρησης, που αναφέρεται στο χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ της προσυναπτικής εκπόλωσης και της εκπόλωσης της Τ.Κ.Π. Ακολουθεί η σύνδεση των κυστιδίων σε θέσεις που εντοπίζονται στα άκρα των ενεργών ζωνών, ή συγχώνευση της μεμβράνης των με εκείνη της νευρικής απόληξης και η εξωκύτωση της ACh στη συναπτική σχισμή. Η διαρκεια παραμονής των άδειων κυστιδίων στην επιφάνεια της νευρικής απόληξης είναι πολύ σύντομη, καθώς το υλικό τους ανακυκλώνεται και υπό μορφή ατελών κυστιδίων εμφανίζεται στο προσυναπτικό κυτταρόπλασμα, προκειμένου να συμμετέχει στη διαδικασία κινητοποίησης της ACh¹⁶.

Το ποσό της ACh που απελευθερώνεται σε κάθε εκπόλωση της νευρικής απόληξης είναι πολύ μεγάλο, καθώς ανέρχεται σε τουλάχιστον 200 quanta, καθένα από τα οποία περιέχει 10^4 μόρια ACh περίπου¹⁷.

Μετά επανειλημμένες διεγέρσεις είναι απαραίτητο η νευρική απόληξη να διατηρήσει την δυνατότητα έκλυσης του μεταβιβαστή. Η αναπλήρωση της ACh γίνεται με τη διαδικασία της κινητοποίησης, η οποία περιλαμβάνει τα διαδοχικά στάδια σύνθεσης, αποθήκευσης και μεταφοράς της στις θέσεις απελευθέρωσης (εικ. 4). Η ACh συντίθεται στο αξόπλασμα των νευρικών απολήξεων από τη χολίνη και το ακετυλσυνένζυμο Α, παρουσία του ενζύμου χολινακετυλτρανσφεράση. Αν και η χολίνη υπάρχει σε μικρές ποσότητες στα κινητικά νεύρα, το κύριο ποσό της ουσίας για τη σύνθεση της ACh προσλαμβάνεται από το εξωκυττάριο υγρό, που περιβάλλει τη νευρική απόληξη. Η χολίνη του εξωκυτταρίου υγρού δεν προέρχεται μόνο από το πλάσμα, αλλά και από την υδρόλυση της ACh που απελευθερώνεται στη συναπτική σχισμή. Υπολογίζεται ότι, περίπου το 50% της χολίνης που προκύπτει από την υδρόλυση της ACh επαναπροσλαμβάνεται από τη νευρική απόληξη, με τη βοήθεια ενός ειδικού συστήματος μεταφοράς μεγάλης συγγενείας. Το ακετυλσυνένζυμο Α παράγεται στα μιτοχόνδρια των νευρικών απολήξεων. Η χολινακετυλ-

τρανσφεράση συντίθεται στα ριβοσώματα των κινητικών νευρώνων και όπως ήδη αναφέρθηκε, μαζί με άλλα σύμπλοκα μόρια απαραίτητα στη διαδικασία της κινητοποίησης, μεταφέρεται από το σώμα του νευρικού κυττάρου στην περιφέρεια. Το ένζυμο βρίσκεται διάχυτο στο κυτταρόπλασμα της νευρικής απόληξης ενώ υπάρχει σε μικρές ποσότητες στις μεμβράνες και στο περίβλημα των συναπτικών κυστιδίων. Στη διαδικασία της σύνθεσης σημαντικός είναι ο ρόλος του Na^+ , καθώς η μετακίνησή του προς το εσωτερικό της προσυναπτικής μεμβράνης σχετίζεται με την πρόσληψη της χολίνης, καθώς και τη δραστηριότητα της χολινακετυλτρανσφεράσης και των μιτοχονδρίων¹⁸.



Εικ. 4.

Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας κινητοποίησης της ACh στη νευρική απόληξη. Η ACh που συντίθεται από την χολίνη (choline) και το ακετυλσυνένζυμο Α (acetylCoA) παρουσία της χολινακετυλτρανσφεράσης (CAT), μεταφέρεται σε κυστίδια, τα οποία στη συνέχεια μετακινούνται προς τις θέσεις έκλυσης του μεταβιβαστή.

Μετά τη σύνθεσή της η ACh συγκεντρώνεται στο κυτταρόπλασμα (κυττοσολική μορφή 20%), προκειμένου να μεταφερθεί στα συναπτικά κυστίδια (κυστιδιακή μορφή 80%). Ανάλογα με την προέλευσή τους τα κυστίδια διακρίνονται σε παλιά, που προκύπτουν από το μηχανισμό ανακύκλωσης και σε νέα, που σχηματίζονται στο κυτταρικό σώμα και μέσω των μικροσωληναρίων μεταφέρονται στη νευρική απόληξη. Ο αριθμός τους φθάνει τα 1000 κυστίδια/ μm^2 έχοντας συνολικά 300.000 σε μία νευρική απόληξη²⁰.

Αν και ο μηχανισμός εισόδου της ACh στα κυστίδια δεν είναι γνωστός, πιθανολογείται η παρουσία ενός συστήματος ενεργού μεταφοράς, επειδή η συγké-

ντρωση του μεταβιβαστή στο εσωτερικό των κυστιδίων είναι πολύ μεγαλύτερη της συγκέντρωσης στο εξωτερικό τους.

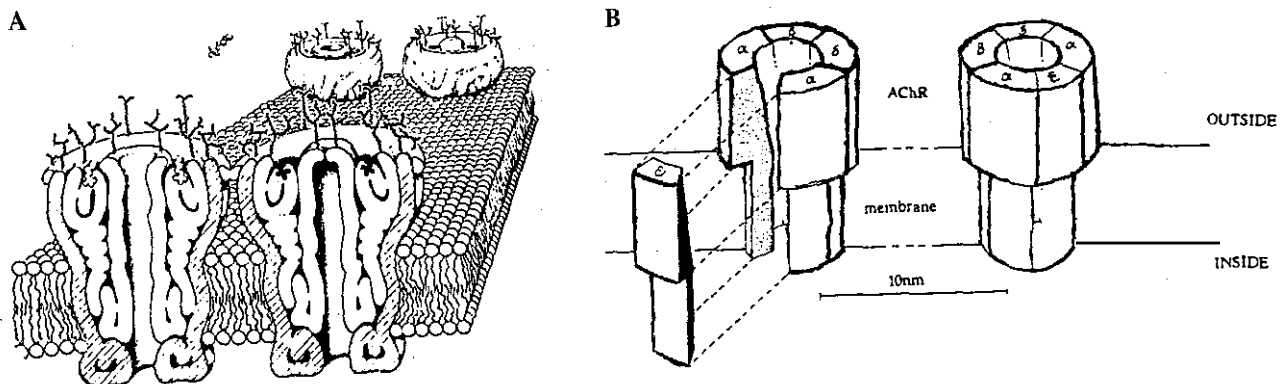
Πρόσφατα στοιχεία σχετικά με την οργάνωση των χολινεργικών συνάψεων συνηγορούν για την παρουσία δύο αλληλοεξαρτώμενων ομάδων κυστιδίων. Η μια ομάδα VP_2 (vesicle population 2), εντοπίζεται πολύ κοντά στις ενεργείς ζώνες και χαρακτηρίζεται από έντονη συμμετοχή στη λειτουργία της νευρομυϊκής μετάδοσης, με ταχείς ρυθμούς ανακύκλωσης των χρησιμοποιούμενων κυστιδίων και αναπλήρωσης του περιεχομένου τους. Η άλλη ομάδα VP_1 είναι περισσότερο πολυάριθμη, βρίσκεται σε μεγαλύτερη απόσταση από τις ενεργείς ζώνες, λειτουργεί με βραδύτερους ρυθμούς και μάλλον έχει εφεδρικό ρόλο²¹.

Μετά την απελευθέρωσή της από τη νευρική απόληξη η ACh διαχέεται στη συναπτική σχισμή και αντιδρά με εξειδικευμένης πρωτεϊνικής σύστασης δομές της μετασυναπτικής μεμβράνης, τους υποδοχείς της ακετυλχολίνης (AChR). Οι συγκεκριμένοι υποδοχείς ανήκουν στην ομάδα των νικοτινικών χολινεργικών υποδοχέων, που ενεργοποιούνται από το αλκαλοειδές νικοτίνη. Εκτός από αυτούς υπάρχει και η ομάδα των μουσκαρινικών χολινεργικών υποδοχέων, που εντοπίζονται κυρίως στην καρδιά και τον εγκέφαλο και ενεργοποιούνται από το αλκαλοειδές μουσκαρίνη.

Οι νικοτινικοί υποδοχείς της νευρομυϊκής σύναψης έχουν μελετηθεί περισσότερο από κάθε άλλο είδος υποδοχέων ως προς την χημική σύσταση και τις βιολογικές ιδιότητες, γεγονός στο οποίο έχουν συμβάλει:

α) η πολυάριθμη παρουσία τους στα ηλεκτρικά όργανα του θαλάσσιου είδους *Torpedo*, β) η απομόνωση της α -bungarotoxin, ενός πολυπεπτιδίου που εμφανίζει μεγάλη βιοχημική συγγένεια μ' αυτούς, γ) η χρήση ειδικών ουσιών που τους απομακρύνει από τις μεμβράνες, χωρίς να επηρεάζει τις βιολογικές τους ιδιότητες και δ) η απομόνωση του γενετικού υλικού που ελέγχει τη σύνθεσή τους και η επακόλουθη αναπαραγωγή τους σε ιστικές καλλιέργειες^{17,22}.

Μορφολογικά οι υποδοχείς εμφανίζονται σαν κυλινδρικές δομές μήκους 14nm που διατρέχουν όλο το πάχος της μετασυναπτικής μεμβράνης, προβάλλοντας κατά 4nm και 6nm αντίστοιχα πάνω από την κυτταροπλασματική και τη συναπτική της επιφάνεια (εικ. 5A). Το ακριβές σχήμα τους είναι χοανοειδές, με στενότερο το τμήμα του υποδοχέα που διασχίζει τη μετασυναπτική μεμβράνη και ευρύτερο το εξωκυττάριο τμήμα του που έχει εξωτερική διάμετρο 8nm²³. Συνήθως διατάσσονται ανά ζεύγη σε βραχείες σειρές, ο δε συνολικός αριθμός τους σε κάθε ΤΚΠ φθάνει τους $4-5 \times 10^6$. Πάντως η κατανομή τους στη μετασυναπτική μεμβράνη δεν είναι ομοιόμορφη, καθώς ο αριθμός τους κυμαίνεται από $\approx 10^4/\mu\text{m}^2$ μέχρι $\approx 10^5/\mu\text{m}^2$ υποδοχείς αντίστοιχα στις θέσεις των στομιών και των πυθμένων των δευτερευουσών σχισμών¹. Έξω από τα όρια της ΤΚΠ ο αριθμός τους περιορίζεται ακόμη περισσότερο, φθάνοντας τους $10\text{AChR}/\mu\text{m}^2$. Κάθε υποδοχέας αποτελείται από 5 υπομονάδες που διατάσσονται παράλληλα γύρω από ένα κεντρικό πόρο, ο οποίος όταν ανοίγει λειτουργεί σαν διάυλος ιόντων. Οι υπομονάδες που αποτελού-



Εικ. 5.

(A) Σχηματική απεικόνιση επιμήκους διατομής του AChR με ανοικτό διάυλο (αριστερά) και κλειστό διάυλο (δεξιά). Lindstrom J. Autoimmune responses to acetylcholine receptors in myasthenia gravis and its animal models. *Adv. Immunol.* 27: 1-10, 1979.

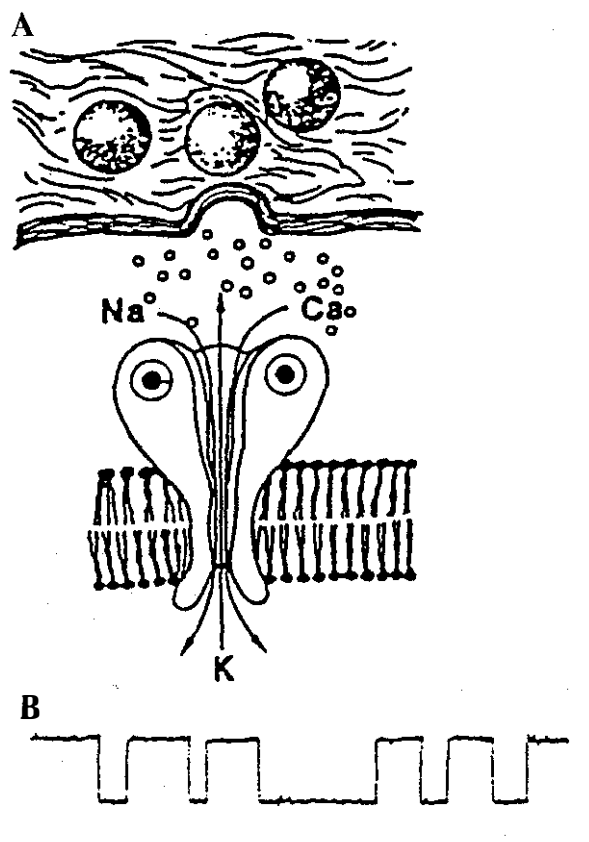
(B) Σχηματική απεικόνιση του AChR με τις 5 υπομονάδες (α,β,γ,δ,ε). Martyr J. A. J., White D. A., Gronert G. A., Jaffe R. S., Ward J. M. Up-and down Regulation of Skeletal Muscle Acetylcholine Receptors. *Anesthesiology* 76: 822-843, 1992.

νται από 400-500 αμινοξέα χαρακτηρίζονται με τα γράμματα α,β,ε και δ κατά αυξανόμενη πρόοδο του μοριακού τους βάρους και εμφανίζονται στον υποδοχέα με αναλογία 2:1:1:1²² (εικ. 5B).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, υπάρχει απόλυτος ευθειασμός μεταξύ των θέσεων έκλυσης της ACh στα άκρα των ενεργών ζωνών και των μετασυναπτικών υποδοχέων, γεγονός που περιορίζει τις απώλειες του μεταβιβαστή. Η συγκράτηση των υποδοχέων στις συγκεκριμένες θέσεις γίνεται με ειδικά πρωτεϊνικά νημάτια, μεταξύ των οποίων γνωστότερη είναι η πρωτεΐνη 43K²⁴. Τα νημάτια αυτά συνδέουν τους AChR με τον κυτταρικό σκελετό και μαζί με άλλους ανάλογους σχηματισμούς εξασφαλίζουν τη δομική σταθερότητα της νευρομυϊκής σύναψης.

Σε κάθε υποδοχέα υπάρχουν δύο θέσεις αναγνώρισης για την ACh, που εντοπίζονται στην περιφέρεια των α-υπομονάδων και δεν εμφανίζουν ισοδύναμη χημική συγγένεια για τον αγωνιστή. Σύμφωνα με πρόσφατες απόψεις οι θέσεις αναγνώρισης δεν αποτελούνται από ένα μεμονωμένο αμινοξύ, αλλά από μια μικρή ομάδα αμινοξέων, που σχηματίζει μια εξειδικευμένη περιοχή. Η συγκεκριμένη υπόθεση δικαιολογεί τη συνεργεια μεταξύ στεροειδών και ισοκινολινών ανταγωνιστών (μυοχαλαρωτικών), με την ύπαρξη πολλαπλών θέσεων σύνδεσης²⁵. Για τη διάνοση του πόρου του υποδοχέα είναι απαραίτητη η κατάληψη και των δύο θέσεων αναγνώρισης από την ACh. Η σύνδεση του αγωνιστή προκαλεί μεταβολές στη διάμορφωση των πρωτεϊνικών μορίων του υποδοχέα, οι οποίες επιτρέπουν τη διακίνηση μόνο κατιόντων μέσω του ανοικτού πόρου, για ένα σύντομο διάστημα 1ms. Η εσωτερική διάμετρος του ανοικτού διαύλου που φθάνει τα 0,65nm επιτρέπει τη διακίνηση πολλών κατιόντων (10⁴ ιόντα/ms), ανάλογα με τις υπάρχουσες διαφορές συγκέντρωσής τους εκατέρωθεν της μετασυναπτικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα παρατηρείται είσοδος Na⁺ και Ca²⁺ και έξοδος K⁺, με επακόλουθη δημιουργία στοιχειωδών μικροσκοπικών ρευμάτων έντασης ελάχιστων picoampere, που προκαλούν μία αποπόλωση της μετασυναπτικής μεμβράνης της τάξης των 0,2μV. Η μελέτη της ηλεκτρικής λειτουργίας μεμονωμένων υποδοχέων με τη βοήθεια εξειδικευμένων ηλεκτροφυσιολογικών τεχνικών (Patch clamping), επιτρέπει την καταγραφή των στοιχειωδών ρευμάτων υπό μορφή ορθογωνίων εκπολωτικών κυμάτων (εικ. 6). Τα στοιχειώδη ρεύματα σταματούν με τη σύγκλιση των πόρων, η οποία οφείλεται στην

αποσύνδεση των δύο ή απλά και μόνο του ενός μορίου ACh από τις θέσεις αναγνώρισης. Το άθροισμα των μικροσκοπικών ρευμάτων που προκύπτουν από τη σύγχρονη ενεργοποίηση τουλάχιστον 500.000 μετασυναπτικών υποδοχέων εξαιτίας της διέγερσης της νευρικής απόληξης, είναι υπεραρκετό για την εκπόλωση της ΤΚΠ, που τελικά θα προκαλέσει τη μυϊκή σύσπαση^{17,18,22}.



Εικ. 6.

(A) Ενεργοποιημένος AChR με ανοικτό διάυλο

(B) Κάθε ορθογώνιο εκπολωτικό κύμα προκαλείται από ένα στοιχειώδες ρεύμα διάρκειας 1ms.

Κατά την εκπόλωση της ΤΚΠ, η αναστροφή της πολικότητας της μετασυναπτικής μεμβράνης ευνοεί την κυκλική μετακίνηση φορτίων προς τις παρακείμενες περιοχές της μυϊκής μεμβράνης, το δυναμικό των οποίων ελαττώνεται. Όταν η εκπόλωση των γειτονικών αυτών θέσεων φθάσει σε ένα κρίσιμο σημείο (-70mV), τότε ανοίγουν οι διάυλοι Na⁺ και δημιουργείται ένα νέο δυναμικό δράσης, το οποίο εξαπλώνεται ταχύτατα στην επιφάνεια της μυϊκής ίνας. Στην ολοκλήρωση της διαδικασίας είναι σημαντικός ο ρόλος της περισυναπτικής ζώνης, η οποία όπως ήδη

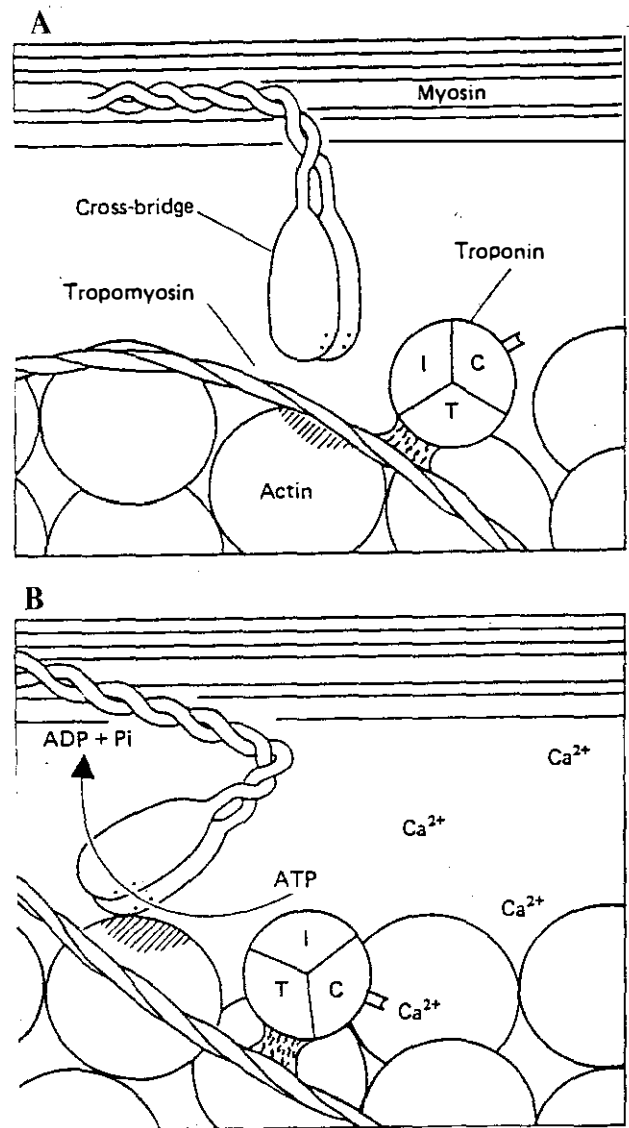
αναφέρθηκε παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στις μεταβολές του δυναμικού της ΤΚΠ, εξ αιτίας της αυξημένης της συγκέντρωσης σε διαύλους Na^+ καθώς και της παρουσίας σ' αυτήν AChR^{17,19}.

Για τη σύζευξη της εκπόλωσης με τη σύσπαση της μυϊκής ίνας, είναι απαραίτητη η μετάδοση του δυναμικού δράσης από την επιφάνεια προς το εσωτερικό του μυϊκού κυττάρου μέσω του σαρκοσωληνωτού συστήματος. Επακολουθεί απελευθέρωση ιόντων Ca^{2+} από τις δεξαμενές του σαρκοπλασματικού δικτύου, τα οποία τροποποιώντας το σύστημα τροπονίνης-τροπομυοσίνης, επιτρέπουν τη σύνδεση των κεφαλών της μυοσίνης με τις αντίστοιχες θέσεις αναγνώρισης της ακτίνης. Το τελικό αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ ακτίνης (λεπτά ινίδια) και μυοσίνης (παχέα ινίδια) είναι η βράχυνση του σαρκομερίου και η σύσπαση της μυϊκής ίνας¹⁸ (εικ. 7).

Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν το σύμπλεγμα υποδοχέα-διαύλου λειτουργεί σαν ενισχυτής, καθώς με την ενεργοποίησή του, η διακίνηση 2 μορίων ACh ακολουθείται από διακίνηση 10^{-4} κατιόντων. Στα πλαίσια των λειτουργικών τους δυνατοτήτων οι υποδοχείς μπορεί να βρίσκονται σε ενεργοποιημένη ή μη ενεργοποιημένη κατάσταση, με ανοικτό ή κλειστό πόρο αντίστοιχα. Ακόμη μπορεί να παρουσιάζουν διακυμάνσεις ως προς την χρονική διάρκεια διάνοιξης των πόρων. Στους παράγοντες που επηρεάζουν τη λειτουργική κατάσταση των υποδοχέων περιλαμβάνονται διαφορές τοξίνες και φάρμακα. Αν και οι γνώσεις μας για τους ακριβείς μηχανισμούς αλληλεπίδρασης δεν είναι ολοκληρωμένες, υπάρχουν ενδείξεις ότι συμβαίνουν αντιδράσεις φωσφορύλιωσης σε διάφορες θέσεις των υπομονάδων²⁶. Επακολουθούν μεταβολές της πρωτεϊνικής τους διαμόρφωσης, οι οποίες όχι μόνο δεν επιτρέπουν την διάνοιξη των διαύλων αλλά αντίθετα την εμποδίζουν. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι, η έκθεση του υποδοχέα στην καρβαμυλοχολίνη προκαλεί την παραμόρφωσή του εξ αιτίας της σύγκλισης μίας των υπομονάδων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η απευαισθητοποίηση του υποδοχέα, φαινόμενο το οποίο χαρακτηρίζεται από αδυναμία διάνοιξης του διαύλου παρά τη σύνδεση των μορίων της ACh με τις θέσεις αναγνώρισής της²⁵. Στους φυσικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη λειτουργική συμπεριφορά των AChR αναφέρονται το δυναμικό της μεμβράνης και η θερμοκρασία. Συγκεκριμένα οι πόροι κλείνουν πολύ πιο γρήγορα όταν η μεμβράνη είναι αποπολωμένη, ενώ αντίθετα

το χρονικό διάστημα που παραμένουν ανοικτοί τριπλασιάζεται εξ αιτίας μιας ελάττωσης της θερμοκρασίας κατά 10°C ¹⁷.

Στην περιοχή της συναπτικής σχισμής τα μόρια της ACh που δεν αντιδρούν με τους ειδικούς υποδοχείς, ή μετά την αλληλεπίδραση μ' αυτούς αποδεσμεύονται από τις θέσεις αναγνώρισης καταστρέφονται ταχύτατα από το ένζυμο ακετυλχολινεστεράση (AChE). Η ακετυλχολινεστεράση είναι μία ασύμμετρη πρωτεΐνη, που συνδέεται στη βασική μεμβράνη της σχισμής με



Εικ. 7. (Α). Σε κατάσταση ηρεμίας οι θέσεις αναγνώρισης των κεφαλών της μυοσίνης πάνω στα ινίδια της ακτίνης καλύπτονται από την τροπομυοσίνη. (Β) Τα Ca^{2+} τροποποιώντας το σύστημα τροπονίνης-τροπομυοσίνης αποκαλύπτουν ειδικές θέσεις της ακτίνης με τις οποίες συνδέονται οι κεφαλές της μυοσίνης κατά τη σύσπαση της μυϊκής ίνας. Ganong W. F. Excitable Tissue: Muscle in Review of Medical Physiology, 13th Edition, Los Altos, California 1987.

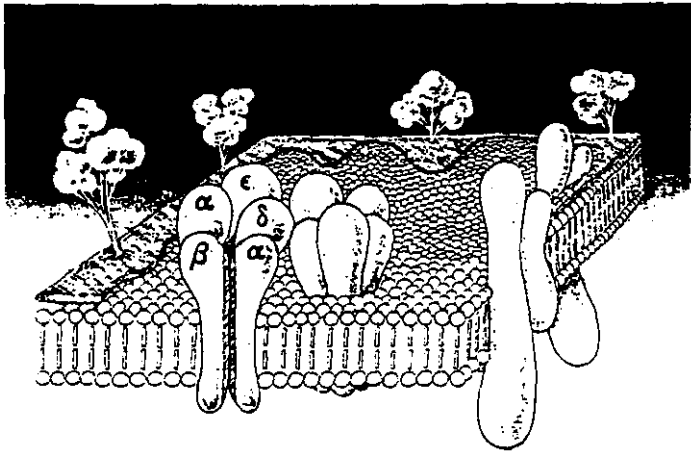
λεπτές γέφυρες κολλαγόνου²⁷. Υπάρχουν διάφορες μορφές του ενζύμου, ανάλογα με την καθίζησή τους και τον αριθμό των περιλαμβανομένων υπομονάδων. Η μορφή του ενζύμου στην περιοχή της ΤΚΠ έχει καθίζηση 16S και αποτελείται από 4 υπομονάδες και 2 ενεργά υδρολυτικά κέντρα. Η συναπτική AChE έχει κυρίως μετασυναπτική προέλευση²⁸, αν και στην παραγωγή της συμμετέχει κατά ένα μικρό μέρος και η νευρική απόληξη²⁹. Σε σχηματική απεικόνιση παρουσιάζεται σαν μια δέσμη μπαλονιών, που συγκρατείται στη βασική μεμβράνη με λεπτούς μίσχους (εικ. 8). Το ένζυμο διαθέτει μια ανιοντική και μία εστερική περιοχή σύνδεσης, από τις οποίες η πρώτη έλκει τη θετικά φορτισμένη περιοχή του μορίου της ACh, ενώ η σύνδεση ολοκληρώνεται στην εστερική περιοχή σύνδεσης. Η υδρόλυση της ACh, σε χολίνη και οξείκο οξύ γίνεται με ταχυστατους ρυθμούς (ms). Ένα μόριο AChE είναι σε θέση να υδrolύσει 6 μόρια ACh, ενώ κάθε σύμπλεγμα υποδοχέα-διαύλου περιβάλλεται από 2 μόρια του ενζύμου. Η ολοκληρωμένη πορεία της ACh στη συναπτική σχισμή, αποτελείται από μία καθορισμένη σειρά γεγονότων. Αρχικά τα περισσότερα μόρια του μεταβιβαστή που εκλύονται από τη νευρική απόληξη, προσπερνούν τα μόρια της AChE και φθάνουν στους μετασυναπτικούς υποδοχείς με τους οποίους κατά μεγάλο ποσοστό

συνδέονται, αν και υπάρχει και ελεύθερη ACh στην περιοχή. Στη συνέχεια η συγκέντρωση της ελεύθερης ACh στη συναπτική σχισμή ελαττώνεται, εξ αιτίας της ενζυμικής της υδρόλυσης. Τελικά προκαλείται διαχωρισμός του συμπλέγματος ακετυλχολίνης-υποδοχέα και τερματισμός της αλληλεπίδρασης, καθώς το συνολικό ποσό του μεταβιβαστή έχει υδrolυθεί και ο ελεύθερος πια υποδοχέας έχει αναλάβει την αρχική του διαμόρφωση. Στη φυσιολογική νευρομυϊκή σύναψη η λειτουργική επάρκεια του ενζυμικού συστήματος της AChE είναι πολύ μεγάλη. Το γεγονός αυτό κάνει τα μόρια της ACh εξαιρετικά βραχύβια ($\leq 1\text{ms}$) και τους στερεί τη δυνατότητα ενεργοποίησης περισσότερων του ενός υποδοχέων^{17,18,19}.

Ολοκληρώνοντας την περιγραφή της φυσιολογίας της νευρομυϊκής μετάδοσης είναι απαραίτητη η επισήμανση των μεγάλων δυνατοτήτων του συστήματος. Με κάθε εκπόλωση της νευρικής απόληξης απελευθερώνεται ένας πολύ μεγάλος αριθμός μορίων ACh, που ενεργοποιεί έναν επίσης πολύ μεγάλο αριθμό συμπλεγμάτων υποδοχέα-διαύλου, προκαλώντας μια μέγιστη εκπόλωση της ΤΚΠ. Παράλληλα τόσο η εκλύομενη ποσότητα του μεταβιβαστή, όσο και ο αριθμός των ενεργοποιούμενων μετασυναπτικών υποδοχέων, αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό ποσοστό των αντίστοιχων διαθεσίμων τους. Έτσι λοιπόν η νευρομυϊκή σύναψη αποτελεί μία "γέφυρα", η οποία εξασφαλίζει την επικοινωνία μεταξύ νευρικής απόληξης και μυϊκής ίνας, με μεγάλα περιθώρια ασφάλειας και σημαντικές εφεδρικές δυνατότητες.

ΑΤΥΠΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Εκτός από τους τυπικούς χολινεργικούς υποδοχείς των ώριμων νευρομυϊκών συνάψεων που ήδη αναφέρθηκαν εκτεταμένα, είναι γνωστή η ύπαρξη και άλλων τύπων χολινεργικών υποδοχέων που αρχικά ονομάστηκαν εξωσυναπτικοί υποδοχείς. Τελικά για το χαρακτηρισμό τους επικράτησε ο όρος άτυποι υποδοχείς, καθώς η εντόπισή τους δεν περιορίζεται μόνο στην εξωσυναπτική περιοχή της μεμβράνης της μυϊκής ίνας, αλλά αντίθετα άτυποι υποδοχείς παρατηρούνται στη μετασυναπτική μεμβράνη και στην προσυναπτική νευρική απόληξη. (εικ. 9Α). Η παρουσία των άτυπων υποδοχέων αφορά φυσιολογικές (νεογνά, βρέφη), αλλά και παθολογικές καταστάσεις (μυϊκή απονεύρωση). Ήδη με τη χρήση βιοσυνθετικών, ηλεκτροφυσιολογικών και ανοσοϊστοχημικών



Εικ. 8.

Σχηματική απεικόνιση της μετασυναπτικής μεμβράνης με τα μόρια της ακετυλχολινεστεράσης (AChE) να περιβάλλουν τους υποδοχείς της ακετυλχολίνης (AChR). Standaert F. G. *Neuromuscular Physiology. Anesthesia 3rd edition. Edited by Miller R. D. New York, Churchill-Livingstone 659-684, 1990.*

τεχνικών, υπάρχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την μοριακή δομή και τις φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες των διαφόρων τύπων χολινεργικών υποδοχέων²⁵. Αν και η αναφορά σ' αυτούς ξεφεύγει από τα όρια της ανάπτυξης της φυσιολογίας της νευρομυικής μετάδοσης, είναι ιδιαίτερα σημαντική για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ νευρομυικής σύναψης και μυοχαλαρωτικών.

Σχετικά με τη βιοσύνθεση των χολινεργικών υποδοχέων της μυϊκής μεμβράνης γνωρίζουμε ότι, τα μυϊκά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα παραγωγής 5 διαφορετικών υπομονάδων, που χαρακτηρίζονται με τα γράμματα α, β, γ, δ και ε. Η αλληλουχία των αμινοξέων που αποτελούν τις υπομονάδες καθορίζεται από 5 διαφορετικά γονίδια, που υπάρχουν στους πολυάριθμους πυρήνες των μυϊκών κυττάρων. Επειδή στο σχηματισμό του πενταμερούς υποδοχέα συμμετέχουν πάντα 2 α υπομονάδες, αποκλείεται η παρουσία μίας από τις υπόλοιπες 4. Όπως ήδη αναφέρθηκε από τους τυπικούς συναπτικούς υποδοχείς απουσιάζει η γ υπομονάδα (αβεδ), ενώ στους άτυπους υποδοχείς έχει παρατηρηθεί η απουσία της ε υπομονάδας (αβγδ)³⁰ (εικ. 9B).

Δύο είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν τον παραγόμενο τύπο χολινεργικών υποδοχέων, η επίδραση της νευρικής απόληξης και η λειτουργική δραστηριότητα του μυϊκού κυττάρου. Η παρέμβαση των νευρικών απολήξεων γίνεται με την παραγωγή και απελευθέρωση ειδικών παραγόντων όπως οι πρωτεΐνες ARIA (acetylcholine receptor-induced activity) και CGRP (calcitonin gene-related peptide), ενώ η λειτουργική δραστηριότητα του μυϊκού κυττάρου επηρεάζει τη βιοσυνθετική διαδικασία πιθανώς μέσω της ενδοκυττάριας εισόδου Ca^{2+} ^{25,31,32}. Κατά την αρχική εμβρυϊκή περίοδο τα μυϊκά κύτταρα στερούμενα νευρικών επιδράσεων παράγουν μόνο άτυπους υποδοχείς, οι οποίοι κατανομούνται σ' ολόκληρη την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Όταν στη συνέχεια με την εξέλιξη του εμβρύου τα μυϊκά κύτταρα αποκτήσουν νεύρωση, τότε αρχίζει η σύνθεση και τυπικών υποδοχέων, που συγκεντρώνονται στην αναπτυσσόμενη τελική κινητική πλάκα. Από τη γέννηση και μέχρι την ηλικία των 2 ετών, οπότε και ολοκληρώνεται η ωρίμανση της νευρομυικής σύναψης, τα μυϊκά κύτταρα παράγουν και τα δύο είδη υποδοχέων. Στην περίοδο αυτή, ο αριθμός και η κατανομή των άτυπων υποδοχέων περιορίζεται βαθμιαία από τη συνολική επιφάνεια του μυϊκού κυττάρου προς τη μετασυναπτι-

κή μεμβράνη, μέχρι η σύνθεσή τους να διακοπεί εντελώς. Μετά την ολοκλήρωση της ωρίμανσης των συνάψεων, η σύνθεση άτυπων υποδοχέων ξαναρχίζει μόνο όταν ελατώνονται οι επιδράσεις των νευρικών απολήξεων στις μυϊκές ίνες. Τέτοιες συνθήκες δημιουργούνται από βλάβες του κατώτερου κινητικού νευρώνα (νευρική διατομή, Guillain-Barre, πολυομυελίτιδα) και του ανώτερου κινητικού νευρώνα (διατομή νωτιαίου μυελού-αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια), καθώς και από άμεσες μυϊκές κακώσεις μηχανικής ή θερμικής αιτιολογίας. Όταν οι νευρικές επιδράσεις ελαττώνονται χωρίς να καταρτούνται εντελώς, τότε οι άτυποι υποδοχείς εντοπίζονται στην συναπτική και την περισυναπτική περιοχή της μυϊκής μεμβράνης. Παράλληλα συνεχίζεται και η παραγωγή τυπικών υποδοχέων, ώστε και οι δύο τύποι να συνυπάρχουν στη μετασυναπτική μεμβράνη. Σε σοβαρότερες βλάβες με πλήρη και παρατεταμένη κατάργηση των νευρικών επιδράσεων (διατομή νευρών), οι παραγόμενοι άτυποι υποδοχείς κατανομούνται σ' ολόκληρη την επιφάνεια της μυϊκής ίνας, συγχρόνως δε η παραγωγή τυπικών υποδοχέων σταματά εντελώς^{17,25}.

Οι δύο τύποι χολινεργικών υποδοχέων παρουσιάζουν σημαντικές φυσιολογικές και φαρμακολογικές διαφορές. Στις πρώτες, πέρα από την διαφορετική εντόπιση που ήδη αναφέρθηκε περιλαμβάνεται και η μεταβολική αστάθεια των άτυπων υποδοχέων, η ημιπερίοδος ζωής των οποίων είναι πολύ σύντομη ($\leq 24h$) και αντιπροσωπεύει μόνο το 1/10 του αντίστοιχου μεγέθους των τυπικών συναπτικών υποδοχέων^{22,33}. Η σημαντικότερη όμως φυσιολογική διαφορά έχει σχέση με τη μικρότερη αγωγιμότητα των άτυπων υποδοχέων, καθώς και τη διάνοιξή τους για χρονικό διάστημα 2-10 φορές μεγαλύτερο εκείνου των τυπικών υποδοχέων³⁴. Από τις φαρμακολογικές διαφορές ιδιαίτερη κλινική σημασία έχουν εκείνες που αφορούν τις αλληλεπιδράσεις των υποδοχέων με τα μυοχαλαρωτικά. Αν και οι θέσεις αναγνώρισης της ACh εντοπίζονται στις α υπομονάδες, η αντικατάσταση της ε από την γ υπομονάδα στους άτυπους υποδοχείς διαφοροποιεί σημαντικά την ευαισθησία τους σε αγωνιστές και ανταγωνιστές. Συγκεκριμένα οι άτυποι υποδοχείς ενεργοποιούνται από χαμηλότερες συγκεντρώσεις αγωνιστών, ενώ η διάνοιξη των διαύλων τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα επιτρέπει τη διακίνηση μεγαλύτερου αριθμού κατιόντων. Αντίθετα και πάντοτε σε σύγκριση με τους τυπικούς, οι άτυποι υποδοχείς απαιτούν υψηλότερες συγκεντρώσεις

ανταγωνιστών για τον αποκλεισμό τους^{22,35}.

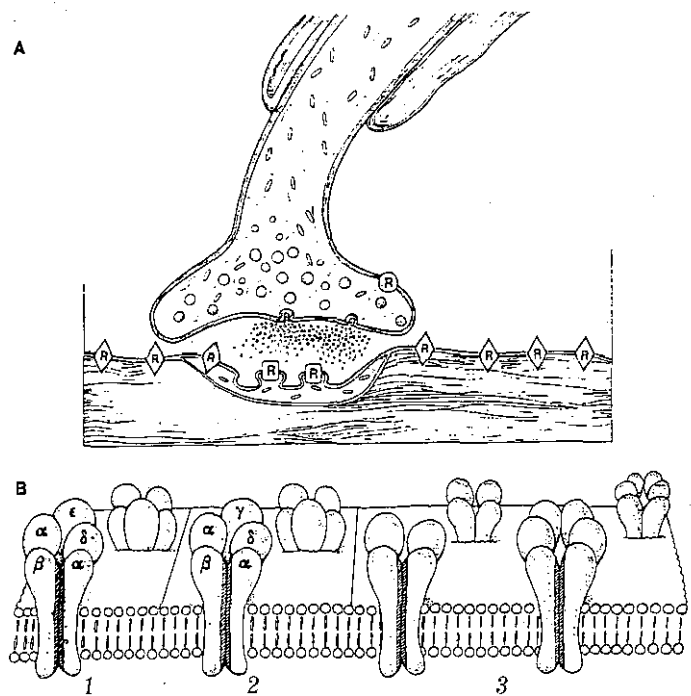
Στις συγκεκριμένες φαρμακολογικές ιδιότητες των άτυπων υποδοχέων, αποδίδεται η επικίνδυνη υπερκαλιαιμία που ακολουθεί τη χορήγηση σουκινυλχολίνης σε ασθενείς με εκτεταμένη μυική απονεύρωση καθώς και η δυσκολία πρόληψης της επιπλοκής με τη χρήση μη αποπολωτικών μυοχαλαρωτικών³⁶.

Σε ηπιώτερες διαταραχές όπου η κατανομή των άτυπων υποδοχέων περιορίζεται μόνο στην ΤΚΠ, ο κίνδυνος υπερκαλιαιμίας από τη χορήγηση αποπολωτικών μυοχαλαρωτικών είναι ανύπαρκτος. Στις περιπτώσεις αυτές ενδέχεται να μας προβληματίσει η μειωμένη ευαισθησία στα μη αποπολωτικά μυοχαλαρωτικά. Επισημαίνεται ότι η διαφοροποίηση της ευαισθησίας των προσβεβλημένων μυών στα μυοχαλαρωτικά ενδέχεται να εμφανιστεί πολύ γρήγορα, καθώς ένας σημαντικός αριθμός άτυπων υποδοχέων μπορεί να αναπτυχθεί τόσο στη συναπτική όσο και στην εξω-συναπτική περιοχή της μυικής μεμβράνης μέσα σε 24-48 ώρες από τη βλάβη (τραυματισμός, ακινητοποίηση). Στην παρουσία των άτυπων υποδοχέων αποδίδεται και η απρόβλεπτη συμπεριφορά του μυικού συστήματος των νεογνών και των βρεφών στα μυοχαλαρωτικά. Στο χρονικό διάστημα από τη γέννηση μέχρι το 2ο έτος της ηλικίας η ΤΚΠ περιέχει ένα μίγμα τυπικών και άτυπων υποδοχέων, η μεταξύ των οποίων αναλογία μεταβάλλεται συνεχώς εξαρτώμενη από παράγοντες όπως η ηλικία και η νευρομυϊκή δραστηριότητα. Η συγκεκριμένη ιδιομορφία των ανώριμων νευρομυϊκών συνάψεων, ευθύνεται για την απρόβλεπτη ευαισθησία τους στα αποπολωτικά και μη αποπολωτικά μυοχαλαρωτικά^{17,22,25}.

Η ύπαρξη προσυναπτικών χολινεργικών υποδοχέων είχε πιθανολογηθεί πριν από αρκετά χρόνια, προκειμένου να εξηγηθούν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ προσυναπτικών φαινομένων και χολινεργικών αγωνιστών και ανταγωνιστών. Η υπόθεση επιβεβαιώθηκε από μεταγενέστερες παρατηρήσεις σύμφωνα με τις οποίες η α-bungarotoxin, ένα πεπτίδιο που όπως ήδη αναφέρθηκε έχει μεγάλη συγγένεια με τους χολινεργικούς υποδοχείς, συνδέεται στις προσυναπτικές μεμβράνες. Σήμερα, παρά το γεγονός ότι η μελέτη των προσυναπτικών χολινεργικών υποδοχέων υστερεί συγκριτικά με την αντίστοιχη των μετασυναπτικών, υπάρχουν αρκετές γνώσεις σχετικά με τη δομή και τη φυσιολογία τους.

Κατ' αντιστοιχία με τους μυικούς οι προσυναπτικοί χολινεργικοί υποδοχείς είναι κυλινδρικά αθροίσματα

πρωτεϊνικών υπομονάδων που διασχίζουν τη μεμβράνη της νευρικής απόληξης και αφού ενεργοποιηθούν επιτρέπουν τη διακίνηση ιόντων. Κάθε υποδοχέας αποτελείται από ζυγό αριθμό υπομονάδων (συνήθως 4 ή 6 υπομονάδες) οι οποίες ομοιάζουν με τις α και β υπομονάδες των μυικών χολινεργικών υποδοχέων. (εικ. 9B). Η ανακάλυψη 7 και 4 υποτύπων για τις α και β υπομονάδες αντίστοιχα και η δυνατότητα πολυάριθμων συνδυασμών τους, παρέχει μία μεγάλη ποικιλία προσυναπτικών χολινεργικών υποδοχέων με ενδεχόμενες φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιομορφίες^{37,38}. Πάντως η διερεύνηση των διαφορών τους έχει μόλις αρχίσει³⁹.



Εικ. 9.

(A) Σχηματική κατανομή των χολινεργικών υποδοχέων: R τυπικοί συναπτικοί υποδοχείς, R άτυποι υποδοχείς μυικής μεμβράνης, R προσυναπτικοί υποδοχείς. (B) Σχηματική απεικόνιση της δομής των χολινεργικών υποδοχέων 1: τυπικοί συναπτικοί υποδοχείς, 2: άτυποι υποδοχείς μυικής μεμβράνης, 3: προσυναπτικοί υποδοχείς. Standaert F. G. *Neuromuscular Physiology. Anesthesia 3rd edition*. Edited by Miller R. D. New York, Churchill-Livingstone 659-684, 1990.

Ως προς το λειτουργικό τους ρόλο, υποστηρίζεται ότι οι προσυναπτικοί υποδοχείς επηρεάζουν την είσοδο Na^+ στη νευρική απόληξη και παρεμβαίνουν στη διαδικασία κινητοποίησης της ACh, αποτελώντας έτσι ένα σύστημα παλίνδρομης ρύθμισης. Συγκεκριμένα οι υποδοχείς αφού ανιχνεύσουν το

ποσό της ACh στη συναπτική σχισμή, παρεμβαίνουν στην κινητοποίησή της κατά τρόπον ώστε η νευρική απόληξη να ανταποκρίνεται συνεχώς στις απαιτήσεις της νευρομυϊκής μετάδοσης^{18,25}. Επιπλέον και σε αναλογία με άλλες θέσεις του νευρικού συστήματος αναφέρεται η παρουσία και μουςκαρινικών υποδοχέων στις νευρικές απολήξεις, οι οποίοι λειτουργούν σαν ένα σύστημα αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στην έκλυση της ACh. Ήδη είναι γνωστά τα γονίδια 5 υπο-

τύπων τέτοιων υποδοχέων με σκοπό να επακολουθήσει η συχέτισή τους με συγκεκριμένες φαρμακολογικές δραστηριότητες^{40,41}.

Κατά τα τελευταία χρόνια υπάρχει μία ραγδαία αύξηση των γνώσεων γύρω από τους προσυναπτικούς χολινεργικούς υποδοχείς, αναμφίβολα δε η κατανόηση των νέων στοιχείων θα διαφωτίσει απόλυτα τη φαρμακολογία των μυοχαλαρωτικών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Hall Z.W., Sanes J.R.: Synaptic Structure and Development: The Neuromuscular Junction. Cell 72S: 99-121, 1993.
- Engel A.G. The neuromuscular function. In Myology, A.G. Engel and B.Q. Banker, eds. New York Mc Graw Hill, 209-253, 1986.
- Ogata T. Structure of motor endplates in the different fiber types of vertebrate skeletal muscles. Arch. Histol. Cytol. 51: 385-424, 1988.
- Heuser J.E., Reese T.S. Structural changes after transmitter release at the frog neuromuscular junction J. Cell Biol. 88: 564-578, 1981.
- Matteoli M., Balbi S., Sala C., Chini B., Cimino M., Vitadello M. and Fumagali G. Developmentally regulated expression of calcitonin gene-related peptid at mamalian neuromuscular junction. J. Mol. Neurosc. 2: 175-184, 1990.
- Betz W.J., Caldwell J.H., Kinnamon S.C. Increased sodium conductance in the synaptic region of rat skeletal muscle fibres. J. Physiol. 352: 189-195, 1984.
- Marx J. Getting it together at the synapse. Science 258: 1304-1306, 1992.
- Ceccarelli B., Hurlbut W.P. Vesicle hypothesis of the release of quanta of acetylcholine. Physiol. Rev. 60: 396-441, 1980a.
- Katz B., Miledi R. Estimates of quantal content during "chemical potentiation" of transmitter release. Proc. R. Soc. Lond. [Biol] 215: 369-387, 1979.
- Terrar D.A. Structure and function of calcium channels and the action of anaesthetics Br. J. Anaesth. 71: 39-46, 1993.
- Standaert F. G., Dretschen K. L. Cyclic nucleotides in neuromuscular transmission. Anesth. Analg. 60: 91-97, 1981.
- Buckley R., Kelly R. B. Identification of a transmembrane glycoprotein specific for secretory vesicles of neuronal and endocrine cells. J. Cell Biol. 100: 1284-1294, 1985.
- Wiederman B., Franke W. Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of M. 38.000 characteristic of presynaptic vesicles, Cell. 41: 1017-1028, 1985.
- Baumert M., Maycox P.R., Navone F., De Camilli P., Jahn R., Synaptobrevin an integral membrane proteine of 18.000 dalton present in small synaptic vesicles of rat brain. Eur. Mol. Biol. Organ J. 8: 379-384, 1989.
- Torri-Tarelli F., Villa A., Valtorta F., De Camilli P., Greengard P., Ceccarelli B. Redistribution of Synaptophysin and Synapsin I during a-Latrotoxin-induced release of neurotransmitter at the neuromuscular junction. J. Cell Biol. 110: 449-459, 1990.
- Valtorta F., Jahn R., Fesce R. Synaptophysin (p. 38) at the frog neuromuscular junction. Its incorporation into the axolemma and recycling after intense quantal secretion. J. Cell Biol. 107: 2719-2730, 1988.
- Standaert F. G. Neuromuscular physiology, Anesthesia 3rd edition. Edited by Miller R. D. New York, Churchill-Livingstone 659-684, 1990.
- Bowman W. C. Pharmacology of Neuromuscular Function. 2nd Edition, Wright London 1990.
- Bowman W. C. Anatomy and Pharmacology of Neuromuscular Transmission. Refresher course

- Lectures of 10th World Congress of Anaesthesiologists. B. 501, 1992.
20. Meldolesi J., Ceccarelli B. Exocytosis and membrane recycling. *Curr. Top. Membr. Trans.* 32: 139-168, 1988.
 21. Whittaker V. P. The organization of the cholinergic synapse. *Keio J. Med.* 37: 234-244, 1988.
 22. Martyn J. A. J., White D. A., Gronert G. A., Jaffe R. S., Ward J. M. Up-and-down Regulation of Skeletal muscle acetylcholine receptors. *Anesthesiology* 76: 822-843, 1992.
 23. Mitra A. K., Mc Carthy M. P., Stroud R. M. Three-dimensional structure of the nicotinic acetylcholine receptor and location of the major associated 43-KD cytoskeletal protein, determined at 22A by low dose electron microscopy and x-ray diffraction to 12,5A. *J. Cell Biol.* 109: 755-765, 1989.
 24. Froehner S. C. The submembrane machinery for nicotinic acetylcholine receptor clustering. *J. Cell Biol.* 114: 1-7, 1991.
 25. Standaert F. G. Basic Chemistry of acetylcholine receptors. *Anesth. Clin. North. Amer.* 11: 205-218, 1993.
 26. Hopfield J. F., Tank D. W., Greengard P. Functional modulation of the nicotinic acetylcholine receptor by tyrosine phosphorylation. *Nature* 336: 477-483, 1988.
 27. Taylor P., Schumacher M., Mc Phee-Quingley K. The structure of acetylcholinesterase: Relationship to its function and cellular disposition. *Trends Neurosci* 10: 93-104, 1987.
 28. De la Porte S., Vallette F., Grassi J., Vigny M., Kolnig J. Presynaptic or postsynaptic origin of acetylcholinesterase at neuromuscular junctions. An immunological study in heterologous nerve-muscle cultures. *Dev. Biol.* 116: 69-77, 1986.
 29. Anlister L. Acetylcholinesterase from the motor nerve terminal accumulates on the synaptic basal lamina at the myotiber. *J. Cell. Biol.* 115: 755-764, 1991.
 30. Gu Y., Hall Z. W. Immunological evidence for a change in subunits of the acetylcholine receptor in developing and denervated rat muscle. *Neuron* 1: 117-125, 1988.
 31. Uchida S., Yamamoto H. S., Matsumoto N., Wang X. B., Yonehara N., Imai Y., Inoki R., Yoshida H. Release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive substance from neuromuscular junction by nerve excitation and its action on striated muscle. *J. Neurochem* 54: 1000-1003, 1990.
 32. Rotzler S., Schramek H., Breuner H. Metabolic stabilization of end plate acetylcholine receptors regulated by Ca^{2+} influx associated with muscle activity. *Nature* 349: 337-370, 1991.
 33. Shyng S. L., Salpeter M. M. Effect of reinnervation on degradation rate of junctional acetylcholine receptors synthesised in denervated skeletal muscles. *J. Neurosci* 10: 3905-3915, 1990.
 34. Brehm P., Henderson L. Regulation of acetylcholine receptor channel function during development of skeletal muscle. *Dev. Biol.* 129: 1-11, 1988.
 35. Lorkovic H. Acetylcholine-induced currents in denervated mouse soleus muscle: Effects of antagonists. *Neuropharmacology* 29: 573-577, 1990.
 36. Yentis S. M. Suxamethonium and hyperkalemia. *Anaesth. Intensive Care.* 18: 92-101, 1990.
 37. Steinbach J. H., Ifane C. How many kinds of nicotinic acetylcholine receptors are there? *Trends Neurosci* 12: 2-5, 1989.
 38. Luetje C. W., Patrick J. Both alpha and beta subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurosci* 11: 837-848, 1991.
 39. Wessler I. Control of transmitter release from the motor nerve by presynaptic nicotinic and muscarinic autoreceptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 10: 110-121, 1989.
 40. D'Agostino G., Chiari M. C., Grana E. Muscarinic inhibition of acetylcholine release from a novel in vitro preparation of the guinea-pig trachea. *Arch. Pharmacol.* 342: 141-150, 1990.
 41. Hulme E. C., Birsdall N. J., Buckley N. J. Muscarinic receptor subtypes. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30: 633-639, 1990.
-