UNIVERSITÀ DI FERRARA
Dip.to Biologia – Sez. Fisiologia e Biofisica
Via Borsari, 46 - 44100 FERRARA – ITALY
Dott.ssa Bruna Pelucchi plb@dns.unife.it www.unife.it/nbplab

3. La trasduzione sensoriale nell'orecchio interno

SOMMARIO

1. Morfologia delle Hair Cells 1
2. Stimolazione meccanica delle HCs 2
3. Fenomeni di adattamento 3
4. Basi ioniche della trasduzione meccano-elettrica 4

1. Morfologia delle Hair Cells

Le cellule cigliate (hair cells, HCs, **Fig. 1**) sono delle cellule epiteliali presenti nella periferia uditiva e vestibolare specializzate nella trasduzione meccano-elettrica. Le HCs svolgono questa funzione con una notevole efficienza dato che sono in grado di misurare movimenti dell'ordine dei nanometri e di trasdurre fedelmente frequenze dell'ordine dei KHz. La morfologia e la fisiologia delle HCs presenti nell'orecchio interno è sostanzialmente la stessa, indipendentemente dal fatto che esse servano da recettori vestibolari od uditivi. La diversa specializzazione sensoriale dipende criticamente dalle strutture anatomiche accessorie che accompagnano le HCs nei diversi organi sensoriali.
Queste cellule presentano delle marcate differenze morfologiche fra la loro parte apicale e quella basale. In particolare, il lato apicale è bagnato dall'endolinfa mentre quello basale dalla perilinfa. Queste due speciali soluzioni saline differiscono per la loro composizione chimica.

l'endolinfa ha composizione simile a quella dei liquidi intracellulari (alto contenuto di potassio e basso di sodio). L'elevata concentrazione del potassio si deve alla presenza di cellule epiteliali specializzate presenti nella stria vascolare della chiocciola (**cellule marginali**) e nelle aree che circondano le macule e le creste ampollari del labirinto vestibolare (**dark cells**). L'endolinfa defluisce longitudinalmente lungo il labirinto per raccogliersi nel sacco endolinfatico, nella cui parete sono presenti delle cellule deputate al suo riassorbimento[1]. Il lato endolinfatico del labirinto membranoso risulta carico positivamente rispetto a quello perilinfatico. Tale potenziale, che viene detto endococleare, é più elevato nella coclea (circa + 80 mV), mentre nel vestibolo è di entità modesta. Il **potenziale endococleare** è prodotto dalla stria vascolare. SI tratta di una struttura complessa costituita da uno strato di cellule marginali sul lato endolinfatico, da uno spazio peristriatale contenente capillari e cellule intermedie e da cellule basali a ridosso del ligamento spirale (lato perilinfatico). A tutt'oggi il meccanismo preciso che genera tale potenziale non è accertato in modo definitivo. La maggior parte degli autori ritiene che esso si collochi a livello delle cellule intermedie, mentre le cellule marginali, analoghe funzionali delle dark cells vestibolari, svolgerebbero il ruolo di trasportare potassio dallo spazio perilinfatico verso l'endolinfa.

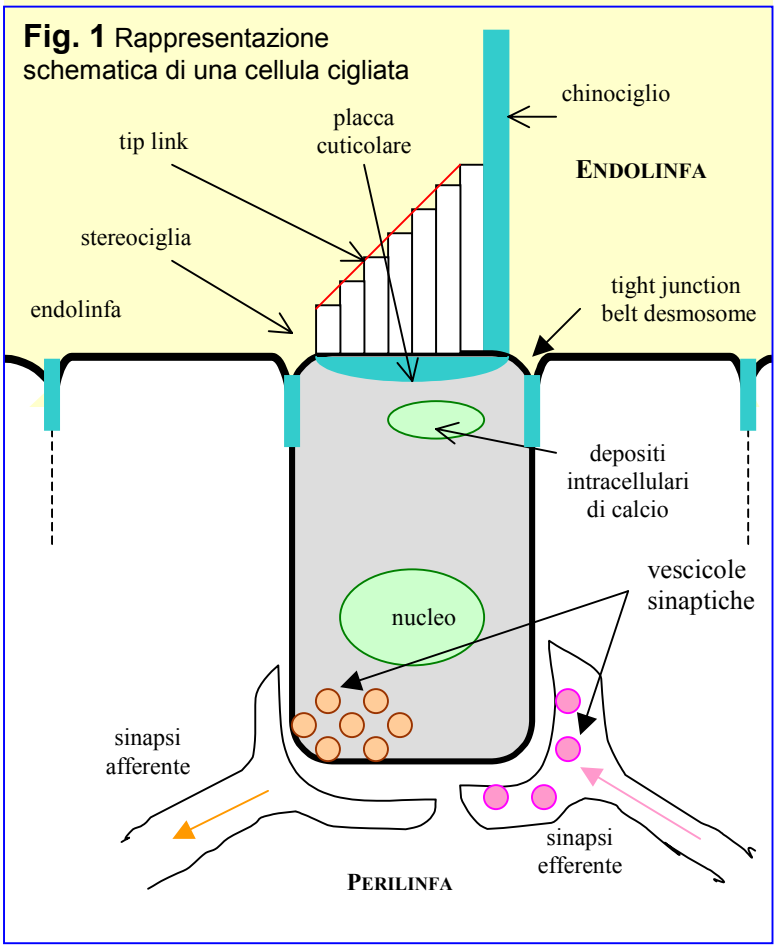


Fig. 1 Rappresentazione schematica di una cellula cigliata

La perilinfa ha la composizione tipica dei liquidi extracellulari ed è quindi simile al liquor, a parte un maggior contenuto proteico. Si forma, attraverso meccanismi di filtrazione, dai vasi sanguigni del periostio ed è drenata nello spazio subaracnoideo attraverso l'acquedotto della chiocciola.

Sulla superficie apicale è presente una serie di ciglia mentre sul lato basale la cellula mostra dei contatti sinaptici con le terminazioni nervose. I contatti sinaptici fra cellule cigliate e fibre nervose avvengono lungo due direttrici. Vi sono innanzitutto delle **sinapsi afferenti** che trasportano lo stimolo sensoriale dalla periferia verso il centro. In queste sinapsi le vescicole di mediatore sono contenute nelle cellule cigliate. Le fibre nervose afferenti sono costituite dal prolungamento periferico dei neuroni bipolari il cui soma si trova nel ganglio cocleare od in quello vestibolare. Il loro prolungamento centrale costituisce rispettivamente il nervo uditivo o vestibolare. Il mediatore rilasciato dalle hair cells è il glutamato. Inoltre sono presenti anche delle **sinapsi efferenti** che trasportano alle cellule cigliate segnali di controllo e modulazione provenienti dal sistema nervoso centrale. In questo caso le vescicole si trovano nella fibra nervosa. Il mediatore efferente principale è l'acetilcolina (ACh). Probabilmente è rilasciato anche un peptide (CGRP, calcitonin gene-related peptide).
Le cellule cigliate si trovano in prossimità di cellule di sostegno alle quali aderiscono saldamente per mezzo di giunzioni serrate (**tight junctions**). Questo consente una separazione netta tra il compartimento apicale e quello basale ed impedisce la dissipazione delle differenze di concentrazione dei vari ioni nell'endolinfa e nella perilinfa. Al di sotto delle tight junction si trovano i **belt desmosome**, un altro tipo di giunzione che consente l'ancoraggio meccanico delle HCs.
Il fascio di ciglia presente al polo apicale ha dimensioni variabili, da 1 a 100 µm, a seconda dell'organo in cui si trova. Vi sono due tipi diversi di ciglia: un chinociglio più lungo e più voluminoso, situato ad un'estremità della superficie cellulare, ed una serie di stereociglia (da 20 a 300) organizzate secondo una geometria esagonale. Il **chinociglio** si origina da un corpuscolo basale ed ha una struttura interna complessa costituita da 9 microtubuli. Le **stereociglia** hanno una struttura più semplice, derivano da estroflessioni della membrana cellulare ed hanno un'altezza inferiore a quella del chinociglio. Contengono dei fasci di filamenti di actina, una proteina contrattile, interconnessi da un'altra proteina, la fibrina. Le stereociglia sono ancorate alla loro base alla placca cuticolare, una rete di filamenti di actina. Questa struttura conferisce una certa rigidità alle stereociglia. La loro altezza diminuisce progressivamente dal chinociglio verso l'estremità opposta della cellula. Quest'organizzazione decrescente, definita a canne d'organo, individua un'**asse di polarizzazione morfologica** sulla superficie apicale delle cellule. Nella direzione dell'asse di polarizzazione le ciglia adiacenti sono collegate da filamenti proteici a doppia elica (**tip links**, costituiti da polipeptidi glicosilati). Queste connessioni sono invece assenti fra le ciglia che si trovano allineate perpendicolarmente a tale asse, vale a dire quelle che hanno la stessa altezza.

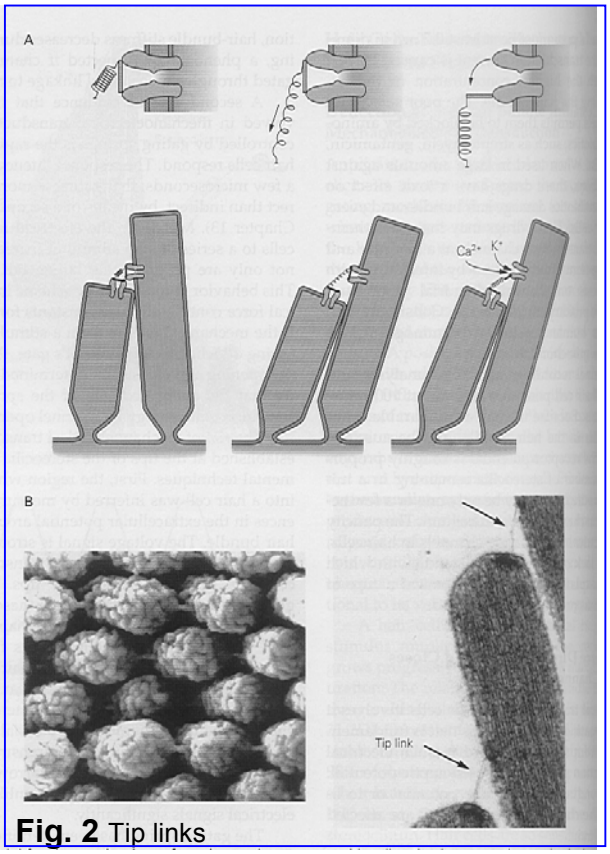


Fig. 2 Tip links

2. Stimolazione meccanica delle HCs

Lo stimolo adeguato per attivare le cellule cigliate è costituito da una forza tangenziale alla sommità delle ciglia che sia in grado di inclinarle. Infatti uno stimolo compressivo, perpendicolare alla superficie cellulare, non ha alcun effetto. E' stato proposto che le tip links si comportino come delle minuscole molle e che sulla sommità delle ciglia si trovino complessivamente un centinaio di canali ionici (**canali di trasduzione**[2], uno o al massimo due per stereociglio) sensibili allo stiramento meccanico (**Fig. 2**). Secondo questo modello, quando le ciglia si flettono si verificherebbe:

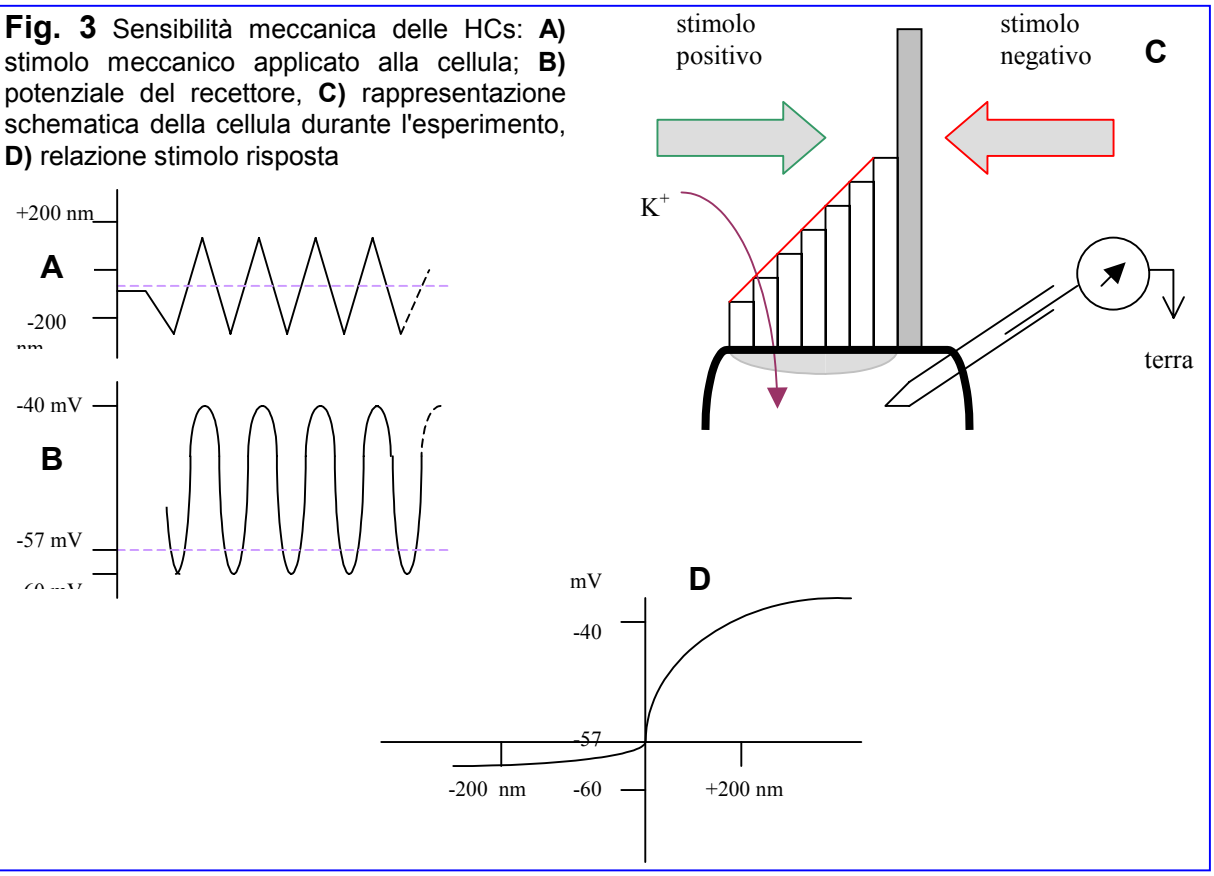
⇒ uno stiramento dei tip links, con conseguente apertura del canale, se lo spostamento avviene verso il chinociglio;

⇒ un rilassamento dei tip links, con conseguente chiusura del canale, se lo spostamento avviene lontano dal chinociglio.

Le correnti ioniche che passano attraverso il canale di traduzione, quando questo è aperto dallo stimolo meccanico, determinano delle modificazioni del potenziale elettrico a cavallo della membrana cellulare ed una conseguente modulazione del rilascio di mediatori chimici che indurranno a loro volta una variazione nella scarica dei potenziali d'azione della fibra afferente. In cellule isolate é stato dimostrato che l'applicazione di uno stimolo meccanico tangenziale provoca depolarizzazione o iperpolarizzazione della membrana cellulare, a seconda che la sua direzione sia rispettivamente verso il chinociglio o lontano da esso (**Fig. 3**).
Anche in assenza di qualsiasi stimolo le HCs presentano un **rilascio spontaneo** di neuromediatore. Ciò implica che la cellula sia parzialmente depolarizzata (-57 mV) già in condizioni di riposo a causa della apertura di una quota, (stimata

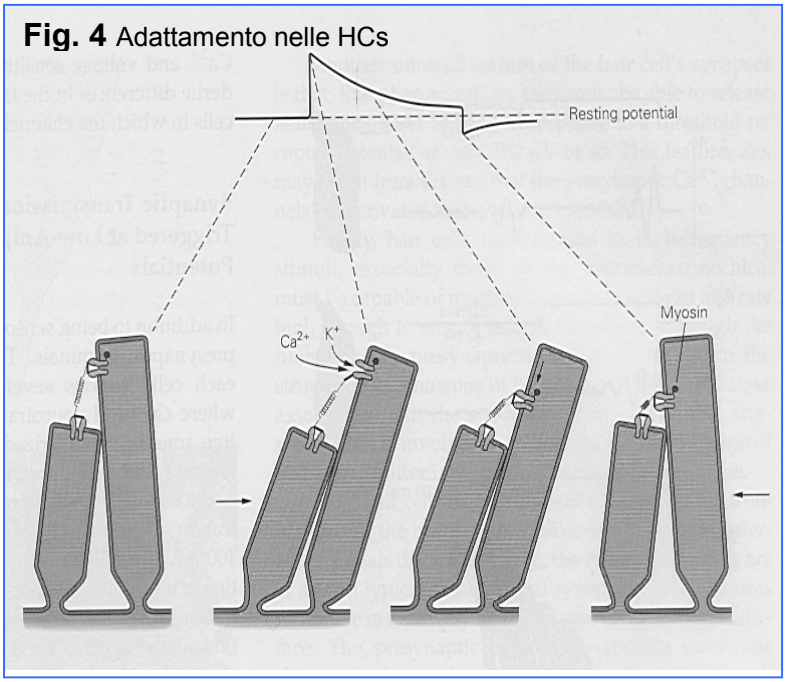
attorno al 15%) dei canali di trasduzione. Il vantaggio principale di quest'attività basale consiste nella possibilità di poter codificare stimoli sia di segno positivo sia negativo.

Fig. 3 Sensibilità meccanica delle HCs: **A)** stimolo meccanico applicato alla cellula; **B)** potenziale del recettore, **C)** rappresentazione schematica della cellula durante l'esperimento, **D)** relazione stimolo risposta



All'asse di polarizzazione morfologica ne corrisponde quindi anche uno di polarizzazione funzionale. La variazione di potenziale prodotta dallo stimolo meccanico è proporzionale alla sua intensità. con un'**asimmetria** tra risposte eccitatorie ed inibitorie (**Fig. 3**). Infatti, mentre vi è un 85% di canali ancora chiusi che possono essere aperti, quelli che possono essere chiusi sono solo il 15%.

Fig. 4 Adattamento nelle HCs



3. Fenomeni di adattamento

L'adattamento consiste in una progressiva diminuzione del potenziale del recettore quando la deflessione delle ciglia si mantiene costante nel tempo. Questo fenomeno, nel sacculo di rana,si sviluppa nell'arco di decine di millisecondi ed è associato ad una modificazione attiva delle proprietà meccaniche del fascio di ciglia, a livello del punto di ancoraggio dei tip links sulle stereociglia (**Fig. 4**). Si ritiene che l'adattamento dipenda da un meccanismo di feed-back negativo basato sull'entrata di ioni Ca^{2+} che, entrando dal canale di trasduzione durante lo stimolo, ne diminuiscono la probabilità di apertura. Probabilmente si verifica un'attenuazione della forza elastica applicata dai tip links che connettono le ciglia, attraverso un riposizionamento dell'inserzione del tip link stesso sul ciglio. Infatti l'inserzione del tip link ed il canale di traduzione possono essere trascinati per mezzo dello scorrimento della miosina sul core di actina interno al ciglio. Nella coclea di tartaruga l'adattamento è più veloce e probabilmente dipende da un'azione più diretta degli ioni calcio sul canale di trasduzione. Ci sono poi anche altri

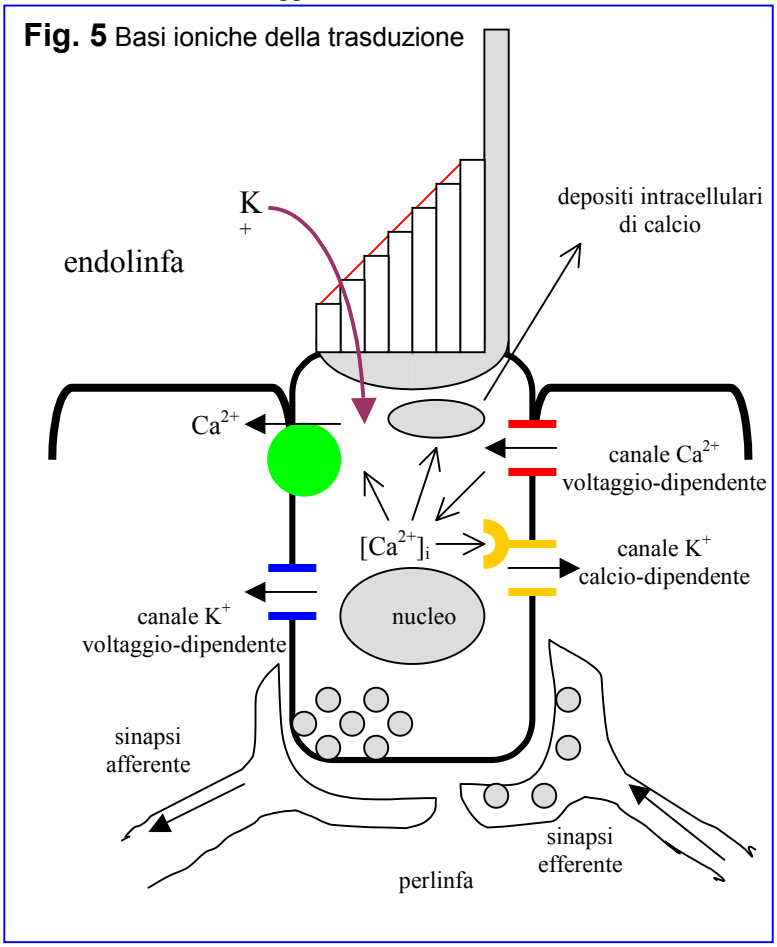
meccanismi di adattamento riguardanti le proprietà meccaniche delle strutture accessorie, le proprietà dei canali ionici voltaggio dipendenti e della trasmissione sinaptica.

4. Basi ioniche della trasduzione meccano-elettrica

Le basi ioniche del fenomeno di trasduzione sono molto probabilmente le seguenti. Il **canale di trasduzione** si comporta come un grosso poro permeabile ai cationi mono- e bi-valenti. Lo ione positivo più concentrato nell'endolinfa, che determina la maggior parte della corrente di trasduzione, è il **potassio**. La sua concentrazione è in ogni modo elevata anche all'interno della cellula e vi è quindi un modesto gradiente di chimico. A questo si somma però il gradiente elettrico dovuto alla presenza del potenziale endococleare. Una frazione della corrente di trasduzione è portata anche dal calcio, poiché questo ione è molto più concentrato nell'endolinfa che nella cellula. In esperimenti in vitro, gli **antibiotici aminoglicosidici** bloccano selettivamente e reversibilmente questo canale. Nei trattamenti farmacologici cronici l'ototossicità si sviluppa lentamente e sarebbe dovuta ad un accumulo intracellulare dell'antibiotico che entrerebbe o attraverso il canale di trasduzione o, secondo altri , per endocitosi a livello cigliare. Una volta penetrato nelle HCs, il farmaco danneggerebbe l'attività dei mitocondri[2,3]

L'entrata di potassio nella cellula tende a **depolarizzarla**. La depolarizzazione causa l'apertura di canali specifici per il calcio, sensibili al voltaggio e situati sul lato basale della cellula. **L'aumento della concentrazione di calcio** all'interno della cellula determina la fusione delle vescicole sinaptiche con la membrana cellulare e la conseguente fuoriuscita del mediatore chimico (glutammato). L'aumento della concentrazione di calcio causa anche l'apertura di canali selettivi per il potassio e modulati dal calcio (**canali potassio calcio-dipendenti**). Si ha così un flusso uscente di ioni potassio a livello basale (nella perilinfa questo ione è poco concentrato).

Fig. 5 Basi ioniche della trasduzione



La fuoriuscita di potassio **iperpolarizza** la cellula mettendo fine agli effetti della stimolazione; contemporaneamente il calcio è allontanato dalla cellula attraverso meccanismi di trasporto attivo. Nel frattempo il mediatore chimico che ha raggiunto la membrana postsinaptica (cioè la fibra nervosa afferente), ha causato l'apertura di canali ionici che lo riconoscono in modo specifico. Attraverso questi canali entrano nella fibra nervosa ioni positivi che la depolarizzano. Se tale depolarizzazione raggiunge la soglia si avrà una scarica di potenziali d'azione.

Una caratteristica importante della sinapsi afferente è l'esistenza di un **rilascio basale** di mediatore che lo stimolo può fare aumentare o diminuire secondo la sua direzione. Inoltre il rilascio di mediatore in conseguenza dell'arrivo di uno stimolo è in grado di **seguire fedelmente anche l'andamento temporale** molto rapido di stimoli ad alta frequenza

---

[1] Nella **sindrome di Meniere**, caratterizzata da attacchi di vertigini accompagnati anche da sintomi uditivi, si osserva un eccessivo accumulo di liquidi negli spazi endolinfatici che finisce per danneggiare gli epiteli sensoriali. La causa risiede probabilmente in un insufficiente drenaggio di endolinfa da parte del dotto endolinfatico

[2] Lo studio molecolare dei canali di trasduzione delle HCs è complicato dal loro numero molto modesto e dalla mancanza di un ligando specifico. Tuttavia le proprietà del canale lo assimilano ai meccanocettori degli insetti ed al canale sodio epiteliale del rene. Tutti questi sono bloccati dall'**amiloride**, anche se il canale delle stereociglia richiede dosi molto più elevate di quello renale, dosi alle quali il farmaco blocca anche i canali L e T del calcio, il canale cationico attivato dallo stiramento degli oociti di Xenopus, il recettore del glutammato, lo scambiatore Na^+/Ca^{2+} e quello Na^+/H^+, ed anche i recettori P_2. Questi ultimi, presenti in numero elevato sulle ciglia, sono stati esclusi come possibili candidati per la trasduzione in quanto la loro conduttanza è troppo bassa.

[3] La sensibilità a questi farmaci si eredita come tratto microsomiale determinando un'ototossicità a lungo termine, caratterizzata da perdita delle ciglia e morte delle HCs.