



Camillo Golgi
1843-1924

Golgi method 1873

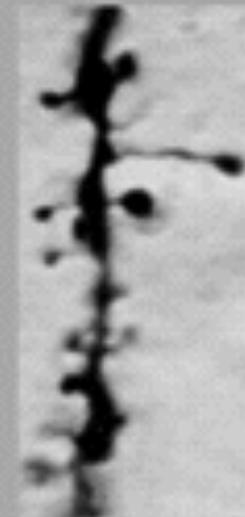


Nobel prize 1906

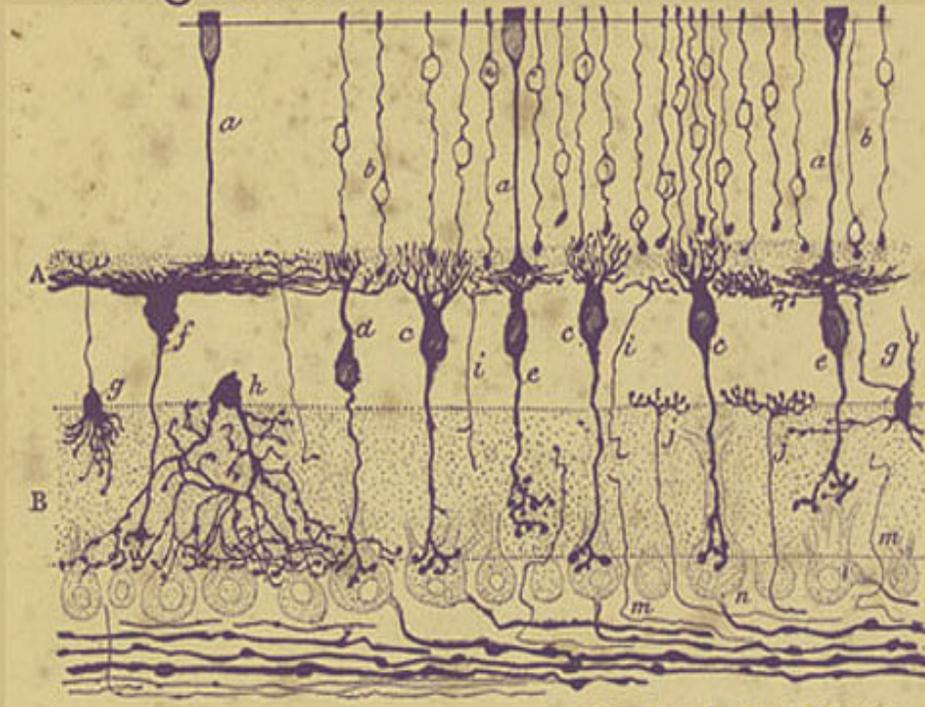


Santiago Ramon y Cajal
1852-1934

Dendritic spines 1891

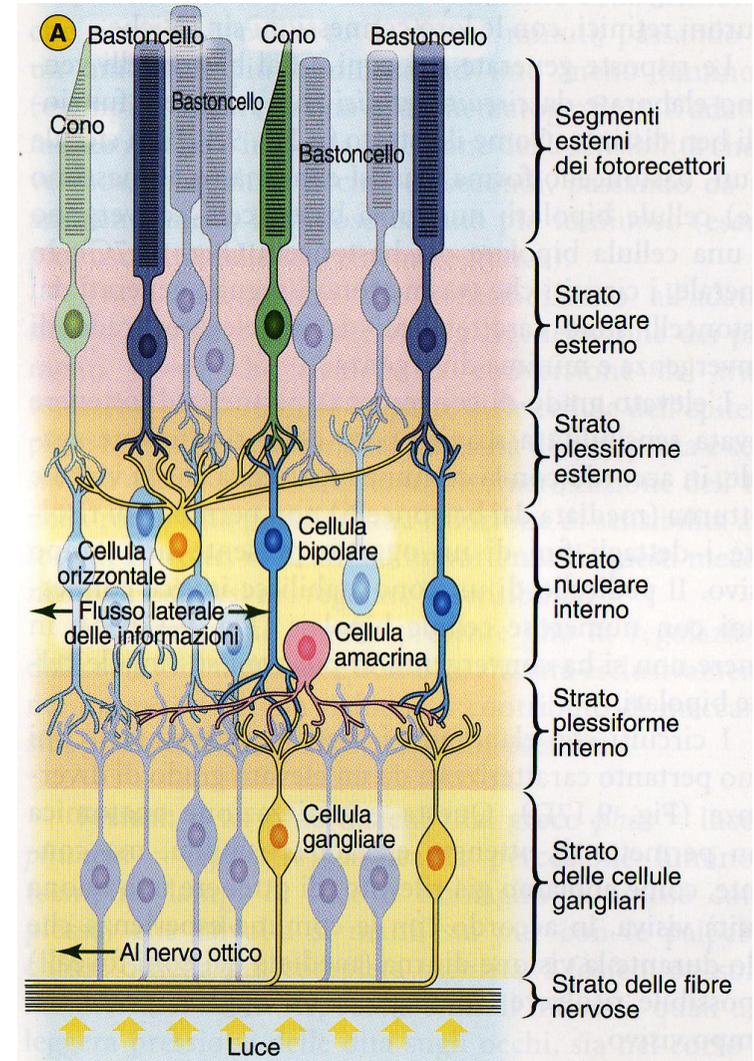


Golgi-stained retinal neurons

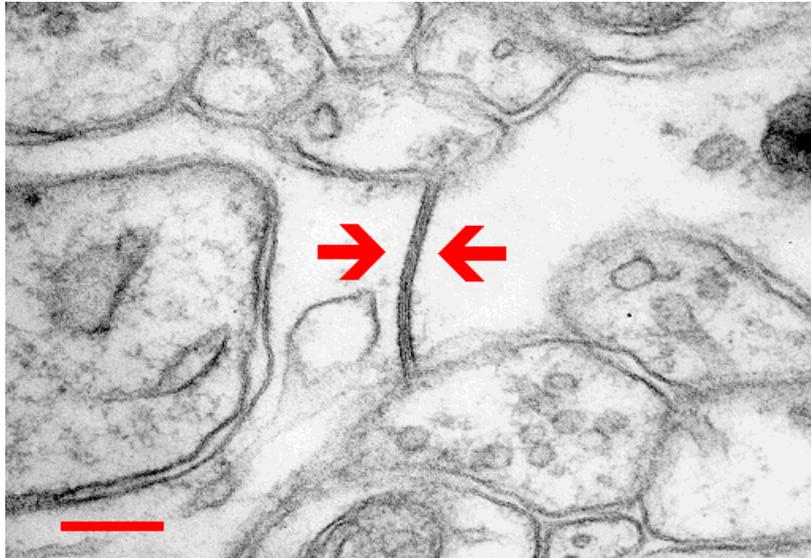


Cajal 1892

Fig. 2. A drawing done by Cajal to show some of the neurons of the retina in vertical section.

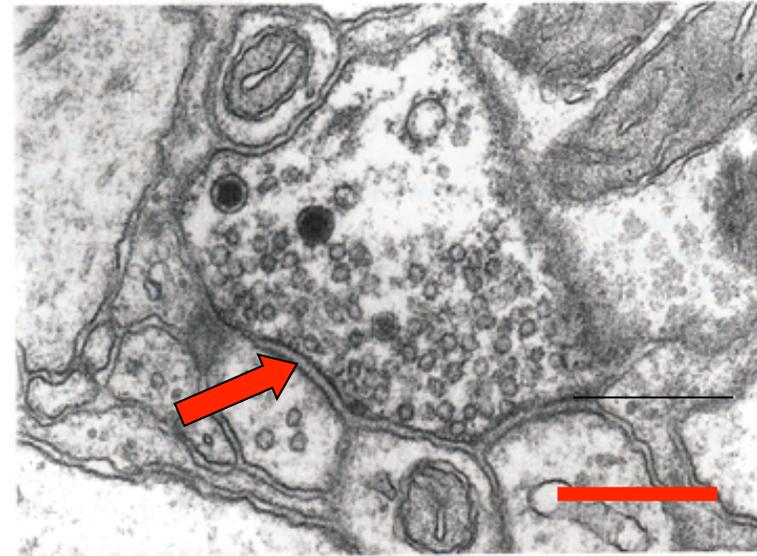


Sinapsi Elettrica



Gap junction (arrows) between astrocyte processes.
Scale = 200 nm.

Sinapsi Chimica



Chemical Synapse (arrows) between neurons.
Scale = 500 nm.

Le sinapsi

La sinapsi è la giunzione tra due elementi cellulari eccitabili che consente il passaggio di segnali elettrici.

Sulla base della diversa strategia di trasmissione del segnale elettrico tra la cellula presinaptica e la cellula postsinaptica si distinguono sinapsi elettriche e sinapsi chimiche.

Nella sinapsi elettrica la trasmissione dei segnali elettrici avviene tramite correnti elettrotoniche che si instaurano tra la cellula presinaptica e la cellula postsinaptica.

Nella sinapsi chimica la trasmissione dei segnali elettrici avviene per liberazione di un segnale chimico nella fessura sinaptica.

Le sinapsi elettriche

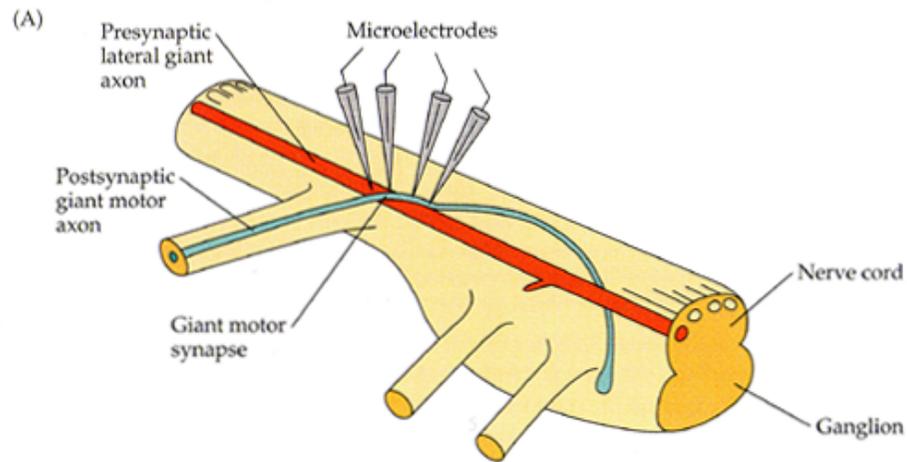
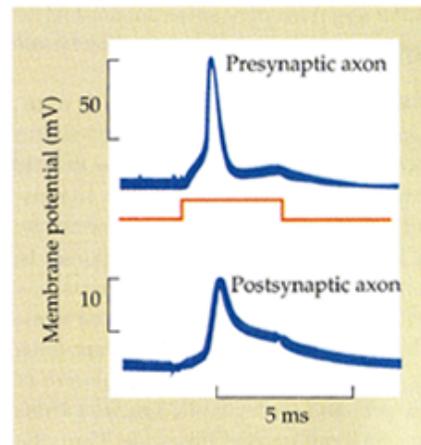
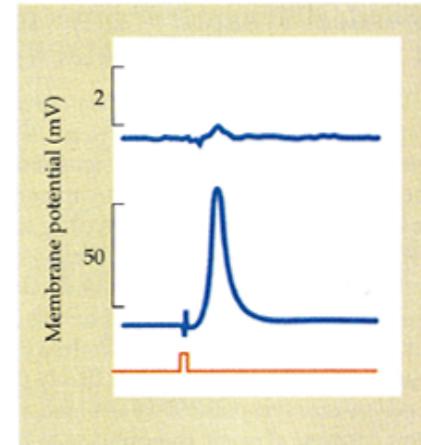


FIGURE 9.2 Electrical Synaptic Transmission at a Giant Synapse in the crayfish central nervous system. (A) The experimental preparation. The presynaptic lateral giant axon makes an electrical synapse with the postsynaptic giant motor axon in the abdominal nerve cord. (B) Depolarization of the presynaptic axon spreads immediately to the postsynaptic fiber. In this case each cell reaches threshold and fires an action potential. (C) When the postsynaptic axon is stimulated directly to give an action potential, depolarization spreads poorly from the postsynaptic to the presynapse. The synapse is said to rectify. (After Furshpan and Potter, 1959.)

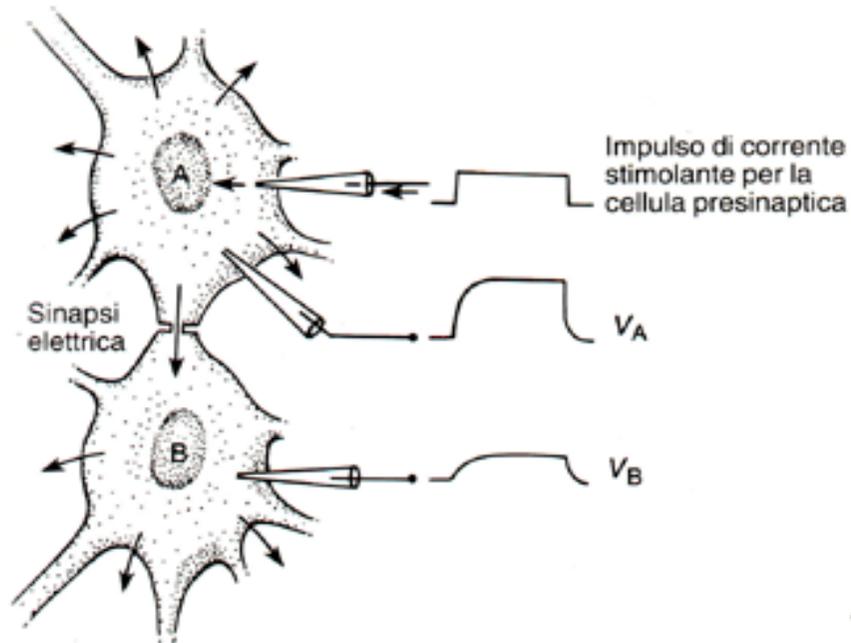
(B) Stimulate presynaptic fiber



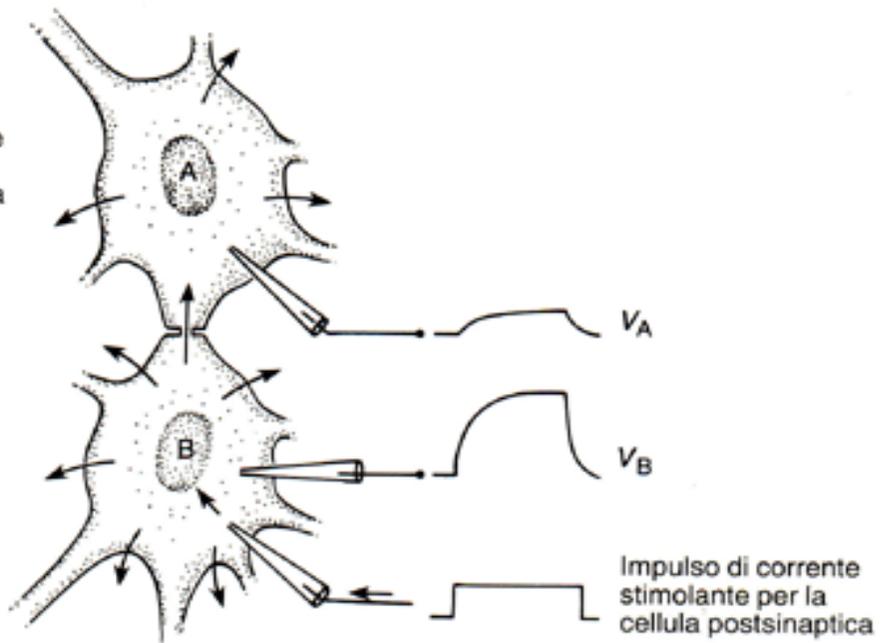
(C) Stimulate postsynaptic fiber



A Stimolazione della cellula presinaptica



B Stimolazione della cellula postsinaptica



- contatto elettrico
- correnti elettrotoniche intercellulari

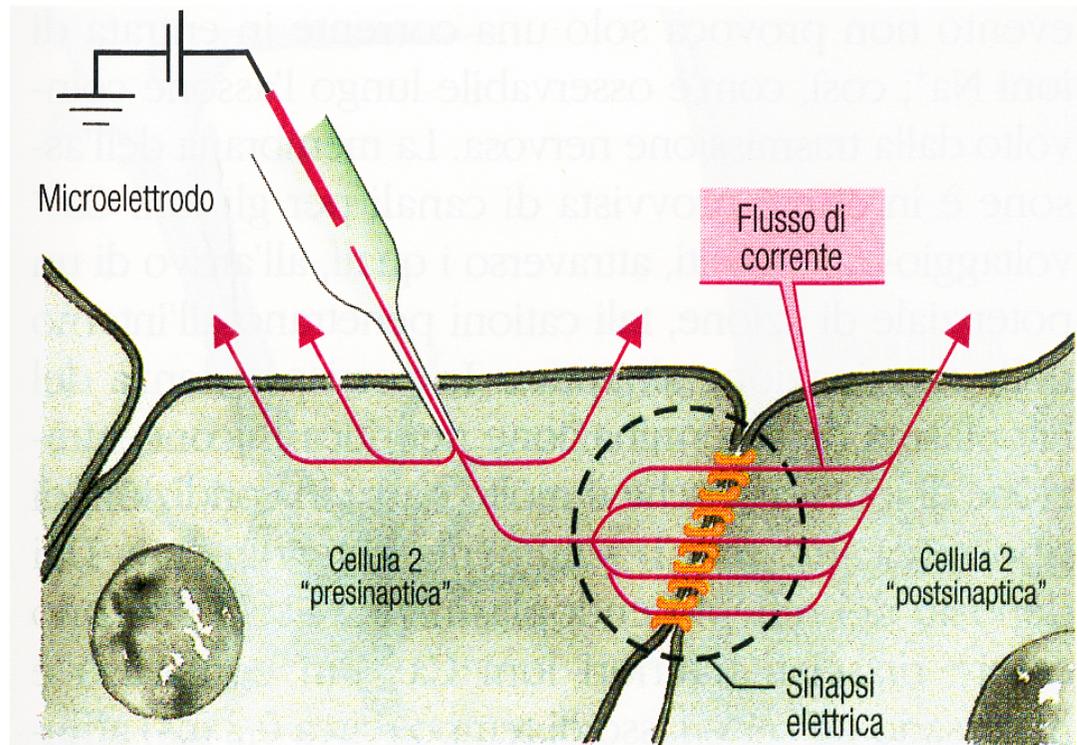


Figura 5.2 Quando, mediante un microelettrodo, viene applicata una corrente all'interno di una cellula coinvolta in una sinapsi elettrica, questa corrente si propaga direttamente attraverso il canale dei connessioni nell'adiacente "cellula postsinaptica" (→2). Allo stesso modo, a livello delle normali associazioni cellulari, una cellula presinaptica depolarizzata influenza la cellula a lei vicina.

Le gap junctions:

ogni connessone
è un complesso proteico
formato da 6 connessine

Vantaggi:

- rapidità (latenza 10^{-5} s)
- propagazione bidirezionale

Svantaggi:

le cellule devono essere piccole
(es. miocardio, muscolatura liscia)

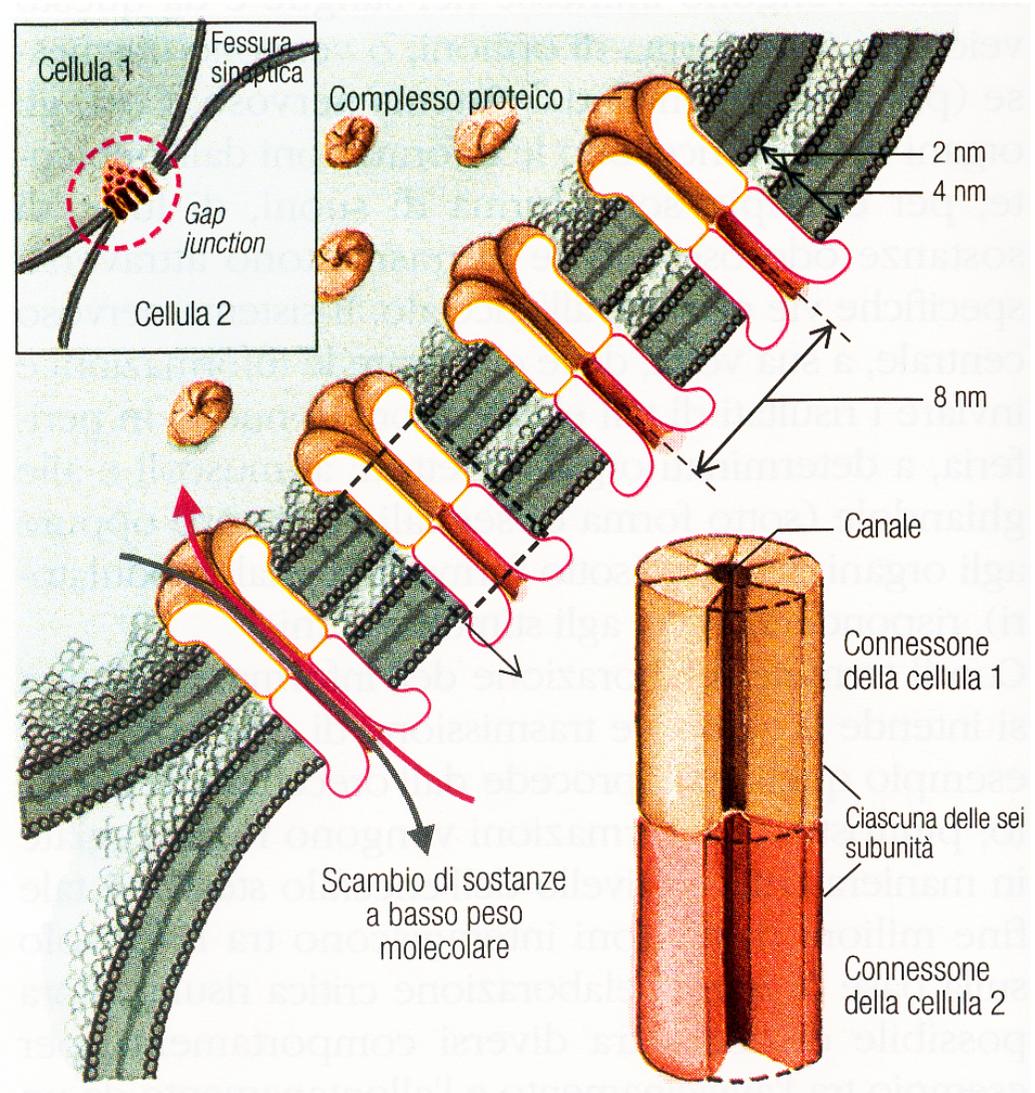


Figura 5.1 Sinapsi elettrica a livello di una *gap junction*.

Complessi proteici, i cosiddetti connessoni, formano canali che congiungono il citoplasma di due cellule adiacenti; attraverso tali canali avviene lo scambio di sostanze a basso peso molecolare, in particolare di ioni (7).

Il meccanismo di apertura delle gap junctions

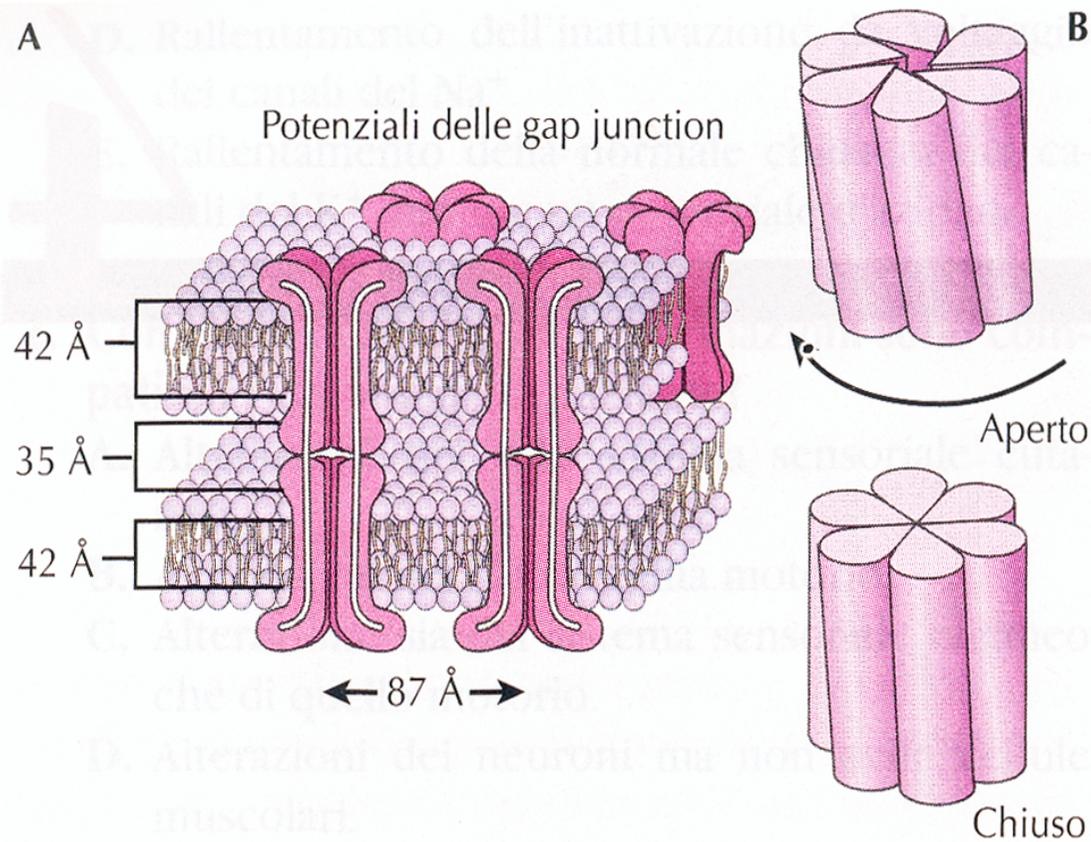


Figura 4-1 **A**, struttura dei canali delle gap junction. **B**, apertura e chiusura del canale di una gap junction. (**A**, rielaborato da Malowski, L. et al, «J Cell Biol», 74:629, 1977; **B**, rielaborato da Unwin, P.N.T. e Zampighi, G., «Nature», 283:45, 1980.)

Le sinapsi chimiche

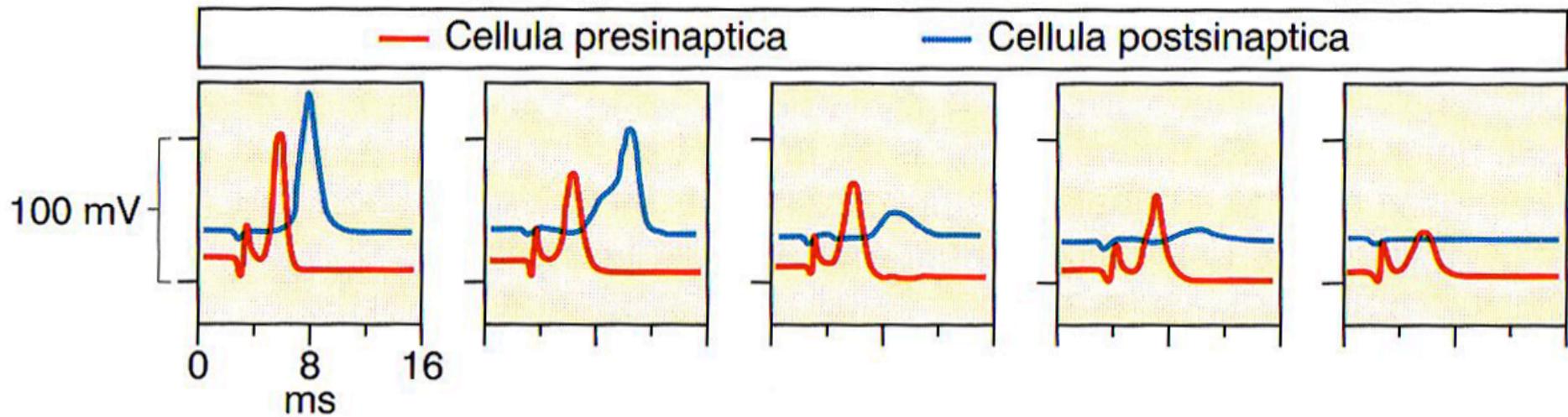
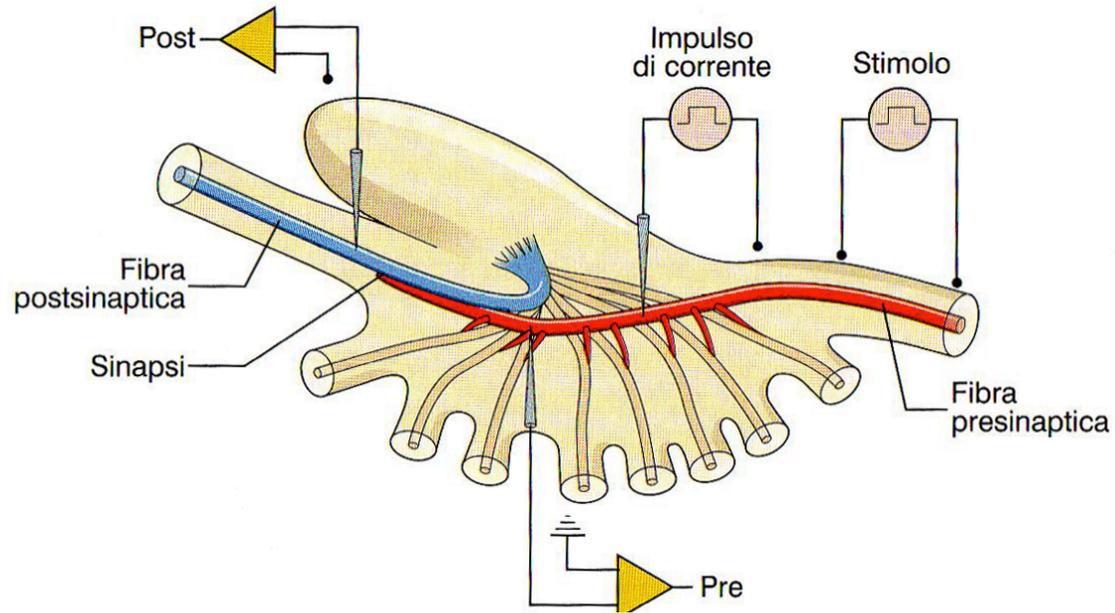
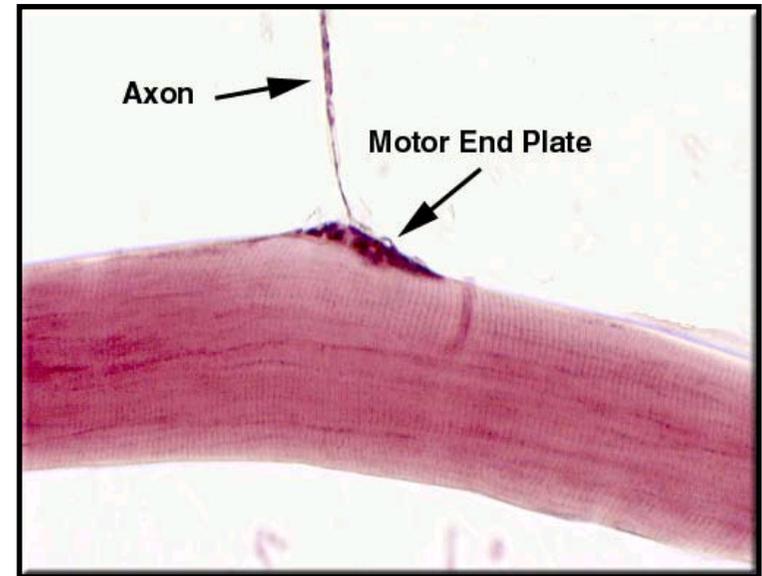
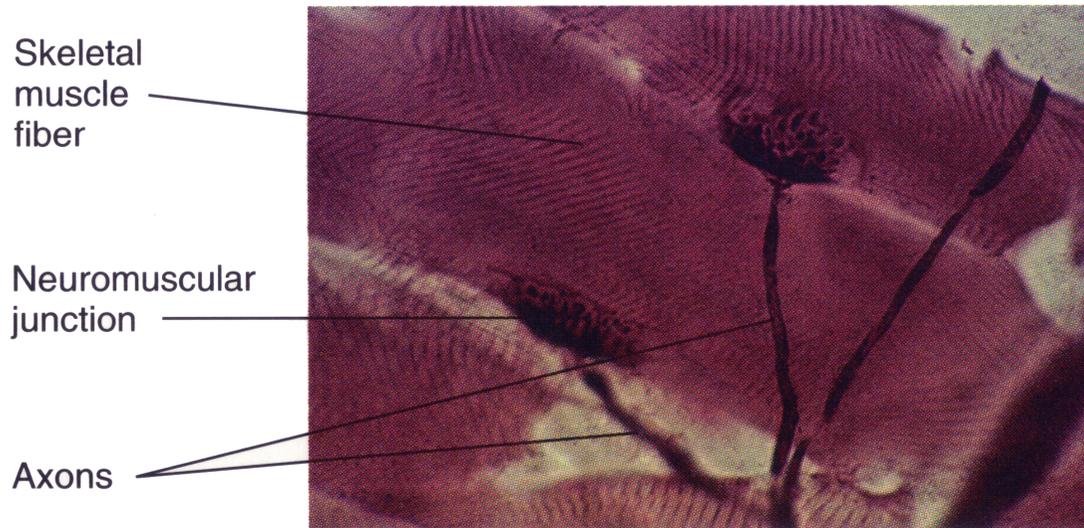


Tabella 9-1 Proprietà distintive delle sinapsi elettriche e chimiche.

Proprietà	Sinapsi elettriche	Sinapsi chimiche
1. Distanza fra le membrane pre- e postsinaptiche	3,5 nm	30-50 nm
2. Continuità citoplasmatica fra cellula pre- e postsinaptica	Sì	No
3. Componenti ultrastrutturali	Canali delle giunzioni comunicanti	Zone attive e vescicole presinaptiche; recettori postsinaptici
4. Agenti della trasmissione	Correnti ioniche	Neurotrasmettitori
5. Ritardo sinaptico	Virtualmente assente	Apprezzabile: al minimo 0,3 ms, in generale 1-5 ms o più
6. Direzione della trasmissione	Generalmente bidirezionale	Unidirezionale

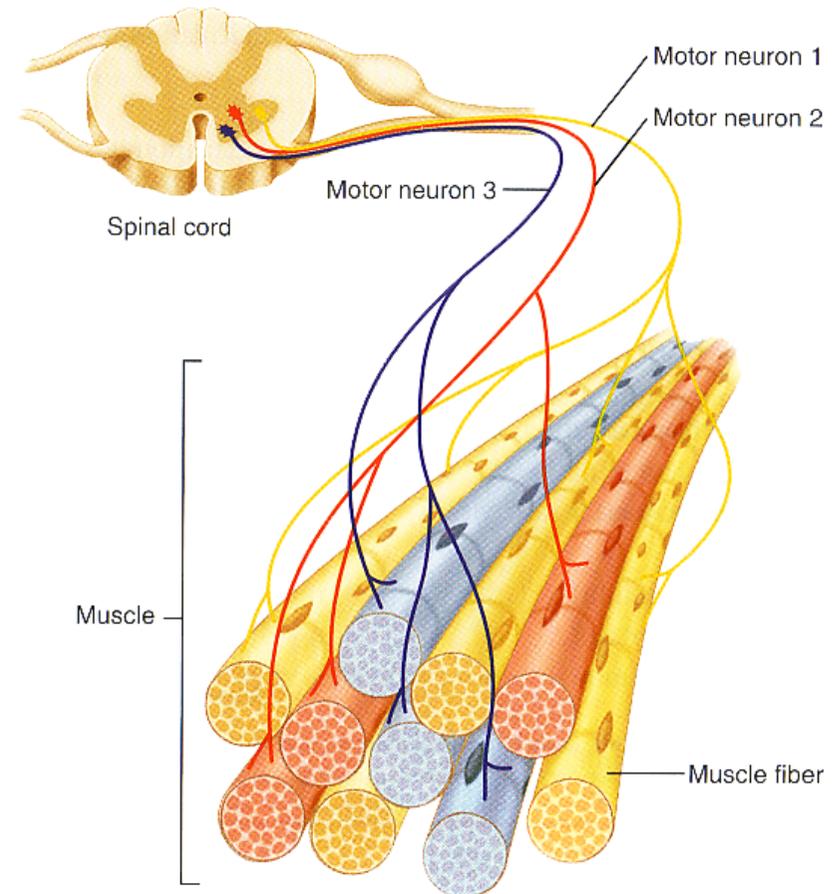
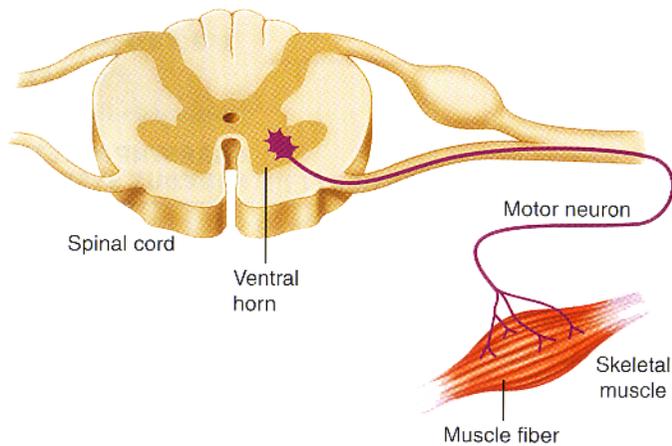
Un esempio di sinapsi chimica:

La giunzione neuromuscolare



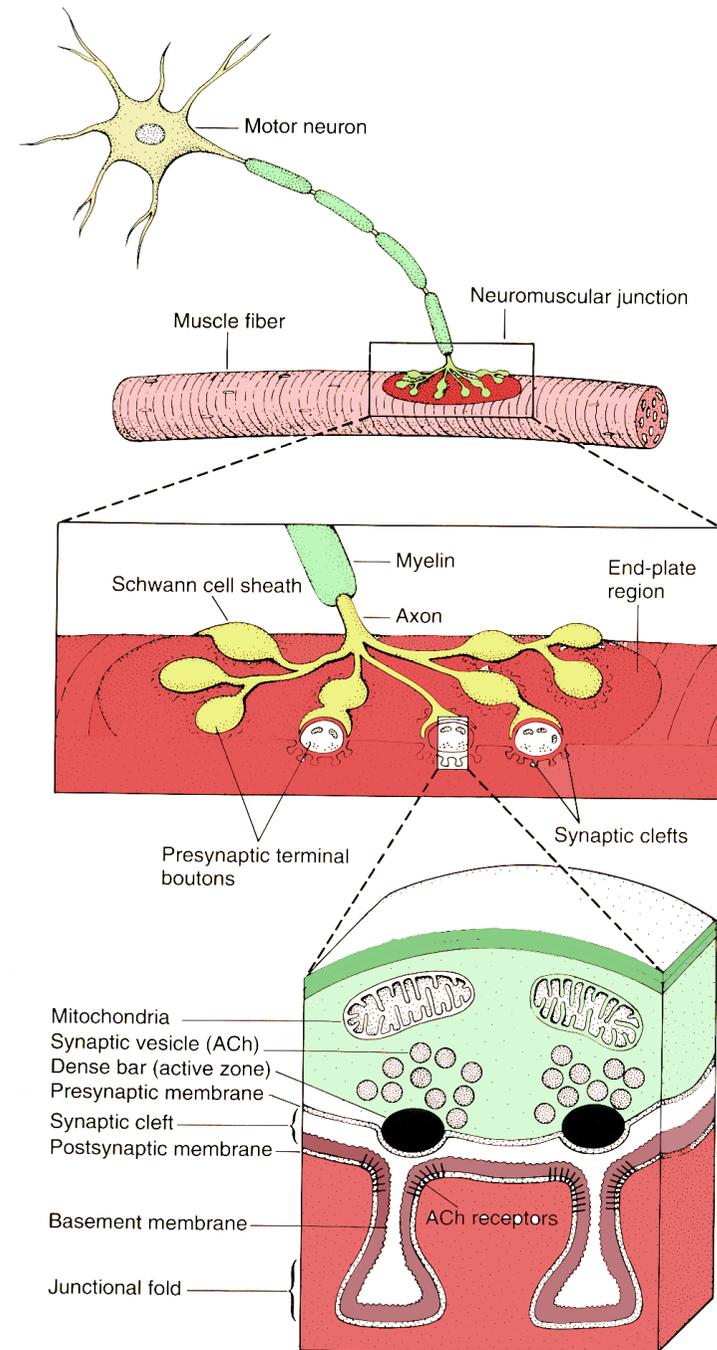
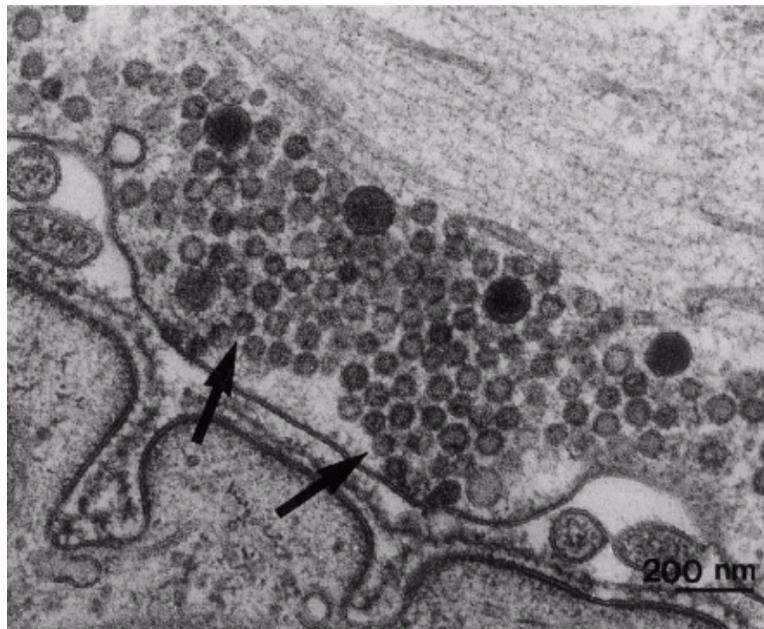
Gli elementi della sinapsi neuromuscolare

- **cellula presinaptica**
il motoneurone (α- motoneurone)
- **cellula postsinaptica**
la fibra muscolare scheletrica
- **il mediatore chimico (o neurotrasmettitore)**
l' acetilcolina

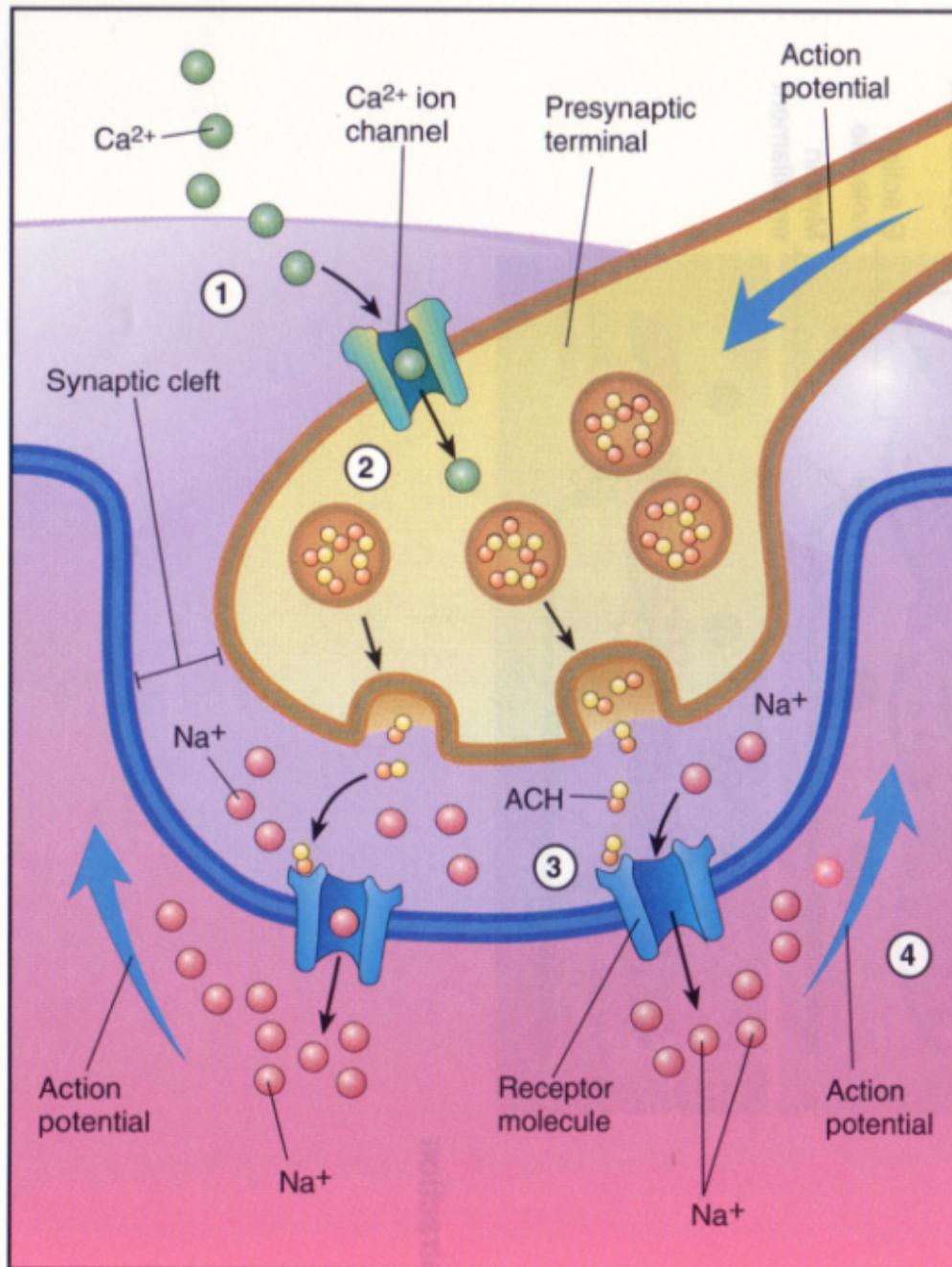


Gli elementi caratterizzanti le cellule sinaptiche:

- le vescicole sinaptiche
- i recettori per il neurotrasmettitore



Le fasi della trasmissione in una sinapsi chimica

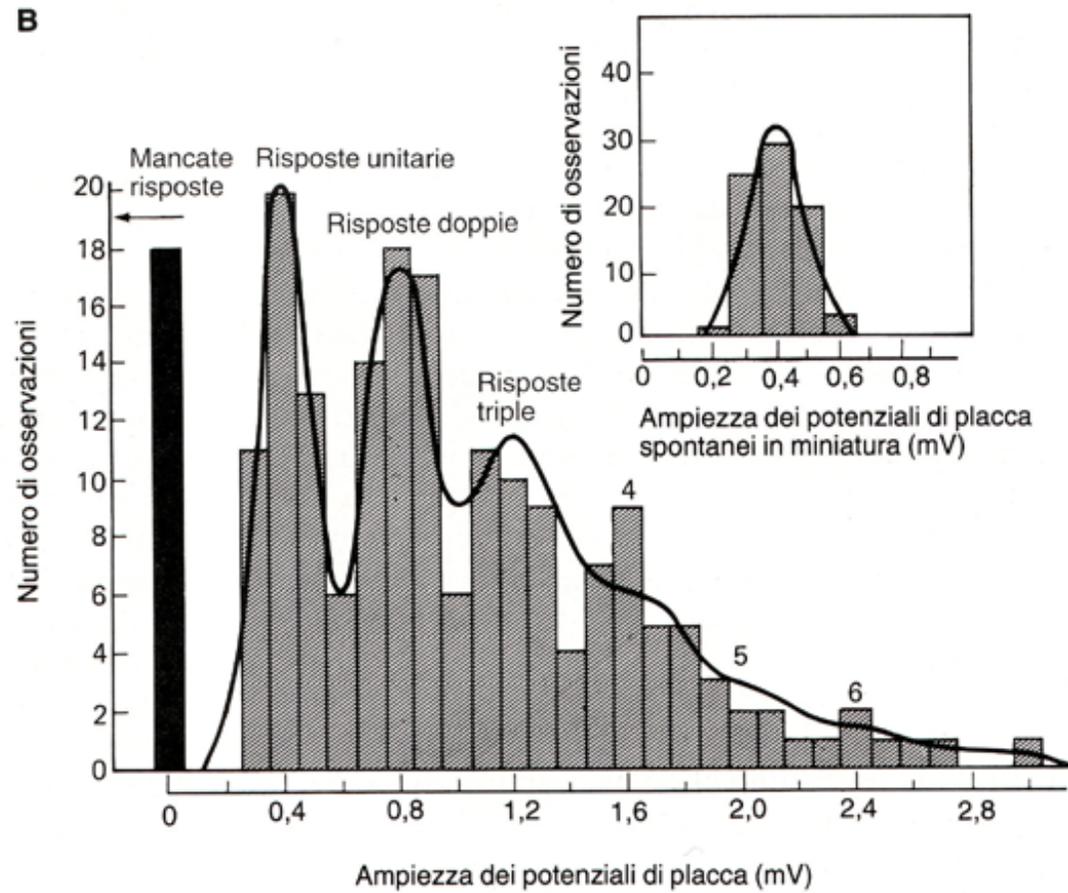
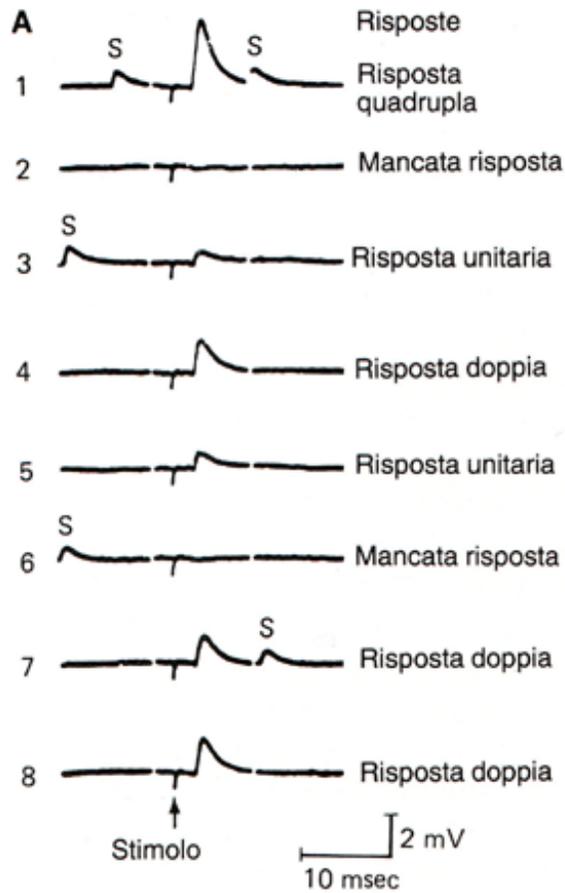


1. An action potential arrives at the presynaptic terminal causing voltage-gated Ca^{2+} ion channels to open, increasing the Ca^{2+} ion permeability of the presynaptic terminal.
2. Ca^{2+} ions enter the presynaptic terminal and initiate the release of a neurotransmitter, acetylcholine (ACH), from synaptic vesicles in the presynaptic terminal.
3. Diffusion of ACH across the synaptic cleft and binding of ACH to ACH receptors on the postsynaptic muscle fiber membrane causes an increase in the permeability of ligand-gated Na^+ ion channels.
4. The increase in Na^+ ion permeability results in depolarization of the postsynaptic membrane; once threshold has been reached a postsynaptic action potential results.

(a)

1 quanto di trasmettitore determina un potenziale post sinaptico di ampiezza costante:

II POTENZIALE DI PLACCA IN MINIATURA



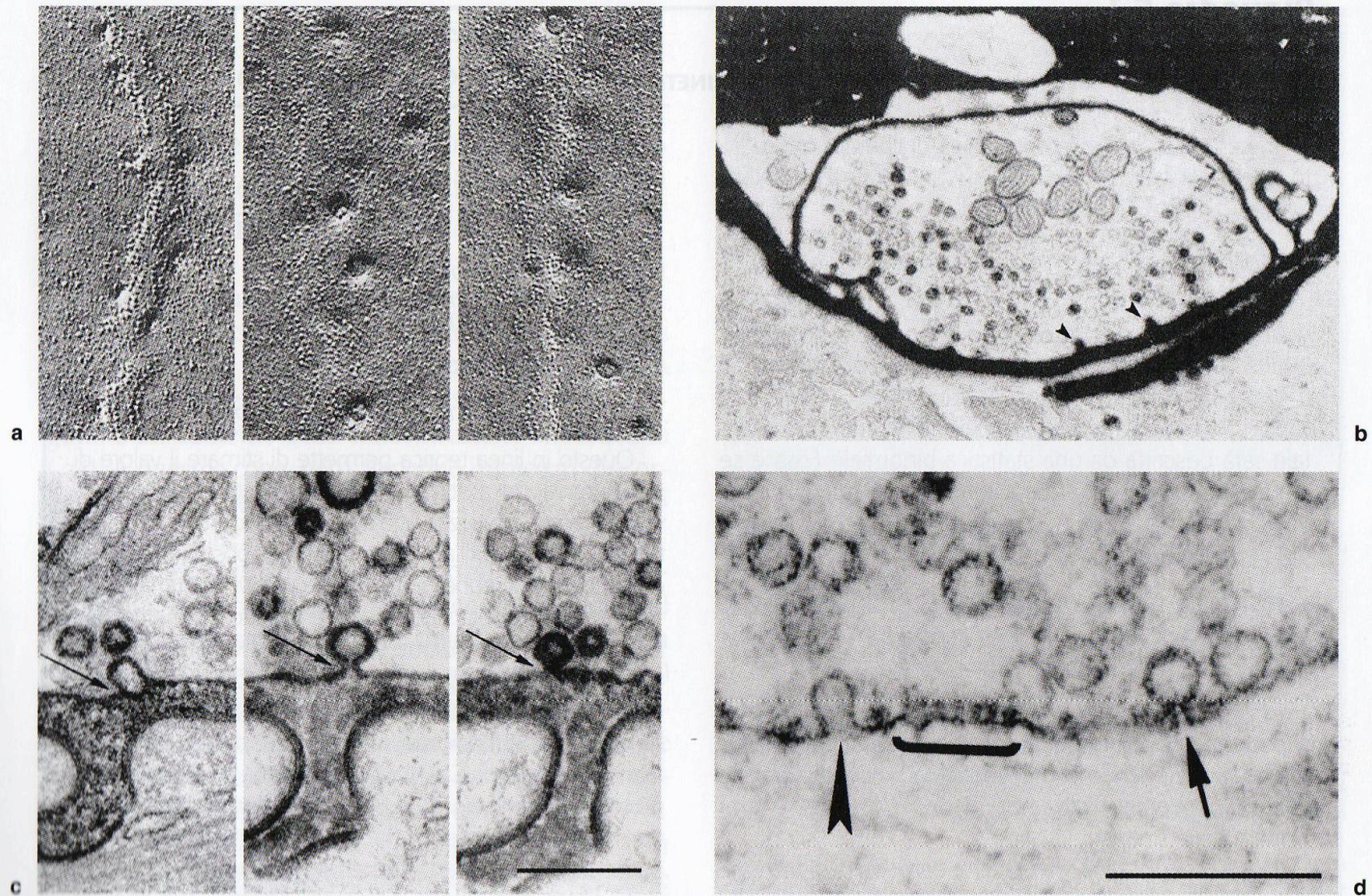
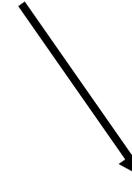


Figura 6.4 a, Immagini di *freeze-fracture* della membrana presinaptica di una giunzione neuromuscolare, che mostrano la fusione di vescicole sinaptiche presso la zona attiva, durante intensa attivazione della liberazione di trasmettitore. In queste condizioni le vescicole ricircolano attivamente come dimostrato in b dal fatto che molte vescicole appaiono marcate dopo stimolazione in presenza di un tracciante extracellulare (perossidasi del rafano). c, Nelle microfotografie sono illustrati vari momenti dell'interazione della vescicola con la membrana, prima e dopo che la vescicola carichi il tracciante. d, Nella microfotografia si vedono immagini di fusione (freccie) prodotte in risposta a un singolo stimolo e catturate con la tecnica del *quick-freezing*; la zona attiva è evidenziata dalla sottolineatura (pgc B. Ceccarelli, F. Grohovaz, R. Fesce, F. Torritarelli – barre di calibrazione, 0,2 μ m).

Le vescicole sinaptiche



Vescicole sinaptiche piccole (a nucleo chiaro)

diametro di 40-50 nm

contengono i neurotrasmettitori

vengono sintetizzati *in loco*

Vescicole sinaptiche grandi (a nucleo denso)

diametro di 100-300 nm

contengono i neuropeptidi

vengono sintetizzati dal soma e trasportati alla terminazione sinaptica

Nella terminazione nervosa possono coesistere vescicole piccole e chiare e vescicole grandi con granuli a nucleo denso

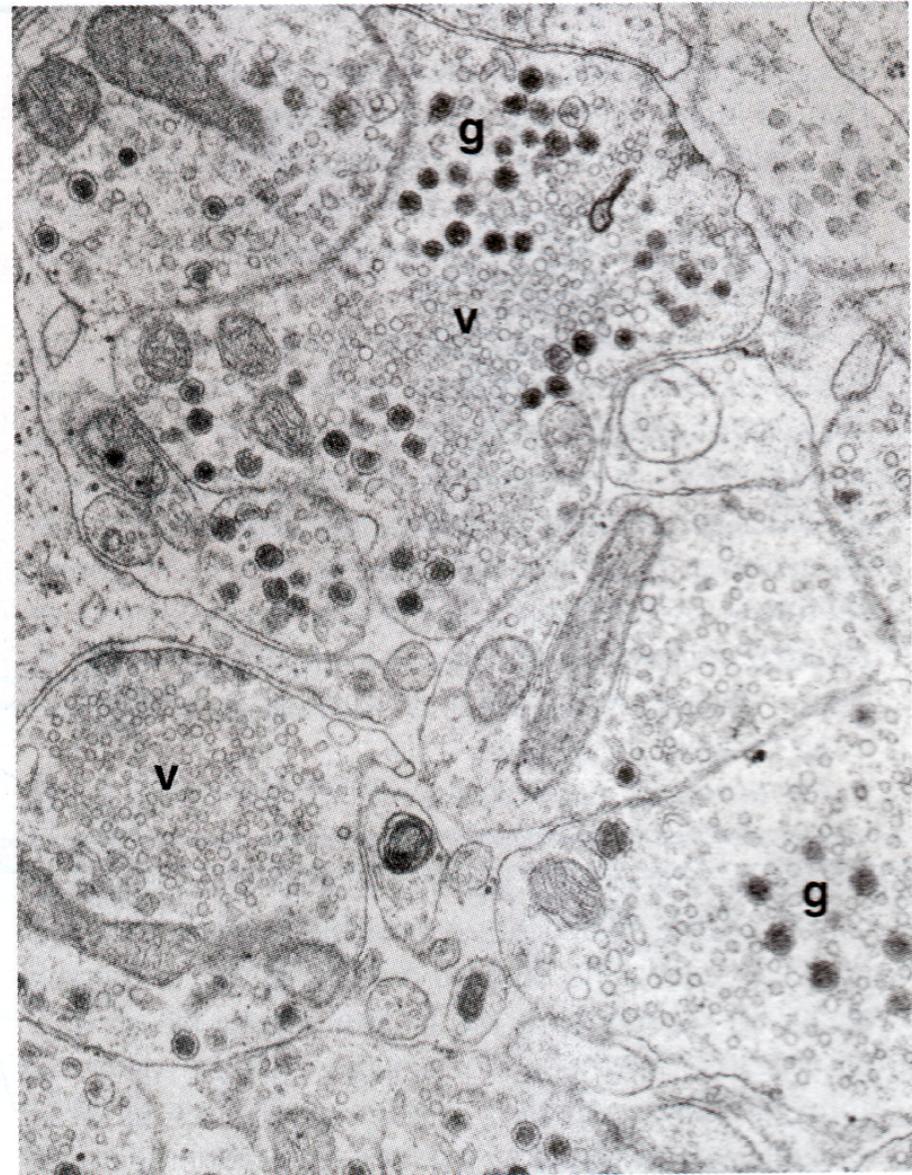


Figura 6.5 Sezione sottile di una porzione dell'eminenza mediana dell'ipotalamo di ratto che mostra molte diverse terminazioni sinaptiche. Si noti come in molte di esse coesistano numerose vescicole piccole e chiare (vescicole sinaptiche, v) con granuli a nucleo denso (g) (pgc F. Clementi e B. Ceccarelli).

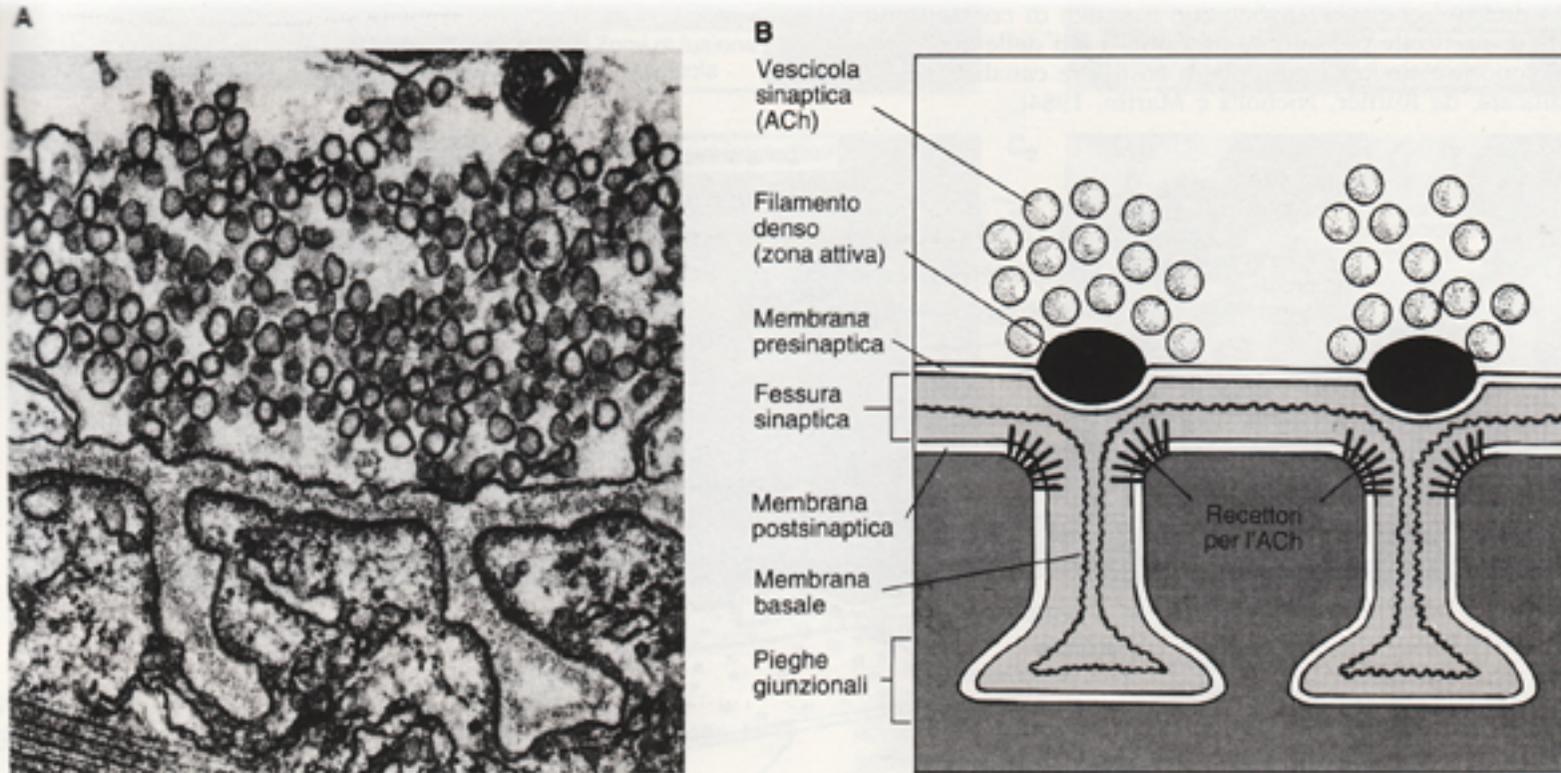


FIGURA 13-7

La microfotografia di una sezione sottile (A) e il disegno schematico (B) mostrano la localizzazione dei siti di rilascio del neurotrasmettitore nella giunzione neuromuscolare. Piccole vescicole sinaptiche (del diametro di 40-50 nm), contenenti molecole di ACh, si addensano attorno a filamenti densi presenti nel neurone presinaptico. La zona dove sono presenti questi

filamenti densi è localizzata all'apice delle pieghe giunzionali della membrana del muscolo, proprio in corrispondenza della localizzazione dei recettori per l'ACh. La membrana basale, alla quale sta adesa l'acetilcolinesterasi, attraversa tutta la fessura sinaptica. (Modificata, da Kuffler, Nicholls e Martin, 1984).

Proteine coinvolte nel traffico e nell'eso-endocitosi delle vescicole sinaptiche:

- **Sinapsine**: interagiscono con il citoscheletro controllando il traffico delle vescicole
- **Pompe protoniche e trasportatori vescicolari** per l'accumulo del neurotrasmettitore all'interno delle vescicole
- **Rab3, sinaptotagmina, csp, DOC2** per l'ancoraggio delle vescicole nelle zone attive
- **Sinaptotagmine e rabfillina** sono i sensori per il Ca^{2+}
- **Sinaptofisine** formano il poro
- **Sinaptofisine, SV2** sono coinvolte nella biogenesi delle vescicole e nel sequestro delle proteine di fusione
- **Rab3 A-D** sono proteine G che assicurano la corretta direzionalità del ciclo eso ed endocitotico delle vescicole
- **Sinaptotagmina e sinaptofisina** permettono il recupero della membrana della vescicola sinaptica dopo la sua fusione con la membrana cellulare
- **Proteinchinasi**

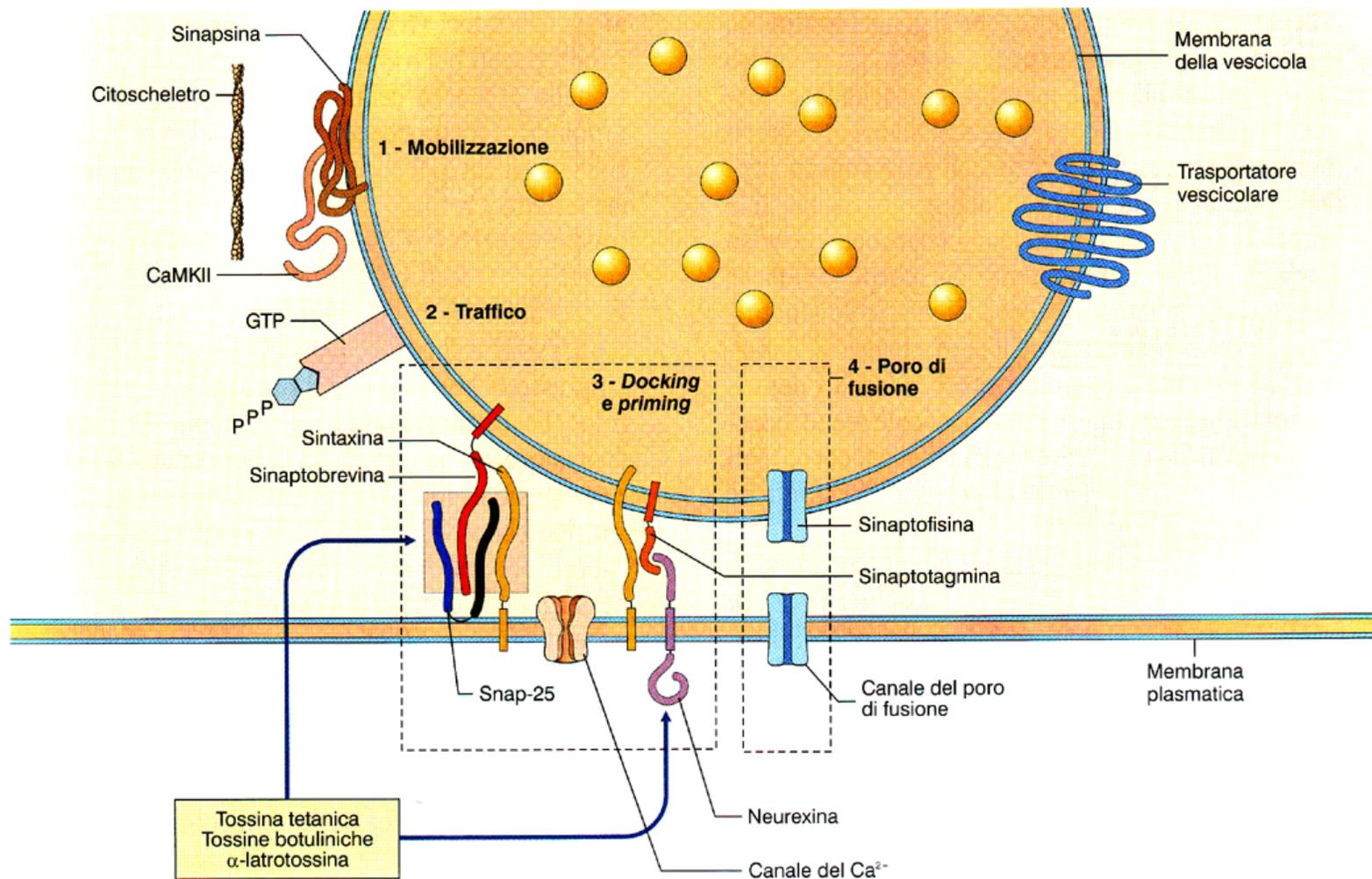
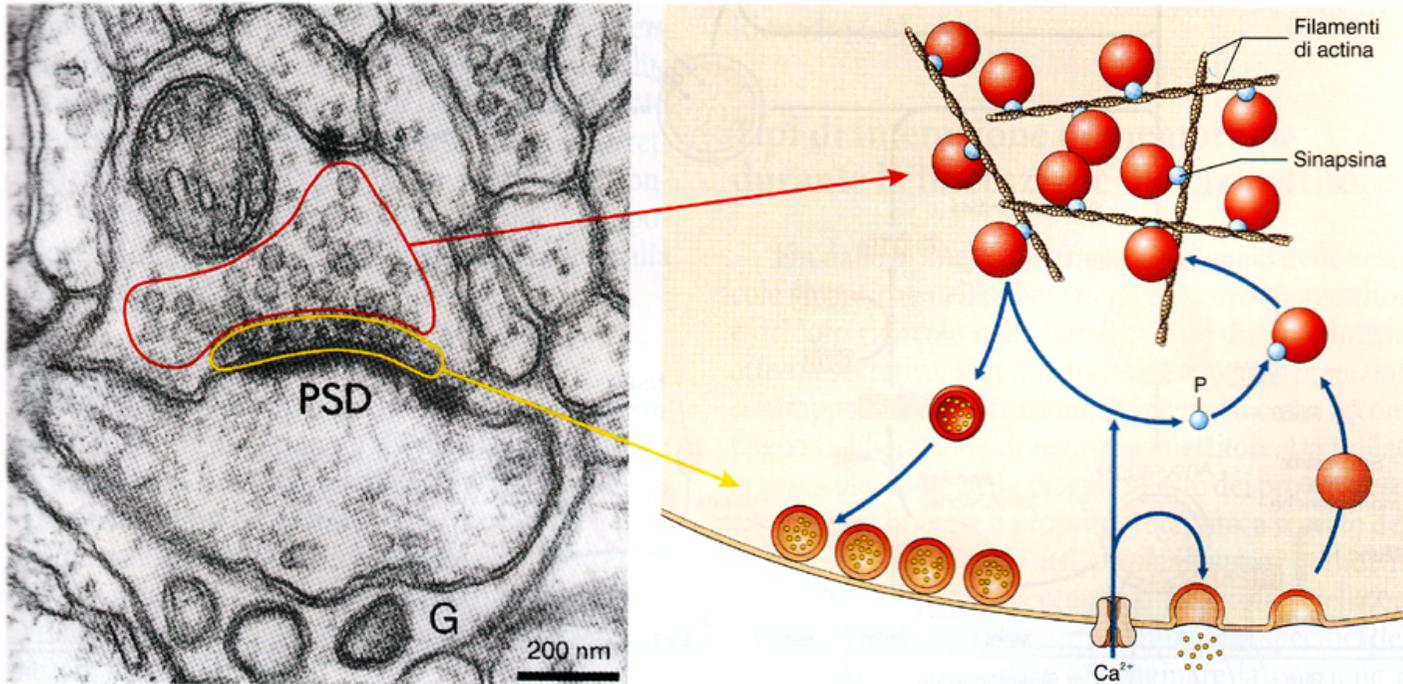


Figura 6.6 Principali proteine della terminazione nervosa implicate nella neurosecrezione: si noti che nel diagramma sono illustrate solo le proteine di membrana (intrinseche o associate a essa), ma altri fattori solubili partecipano alle complesse interazioni che regolano la disponibilità e lo stato funzionale delle vescicole sinaptiche. Il riquadro tratteggiato a sinistra sottolinea la stretta associazione spaziale e funzionale tra componenti della macchina di fusione e canali del Ca^{2+} , mentre il riquadro di destra suggerisce un possibile ruolo della sinaptofisina nel costituire un poro che attraversa le due membrane (vescicola e plasmalemma) per permettere la liberazione di trasmettitore (modificata da ER. Kandel et al., Principles of neural science, McGraw-Hill, 2000).

Il ciclo delle vescicole sinaptiche

1. Esocitosi

2. Endocitosi



**Pool
di riserva**

**Pool
disponibile
0.5-15%**

Figura 6.7 a. Ultrastruttura di una terminazione nervosa in cui si osservano numerose vescicole sinaptiche a varie distanze dalla membrana presinaptica (PSD, densità postsinaptica; G, processo di una cellula gliale). b. Corrispondente schema che illustra i diversi *pool* funzionali delle vescicole sinaptiche: un *pool* di riserva composto da vescicole ancorate ai filamenti di actina e un *pool* di liberazione composto da vescicole ancorate alla membrana presinaptica in corrispondenza delle zone attive. Lo schema sottolinea anche il duplice ruolo del calcio nel determinare la fusione esocitotica delle vescicole presenti nel *pool* di liberazione e nel promuovere il reclutamento dal *pool* di riserva e il ruolo delle *sinapsine* (sfere azzurre) che, sulla base del loro stato di fosforilazione calcio-dipendente, regolano il traffico delle vescicole sinaptiche tra questi due *pool*.

1. **L'esocitosi:** liberazione del neurotrasmettitore

Liberazione delle vescicole dal citoscheletro

Orientamento e ancoraggio alle zone attive della membrana presinaptica

Priming (emifusione)

Fusione

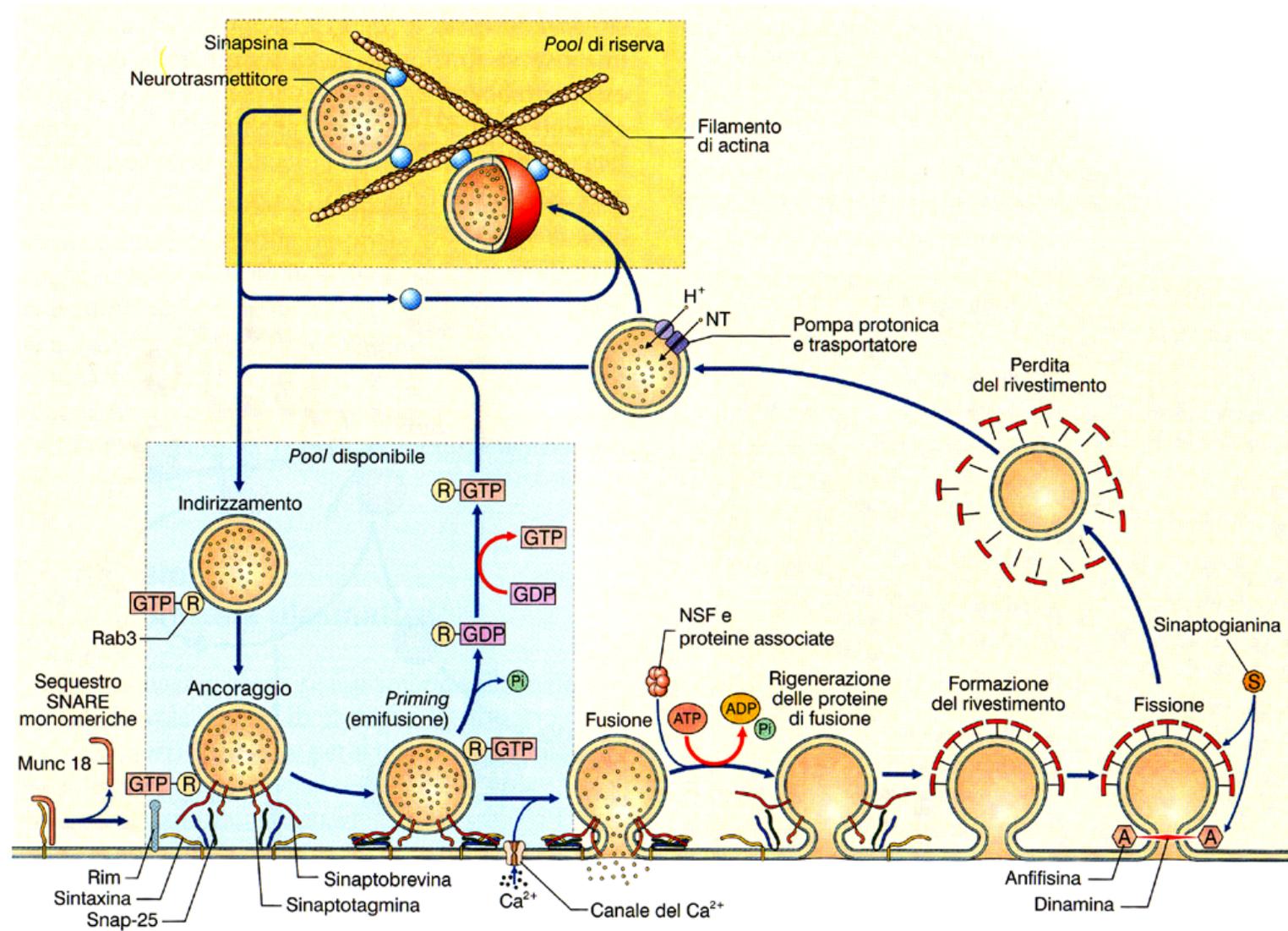


Figura 6.8 Schema che illustra le fasi del ciclo eso-endocitotico delle vescicole sinaptiche e il ruolo di alcune proteine chiave nel guidare le vescicole nei processi di ancoraggio alle zone attive, maturazione verso la piena competenza alla fusione, fusione in risposta all'arrivo del potenziale d'azione e successivo recupero endocitotico. L'area azzurra identifica il ciclo di Rab3 (modificata da Clementi, Fumagalli, eds, Farmacologia generale e molecolare, UTET).

Le proteine SNARE mediano la fusione della membrana vescicolare con la membrana presinaptica

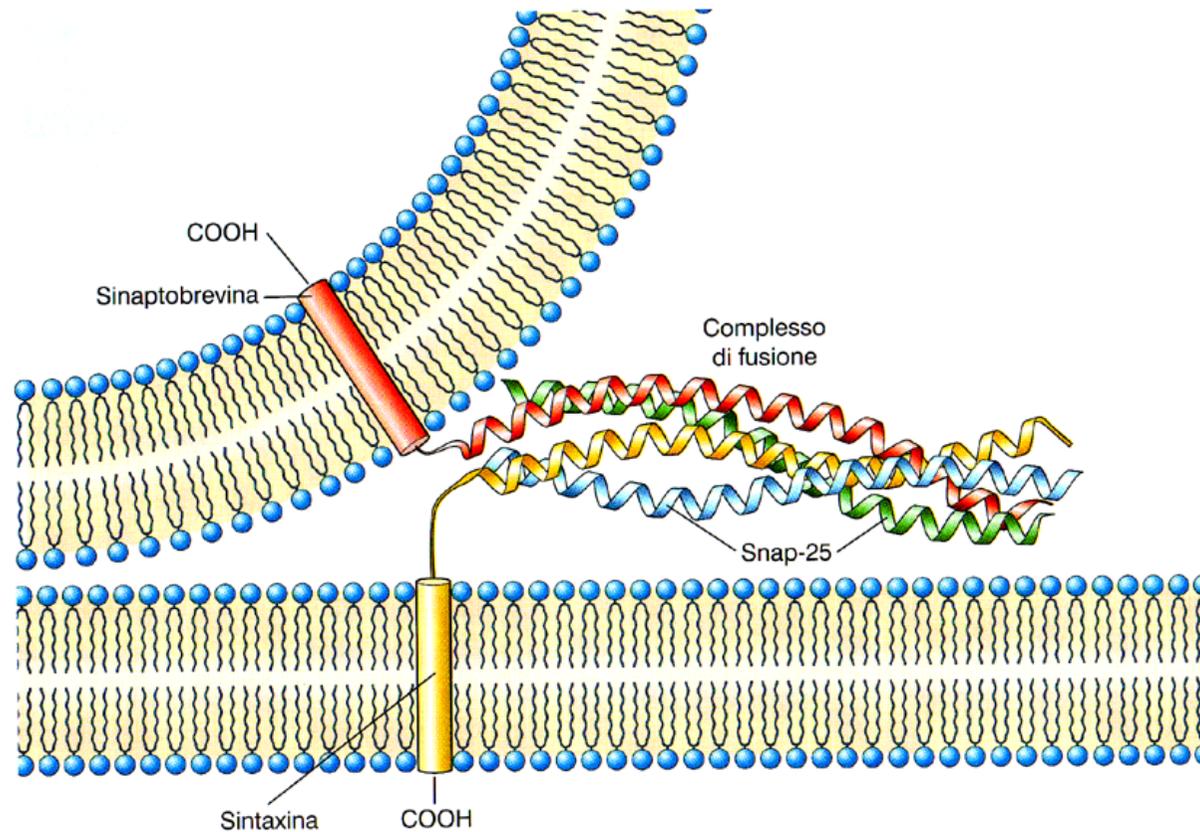


Figura R6.3-1 Modello della chiusura a lampo (*zippering*). Proteine SNARE: in rosso sinaptobrevina, in giallo syntaxina, in verde/blu Snap-25. Le porzioni delle proteine che non interagiscono direttamente non sono mostrate (modificata da Rizo e Sudhof, 2002).

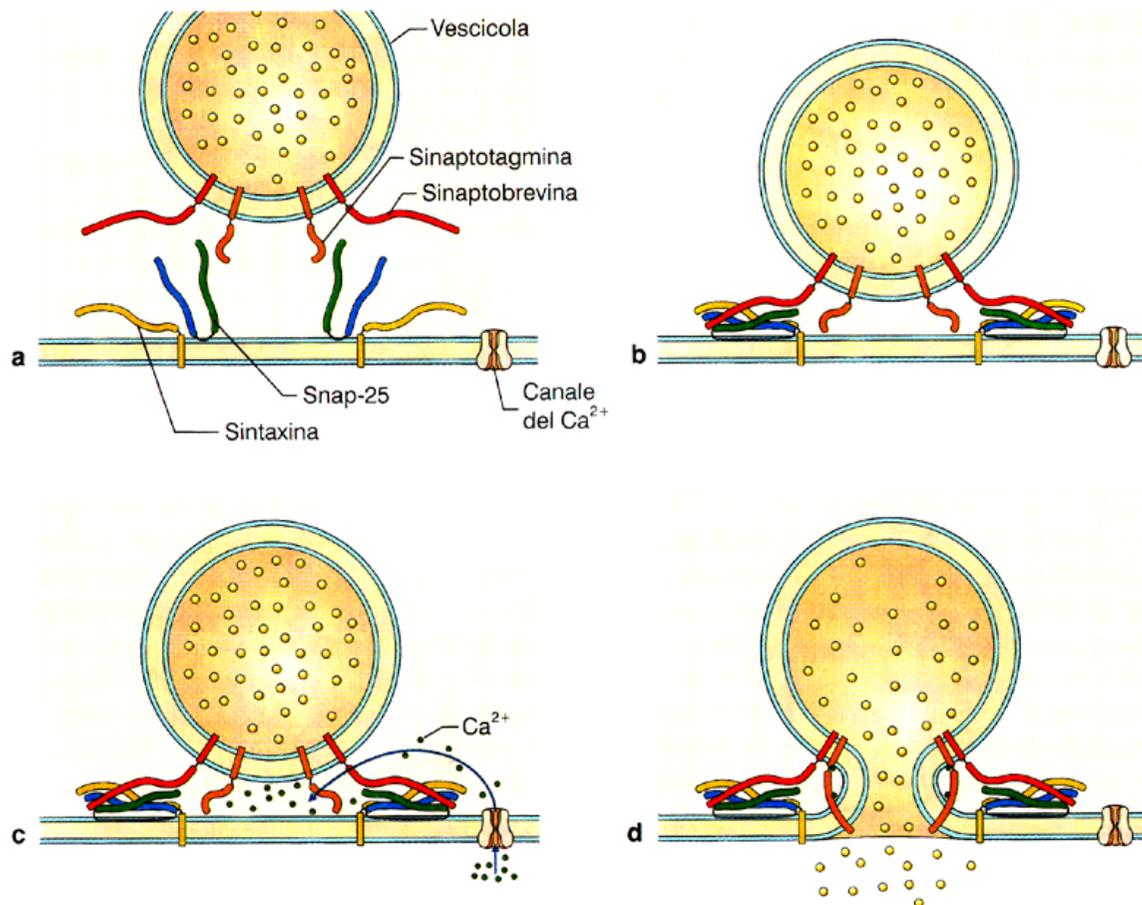


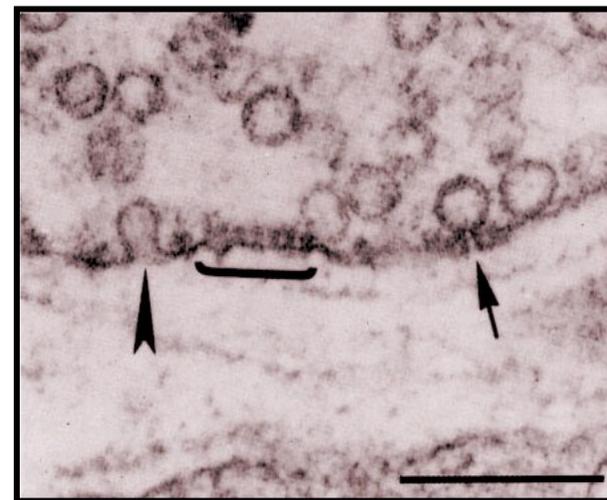
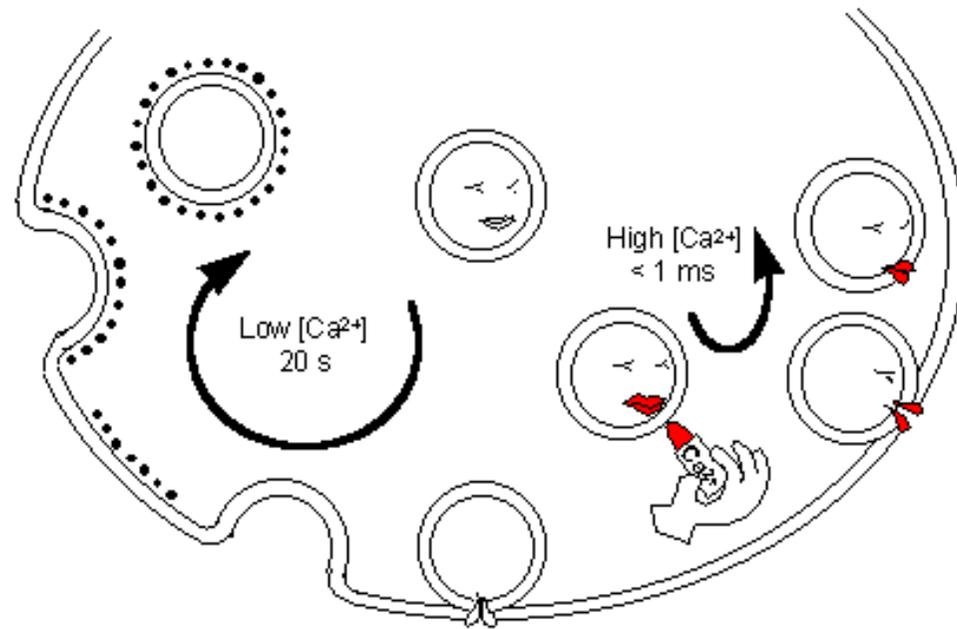
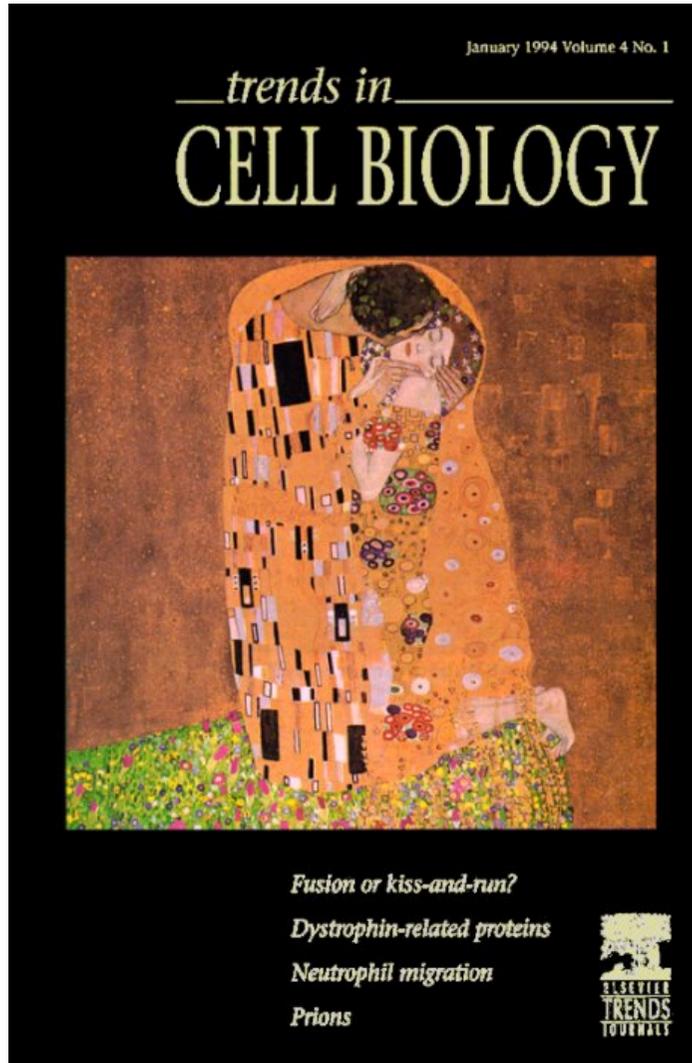
Figura R6.3-2 a, Dopo l'ancoraggio della vescicola, le proteine SNARE cominciano ad assemblarsi. b, Lo *zippering* delle proteine SNARE porta le membrane vescicolare e presinaptica in uno stato di emifusione. c, Il Ca²⁺ che entra dai canali voltaggio-dipendenti si lega alla sinaptotagmina. d, La Ca²⁺/sinaptotagmina scatena il processo di fusione (modificata da Purves et al., Neuroscience, Sinauer, 2004).

2. L' endocitosi: può avvenire in due modi :

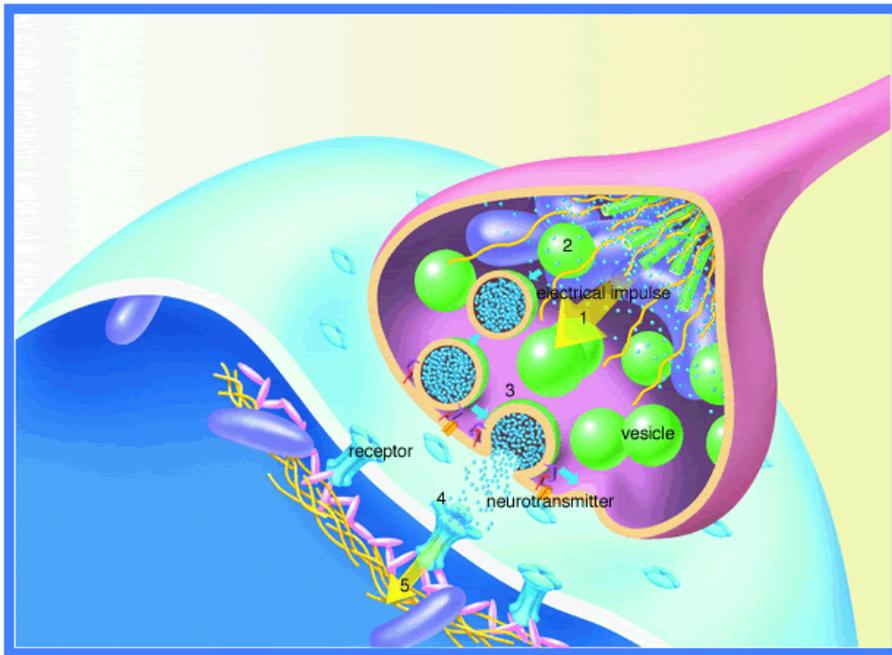
1. Fusione attraverso un poro di fusione (*kiss and run* and *kiss and stay*)
2. Le vescicole collassano nella membrana presinaptica e richiedono proteine (adattine) capaci di ricreare la vescicola sinaptica

L' intero ciclo eso-endocitotico dura 1-2 minuti

“Kiss and Run”



La secrezione del neurotrasmettitore è unica rispetto ad altre forme di secrezione:



1.

Potenziale d'azione che invade la membrana presinaptica determina un ingresso rapido di Ca^{2+} ($\Delta T < 1$ ms)

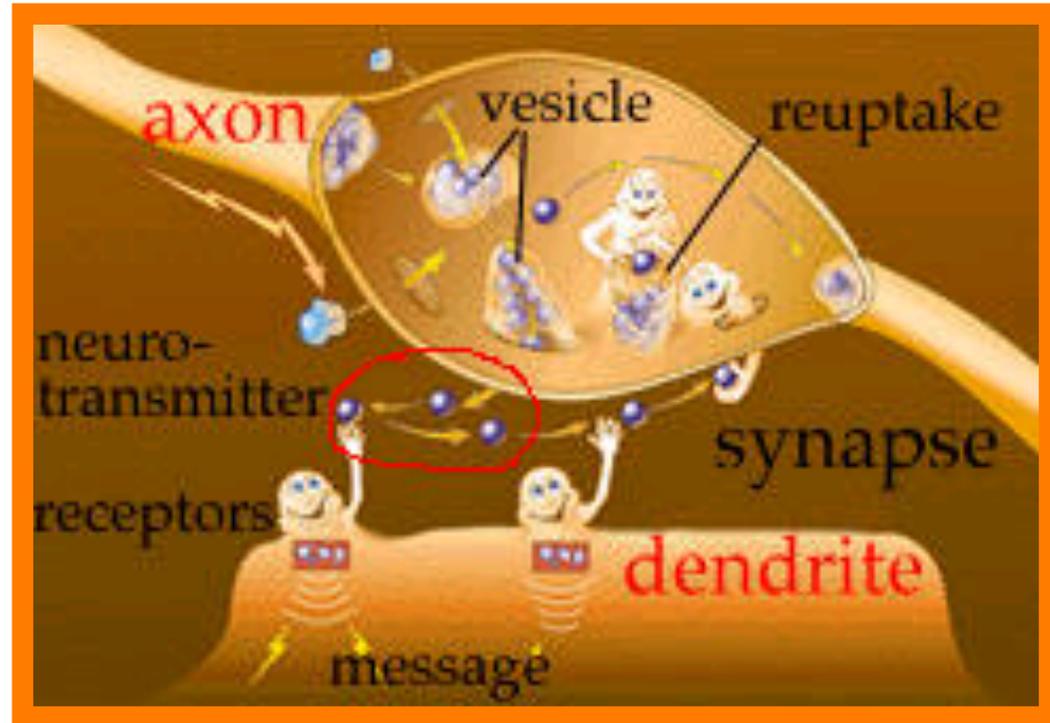
2.

L'esocitosi e l'endocitosi delle vescicole sinaptiche avviene con estrema precisione ed efficienza anche se lo stimolo che le ha indotte è molto rapido

3.

I neuroni hanno una notevole resistenza all'esaurimento secretivo (FATICA), il terminale nervoso sintetizza *in loco* i neurotrasmettitori, recupera le vescicole sinaptiche e possiede un ricco corredo di mitocondri. Nella giunzione neuromuscolare ogni potenziale determina il rilascio del 10% del pool disponibile (0.1% del totale)

Il ciclo dei neurotrasmettitori



I trasportatori della membrana plasmatica

- Trasportatori Na^+ -dipendenti (EAAT1-5) per il GLU
- Trasportatori Na^+/Cl^- -dipendenti sfruttano il gradiente di sodio
Es. NET (noradrenalina, adrenalina)
DAT (dopamina)
SERT (serotonina)
GAT (GABA) e quello per la colina

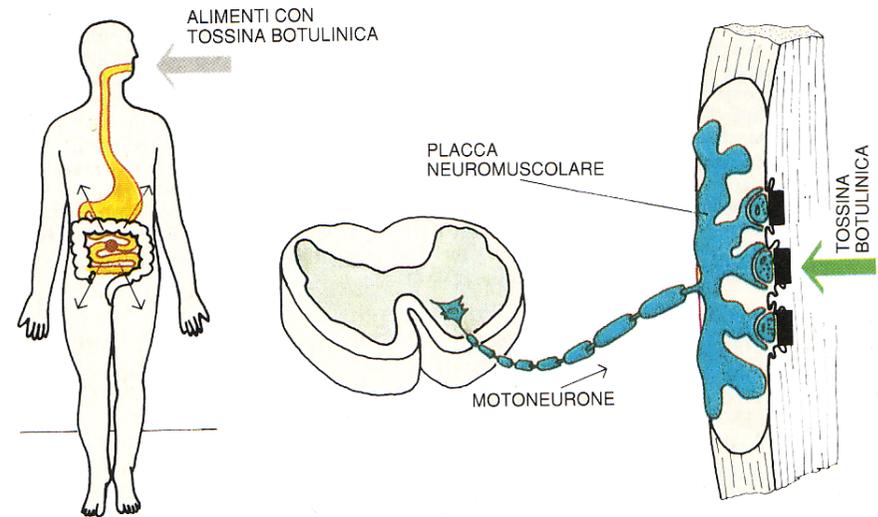
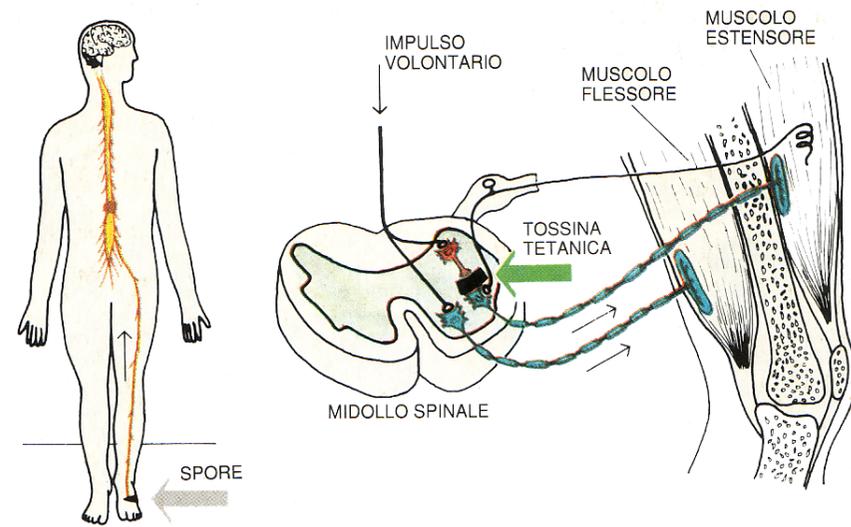
I trasportatori vescicolari

- Sfruttano l'energia di una pompa protonica. La concentrazione delle molecole di neurotrasmettitore nelle vescicole sinaptiche è di 100 mM.

Esempi di bloccanti del rilascio di neurotrasmettitore:

- la tossina tetanica

- la tossina botulinica

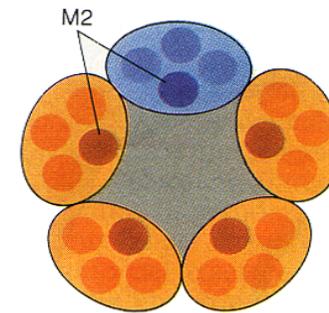
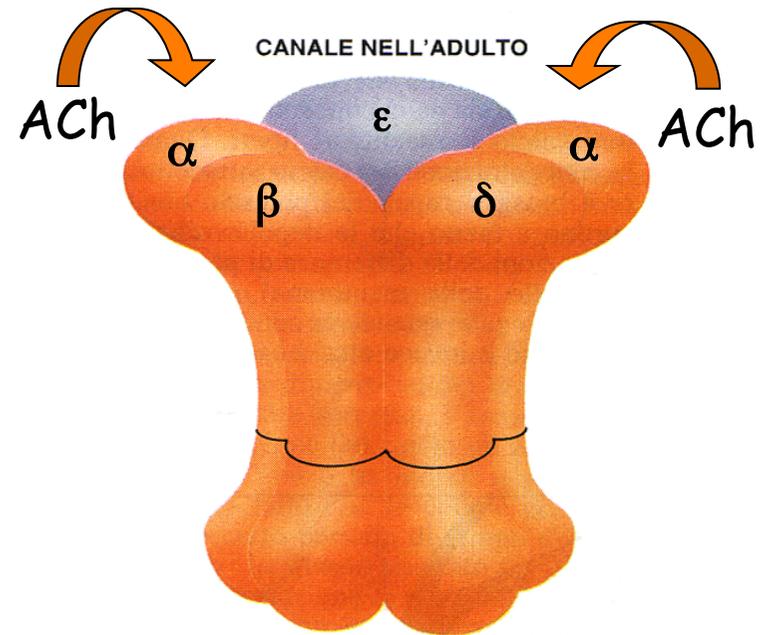


Schema del meccanismo genetico della paralisi spastica tipica del tetano (*in alto*) e quello della paralisi flaccida provocata dal botulismo. La tossina tetanica penetra a livello della giunzione neuromuscolare, ma, invece di agire a livello periferico, risale all'interno di vescicole l'assone del motoneurone. La tossina tetanica, scaricata nello spazio intersinaptico a livello del midollo spinale, penetra negli interneuroni inibitori bloccandone il rilascio di neurotrasmettitori. Ciò causa l'inibizione del meccanismo di bilanciamento della contrazione dei muscoli contrapposti che è controllato da questi interneuroni, dando origine a una paralisi spastica. Le neurotossine botuliniche penetrano anch'esse nel motoneurone a livello della giunzione dove inibiscono la liberazione di acetilcolina, bloccando la trasmissione dell'impulso nervoso al muscolo.

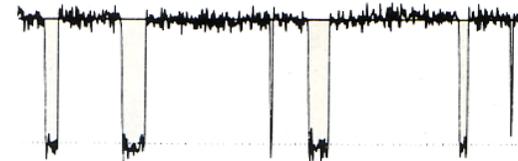
Il neurorecettore
del muscolo scheletrico è

**Il recettore acetilcolinico
(nicotinico) muscolare**
(muscular nAChR)

È un canale ionico!

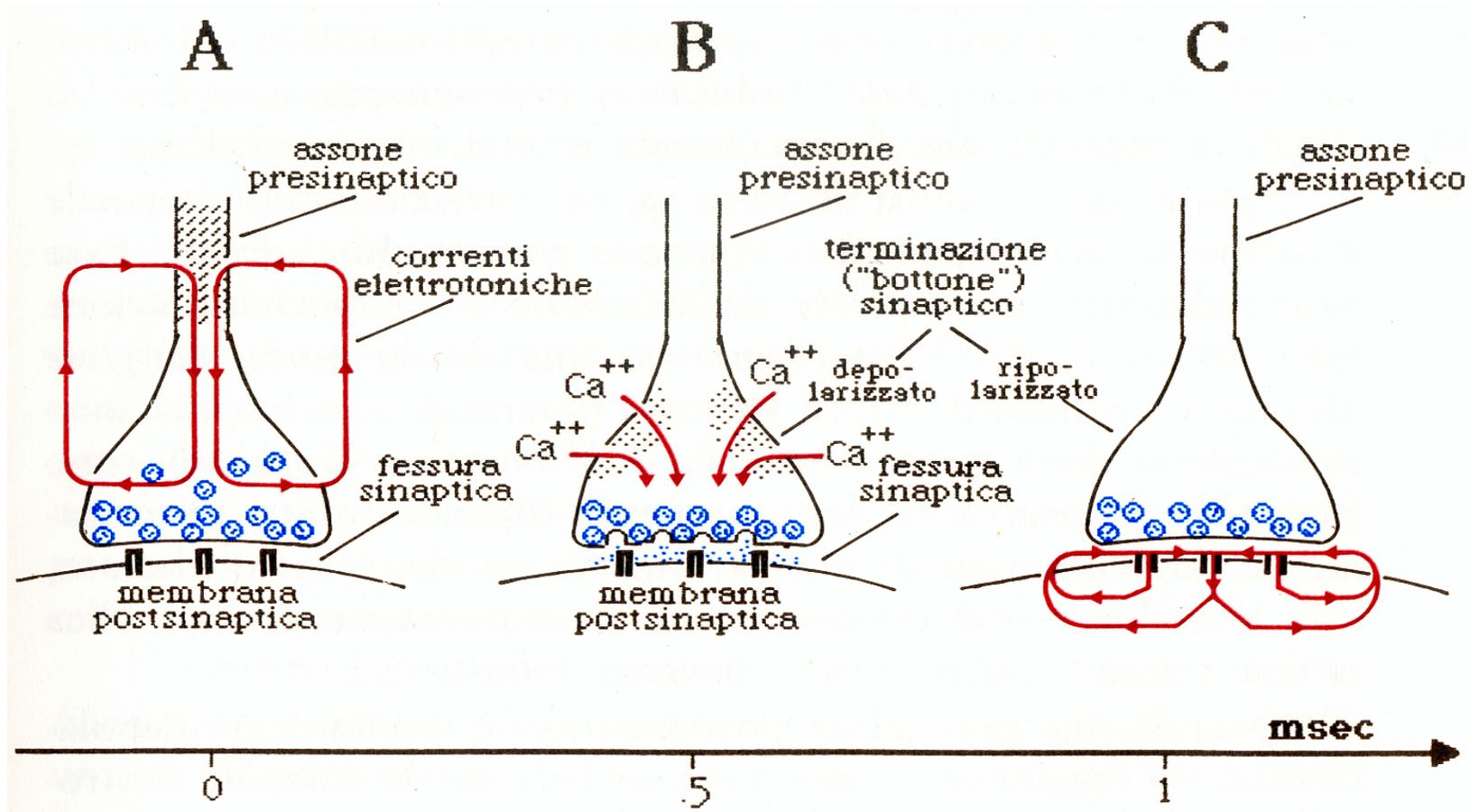


TRACCIATO DELLA CORRENTE
NEL CANALE DELL'ADULTO



Il neurotrasmettitore genera una depolarizzazione

Fig. 7.10 - I principali eventi che si succedono nelle sinapsi chimiche. **A:** Depolarizzazione della terminazione assonica ad opera delle correnti elettrotoniche generate dal potenziale d'azione. **B:** Attivazione dei canali voltaggio-dipendenti per il Ca^{++} , esocitosi del neurotrasmettitore e sua diffusione nella fessura sinaptica. **C:** Attivazione di canali ionici chemio-dipendenti presenti nella membrana post-sinaptica. Nella figura si immagina che le correnti ioniche che attraversano i canali aperti abbiano una direzione entrante, e siano quindi depolarizzanti (sinapsi eccitatoria). Non è rappresentato nessuno dei processi che mettono capo all'allontanamento del neurotrasmettitore dalla fessura sinaptica o alla sua demolizione.



Il potenziale di placca è un potenziale locale

FIGURE 9.5 Synaptic Potentials recorded with an intracellular microelectrode from a mammalian neuromuscular junction treated with curare. The curare concentration in the bathing solution was adjusted so that the amplitude of the synaptic potential was near threshold and so on occasion evoked an action potential in the muscle fiber. (From Boyd and Martin, 1956.)

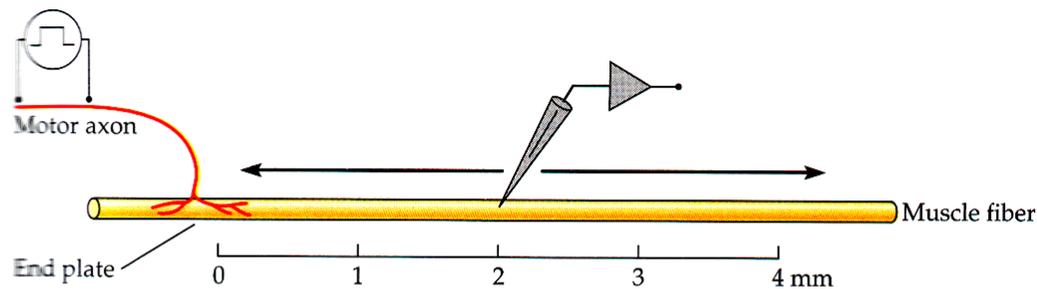
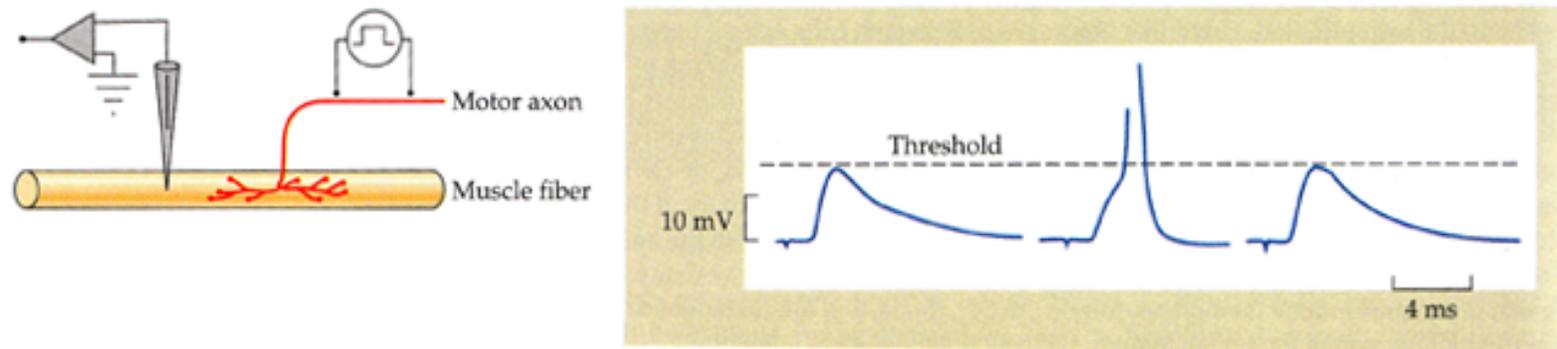
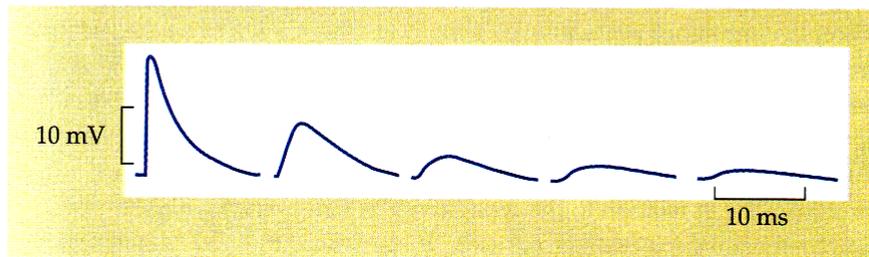


FIGURE 9.6 Decay of Synaptic Potentials with Distance from the end plate region of a muscle fiber. As the distance from the end plate increases, synaptic potentials recorded by an intracellular electrode decrease in size and rise more slowly. (After Fatt and Katz, 1951.)



Durata EPSP/IPSP ~ 5-100 ms

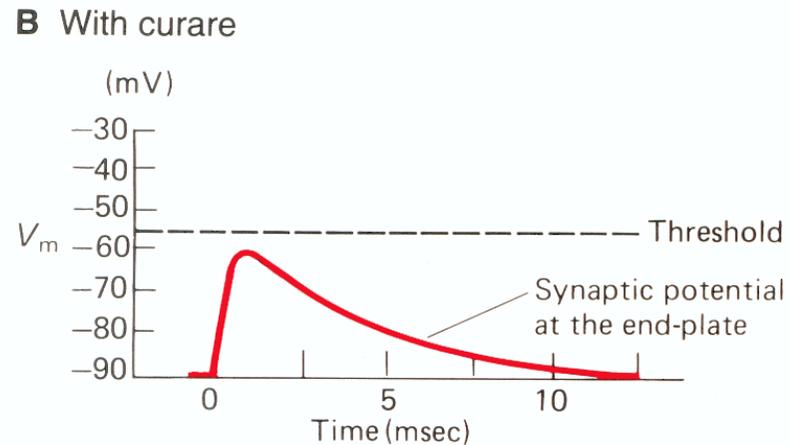
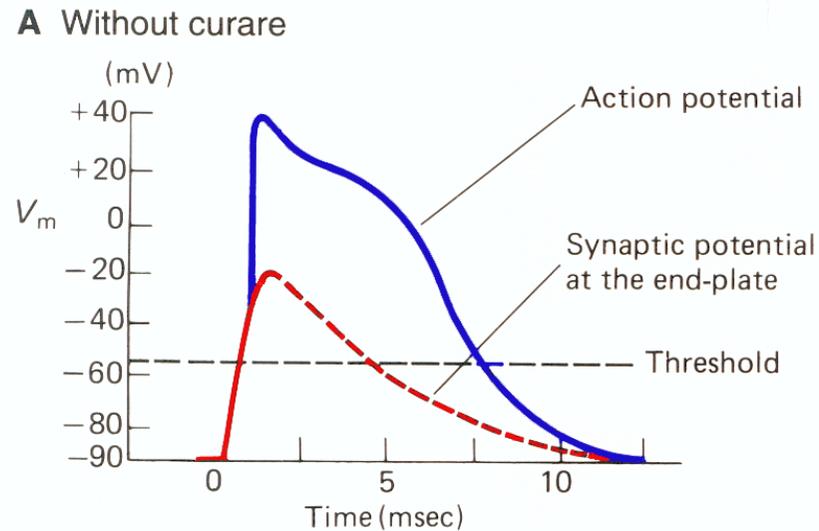
Il potenziale di placca innesca il potenziale d'azione

FIGURE 10-4

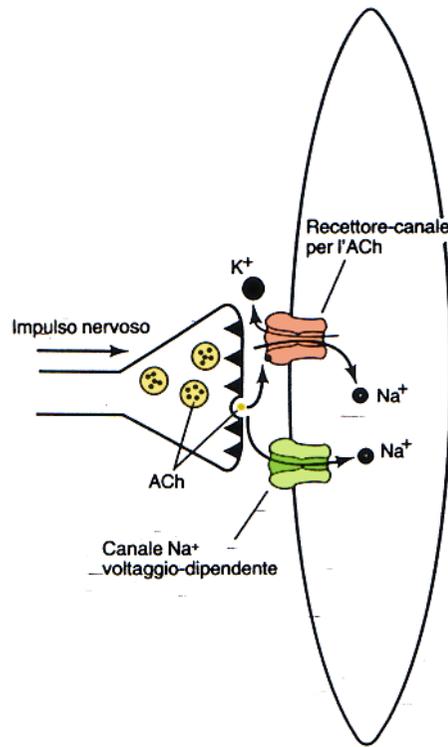
The end-plate potential (EPP) can be isolated pharmacologically for study.

A. Under normal circumstances stimulation of the motor axon produces a large EPP in the muscle fiber that surpasses threshold and triggers an action potential (**solid trace**). The **dashed trace** shows the inferred time course of the underlying EPP.

B. The EPP can be isolated in the presence of curare. Curare blocks the binding of ACh to its receptor and so reduces the amplitude of the EPP below threshold. This technique is used to study the currents and channels that contribute to the EPP, which are different from those producing an action potential. The values for the resting potential, synaptic potential, and action potential shown in these intracellular recordings are typical of a vertebrate skeletal muscle.



Dal potenziale di placca al potenziale d'azione



A₁ Canali controllati dai neurotrasmettitori

Legame con l'ACh

Apertura del canale

Ingresso di Na^+
e fuoriuscita di K^+

Depolarizzazione

Risultato finale: potenziale di placca

A₂ Canali ad accesso regolato dal voltaggio

Apertura del canale Na^+

Ingresso di Na^+

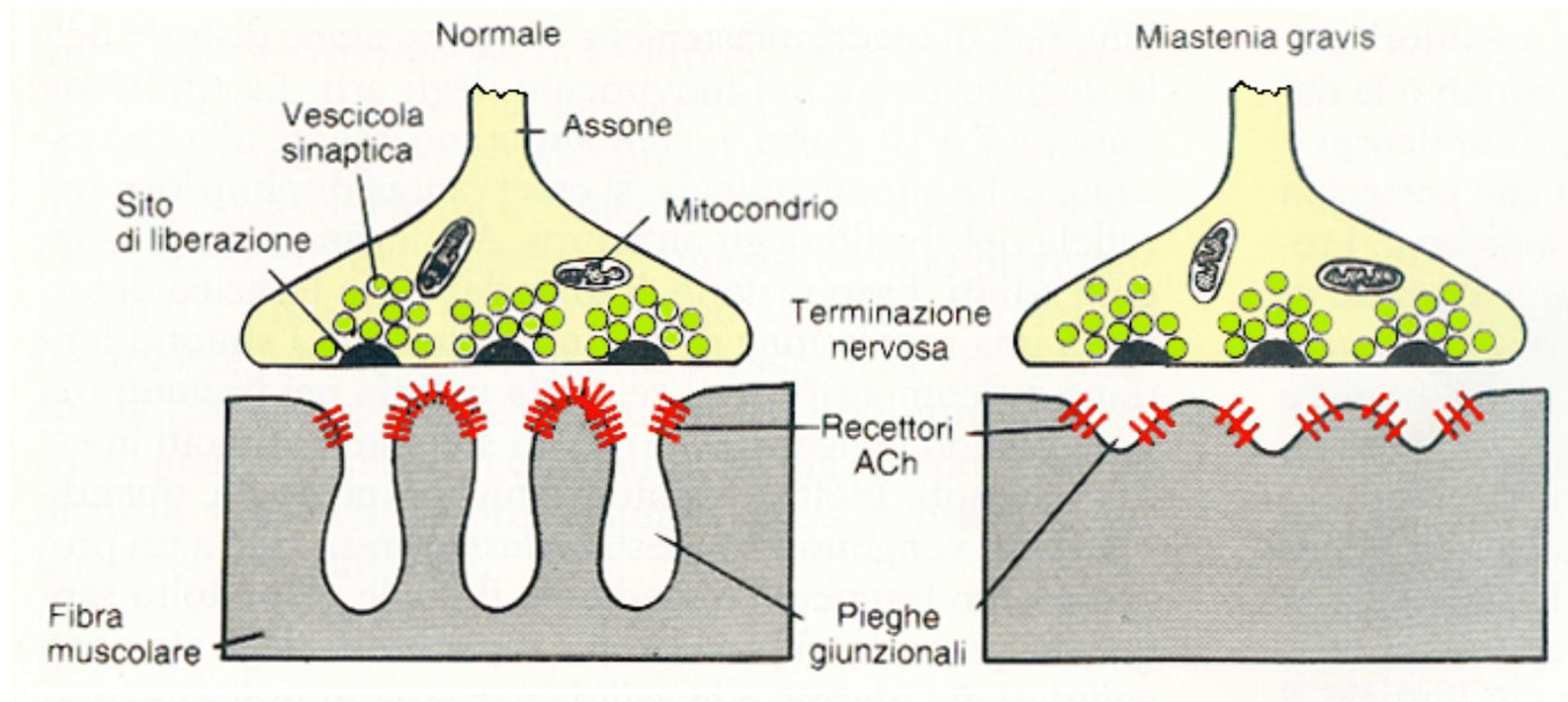
Depolarizzazione

Risultato finale: potenziale d'azione

La miastenia grave: le alterazioni morfologiche

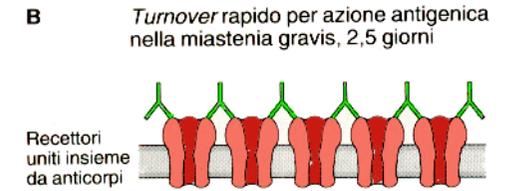
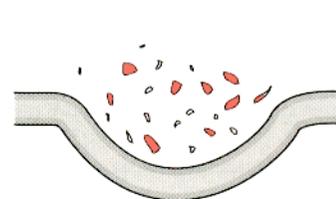
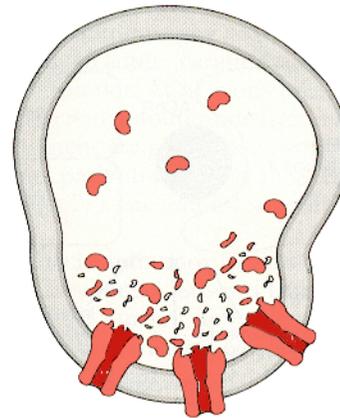
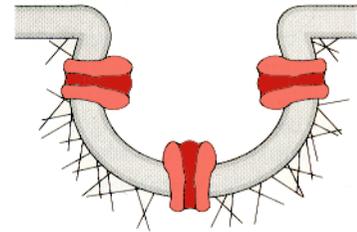
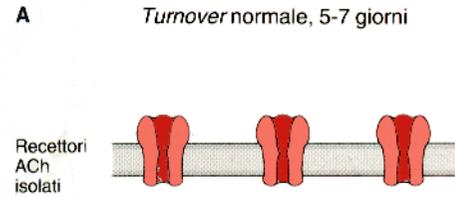
FIGURA 16-6

Nella miastenia, le alterazioni morfologiche della giunzione neuromuscolare sono tali da ridurre la probabilità che la trasmissione sinaptica abbia luogo. Nella giunzione miastenica la terminazione nervosa è normale mentre il numero dei recettori ACh è ridotto, le pieghe giunzionali sono allargate e superficiali mentre la fessura sinaptica ha dimensioni maggiori del normale.

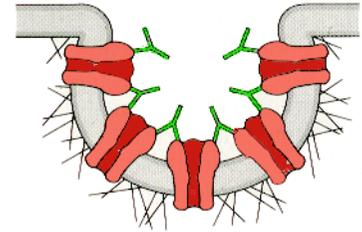


L'effetto degli anticorpi:

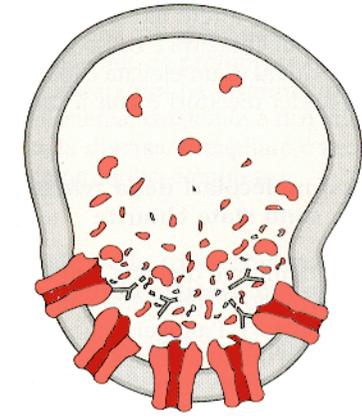
la rapida internalizzazione del nAChR (o turnover)



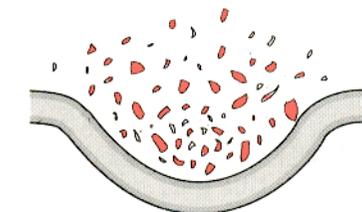
Endocitosi dovuta a meccanismi che interessano le strutture del citoscheletro e che richiedono dispendio energetico



Distruzione delle proteine nei lisosomi



Liberazione di residui aminoacidici da parte della cellula



Gli eventi elettrici nella sinapsi chimica

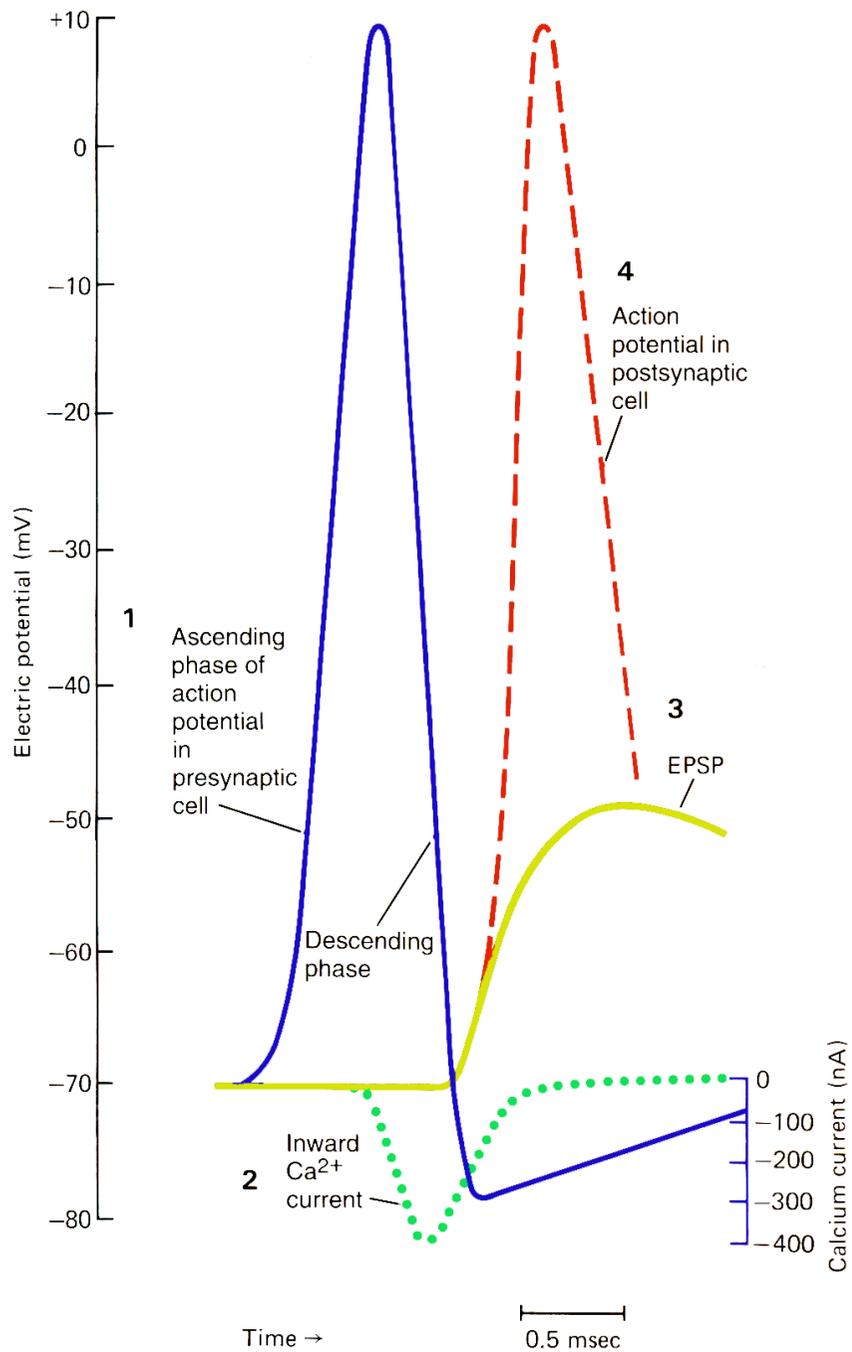


FIGURE 13-5

Time course of four events related to synaptic transmission. An action potential in the presynaptic cell (**1**) causes presynaptic Ca^{2+} channels to open and a Ca^{2+} current (**2**) to flow into the terminal leading to the release of neurotransmitter from the terminal. (Note that the Ca^{2+} current is turned on late during the falling phase of the presynaptic action potential.) The postsynaptic response to the transmitter begins soon afterward (**3**), and, if sufficiently large, will trigger an action potential in the postsynaptic cell (**4**). (Adapted from Llinás, 1982.)

TABLE 6.2 COMPARISON OF GRADED POTENTIALS AND ACTION POTENTIALS

PROPERTY	GRADED POTENTIAL	ACTION POTENTIAL
Location	Dendrites, cell body, sensory receptors	Axon
Strength	Relatively weak, proportional to strength of stimulus; dissipates with distance from stimulus	100 mV All-or-none
Direction of change in membrane potential	Can be depolarizing or hyperpolarizing depending on stimulus	Depolarizing
Summation	Spatial and temporal	None
Refractory periods	None	Absolute and relative
Channel types involved in producing change in potential	Ligand-gated, mechanically gated	Voltage-gated
Ions involved	Usually Na ⁺ , Cl ⁻ , or K ⁺	Na ⁺ and K ⁺
Duration	Few msec to seconds	1–2 msec (after-hyperpolarization may last 15 msec)

Il trattamento farmacologico per la miastenia grave: gli anticolinesterasici

neostigmina

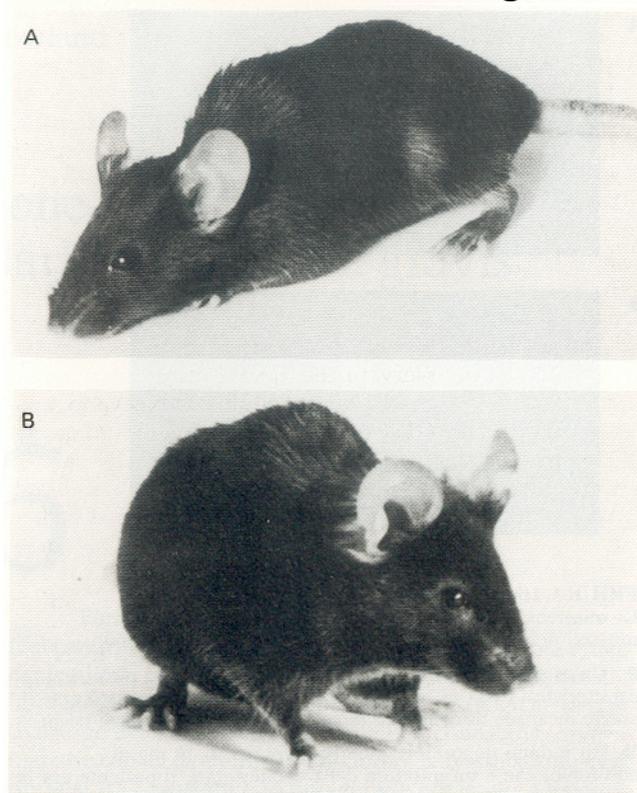


FIGURA 16-4

Postura di topolino miastenico prima e dopo trattamento con neostigmina. Per riprodurre la sindrome il topolino era stato immunizzato con 15 μg di recettore ACh di *Torpedo californica* e gli era stata praticata un'iniezione di richiamo, dopo 45 giorni, con altri 15 μg di recettore. (Da Berman e Patrick, 1980).

A. Prima del trattamento il topolino giace immobile.

B. 12 minuti dopo la somministrazione di 37,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ di bromuro di neostigmina, per via peritoneale, l'animale riesce a reggersi sulle zampe.

edrofonio

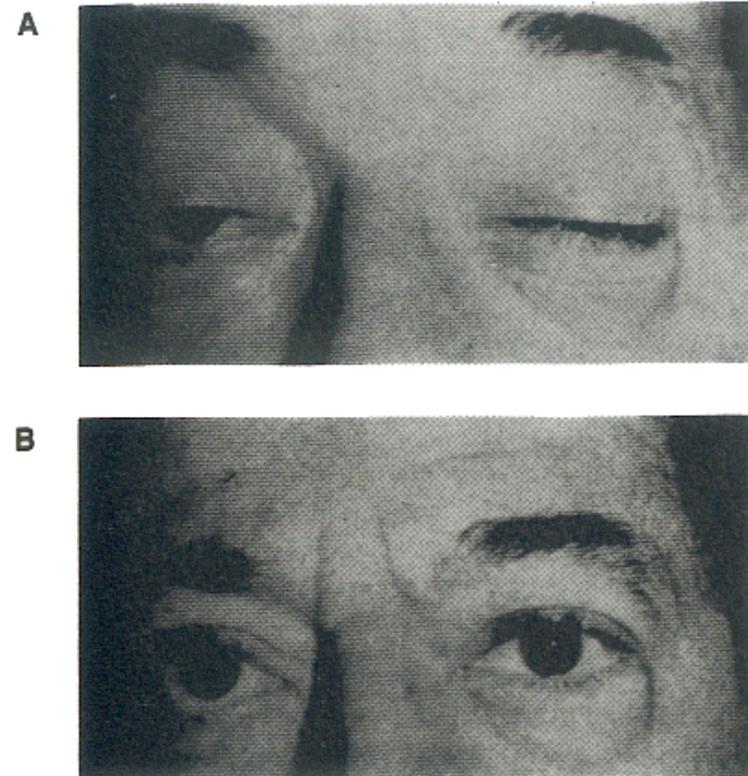


FIGURA 16-1

La miastenia gravis, in generale, colpisce particolarmente i muscoli del capo. (Da Rowland, Hoefler e Aranow, 1960).

A. Un'accentuata riduzione della rima palpebrale, o ptosi, è caratteristica della miastenia gravis. Il paziente raffigurato era anche incapace di compiere movimenti di lateralità degli occhi.

B. Un minuto dopo l'iniezione endovenosa di 10 mg di edrofonio, che è un inibitore della colinesterasi, il paziente era in grado di aprire entrambi gli occhi e di muoverli liberamente.