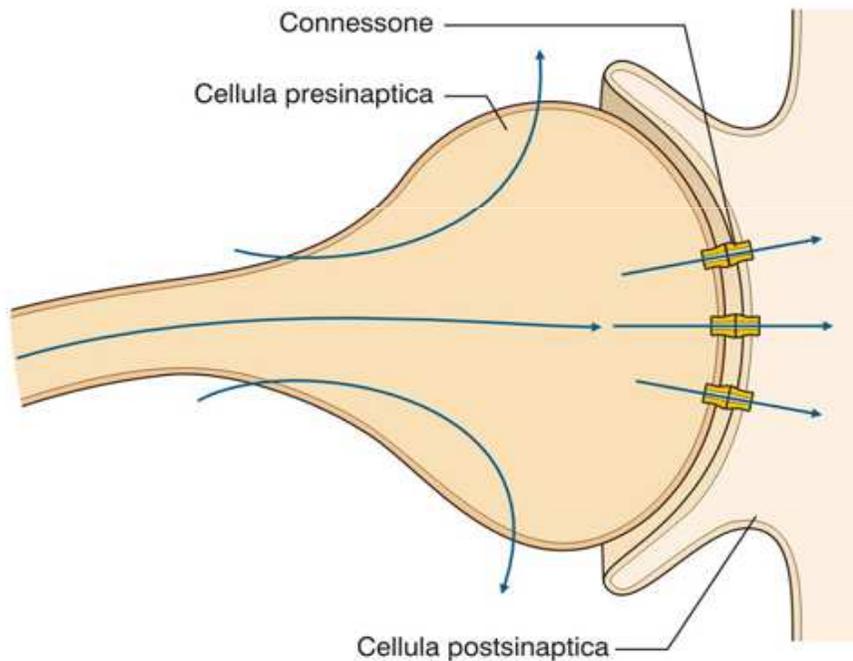


# La trasmissione sinaptica

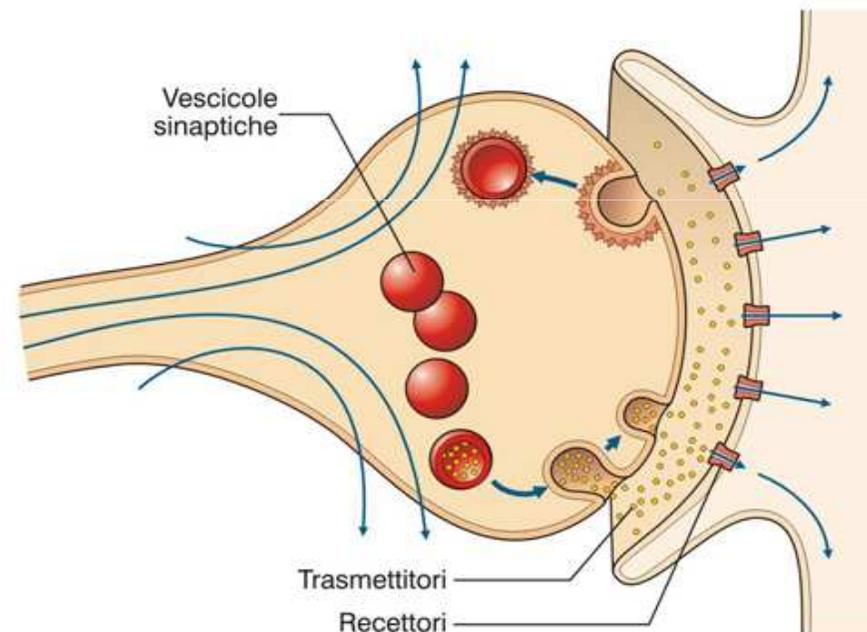
Il trasferimento di segnali tra cellule eccitabili avviene a livello delle sinapsi

La trasmissione sinaptica può essere:

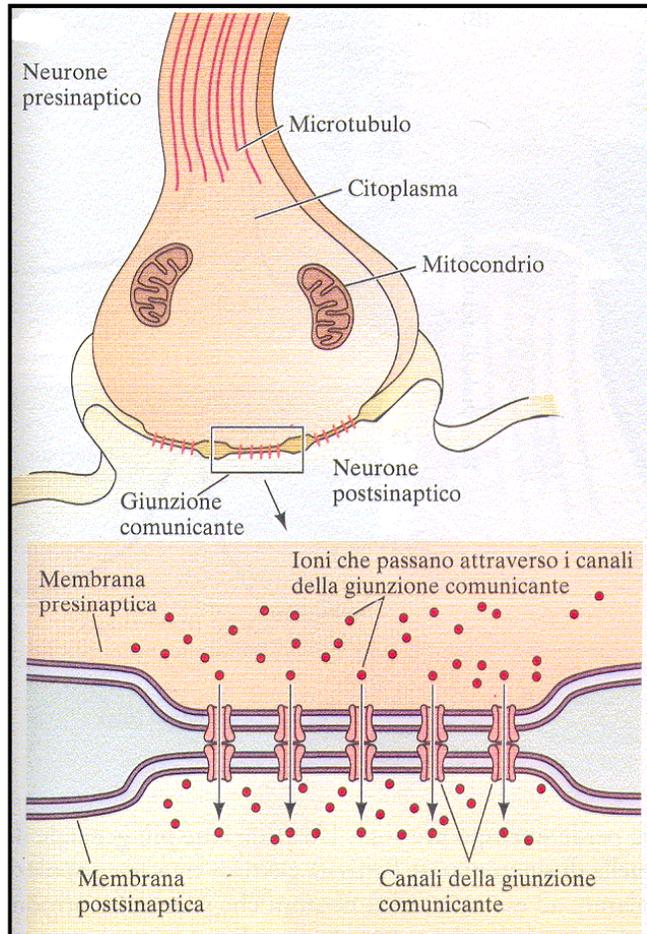
Elettrica



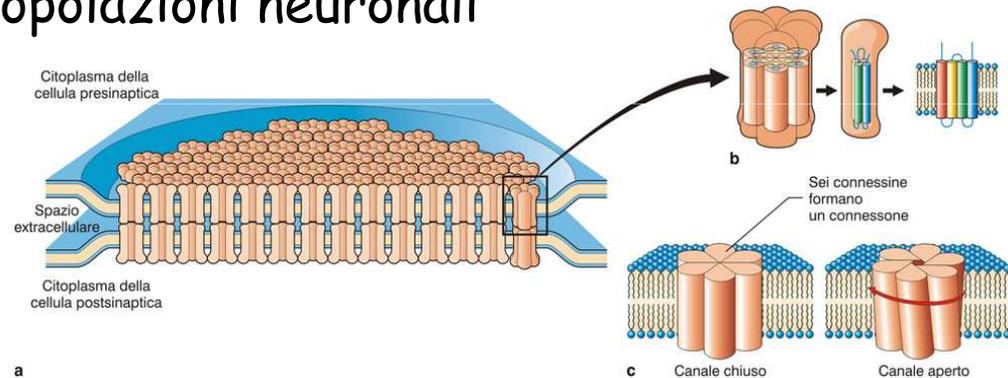
Chimica



# Sinapsi elettriche



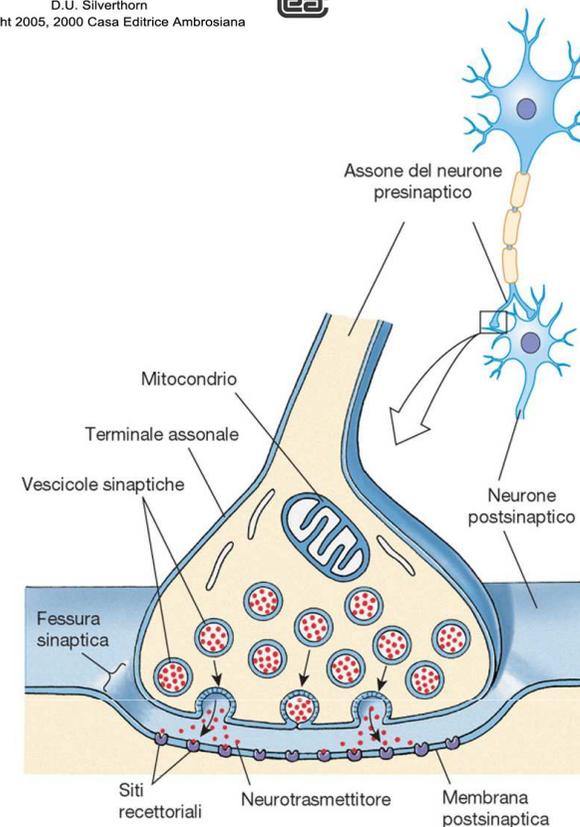
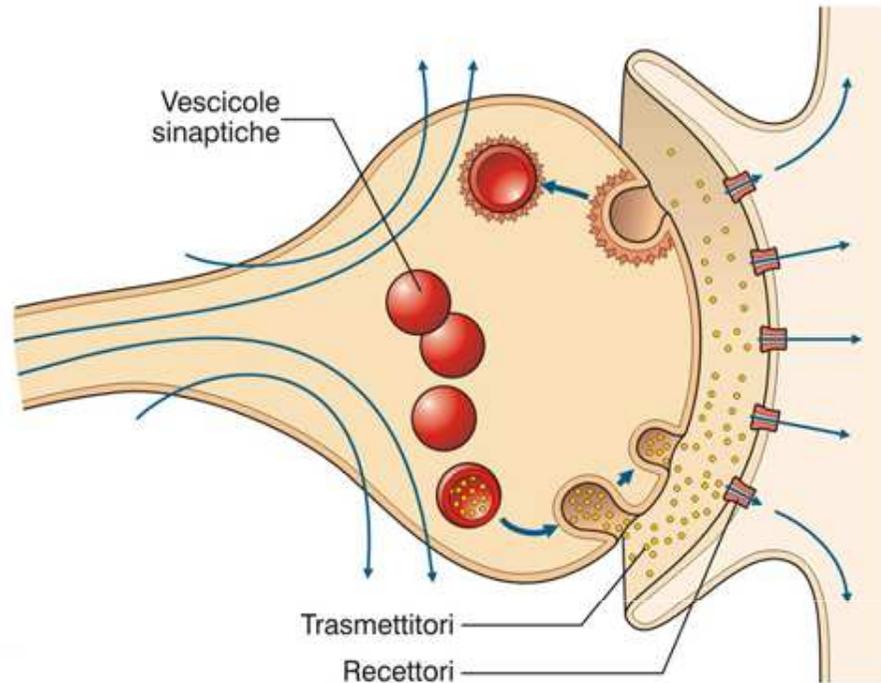
- Continuità citoplasmatica elemento pre- e postsinaptico (canali delle giunzioni comunicanti (connessoni))
- Trasmissione rapida del segnale (passaggio diretto correnti elettrotoniche) uni- e bidirezionale
- Utilizzate per sincronizzazione attività popolazioni neuronali



**Giunzione comunicante:** coppia di emicanali (connessoni: 6 subunità proteiche, connesine), che formano un poro (2 nm) di comunicazione tra cellule attigue.

Apertura canale per modificazione conformazionale delle connesine. Apertura e chiusura soggetta a modulazione (chiusura per  $\downarrow$ pH e  $\uparrow$ Ca<sup>2+</sup>).

# Sinapsi Chimica

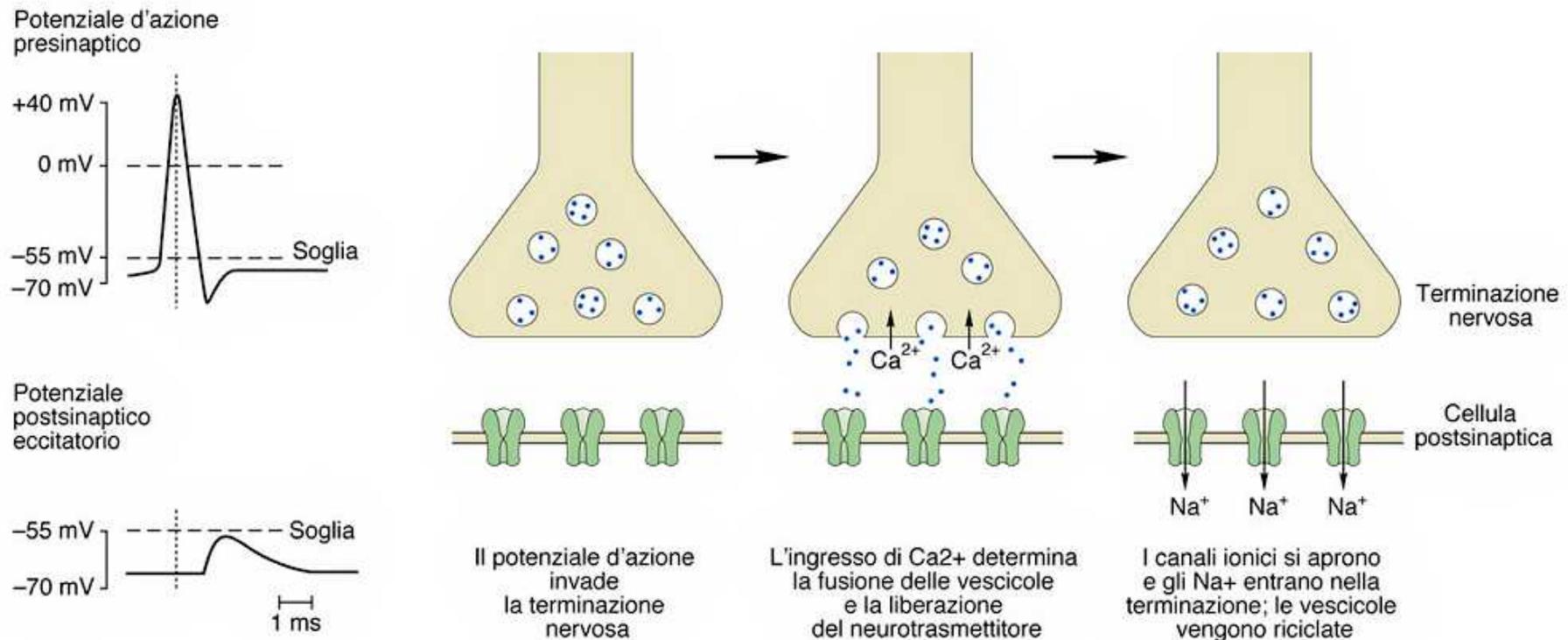


Elemento pre- e postsinaptico separati dal vallo sinaptico (20-40 nm).  
Depolarizzazione elemento presinaptico → liberazione  
**neurotrasmettore** → legame con recettori specifici della membrana  
postsinaptica → modificazione potenziale di membrana.

Le sinapsi chimiche ritardano la risposta (da 0.3 ms a qualche ms).

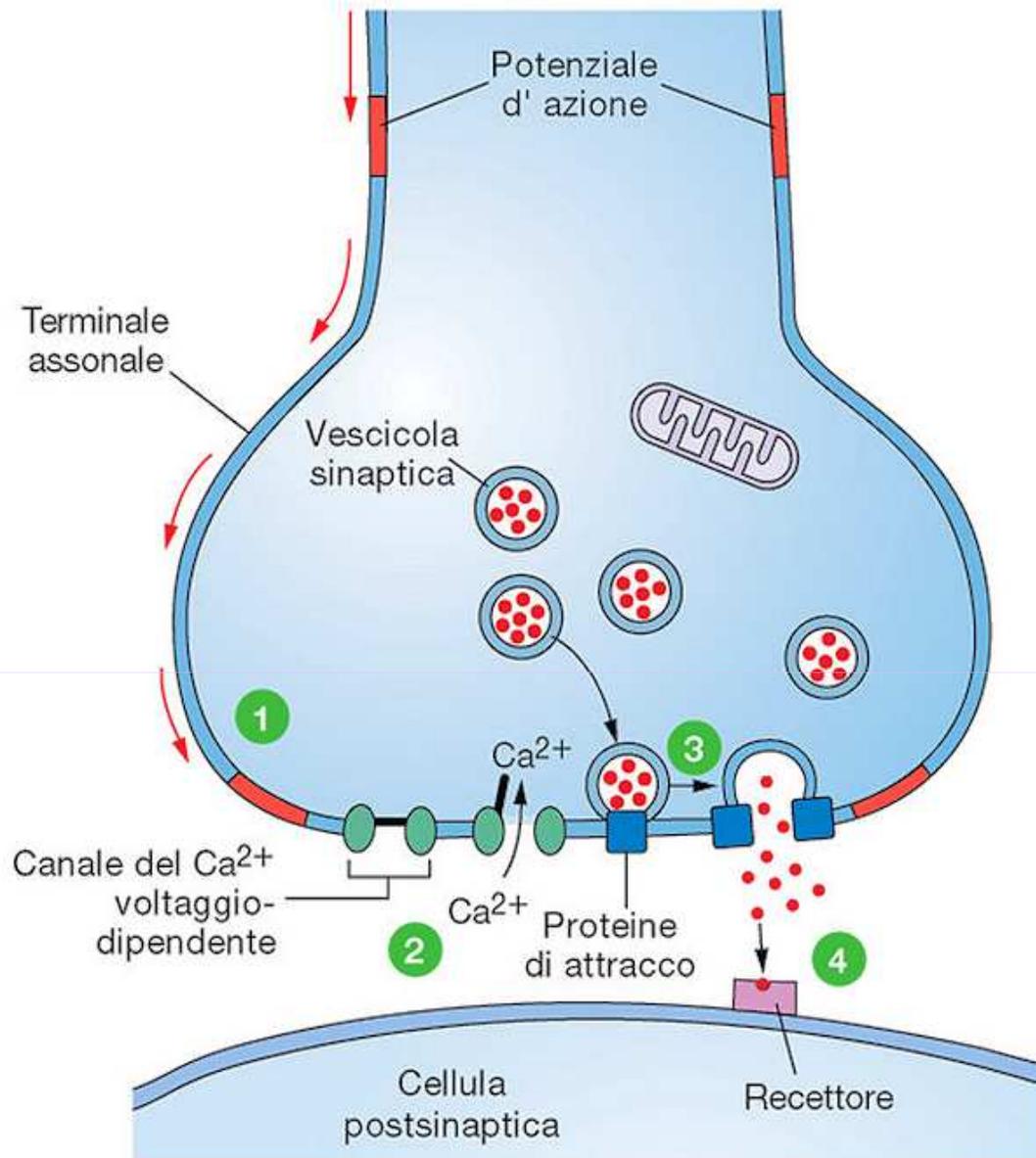
Sono unidirezionali e permettono l'amplificazione del segnale.

La trasmissione sinaptica chimica comporta una serie di passaggi alla base di due processi fondamentali:



➤ **Processo di trasmissione:** permette la liberazione del neurotrasmettitore capace di trasmettere il messaggio.

➤ **Processo recettivo:** il neurotrasmettitore si lega a recettori della membrana post-sinaptica, determinando una modificazione del potenziale post-sinaptico.



1 Un potenziale d'azione depolarizza il terminale assonale.

2 La depolarizzazione apre i canali voltaggio-dipendenti per il  $\text{Ca}^{2+}$ , quindi il  $\text{Ca}^{2+}$  entra nella cellula.

3 L'ingresso di calcio provoca l'esocitosi del contenuto delle vescicole sinaptiche.

4 Il neurotrasmettitore diffonde attraverso lo spazio sinaptico e si lega ai recettori sulla cellula postsinaptica.

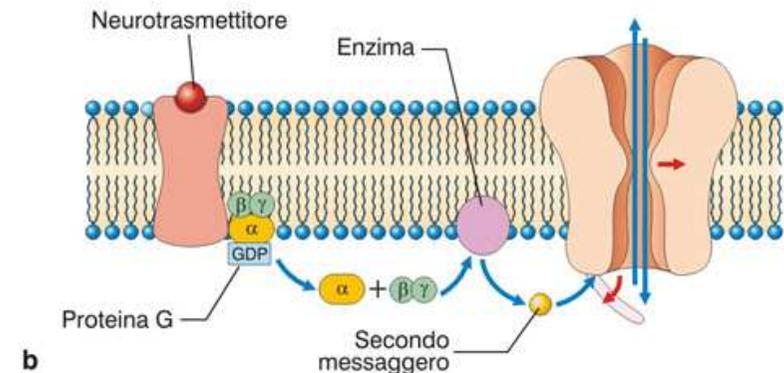
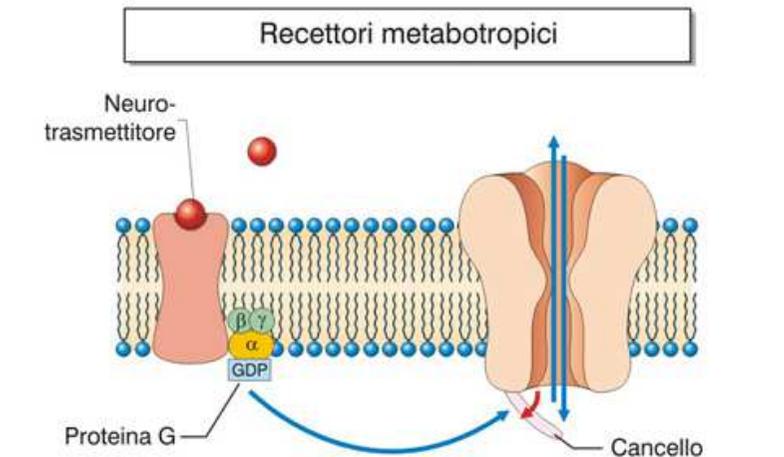
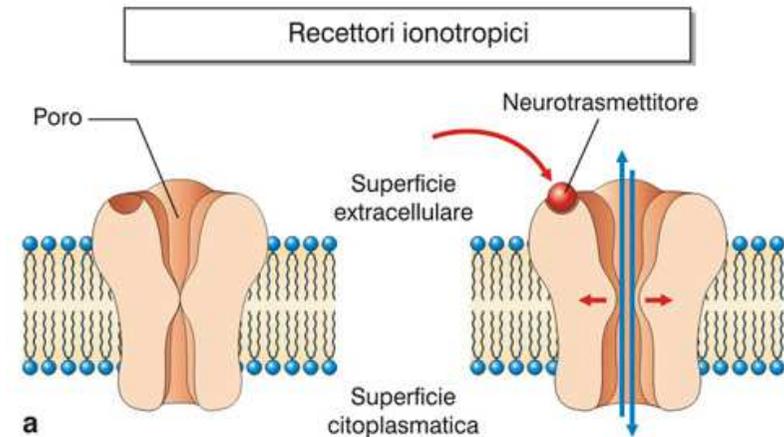
E' necessaria una rapida inattivazione o rimozione del neurotrasmettitore dalla fessura sinaptica.

La trasmissione sinaptica chimica è mediata da due differenti tipi di recettori post-sinaptici:

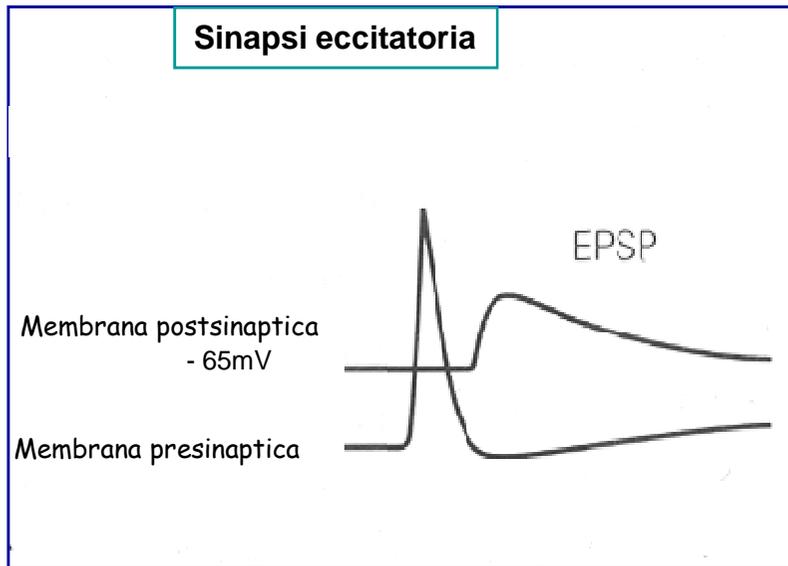
➤ **Recettori ionotropici**, associati a canali ionici. Responsabili di risposte rapide.

➤ **Recettori metabotropici**, accoppiati a proteine G che modulano l'attività di canali ionici attraverso l'attivazione di secondi messaggeri. Responsabili di risposte lente.

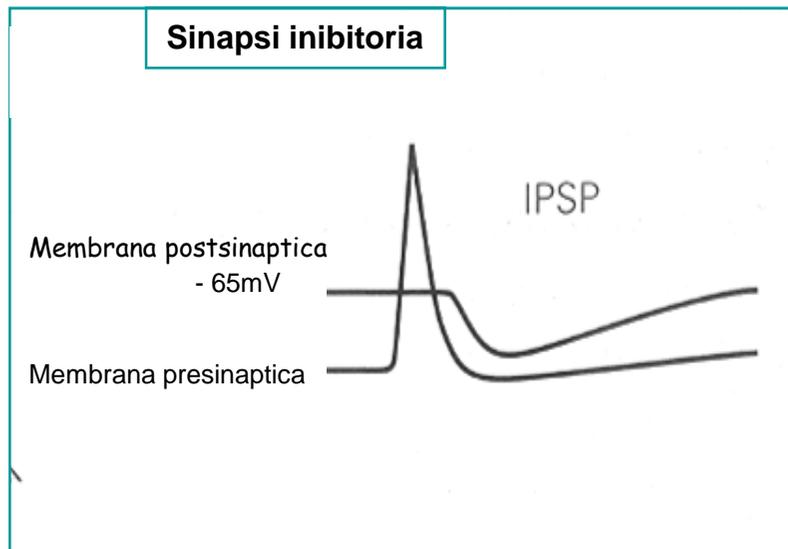
➤ La risposta post-sinaptica (EPSP o IPSP) non dipende dal neurotrasmettitore, ma dal tipo di recettore con cui il neurotrasmettitore interagisce.



Il legame neurotrasmettitore-recettore determina modificazioni di permeabilità ionica che portano a:



Depolarizzazione (potenziale post-sinaptico eccitatorio, EPSP): nell'elemento post-sinaptico può nascere un pda, sinapsi **eccitatoria**.



Iperpolarizzazione (potenziale post-sinaptico inibitorio, IPSP): l'elemento post-sinaptico è allontanato dalla soglia per il pda, sinapsi **inibitoria**.

Differenze tra segnali post-sinaptici eccitatori (EPSP) e potenziale d'azione (pda)

➤ Gli EPSP non portano ad inversione della polarità di membrana e sono mediati da canali ionici ligando-dipendenti non selettivi

❖ Il pda è un'inversione della polarità di membrana, mediata dall'apertura di canali voltaggio-dipendenti selettivi per  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$

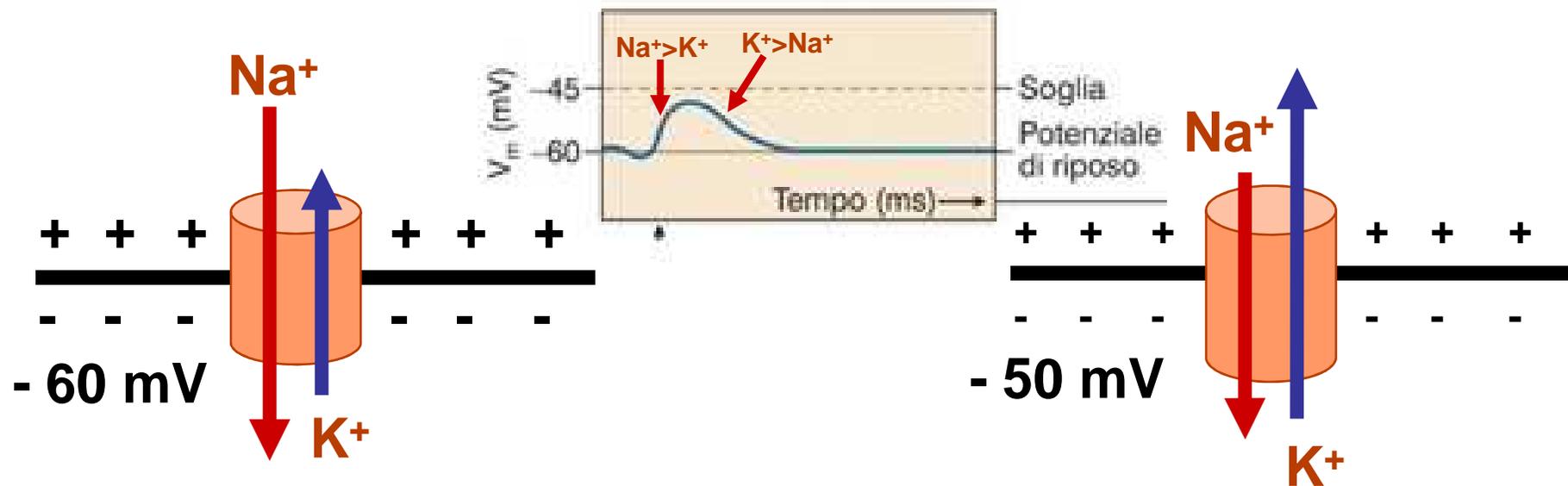
➤ Gli EPSP sono graduabili in ampiezza, maggiore è la quantità di neurotrasmettitore rilasciato, maggiore è la loro ampiezza

❖ Il pda è un fenomeno "tutto o nulla"

➤ Gli EPSP si propagano con decremento

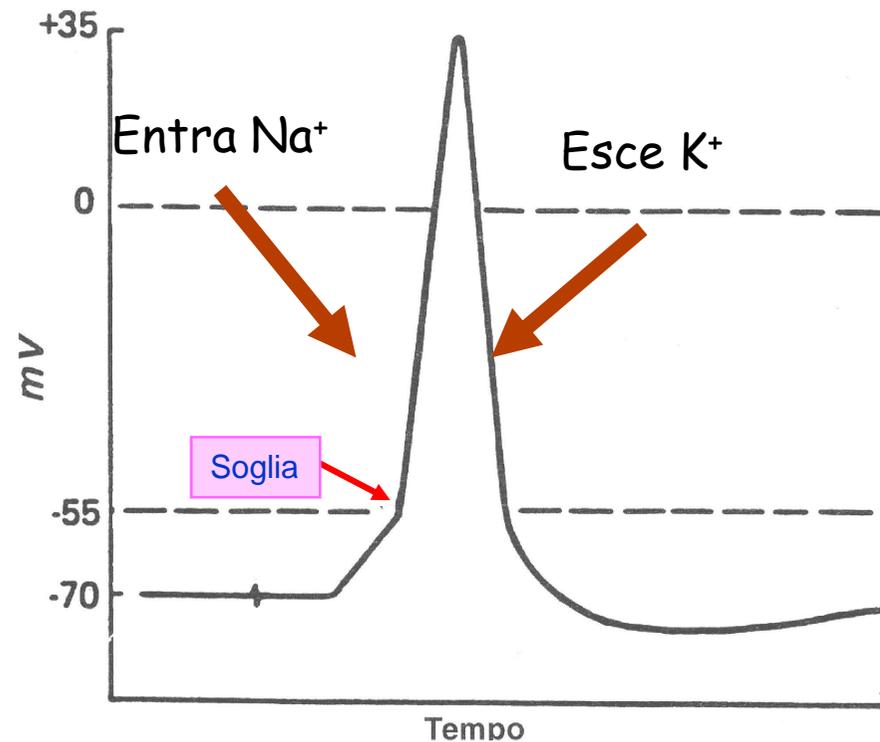
❖ Il pda si propaga senza decremento, perché viene continuamente rigenerato

L'**EPSP** non porta mai ad inversione della polarità di membrana perchè dipende dall'apertura di canali ionici **ligando-dipendenti** non selettivi (permeabili contemporaneamente a diversi ioni, che si muovono attraverso la membrana spinti dal gradiente elettrochimico esistente).



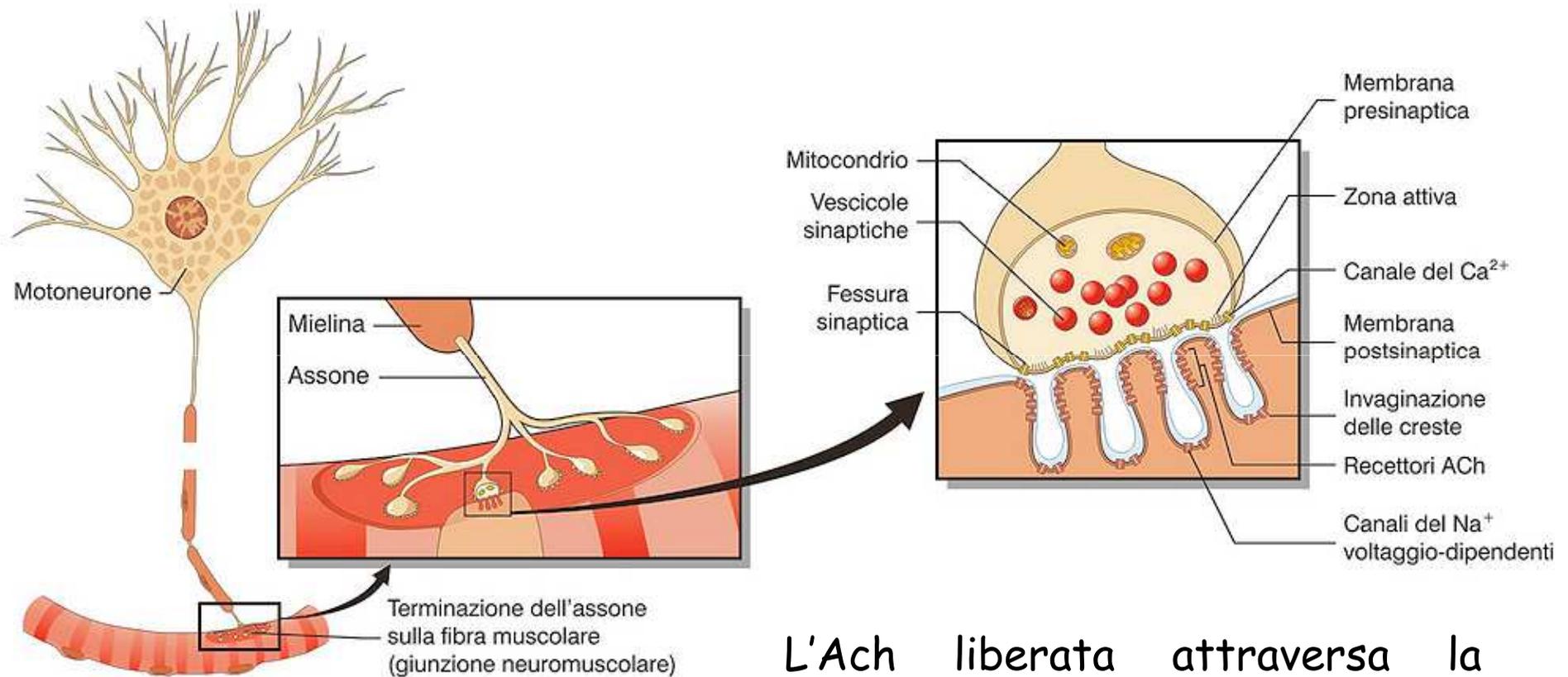
Apertura canale non selettivo: Al pdr prevale la forza elettro-chimica del  $\text{Na}^+$ . Ingresso di  $\text{Na}^+$  supera uscita di  $\text{K}^+$ . Man mano che il potenziale di membrana è spostato verso valori meno negativi (depolarizzazione) aumenta la forza elettrochimica del  $\text{K}^+$ . Uscita di  $\text{K}^+$  supera ingresso di  $\text{Na}^+$ . La depolarizzazione è frenata e il potenziale torna ai valori di riposo.

Il **pda** è caratterizzato dall'inversione di polarità della membrana e dipende dall'apertura, in tempi diversi, di canali **voltaggio-dipendenti** selettivi, per  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$



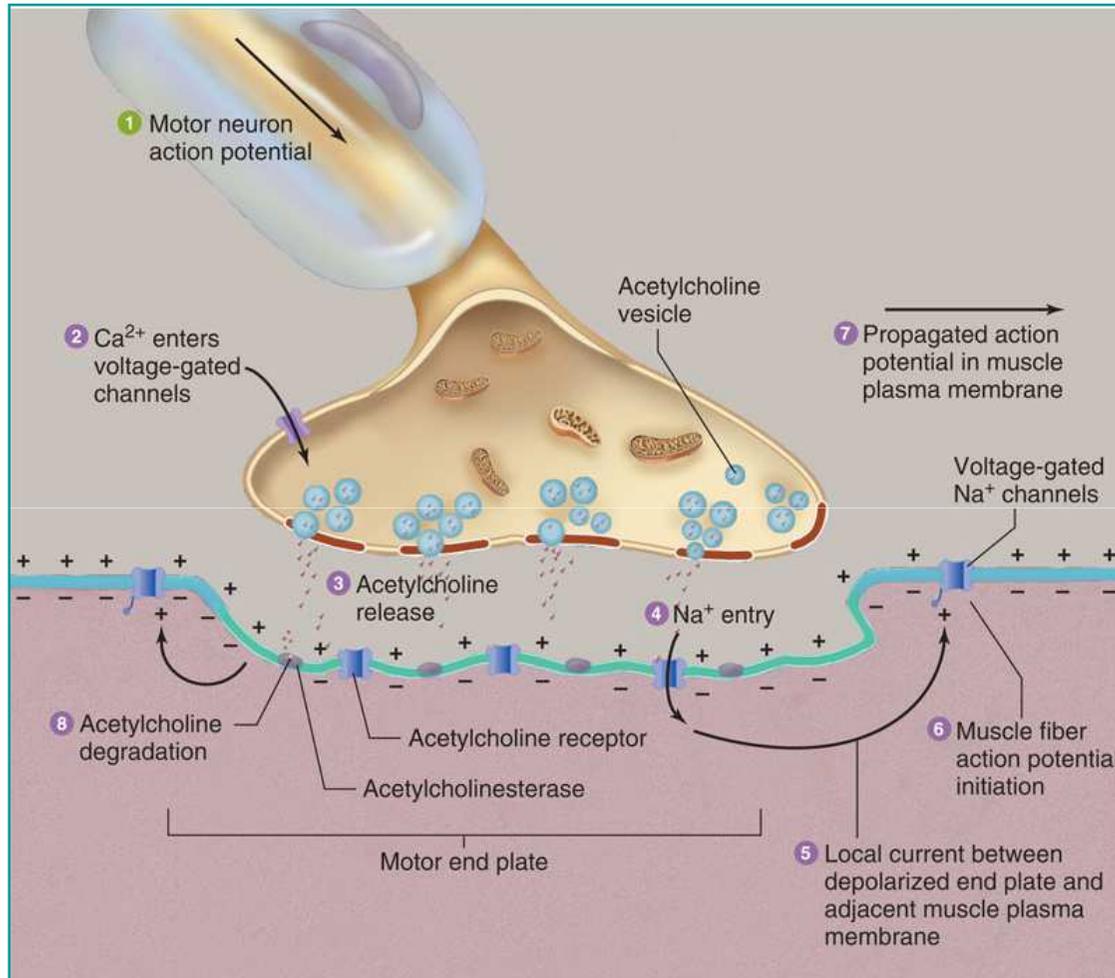
In un neurone, la depolarizzazione soglia per la nascita del **pda** è determinata dai segnali sinaptici eccitatori (**EPSP**)

# La giunzione neuromuscolare (neurotrasmettitore acetilcolina, Ach) come modello per studiare il funzionamento di una sinapsi chimica

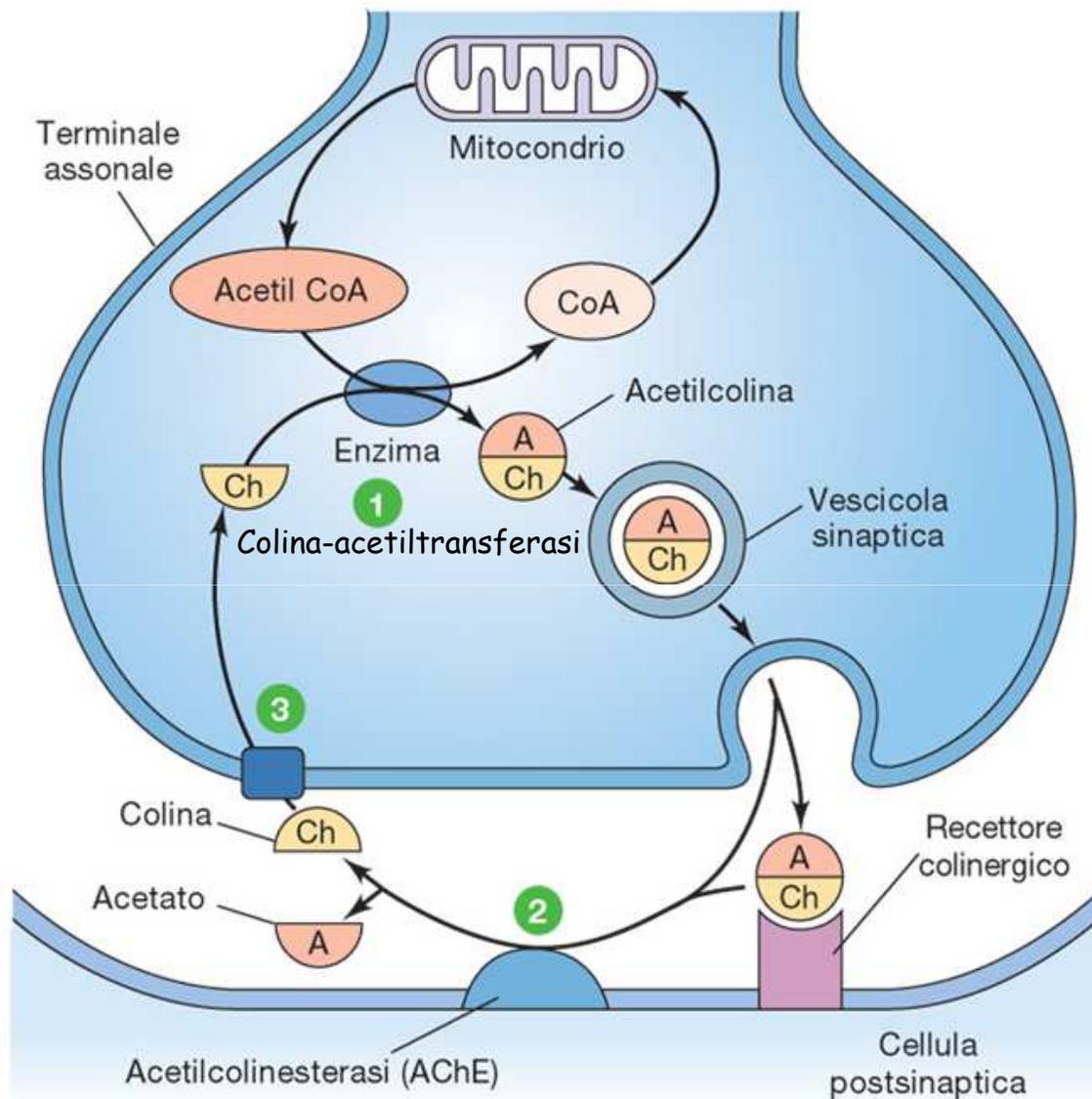


L'Ach liberata attraversa la fessura sinaptica (100 nm) e va ad attivare i recettori postsinaptici (10.000 recettori / $\mu\text{m}^2$ ).

# Eventi a livello della giunzione neuromuscolare



1. Propagazione pda al terminale pre-sinaptico
2. Apertura canali voltaggio-dipendenti → ingresso Ca<sup>2+</sup>
3. Rilascio Ach
4. Interazione Ach-recettori → depolarizzazione (**potenziale di placca**)
5. Si generano correnti elettrotoniche tra placca e zone vicine (canali Na<sup>+</sup> voltaggio-dipendenti)
6. Insorge il pda muscolare
7. Il pda si propaga
8. Riduzione Ach per:
  - idrolisi (AchE) e recupero colina nella presinapsi
  - diffusione fuori dalla fessura sinaptica.



1 L'**acetilcolina** (ACh) è formata a partire da colina e acetil CoA.

2 Nella fessura sinaptica l'ACh viene rapidamente degradata dall'enzima **acetilcolinesterasi**.

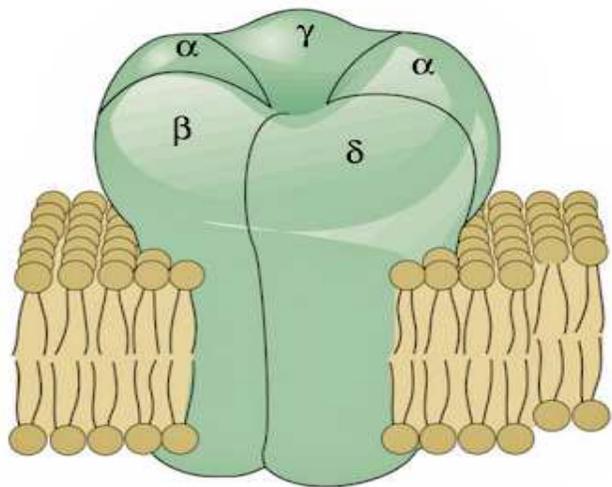
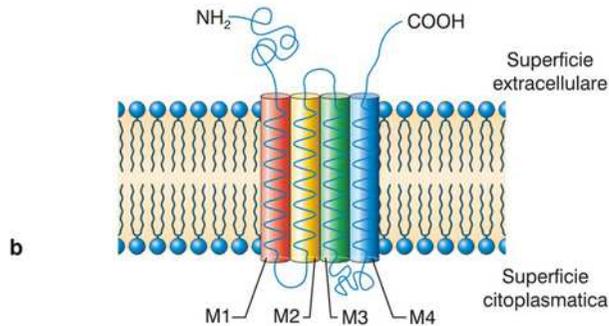
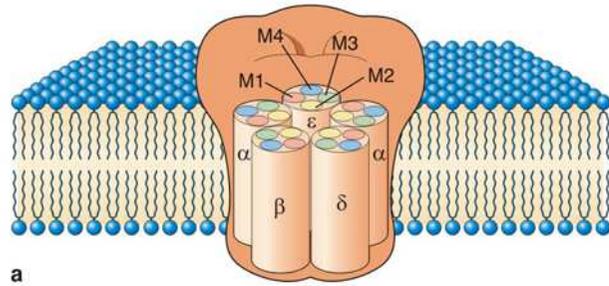
Attività acetilcolinesterasi elevata (idrolisi ~10 molecole Ach/ms) al termine del rilascio di ACh assicura rapida riduzione concentrazione neurotrasmettitore.

3 La colina viene ritrasportata nel terminale assonico e viene utilizzata per sintetizzare altra ACh.

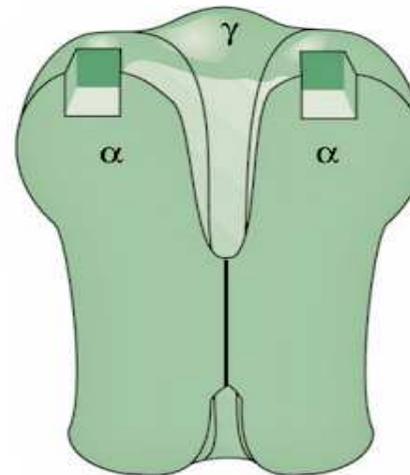
## Recettori muscolari dell'Ach

**Ionotropici (nicotinici):** formati da 5 subunità (2 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). Hanno bassa selettività ionica. Permeabili a  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , non a ioni carichi negativamente.

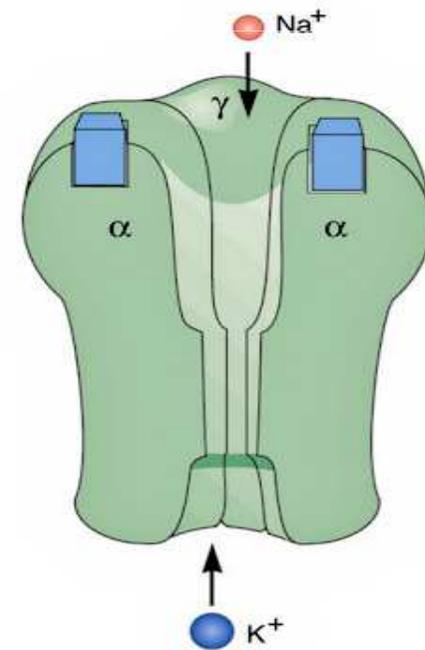
Inattivati da **curaro** e  **$\alpha$ -bungarotossina**.



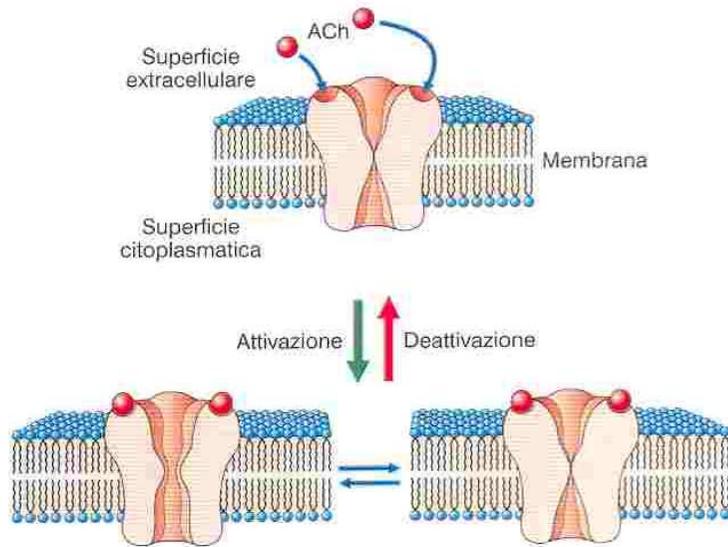
Nessuna molecola di ACh legata:  
canale chiuso



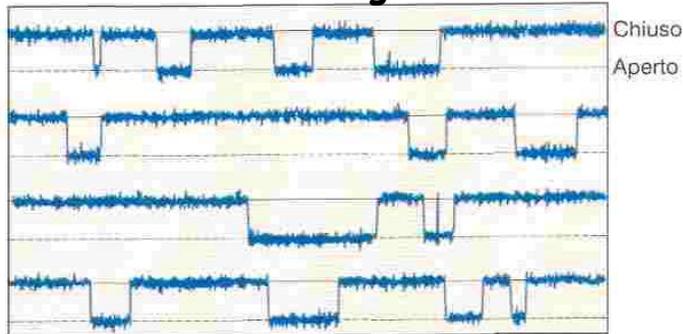
2 molecole di ACh legate:  
canale aperto



# Attivazione recettori Ach

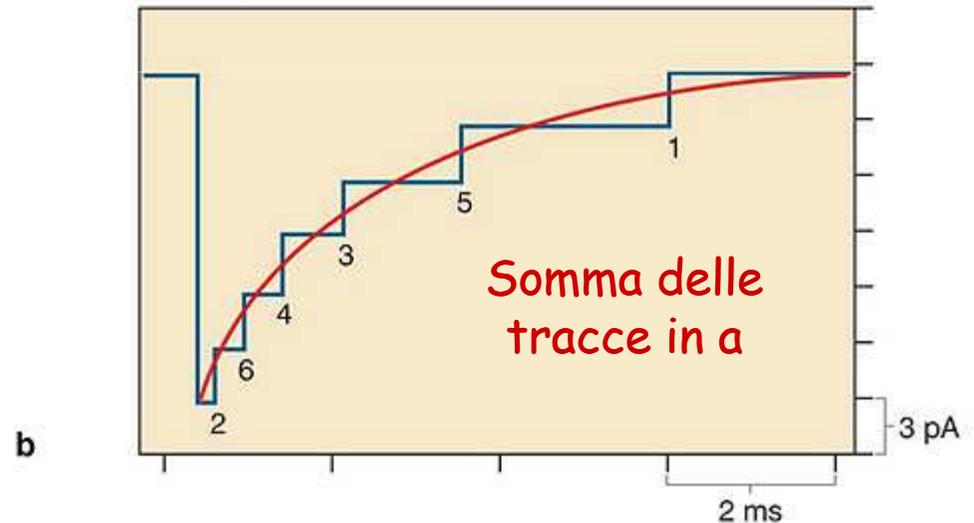
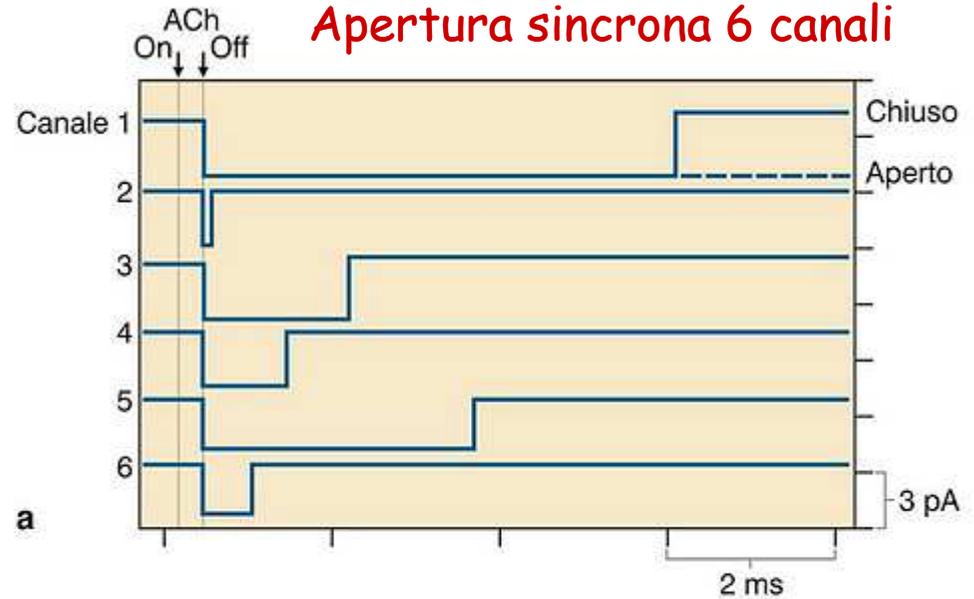


## Corrente di singolo canale

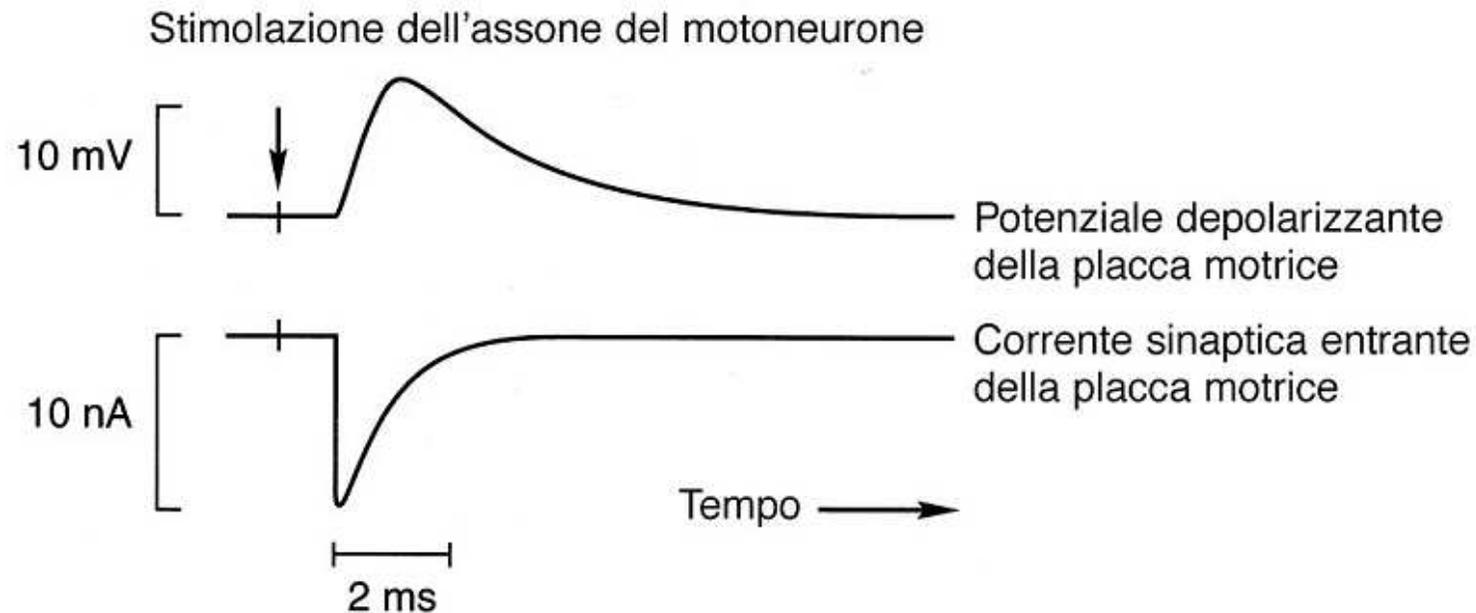


Il numero di canali aperti dipende da Ach disponibile.  
 Un pda presinaptico → apertura simultanea ~200.000 canali.

## Apertura sincrona 6 canali



Il decorso temporale della corrente post-sinaptica risulta dall'apertura sincrona di diversi canali e dal tempo di apertura che è variabile.

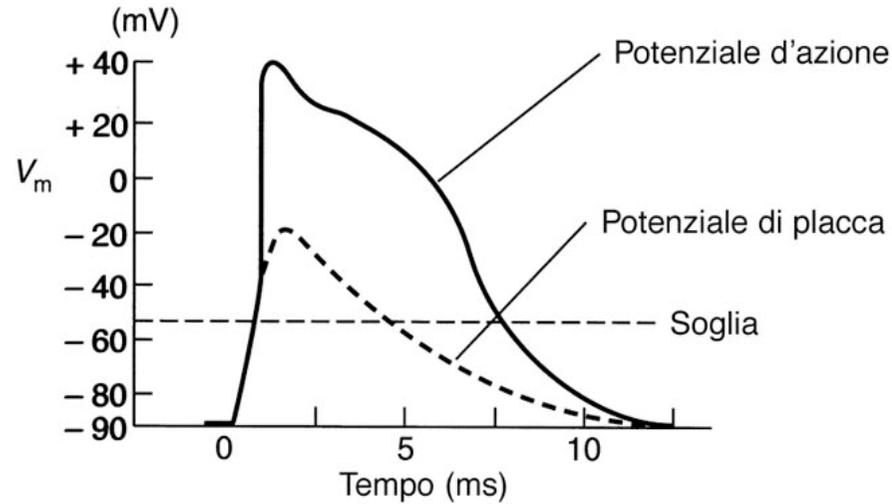


La corrente post-sinaptica che risulta dall'apertura sincrona di molti canali ionici determina la depolarizzazione post-sinaptica (**potenziale di placca, PP**). La sua inattivazione riflette i tempi di chiusura dei canali. Il **PP** ha durata maggiore della corrente a causa della capacità di membrana.

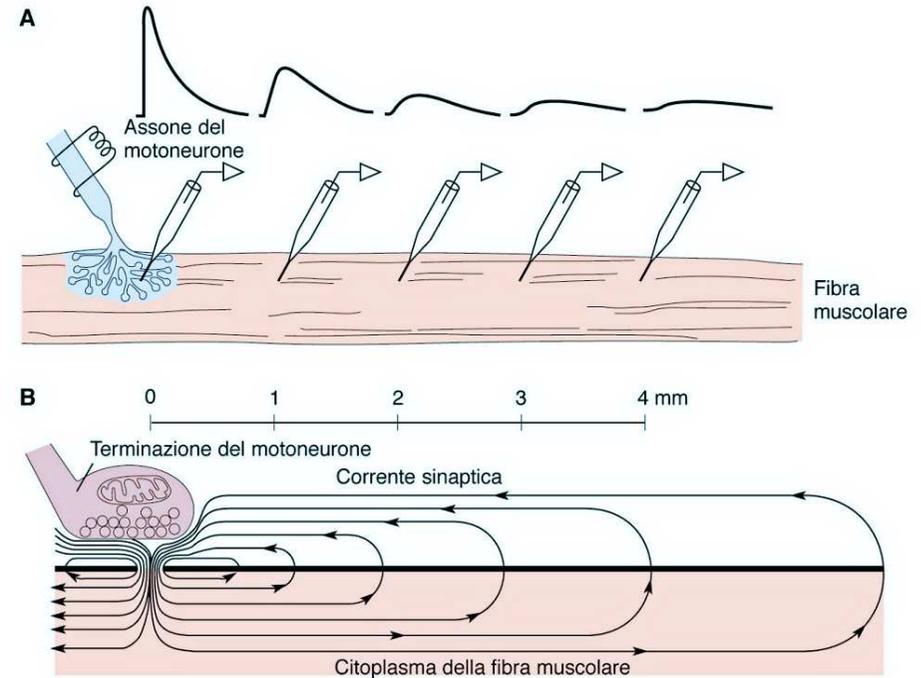
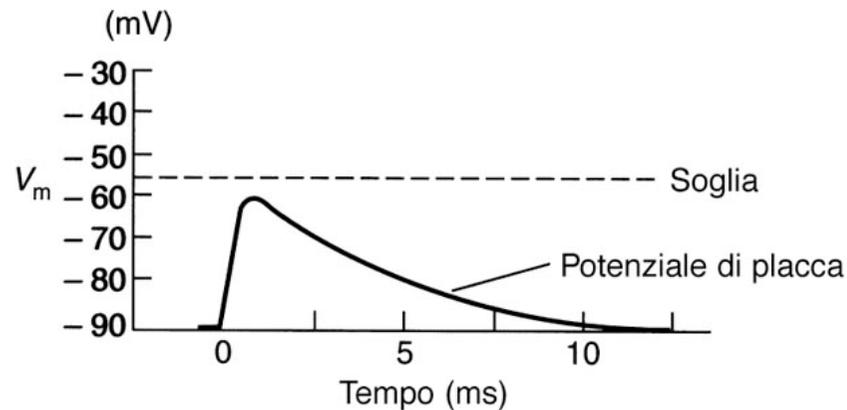
Quindi il **PP** dipende da:

- Numero canali post-sinaptici attivati e conduttanza di ogni singolo canale
- Forza elettromotrice che agisce sugli ioni

### A Preparazione normale



### B In presenza di curaro



## Il PP si propaga con decremento

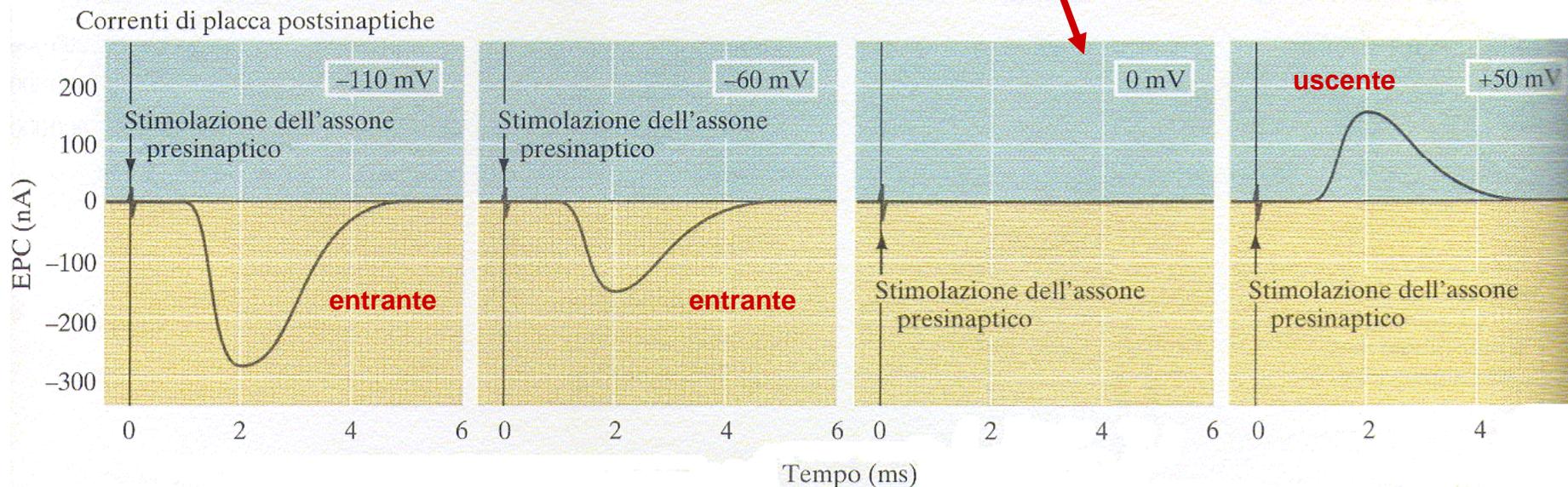
I PP hanno ampiezza superiore al valore soglia per il pda. Questo permette, nella fibra muscolare, un rapporto 1:1 tra pda presinaptico e pda post-sinaptico. La riduzione del PP sotto soglia (curaro: bloccante recettori Ach) ha permesso di dimostrare che il PP è un fenomeno graduabile, che dipende dal numero di recettori attivati, e che si propaga con decremento.

## I canali Ach della placca motrice sono permeabili a Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>

Per determinare quali ioni sono responsabili della **corrente di placca**, si misura la corrente a diversi V<sub>m</sub> (blocco del voltaggio) e si calcola il potenziale di inversione (potenziale a cui la corrente si annulla).

### Potenziale di inversione (E<sub>pp</sub>)

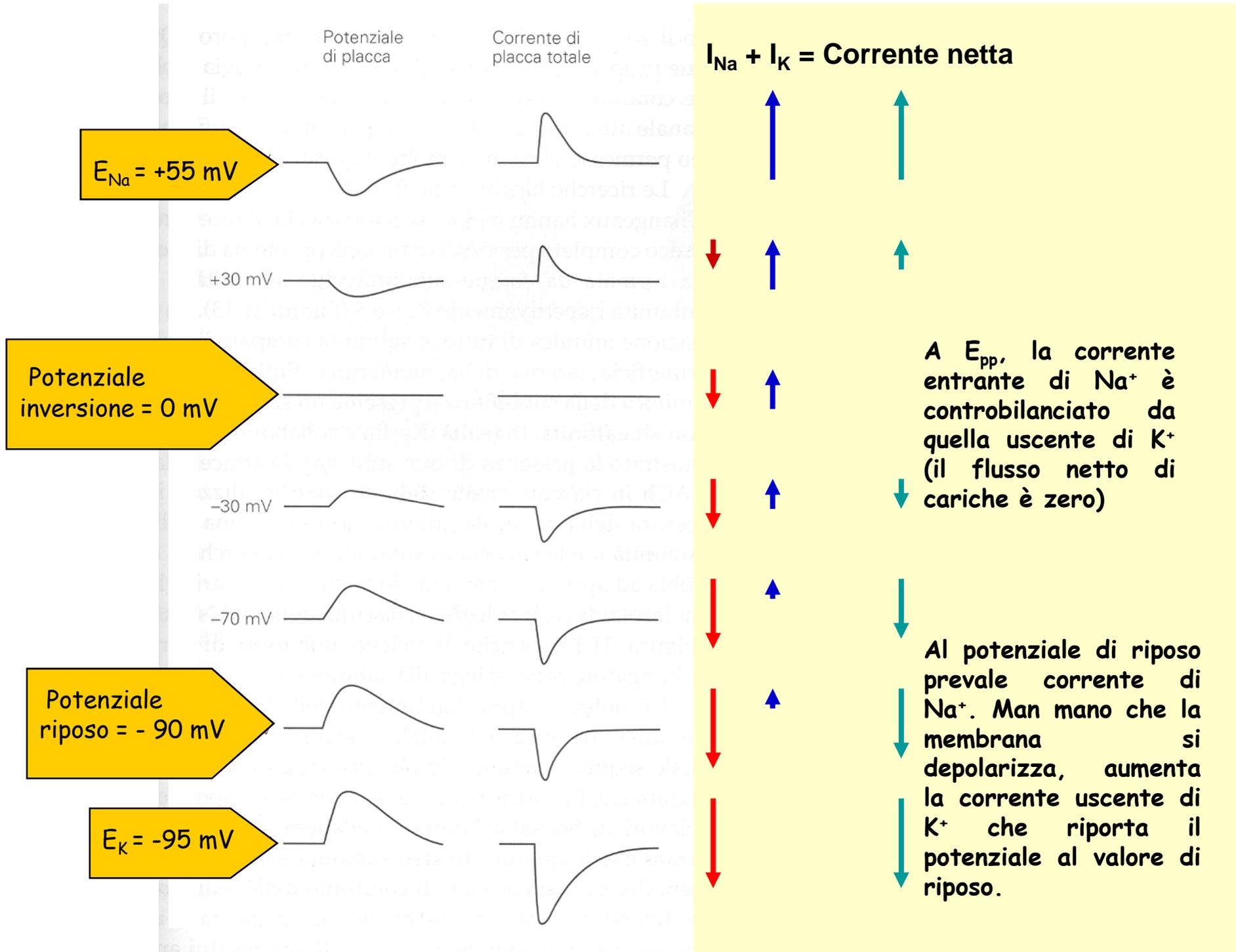
Equilibrio elettrochimico delle specie ioniche responsabili della corrente di placca



**E<sub>pp</sub> = 0 mV**, dimostra che le correnti ioniche attraverso il recettore dell'Ach sono determinate principalmente da Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>.

$$\text{Se } G_{\text{Na}} = G_{\text{K}} \rightarrow E_{\text{pp}} = E_{\text{Na}} + E_{\text{K}}/2 \rightarrow +55 \text{ mV} - 95 \text{ mV}/2 = -20 \text{ mV}$$

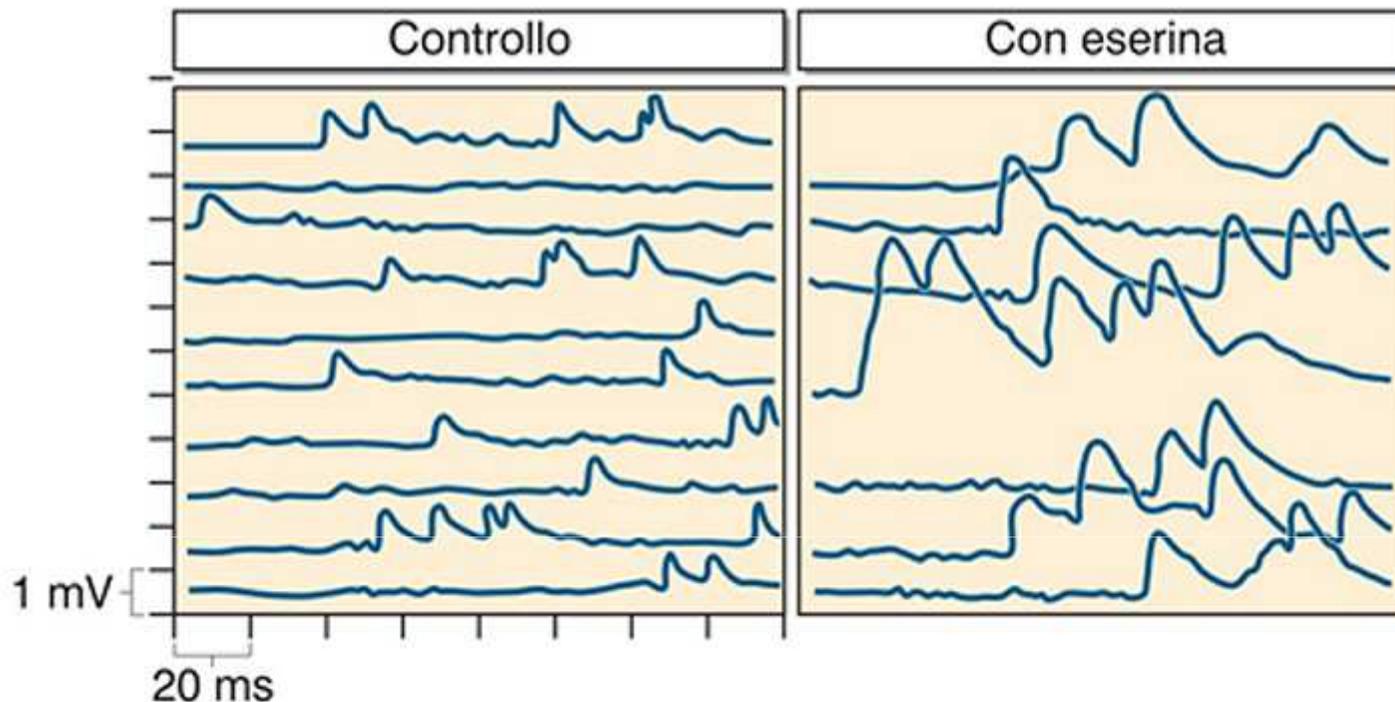
Essendo E<sub>pp</sub> = 0, significa che G<sub>Na</sub> è circa 1.8 volte maggiore di G<sub>K</sub>



# Liberaazione del neurotrasmettitore

- L'ingresso di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  (canali voltaggio-dipendenti) nelle terminazioni nervose è indispensabile per la liberazione del neurotrasmettitore.
- L'ampiezza del potenziale post-sinaptico dipende dalla quantità di  $\text{Ca}^{2+}$  che entra nella terminazione nervosa.
- $\uparrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \uparrow$  quantità neurotrasmettitore rilasciato.

## I neurotrasmettitori vengono liberati in pacchetti unitari detti quanti



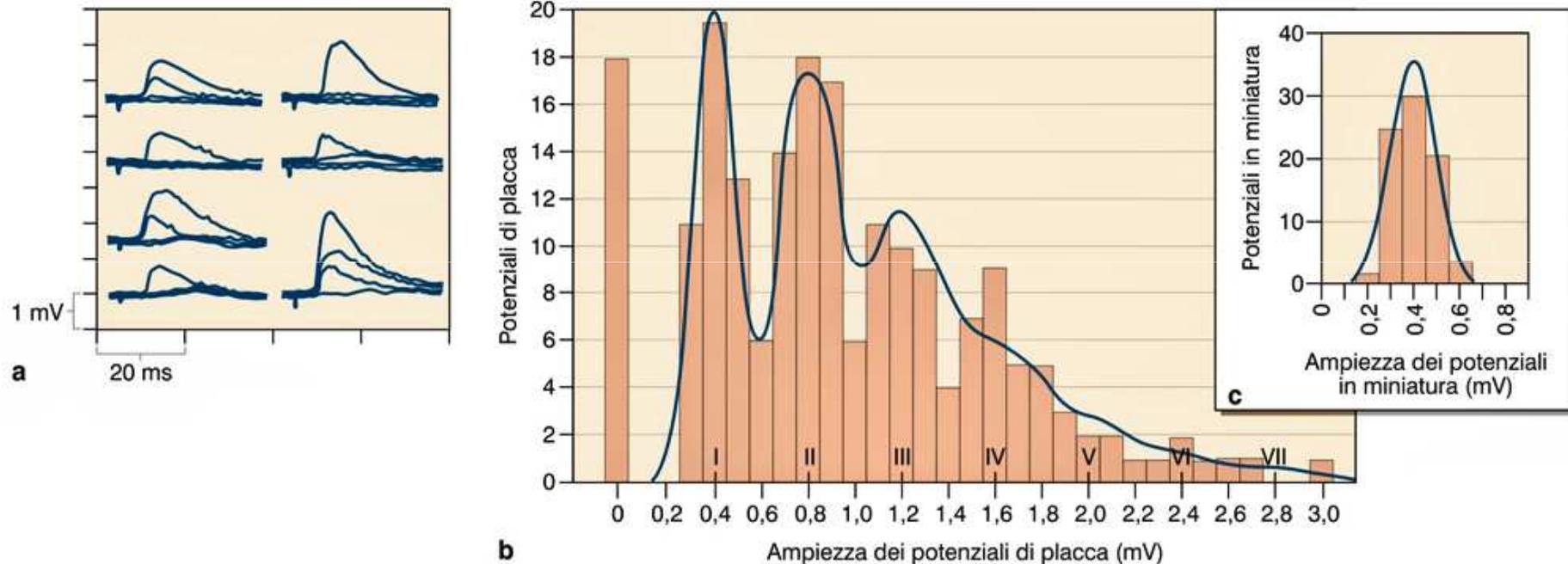
In assenza di stimolazione nervosa, si registrano depolarizzazioni post-sinaptiche spontanee casuali di bassa ampiezza ( $\sim 0.5$  mV): **potenziali di placca in miniatura (MEPP)**.

L'**eserina** (bloccante Ach-E) aumenta l'ampiezza e la durata, ma non la frequenza dei MEPP.

I MEPP sono dovuti al rilascio di pacchetti di molecole di neurotrasmettitore denominati "**quanti**". Un MEPP è il risultato della attivazione, Ach-dipendente, di circa 2000 canali.

# Il potenziale di placca è il risultato di molti quanti, è quindi un multiplo della risposta elementare.

Le risposte postsinaptiche registrate in condizioni di riduzione del  $\text{Ca}^{2+}$  (minor liberazione di Ach per pda) mostrano una distribuzione di ampiezza con picchi in corrispondenza di valori che sono multipli interi dell'ampiezza media dei MEPP.

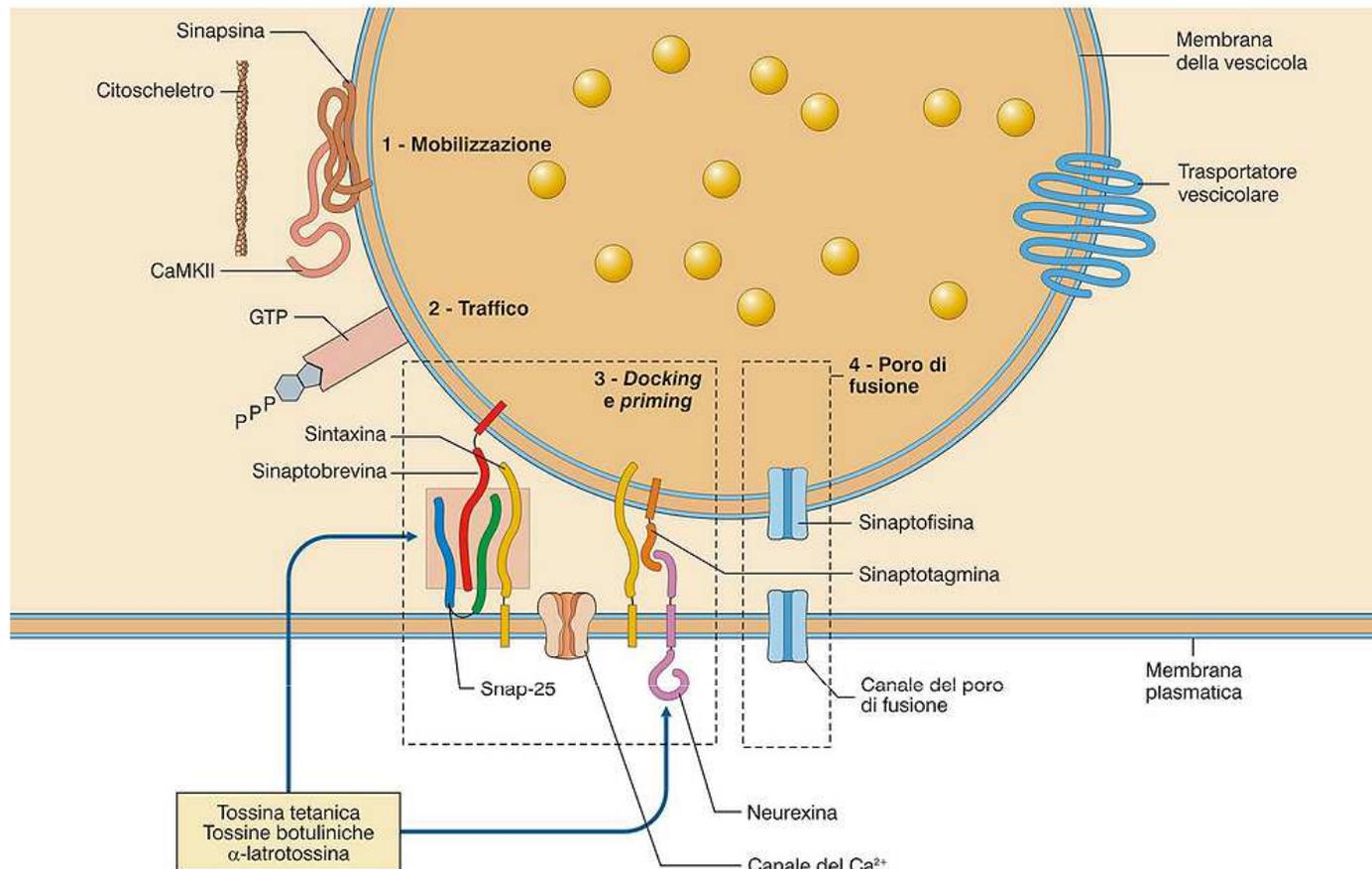


I **quanti** sono contenuti in strutture specializzate: le vescicole sinaptiche (**1 vescicola = 1 quanto di Ach = circa 5000 molecole**).  
I neurotrasmettitori vengono liberati per esocitosi dalle vescicole sinaptiche, in prossimità delle zone attive.

- In assenza di pda, il ritmo della liberazione quantale spontanea è basso: **1 quanto/sec**.
- Con la normale concentrazione di  $\text{Ca}^{2+}$ , un pda presinaptico determina la liberazione di **~150 quanti/msec** perché il  $\text{Ca}^{2+}$  che entra nella terminazione presinaptica aumenta transitoriamente la frequenza di liberazione quantale di circa **100.000 volte**.

- Le vescicole sinaptiche sono gli organelli di deposito dei quanti di neurotrasmettitore.
- Le vescicole si fondono con la superficie interna della membrana del terminale pre-sinaptico a livello di siti specializzati di rilascio (**zone attive**).
- La liberazione delle vescicole è un fenomeno tutto o nulla.
- La probabilità di liberazione dipende dalla quantità di  $\text{Ca}^{2+}$  che entra nel terminale durante il pda.
- L'esocitosi avviene attraverso la formazione transitoria di un **poro di fusione**, che attraversa la membrana vescicolare e quella pre-sinaptica.
- L'ingresso del  $\text{Ca}^{2+}$  determina l'apertura e la successiva dilatazione dei pori di fusione preesistenti, permettendo la liberazione del neurotrasmettitore.

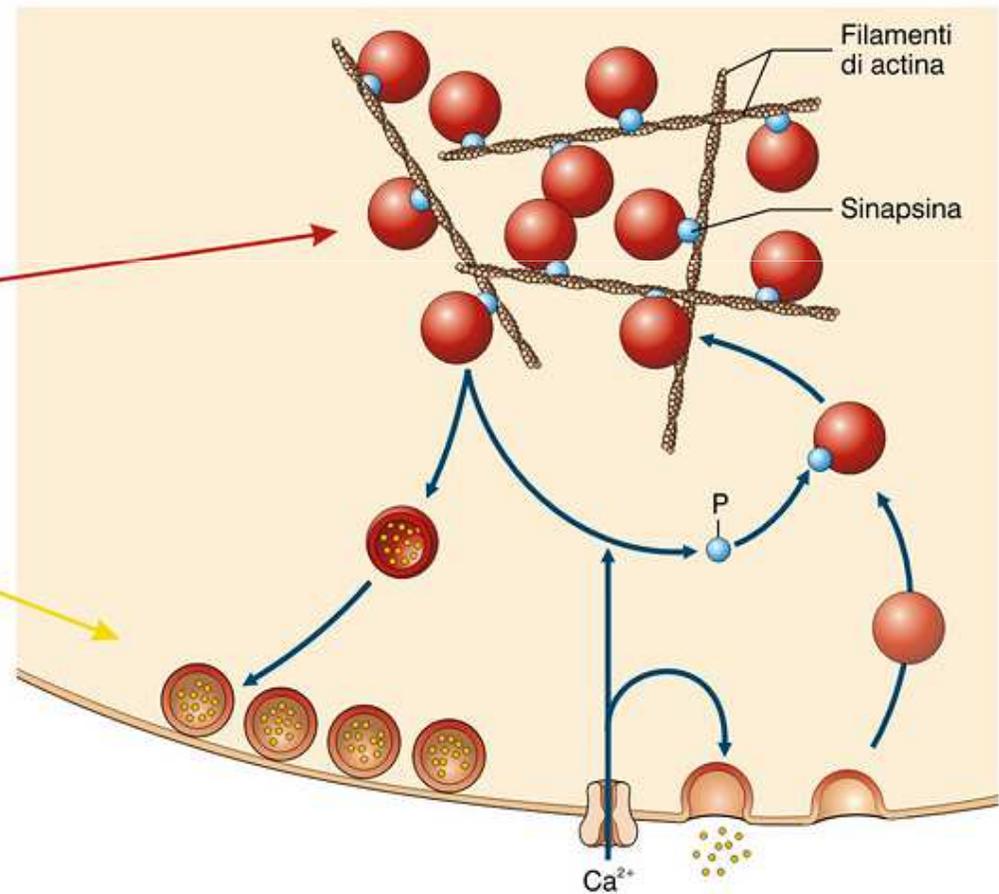
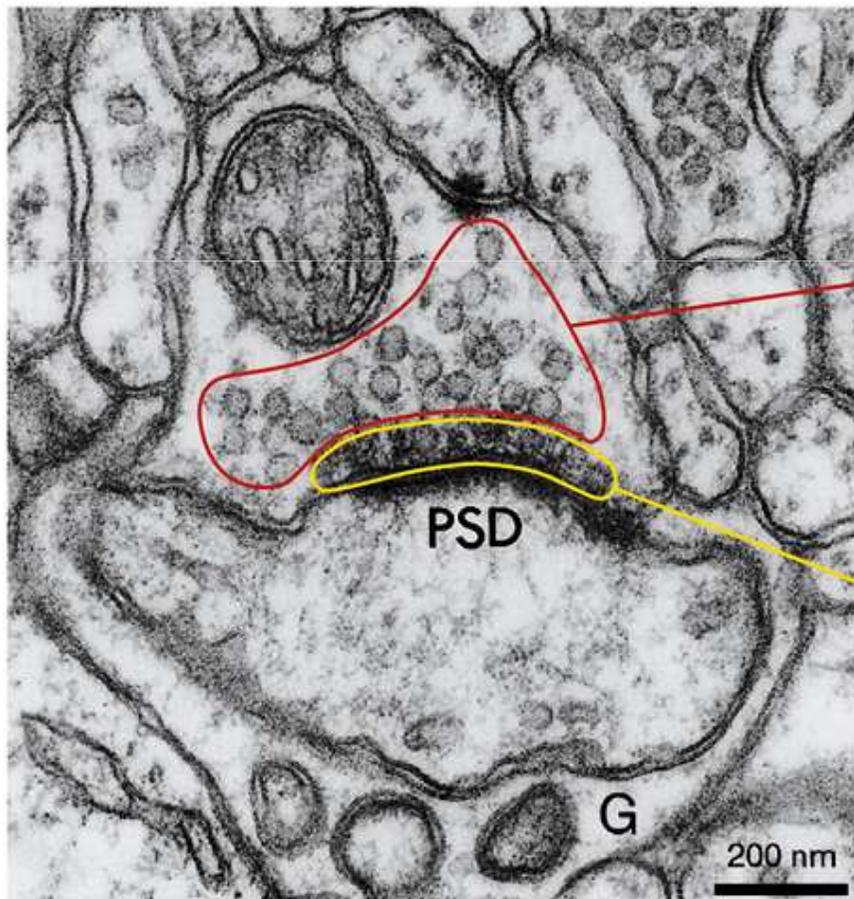
## Stadi vescicolari e liberazione neurotrasmettitore

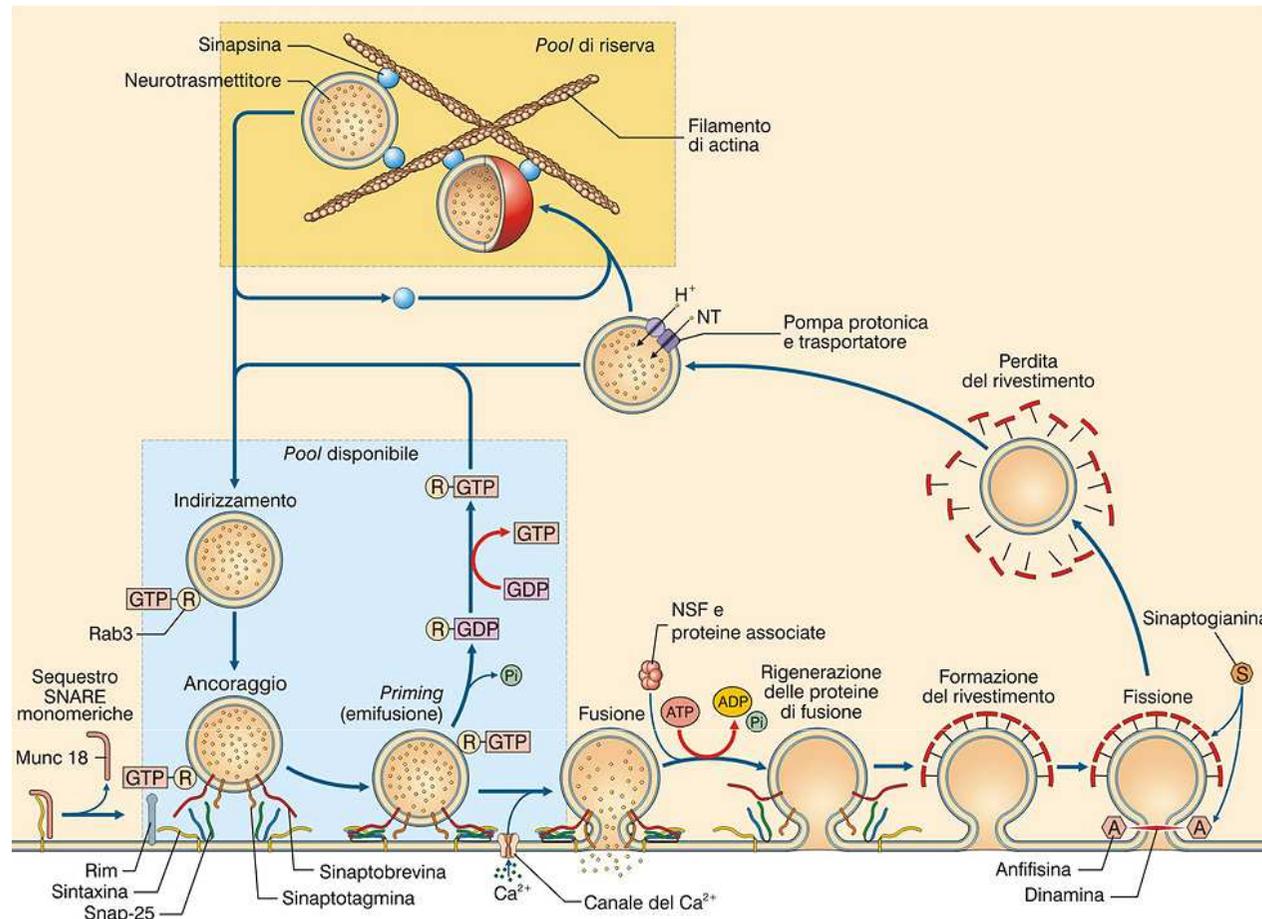


- 1. Mobilizzazione:** liberazione dal legame con il citoscheletro (sinapsine)
- 2. Traffico:** direzionamento alle zone attive (proteine G: Rab3 vescicolari, Rim di membrana)
- 3. Docking e priming:** Ancoraggio alle zone attive e predisposizione alla fusione (complesso **SNARE**: sinaptobrevina proteina vescicolare + sintaxina e Snap-25 proteine di membrana)
- 4. Fusione:** (Sinaptotagmina + Ca<sup>2+</sup>)
- 5. Recupero della membrana delle vescicole e riformazione vescicole**

## MOBILIZZAZIONE: liberazione dal citoscheletro

Le vescicole lontane dalle zone attive (riserva di neurotrasmettitore), sono ancorate al citoscheletro (filamenti di actina) tramite la **sinapsina**. La fosforilazione della sinapsina, PK- $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulina dipendente innescata da depolarizzazione + ingresso  $\text{Ca}^{2+}$ , libera le vescicole, che si muovono verso le zone attive.



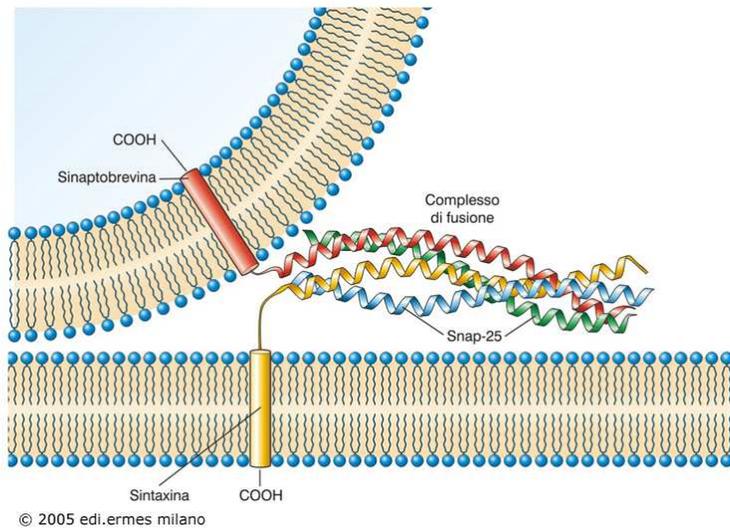


**Indirizzamento alle zone attive:** Rab3 (legata al GTP) si associa alla membrana delle vescicole ed interagisce con Rim delle zone attive di membrana.

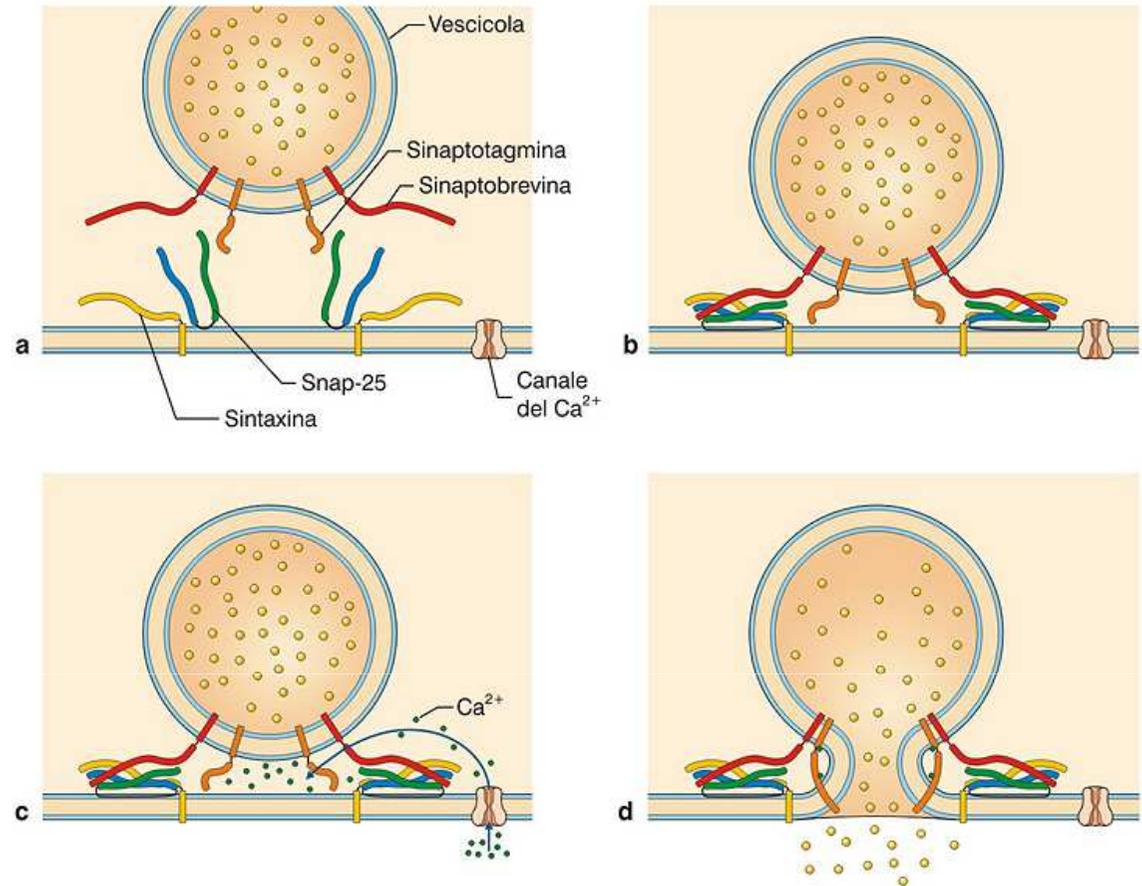
**Ancoraggio ai siti attivi:** Le proteine delle vescicole e della membrana interagiscono (complesso SNARE) assicurando il corretto posizionamento delle vescicole vicino ai canali  $\text{Ca}^{2+}$  voltaggio-dipendenti.

**Emifusione (priming):** Le SNARE portano la membrana vescicolare e presinaptica in strettissimo contatto.

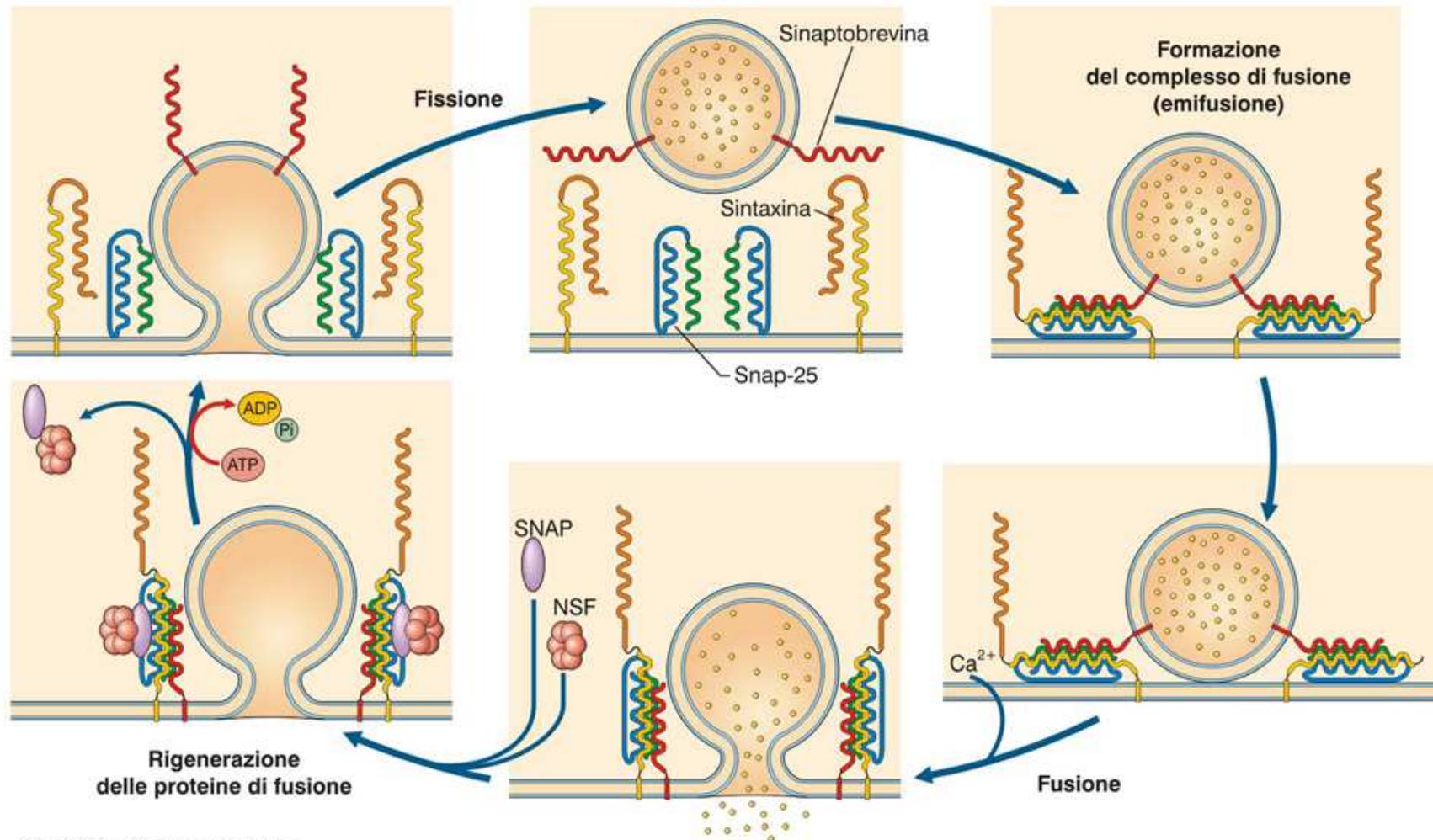
**Fusione:** Sinaptotagmina legata al  $\text{Ca}^{2+}$  cambia la sua conformazione e si lega con i fosfolipidi di membrana determinando l'apertura di un poro di fusione.



© 2005 edi.ermes milano



Le proteine vescicolari e presinaptiche interagiscono secondo un modello a chiusura lampo (zippering), che consente la fusione delle due membrane. La fusione completa è inibita dalla proteina vescicolare **sinaptotagmina**. Il legame **sinaptotagmina- $\text{Ca}^{2+}$**  determina un cambiamento di conformazione della proteina, favorendo il processo di completa fusione e la formazione del poro di fusione.

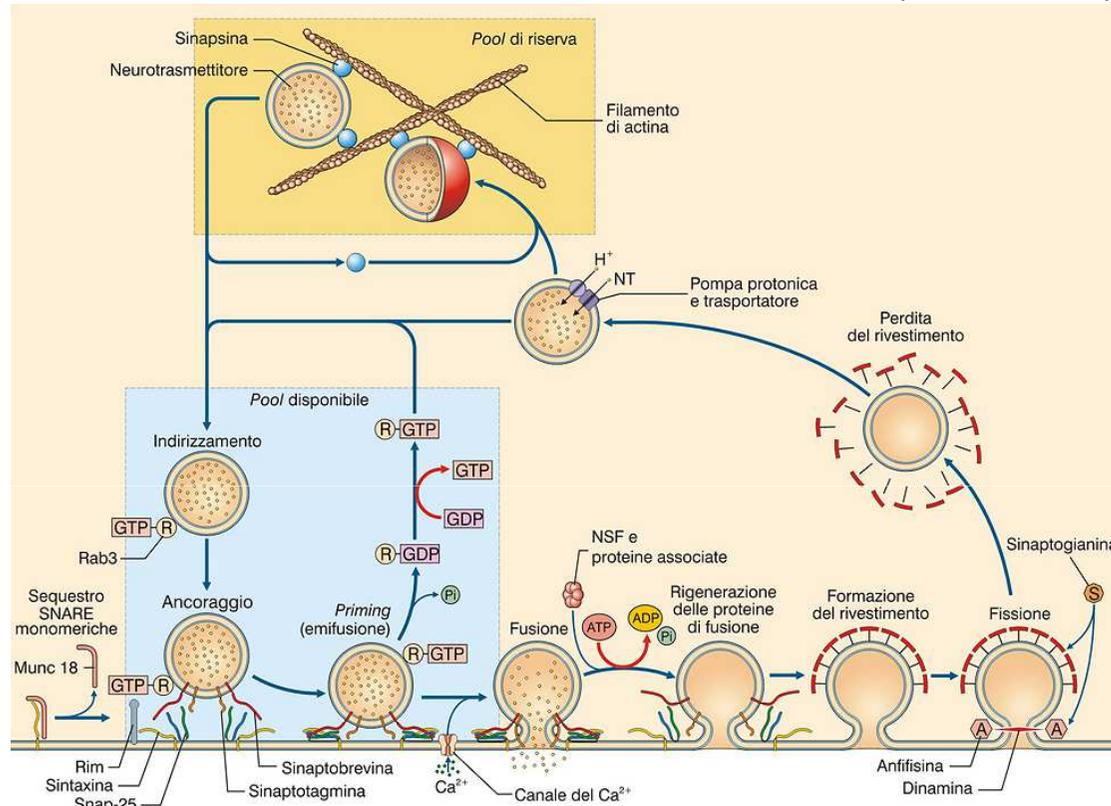


© 2005 edi.ermes milano

Dopo la fusione e l'esocitosi, il NSF (N-ethylmaleimide-sensitive factor) si associa alle SNARE mediante le proteine adattatrici SNAP (soluble NSF attachment protein) e attraverso la sua attività ATP-asi determina separazione del complesso delle proteine SNARE.

Le vescicole sinaptiche sono riciclate per endocitosi con due meccanismi diversi a seconda che siano collassate o meno nella membrana presinaptica:

➤ Vescicole non collassate → **meccanismo di kiss and run**: recupero per chiusura del poro e dissociazione delle due membrane (**dinamina**).



➤ Vescicole collassate: richiedono l'intervento di proteine (**adattine**), che separano e raccolgono i componenti specifici della membrana vescicolare e favoriscano la polimerizzazione di un rivestimento di **clatrina**, che ne permette l'endocitosi.

➤ Le vescicole ricostituite possono rimanere nel pool disponibile per il rilascio o essere sequestrate dal citoscheletro nel pool di riserva.

Dopo la liberazione il neurotrasmettitore (o parte della sua molecola) viene:

- Ricaptato nel terminale presinaptico e:
  - riportato nelle vescicole sinaptiche, ad opera di un trasportatore vescicolare (pompa protonica  $H^+$ -ATPasi e scambiatore  $H^+$ -NT)
  - metabolizzato
- Ricaptato dalle cellule gliali
- Metabolizzato a livello extra-neuronale
- Diffonde nelle zone extra-sinaptiche