

LE SINAPSI

Una sinapsi è la *giunzione tra due elementi cellulari eccitabili* che consente il passaggio di messaggi sotto forma di segnali elettrici (*). La maggior parte delle sinapsi sono *inter-neuroniche* (interessano cioè una coppia di neuroni) e si stabiliscono tra le *terminazioni* di una fibra nervosa ed il *soma* o i *dendriti* di un neurone; esistono tuttavia numerosissime *sinapsi cito-neurali*, tra le cellule recettrici di un organo di senso e le terminazioni di una fibra nervosa afferente sensitiva, ed altrettanto numerose sono le *sinapsi neuro-muscolari*, tra le terminazioni di una fibra nervosa efferente motoria ed una o più fibre muscolari. Meno diffuse sono le *sinapsi asso-assoniche*, tra una fibra nervosa ed un'altra fibra nervosa.

Una sinapsi rappresenta sempre un punto di *discontinuità strutturale* di una via nervosa, perché le membrane dei due elementi che prendono contatto sinaptico, per quanto vicine tra loro, restano sempre distinte e separate da una distanza: la *fessura sinaptica* ("synaptic cleft"), che non può essere superata nello stesso modo con cui avviene la conduzione nelle fibre nervose (Fig. 7.29/A).

Sulla base del meccanismo con cui avviene la trasmissione dei segnali, le sinapsi si distinguono in *elettriche* (o elettrotoniche) e *chimiche*. Nelle sinapsi *elettriche* (Fig. 7.29/B), la depolarizzazione

(*) Il termine fu coniato da Sherrington agli inizi del '900, per indicare le zone di contatto (già descritte istologicamente da Ramón y Cajal) tra due neuroni che comunicano tra loro.

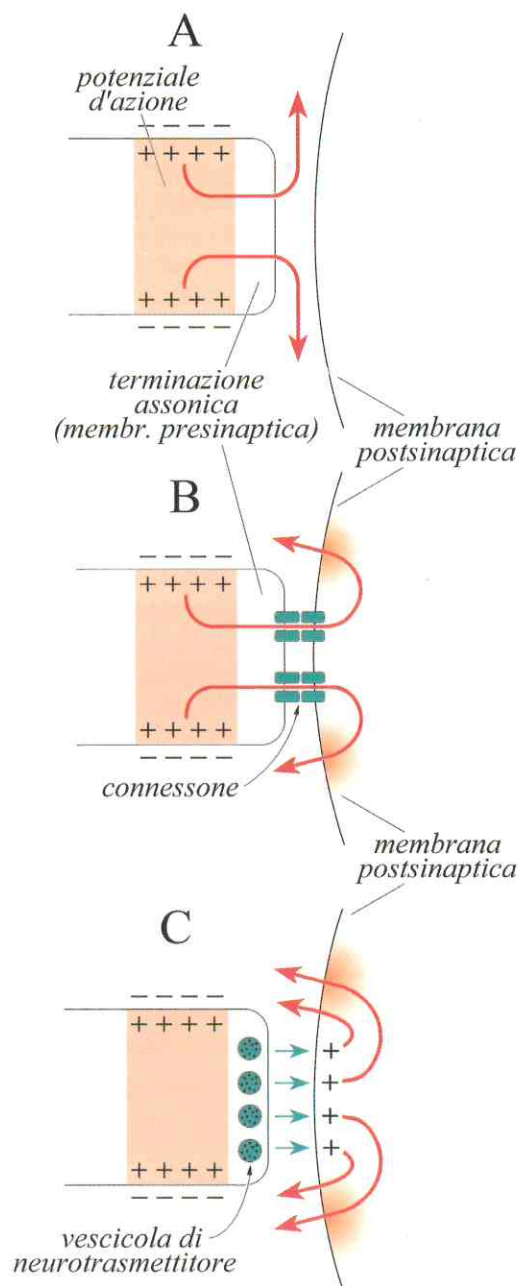


Fig. 7.29 - Lo schema illustra il flusso delle correnti elettrotoniche generate da un potenziale d'azione che giunga ad un'ideale terminazione assonica, disposta in stretta vicinanza con una generica cellula eccitabile. **A:** nell'ipotesi che non esista una sinapsi, le correnti elettrotoniche generate dal potenziale d'azione sfuggirebbero dalla fessura sinaptica senza raggiungere la membrana della cellula postsinaptica. **B:** in una *sinapsi elettrica*, la presenza dei canali tipici delle giunzioni comunicanti (che hanno un'elevata conduttanza) permette alle correnti elettrotoniche di origine presinaptica di entrare facilmente nella cellula postsinaptica ed esplicare poi, "in uscita", la sua azione attivatrice. **C:** in una *sinapsi chimica*, la terminazione presinaptica libera un neurotrasmettitore che, superata per diffusione la fessura sinaptica, si lega a recettori specifici della membrana postsinaptica e la porta in attivazione.

della membrana presinaptica genera *correnti elettrotoniche* che raggiungono l'elemento postsinaptico con intensità sufficiente per attivarlo. Nelle sinapsi *chimiche* (Fig. 7.29/C), nettamente più diffuse, la trasmissione richiede la liberazione, da parte dell'elemento presinaptico, di un *neurotrasmettitore* (o *mediatore sinaptico*): un composto chimico capace di attivare l'elemento postsinaptico legandosi a recettori specifici presenti nella sua membrana.

E' evidente che la trasmissione di una sinapsi chimica non può essere che *unidirezionale*, cioè può solo avvenire dall'elemento presinaptico che libera il neurotrasmettitore a quello postsinaptico che ne subisce l'azione, ma non in senso inverso. Una sinapsi è quindi "*funzionalmente polarizzata*" e la sua presenza in una via nervosa (come farebbe un *diodo* in un circuito elettrico) definisce il *senso* in cui deve avvenire il passaggio dei segnali. Questa caratteristica è presente *anche nelle sinapsi elettriche*, purché sussista dissimmetria geometrica tra gli elementi che la compongono.

La mediazione chimica conferisce ad una sinapsi peculiari *capacità di elaborazione* del segnale che viene trasmesso, e cioè:

- la possibilità di *amplificarlo*, che permette ad una piccola terminazione presinaptica di attivare un elemento postsinaptico di dimensioni molto maggiori;

- la possibilità di *sommare* segnali presinaptici che giungano in successione ad una stessa terminazione presinaptica (*sommazione temporale*) o che giungano contemporaneamente a due o più terminazioni sinaptiche disposte sullo stesso elemento postsinaptico (*sommazione spaziale*);

- la possibilità di *invertire di segno* i segnali. Esistono infatti, altrettanto numerose di quelle eccitatorie, sinapsi chimiche *inibitorie*; queste, all'arrivo di un segnale presinaptico *eccitatorio*, liberano un neurotrasmettitore che genera un potenziale postsinaptico di segno opposto, cioè *inibitorio*. Gli effetti opposti dei due tipi di sinapsi possono *sommarsi algebricamente* nello stesso

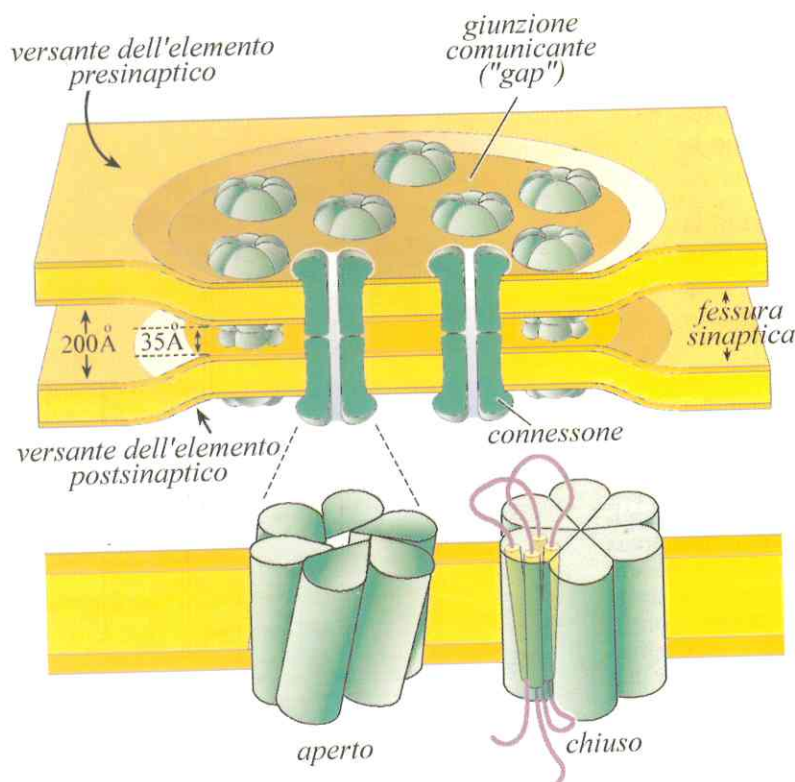


Fig. 7.30 - Rappresentazione di una giunzione comunicante ("gap junction") all'interno di una sinapsi elettrica. In ogni giunzione, la fessura sinaptica si riduce da ca. 200 Å a ca. 35 Å. La fessura è attraversata da canali ad elevata conduttanza elettrica costituiti da "connessoni". La pervietà dei canali è regolabile, per effetto del lento moto delle molecole proteiche ("connessine") che li costituiscono.

elemento postsinaptico, e quindi anche portare all'estinzione di un messaggio nervoso.

Queste potenzialità, che premiano le sinapsi chimiche rispetto a quelle elettriche, vengono pagate con la necessità di un adeguato sostegno metabolico. Quando questo non sia sufficiente, ad esempio per carenza di O_2 , il neurotrasmettitore tende ad esaurirsi e si manifesta la fatica sinaptica, caratterizzata da "insuccesso" ("*failure*") della trasmissione, dapprima intermittente ed infine totale (blocco sinaptico da fatica).

Le sinapsi elettriche - Le sinapsi elettriche sono facilmente osservabili soprattutto nel sistema nervoso degli Invertebrati, ma si ritrovano numerose anche nei Vertebrati, negli organi di senso ed anche in centri encefalici.

In una sinapsi elettrica, le membrane del contatto sono molto ravvicinate per tratti più o meno estesi, ove la loro distanza si riduce a ca. 35 Å (Fig. 7.30) ed assume la tipica morfologia delle giunzioni intercellulari comunicanti (giunzioni "gap"), numerosissime anche tra le cellule non eccitabili. Qui infatti lo spazio sinaptico appare attraversato da caratteristici canali, formati da coppie congiunte di "emicanali" detti connessoni (Vol. I, pag. 146); ogni connessone è formato da 6 sub-unità molecolari proteiche disposte "in cerchio" (connessine), ognuna delle quali comprende 4 segmenti trans-membranari. Particolare rilievo, nel

caso delle sinapsi elettriche, avrebbe la facoltà delle giunzioni "gap" di regolare la propria pervietà; infatti le connessine che compongono i canali possono ruotare (come i settori del diaframma "ad iride" di una macchina fotografica) modificando, sia pur lentamente, il lume del canale (Fig. 7.30). Ciò può avvenire per effetto di vari agenti intracellulari, tra cui le variazioni del pH o della $[Ca^{2+}]_{in}$.

Come avviene in tutte le giunzioni "gap", anche nelle sinapsi elettriche i canali sono abbastanza ampi (diam. int. ca. 15 Å) da consentire un facile transito a tutti gli ioni inorganici (*). Ne viene che la giunzione presenta una conduttanza elettrica molto elevata, ed offre una facile via alle correnti elettrotoniche generate dai segnali che devono superare la sinapsi, siano essi potenziali locali o d'azione. Nel caso particolare di una sinapsi elettrica tra due fibre nervose (sinapsi asso-assonica), le correnti elettrotoniche generate da un potenziale d'azione si estenderanno prontamente dall'elemento pre- a quello postsinaptico, nel quale faranno facilmente insorgere un nuovo potenziale d'azione. Il superamento di una sinapsi asso-assonica da parte di un potenziale d'azione avverrà allora in modo molto simile alla sua conduzione lungo una stessa fibra nervosa (^{2*}).

Il semplice meccanismo elettrotonico con cui operano le sinapsi elettriche spiega la loro elevata velocità di trasmissione, cioè il tempo sinaptico molto breve che le caratterizza (^{3*}). Per questa ragione le sinapsi elettriche sono impiegate, nel sistema nervoso di molte specie animali, in quelle vie che mediano le più veloci reazioni difensive e quelle di fuga da un pericolo, tipicamente l'istantanea reazione di accorciamento dei Vermi policheti marini quando si retraggono nel loro domicilio

(*) Oltre agli ioni, i canali delle giunzioni comunicanti sono abbastanza ampi da lasciar passare da una cellula all'altra anche molecole organiche di una certa dimensione, come peptidi a catena corta e secondi messaggeri (es. AMPc o IP3). Questi scambi di segnali chimici tra due cellule collegate da una sinapsi elettrica possono avere importanza funzionale nel corso della loro maturazione, durante il periodo dello sviluppo.

(^{2*}) Ci si aspetterebbe allora che la trasmissione dei potenziali d'azione in una sinapsi elettrica sia bidirezionale come nelle fibre nervose, che avvenga cioè con uguale facilità dalla cellula "presinaptica" a quella "postsinaptica" come anche in senso inverso. La "conduzione indifferente" delle sinapsi elettriche si realizza tuttavia solo quando le estensioni delle due membrane che formano il contatto siano all'incirca uguali. In caso contrario, la trasmissione può avvenire solo dal terminale più grande (che ha una minor resistenza elettrica) verso il terminale più piccolo (nel quale le correnti elettrotoniche confluiranno con una densità più elevata), e non in senso opposto. Nella realtà delle più comuni sinapsi elettriche, esiste una notevole dissimetria geometrica tra la membrana pre- e quella postsinaptica, e ciò le rende di fatto funzionalmente polarizzate.

(^{3*}) che contrasta con la relativa lentezza con cui operano le sinapsi chimiche, dovuta come si vedrà alla serie di passaggi che in esse si succedono.

(^{4*}) Le sinapsi elettriche del Gambero d'acqua dolce e quelle del Pesce Rosso sono due esempi molto studiati. Nel caso del Gambero, si tratta di una sinapsi asso-assonica tra una fibra nervosa gigante della "corda nervosa" ed una fibra nervosa motrice dei muscoli della coda. Nel caso del Pesce Rosso, il colpo di coda è mediato da neuroni giganti (le cellule di Mauthner), presenti nel tronco encefalico; ogni cellula di Mauthner riceve numerose sinapsi elettriche da parte di neuroni sensitivi e forma sinapsi chimiche eccitatorie nei muscoli della coda.

tubolare, ed anche il "colpo di coda" del Gambero d'acqua dolce o in quello del Pesce Rosso (*, pag. 47).

L'interconnessione tramite sinapsi elettriche ha particolare importanza negli aggregati di cellule eccitabili, ove fa sì che *tutto l'insieme* cellulare, divenendo un "sincizio funzionale", possa entrare in attività *in modo sincronizzato*. Il caso più noto è quello del *tessuto miocardico* (Vol. IV), in cui le fibrocellule muscolari sono legate tra di loro da molteplici giunzioni di tipo elettrico (le "strie scalariformi"). Una volta che uno stimolo abbia raggiunta la soglia (*) anche in pochi (al limite in uno solo) dei miociti che compongono il cuore, tutto l'insieme del tessuto passerà sinergicamente nello stato attivo in modo "tutto-o-nulla", *come se fosse una singola unità cellulare*.

Lo stesso tipo di attivazione sinergica può presentarsi anche in aggregati neuronici, quando essi debbano controllare la pronta risposta contrattile di estese formazioni muscolari. L'attivazione di un "pool" di neuroni accoppiati elettricamente, ad esempio, determina la contrazione e lo svuotamento del serbatoio dell'inchiostro dei Molluschi marini in risposta a segnali di pericolo. Pure con meccanismo di accoppiamento elettrico interneuronico sono controllati, in certi pesci, i *rapidi movimenti oculari* ("saccadi") di "inseguimento" di un bersaglio visivo. Nei Vertebrati superiori, il caso più noto di accoppiamento elettrico in un "pool" neuronico lo si ritrova nell'oliva bulbare; in questo centro, interi gruppi di neuroni accoppiati elettricamente generano scariche sincrone di potenziali d'azione che raggiungono ed attivano insieme altrettanti gruppi di cellule di Purkinje della corteccia del cervelletto.

La maggior diffusione nel sistema nervoso degli Invertebrati ed il loro modo relativamente "elementare" di trasmettere i segnali suggerisce che le sinapsi elettriche siano una forma di comunicazione interneuronica *meno evoluta* delle sinapsi chimiche. Ciò potrebbe trovare una conferma ontogenetica nello sviluppo del *ganglio ciliare* dell'occhio del Pulcino nel quale, durante l'evoluzione dell'ani-

male verso la forma adulta, le sinapsi interneuroniche funzionano dapprima con meccanismo elettrico e solo successivamente chimico.

Oltre alla trasmissione dei segnali *senza ritardo*, le sinapsi elettriche godono di un altro vantaggio rispetto alle sinapsi chimiche: il loro funzionamento richiede un così basso consumo energetico da renderle praticamente inaffaticabili. Le sinapsi elettriche, tuttavia, sono molto meno diffuse delle sinapsi chimiche nel sistema nervoso di tutte le specie.

(*) Gli aggregati cellulari interconnessi da sinapsi elettriche hanno di solito una *soglia di attivazione molto elevata*, perchè presentano complessivamente una *resistenza elettrica molto bassa*, che agisce da "shunt" per le correnti attivatrici.

LE SINAPSI CHIMICHE

Le sinapsi chimiche sono facilmente riconoscibili all'esame ultrastrutturale, perché l'elemento presinaptico presenta al suo interno numerose *vescicole sinaptiche* che contengono il neurotrasmettitore. Inoltre le due membrane che si affacciano nel contatto sinaptico si presentano *ispessite*, perché riccamente dotate di proteine membranali; la terminazione presinaptica contiene anche numerosi *mitocondri*, indici di un elevato metabolismo ossidativo.

Nelle sinapsi chimiche, un messaggio *elettrico* (tipicamente un potenziale d'azione, come illustrato in Fig. 7.31) viene convertito in un *messaggio chimico* atto a "scavalcare" la fessura sinaptica, per poi essere nuovamente *ricconvertito in un mes-*

saggio elettrico (un potenziale postsinaptico). È evidente che una sinapsi chimica, pur essendo finalizzata alla trasmissione di segnali elettrici, è sede di un processo nel quale si può riconoscere l'intera sequenza di eventi che caratterizza tutte le forme di *comunicazione chimica* tra le cellule: l'elaborazione e la liberazione di un "messaggero" chimico, la sua migrazione per via extracellulare, il riconoscimento del messaggio da parte di recettori chimici specifici della "cellula bersaglio", la risposta finale.

Il modo di operare di una sinapsi, pur coincidendo nelle fasi essenziali, può differire notevolmente a seconda della natura del neurotrasmettitore. Nella descrizione che segue ci si riferirà alle sinapsi in cui operano *neurotrasmettitori "classici"*

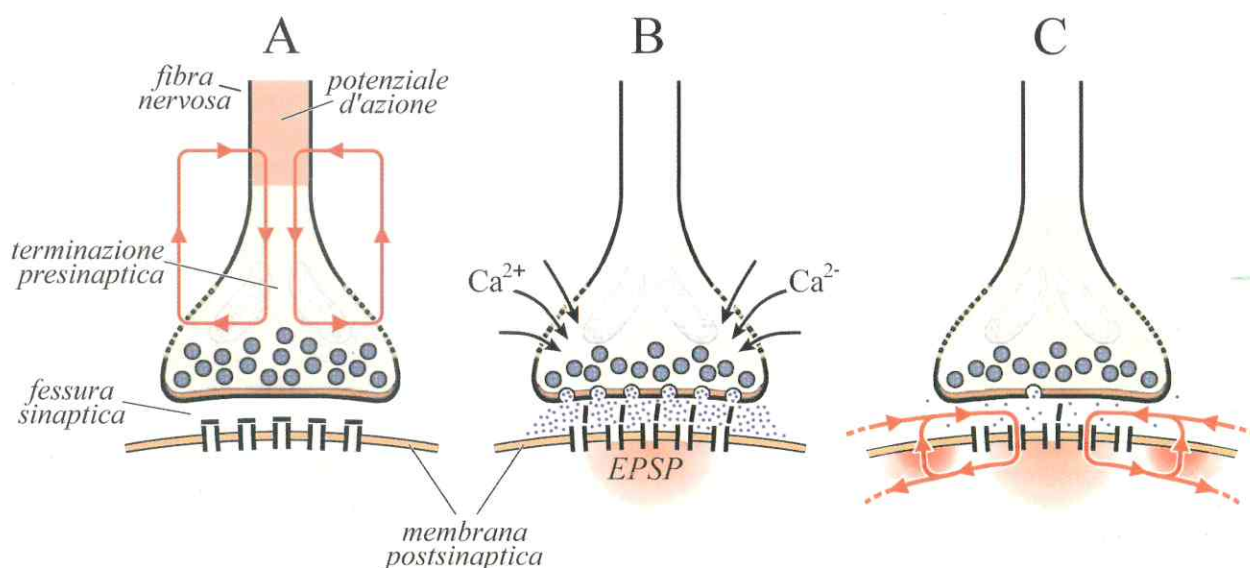


Fig. 7.31 - Trasmissione del segnale in una tipica sinapsi chimica. Lo schema ipotizza una sinapsi tra la terminazione presinaptica di una fibra nervosa ed il soma di un neurone. **A:** arrivo del potenziale d'azione alla terminazione presinaptica e sua depolarizzazione. **B:** apertura di canali voltaggio-dipendenti del Ca^{2+} nella membrana della terminazione ed esocitosi del neurotrasmettitore dalle vescicole sinaptiche. Questo, diffondendo nella fessura sinaptica, si lega a specifici recettori postsinaptici. Segue l'apertura di *canali ionici chemo-dipendenti*, che genera un *potenziale postsinaptico* (s'immagina che si tratti di un "EPSP", cioè di un potenziale postsinaptico eccitatorio). **C:** il flusso di correnti elettroniche che ne deriva innescherà un potenziale d'azione nel neurone postsinaptico.

quali l'acetilcolina; per altre sinapsi, più difficili da descrivere in forma generale, si rinvia al paragrafo dedicato ai singoli neurotrasmettitori (pag. 75).

Le fasi della trasmissione sinaptica

Al processo biosintetico del neurotrasmettitore, che lo rende disponibile nel citosol della terminazione presinaptica, fanno seguito:

a) l'accumulo ("carico") delle molecole del neurotrasmettitore in vescicole sinaptiche; questo è necessario, non solo perchè esse devono raggiungere un'elevatissima concentrazione per essere operative, ma anche per proteggerle dall'azione degli enzimi demolitivi del citosol.

Il carico delle vescicole richiede un'abbondante disponibilità di neurotrasmettitore nel citosol della terminazione presinaptica, e questa è garantita da due processi: la biosintesi di nuove molecole di neurotrasmettitore ed il loro recupero ("re-uptake") dallo spazio sinaptico;

b) l'esocitosi delle vescicole ed il rilascio del neurotrasmettitore nello spazio sinaptico, causati dall'arrivo di uno o più potenziali d'azione.

La membrana della terminazione presinaptica è sprovvista di canali voltaggio-dipendenti per il Na^+ , quindi non è elettricamente eccitabile ed i potenziali d'azione non possono procedere in quest'estrema porzione della fibra nervosa. Ciò nonostante, le correnti elettrotoniche che essi generano prima di estinguersi vi producono una depolarizzazione (Fig. 7.31/A) largamente sufficiente per attivare i canali voltaggio-dipendenti per il Ca^{2+} (e per il K^+) che vi si trovano. L'ingresso di Ca^{2+} che ne consegue è la causa dell'apertura esocitosica delle vescicole sinaptiche (Fig. 7.31/B) e del rilascio del loro contenuto; le molecole del neurotrasmettitore possono così diffondere nello spazio sinaptico fino a raggiungere la membrana postsinaptica. Qui avviene

c) il legame delle molecole del neurotrasmettitore con recettori specifici presenti nella membrana postsinaptica. Anche se il modo di operare delle diverse sinapsi non è sempre lo stesso, nella membrana postsinaptica verrà sempre generato

(per l'apertura o per la chiusura di opportuni canali ionici) un potenziale postsinaptico (pag. 59). Questo sarà depolarizzante (un "excitatory post-synaptic potential": EPSP) o iperpolarizzante (un "inhibitory post-synaptic potential": IPSP), secondo che la sinapsi sia eccitatoria o inibitoria. Se la sinapsi è eccitatoria, si avrà l'insorgenza di un potenziale d'azione nel neurone postsinaptico solo se l'EPSP avrà un'ampiezza tale da superarne la soglia di eccitamento (Fig. 7.31/C); se è inibitoria, la soglia del neurone postsinaptico verrà innalzata e l'insorgenza di un potenziale d'azione sarà impedita o resa più difficile. L'atto successivo è

d) l'inattivazione enzimatica del neurotrasmettitore o il suo allontanamento dallo spazio sinaptico, che porrà fine alla sua azione. I recettori saranno così liberi di legarsi a nuove molecole di neurotrasmettitore, rilasciate dall'arrivo di un successivo potenziale d'azione.

Le fasi della trasmissione sinaptica meritano un'analisi più dettagliata.

Il "carico" delle vescicole - Le molecole del neurotrasmettitore vengono concentrate all'interno delle vescicole sinaptiche da un potente sistema di trasporto attivo secondario che opera nella loro membrana (Fig. 7.32). Si tratta di un contro-trasporto H-dipendente le cui proteine trasportatrici, denominate "VNT" (Vesicular Neurotransmitter Transporter), accoppiano l'entrata delle molecole del neurotrasmettitore nelle vescicole con l'uscita di protoni (H^+). Il gradiente favorevole all'uscita degli H^+ è creato da una pompa protonica della classe delle V-ATPasi (Vol. II, pag. 41), di cui la membrana delle vescicole è anche provvista. L'utilizzazione di una pompa ionica particolarmente potente quale è quella protonica, può essere messa in relazione all'elevatissima concentrazione che il neurotrasmettitore deve raggiungere nelle vescicole sinaptiche.

La disponibilità delle molecole di neurotrasmettitore ad essere accumulate nelle vescicole è garantita, all'interno della terminazione sinaptica, dalla loro continua biosintesi (che è relativamente lenta) e dal loro "re-uptake" dallo spazio sinaptico, che è molto più rapido (* pag. 51). Il re-uptake è operato anch'esso da un efficiente sistema di tra-

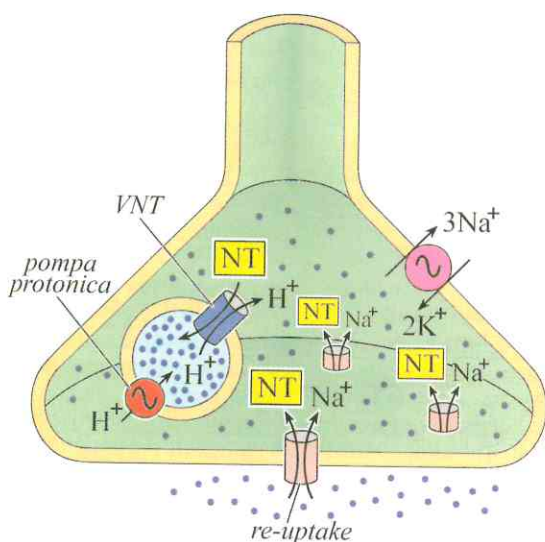


Fig. 7.32 - Processi di trasporto dei neurotrasmettitori "classici" (NT) nei terminali presinaptici. Il re-uptake del neurotrasmettitore dalla spazio sinaptico è sostenuto da un simporto Na^+ , neurotrasmettitore (in rosa); il gradiente elettrochimico del Na^+ necessario ad alimentare questo processo è mantenuto (con dispendio di ATP) dalla pompa Na^+/K^+ (in viola). Il riempimento delle vescicole richiede il trasporto vescicolare del neurotrasmettitore (VNT, in blu); il gradiente protonico necessario per alimentare questo processo è mantenuto (anche in questo caso con dispendio di ATP) dalla pompa protonica vescicolare (in rosso).

sporto attivo secondario; si tratta in questo caso di un simporto Na -dipendente (Fig. 7.32), le cui proteine trasportatrici utilizzano il gradiente di Na^+ mantenuto a cavallo della membrana della terminazione dalla pompa di scambio Na^+/K^+ , particolarmente attiva per l'apporto di ATP di origine mitocondriale.

Il "carico" delle vescicole sinaptiche, insomma, richiede l'intervento "in tandem" di due sistemi di

(*) Per questa ragione, il reuptake è d'importanza critica nelle sinapsi "veloci", servite da neurotrasmettitori "classici". L'acetilcolina è l'unico neurotrasmettitore che non viene recuperato come tale, ma sotto forma del suo immediato precursore (la *colina*); questo viene prodotto nello spazio sinaptico (assieme all'ac. acetico) dalla demolizione enzimatica della sua molecola. Si calcola che il reuptake interessi il 35-50% della colina presente nello spazio sinaptico; la percentuale di reuptake degli altri neurotrasmettitori, che non subiscono demolizione enzimatica nello spazio sinaptico, è maggiore.

trasporto attivo secondario: un simporto Na^+ , neurotrasmettitore ed un contro-trasporto H^+ /neurotrasmettitore.

Della famiglia dei simporti Na^+ , neurotrasmettitore s'è già parlato in sufficiente dettaglio nel Vol. II (pag. 49-50). Basterà qui sottolineare la loro particolare importanza in campo medico e farmacologico. Infatti, se da un lato l'inibizione di questi sistemi di trasporto può creare una carenza di neurotrasmettitore (o dei suoi precursori) nel citosol del terminale presinaptico, dall'altro ne determina rapidamente l'accumulo nello spazio sinaptico, moltiplicandone gli effetti. La cocaina ad esempio inibisce il re-uptake delle catecolamine (pag. 89) protraendone l'azione, da cui viene il ben noto effetto euforizzante di questa sostanza che spiega il suo impiego quale droga di abuso. Anche i farmaci "triciclici", largamente impiegati nella cura della depressione, sono degli inibitori del re-uptake delle catecolamine (pag. 89).

I contro-trasporti H^+ /neurotrasmettitore (VNT) operanti nella membrana vescicolare sono meno conosciuti, anche se si sa che la loro potenza può essere straordinaria: si calcola ad esempio che la concentrazione intravescicolare di acetilcolina è 0.5 M/l, cioè 1000 volte maggiore di quella citosolica (0.5 mM/l). Sono state identificate e clonate numerose proteine aventi carattere di VNT (VAChT, VGluT, ecc), ognuna specifica per un determinato neurotrasmettitore o per un gruppo di neurotrasmettitori affini; tra queste, com'è logico attendersi, ogni tipo di neurone esprime solo quella dedicata al "carico" del proprio neurotrasmettitore (2*).

Anche le pompe protoniche che creano a cavallo della membrana delle vescicole sinaptiche il gradiente di H^+ necessario al "carico" del neurotrasmettitore, sono state poco studiate. Si calcola che questi trasporti attivi primari, simili alle V-ATPasi che operano nelle membrane dei lisosomi (Vol. II, pag. 41) concentrino gli ioni H^+ all'interno della vescicola di circa 100 volte (pH interno ca. 5,4 a

(2*) Le tecniche dell'ingegneria genetica però, consentendo di modificare la normale espressione genica, permettono di "caricare" le vescicole con un neurotrasmettitore diverso da quello fisiologico. Ad esempio, inducendo l'espressione di VGluT in un neurone GABAergico, se otterrà il rilascio nello spazio sinaptico dell'ac. glutamico al posto del GABA.

fronte di un pH citosolico ca. 7,4), stabilendo anche un gradiente di potenziale elettrico (l'interno della vescicola positivo rispetto al citosol) favorevole all'ingresso dei neurotrasmettitori carichi negativamente (ad es. l'ac. glutamico).

Il rilascio dei neurotrasmettitori - Le vescicole sinaptiche non sono distribuite omogeneamente nelle terminazioni nervose, ma sono gradualmente più numerose in prossimità della membrana presinaptica. Dal punto di vista funzionale, si distinguono due "compartimenti" vescicolari:

a) nel primo compartimento, detto "pool di rilascio", le vescicole si trovano a ridosso della membrana presinaptica, addensate in aree specializzate (le "zone attive") dove vengono predisposte all'apertura ed al rilascio del neurotrasmettitore che vi è contenuto. Anche in riposo, gran parte delle vescicole del "pool di rilascio" sono già impegnate nei processi che sfoceranno nella loro apertura, altre attendono di farlo;

b) nel secondo compartimento, detto "pool di deposito", le vescicole si trovano più lontano dalla membrana presinaptica e meno addensate; esse sono vincolate labilmente a filamenti di actina e ad altri elementi del citoscheletro, ma abbastanza libere per passare prontamente nel "pool di rilascio", al posto di quelle che si sono aperte e svuotate, all'arrivo dei potenziali d'azione.

L'apertura delle vescicole sinaptiche avviene in corrispondenza di numerosi piccole aree della membrana presinaptica a ciò predisposte, chiamate zone attive, nelle quali sono addensati moltissimi canali ionici del Ca^{2+} (del tipo N o del tipo P/Q). Nelle zone attive, le proteine membranali sono ordinate da elementi della corteccia del citoscheletro a formare strutture altamente regolari ("reti" o "griglie") che differiscono nei vari tipi di sinapsi. Particolarmente studiate per la facile accessibilità sperimentale sono state le zone attive delle sinapsi neuromuscolari (Vol. IV); nelle sinapsi interneuriche centrali, la struttura ha spesso l'aspetto di una "rete di piramidi" che delimita le aree di membrana accessibili alle vescicole (Fig. 7.33).

L'intero insieme vescicolare presinaptico dev'essere considerato un sistema dinamico, sem-

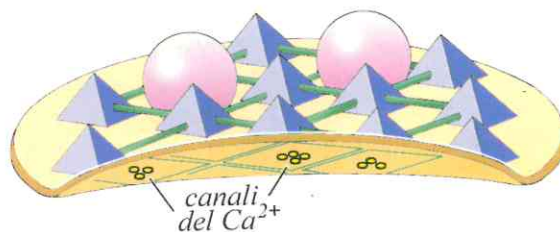


Fig. 7.33 - Ultrastruttura di una zona attiva in un bottone sinaptico del sistema nervoso centrale. Le vescicole sono connesse alla membrana presinaptica, ognuna tenuta "in registro" con almeno un canale del Ca^{2+} , da una struttura altamente ordinata in una "rete di piramidi". Fanno parte delle zone attive numerose proteine citoscheletriche (es. Actina, Tubulina, Miosina, Spectrina), proteine che partecipano al processo di ancoraggio-fusione (es. Syntaxina, Fisofilina, Rim, Unc, Piccolo, Bassoon), oltre a diverse molecole di adesione (es. Caderine, Integrine, Nectine) che le vincolano ad un punto ben preciso della membrana postsinaptica.

pre pronto ad erompere, all'arrivo di un potenziale d'azione, nel rilascio esplosivo del neurotrasmettitore. Anche in riposo, in realtà, il sistema non è mai in una condizione di completa quiescenza, tanto che alcune delle vescicole del "pool di rilascio", più impegnate nelle zone attive, possono giungere all'apertura, come evento statisticamente raro ma mediamente costante. Si tratta del cosiddetto "rilascio spontaneo" del neurotrasmettitore, di cui si avrà occasione di parlare più avanti (pag. 143) perché la sua analisi ha contribuito a far luce sulla dinamica di rilascio dei neurotrasmettitori.

Il processo di apertura delle vescicole sinaptiche si svolge secondo il paradigma generale dell'esocitosi vescicolare (Vol. I, pag. 105), però con alcune peculiarità richieste dall'elevatissima velocità e controllabilità che esso deve avere. Infatti l'arrivo di un potenziale d'azione alla terminazione presinaptica deve agire come un "trigger" che sca-tena in un tempo brevissimo l'apertura simultanea di un gran numero di vescicole.

Per comprendere meglio questo punto, è necessario analizzare più da vicino come avviene l'apertura delle vescicole nelle zone attive della membrana presinaptica. In questo processo si susseguono:

a) una fase preliminare di "attracco" (*docking*), in cui le vescicole stabiliscono un primo vincolo con la membrana presinaptica;

b) una fase di "innesco" (*priming*), in cui le vescicole vengono predisposte all'apertura;

c) una fase di "fusione-rilascio" in cui, all'arrivo del potenziale d'azione, le vescicole si aprono verso lo spazio sinaptico, ove riversano il loro contenuto.

La sequenza differisce da quella della comune secrezione esocitotica per l'efficienza della fase di "priming", in cui le vescicole sinaptiche vengono reclutate in gran numero e poste in uno stato di "stand by" in modo che sia possibile, all'arrivo del potenziale d'azione, la loro *apertura simultanea*.

Queste fasi sono assistite da un complesso gruppo di proteine, distribuite in parte nel citosol ed in parte in coppie di "partners" complementari,

una nella membrana vescicolare e l'altra nella membrana presinaptica. Una rappresentazione panoramica delle più importanti di queste proteine si trova nella Tab. 7.2 e nella Fig. 7.34.

a) Nella fase di "*docking*" (Fig. 7.35/A) interviene per prima la coppia di proteine complementari sinaptobrevina - sintassina, la prima nella membrana vescicolare e la seconda nella membrana presinaptica, situata vicino ai canali del Ca^{2+} (*). Queste formano un "nodo" rafforzato da tre "proteine di sicurezza", una nella membrana presinaptica: la SNAP-25 ("Synaptosomal Associated Protein") e due nel citosol: la α -SNAP ("Solubile NSF Attachment Protein") e la NSF ("N-ethyl-

(*) la coppia sinaptobrevina - sintassina equivale alla coppia *v-SNARE* - *t-SNARE* che opera nella comuni vescicole secretorie (Vol. I, pag. 107).

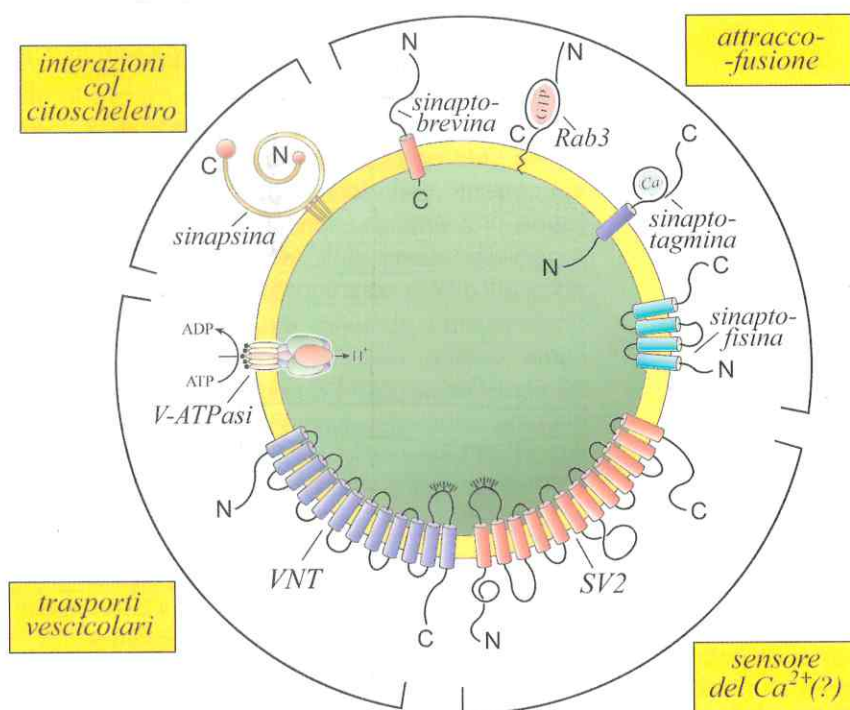


Fig. 7.34 - Rappresentazione schematica delle principali proteine della membrana vescicolare, dette collettivamente *VAMP* ("Vesicle Associated Membrane Proteins"). Il ruolo della proteina *SV2* ("Synaptic Vesicle Protein 2") non è ancora ben chiaro; è stato proposto che, interagendo con la sinaptotagmina, essa costituisca il "vero sensore del Ca^{2+} " del processo di fusione.

maleimide Sensitive Fusion protein"), quest'ultima dotata di proprietà ATP-asica.

b) Nella fase di "priming" (Fig. 7.35/B) avviene la fusione degli strati fosfolipidici esterni ("emifusione") delle membrane vescicolare e presinaptica. Questo passaggio, che comporta il superamento della repulsione elettrostatica tra le due membrane,

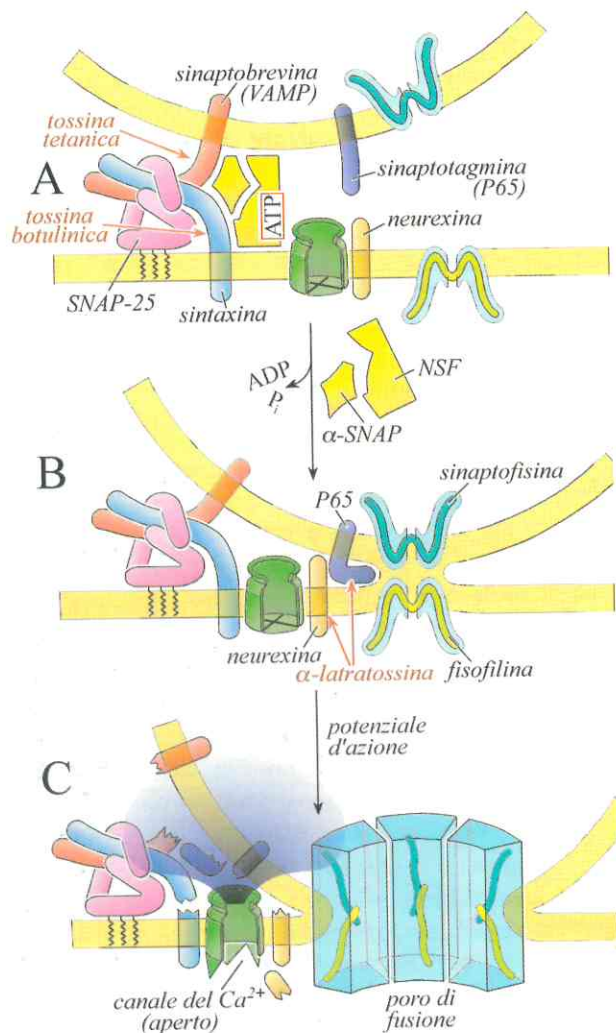


Fig. 7.35 - Modello largamente accreditato del modo con cui le "proteine di collegamento" (vescicolari, della membrana presinaptica e del citosol) intervengono nelle fasi di "docking" (A), "priming" (B) e fusione (C). In condizioni di riposo, la sintassina non sarebbe libera ma legata ad una proteina citosolica detta *n-secl* (o anche *munc-18*), che deve essere rimossa affinché possa avvenire il "docking".

richiede apporto di energia proveniente dall'idrolisi di ATP, cui sopprime l'NSF-ATPasi ricordata pocanzi.

A questo punto l'impegno delle vescicole è molto avanzato, ma il processo si arresta per l'intervento di un sistema di blocco costituito dalla coppia di proteine complementari sinaptotagmina (P65) - neurexina, rispettivamente vescicolare e presinaptica. In questo stato di "imminente apertura" si trovano gran parte delle vescicole del "pool di rilascio".

La presenza del "sistema di blocco" sinaptotagmina-neurexina è provata dalla sua specifica demolizione ad opera dell' α -latratossina: il principio attivo del veleno del Ragno Vedova Nera (BWSV: "Black Widow Spider Venom"). Quando ciò avvenga, si produce una massiccia ed incontrollata apertura delle vescicole che rapidamente porta all'esaurimento della riserva di neurotrasmettitore ed all'arresto della trasmissione sinaptica.

Nel corso della fase di "priming" avviene anche un altro importante atto preparatorio della futura apertura: la preparazione del "poro". Questa consiste nella predisposizione di due proteine complementari: la sinaptofisina e la fisofilina, che per ora restano separate, ma poi, saldandosi, andranno a formare le pareti del "poro" di svuotamento delle vescicole nello spazio sinaptico.

✗ Alla fase di fusione-rilascio (Fig. 7.35/C) si passa solo con l'arrivo del potenziale d'azione, le cui correnti elettrotoniche, depolarizzando la membrana presinaptica, attivano i numerosi canali voltaggio-dipendenti del Ca^{2+} (del tipo N o P/Q) delle zone attive. Ne consegue, in una frazione di msec, un fortissimo aumento locale della $[Ca^{2+}]$, che si stima essere di 1000 volte. Questo improvviso aumento della $[Ca^{2+}]$ rimuove il blocco operato dal sistema sinaptotagmina - neurexina (*), ed abilita l'apertura finale delle vescicole.

La fase meno conosciuta dell'intero ciclo vesci-

(*) Molti ritengono che le molecole della sinaptotagmina, una proteina Ca-affine con 4 "siti" di legame per gli ioni Ca^{2+} , siano le dirette responsabili della caratteristica Ca-dipendenza del rilascio del neurotrasmettitore. E' stato anche proposto però che il "vero" sensore del Ca^{2+} sia una molecola associata alla sinaptotagmina: la proteina SV2 ("Synaptic Vesicle Protein 2", Fig. 7.34), che in condizioni di riposo "maschererebbe" un particolare dominio della sinaptotagmina; lo scioglimento di questo legame da parte del Ca^{2+} potrebbe rappresentare l'evento critico che determina la disintegrazione del complesso di blocco.

COMUNICAZIONE ELETTRICA E FUNZIONE NERVOSA

Tab. 7.2 - Localizzazione e ruolo delle più note proteine che intervengono nel rilascio del neurotrasmettitore dalle terminazioni presinaptiche.

<i>membrana vescicolare</i>	<i>membrana presinaptica</i>	<i>citosol</i>	<i>ruolo</i>
<i>Sinapsine</i>	-	-	Attacco/distacco dai filamenti di actina del citoscheletro
<i>Sinaptobrevina</i>	<i>SNAP-25</i> <i>Syntaxina</i>	<i>NSF</i> <i>SNAP</i>	Formazione del complesso d'ancoraggio (<i>docking</i>)
<i>Sinaptofisina</i>	<i>Fisofilina</i>	-	Preparazione/formazione del poro
<i>Sinaptotagmina</i> (P65) SV2 (?)	<i>Neurexina</i>	-	Blocco Ca-dipendente della fusione

colare è certamente la formazione del "poro", un processo estremamente rapido (ca. 0,2 msec) che mette in diretta comunicazione l'interno delle vescicole con lo spazio sinaptico e permette l'uscita delle molecole del neurotrasmettitore. E' certo che in questa fase hanno un ruolo preminente le proteine complementari sinaptofisina - fisofilina, disposte circolarmente attorno al poro nascente in modo simile a quanto avviene nei connessoni nelle giunzioni "gap". Si fa l'ipotesi che, incontrandosi, le due proteine diano origine in un primo tempo ad un condotto (il "poro") attraverso il quale il neurotrasmettitore può subito iniziare a diffondere verso lo spazio sinaptico; successivamente, sollecitato da trazioni in senso radiale dirette ad aumentarne sempre più il diametro, il "poro" si allargherebbe fino alla completa "eversione" della vescicola ed alla fusione della sua membrana con quella della terminazione presinaptica.

Il "riciclo" delle vescicole sinaptiche - Come in tutte le forme di trasporto vescicolare (Vol. II, pag. 105), anche in quello delle vescicole sinaptiche la continua addizione esocitotica delle membrane vescicolari alla membrana presinaptica deve essere continuamente compensata da un'equivalente sottrazione endocitotica di membrane per la formazione di nuove vescicole.

La membrana presinaptica (al di fuori delle "zone attive") è perciò "donatrice" di vescicole che, passate nel citosol della terminazione, seguono la ben nota sequenza illustrata in Fig. 7.36: rivestimento con coatomeri e fusione con gli endosomi

precoci, dai quali si separano poi nuove vescicole sinaptiche, pronte alla "ricarica" di neurotrasmettitore.

All'interno della terminazione presinaptica sono quindi costantemente in atto due flussi vescicolari: uno di vescicole piene (o in riempimento) che, partendo dall'apparato endosomiale, raggiunge le zone attive della membrana presinaptica, ed uno di vescicole vuote in direzione opposta, che dalla membrana presinaptica raggiunge l'apparato endosomiale. La distinzione dei due flussi e la loro direzionalità sono garantite dall'assistenza di proteine-Rab (Vol. I, pagg. 108-109) le quali, nella forma "attiva" di Rab-GTP contrassegnano ed indirizzano le vescicole del flusso diretto alla membrana presinaptica, e nella forma "disattivata" Rab-GDP contrassegnano il flusso diretto verso l'apparato endosomiale. La conversione Rab-GDP -> Rab-GTP (Fig. 7.36, F2) è operata da un sistema GEF localizzato nella membrana endosomiale, mentre la conversione opposta (Fig. 7.36, F1), operata da un sistema GAP localizzato nella membrana presinaptica, interviene contestualmente allo svuotamento delle vescicole dalle zone attive. Questo sistema di assistenza garantisce una rigorosa separazione tra i due flussi vescicolari contrapposti, evitandone ogni impropria commistione.

In condizioni di riposo della sinapsi, il flusso vescicolare che ha come "bersaglio" le zone attive della membrana presinaptica le raggiunge solo in minima parte, perchè va ad arricchire il "pool" di deposito (dal quale esse passeranno nel "pool di rilascio" nella misura in cui ciò sarà richiesto).

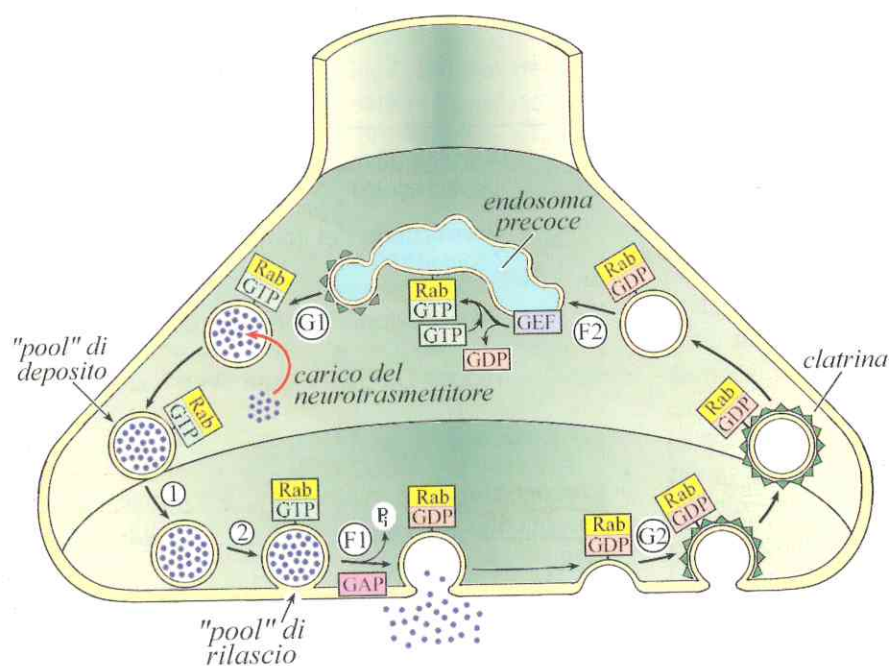


Fig. 7.36 - Ciclo delle vescicole (giunzione neuromuscolare di Rana). **G1**: gemmazione di nuove vescicole dal compartimento endosomiale; si noti che esse verranno ben presto "caricate" con nuovo neurotrasmettitore; **1**: "docking"; **2**: "priming"; **F1**: fusione e rilascio del neurotrasmettitore; **G2**: gemmazione (per endocitosi) di vescicole rivestite di clatrina; **F2**: fusione delle vescicole "vuote" con la membrana degli endosomi precoci.

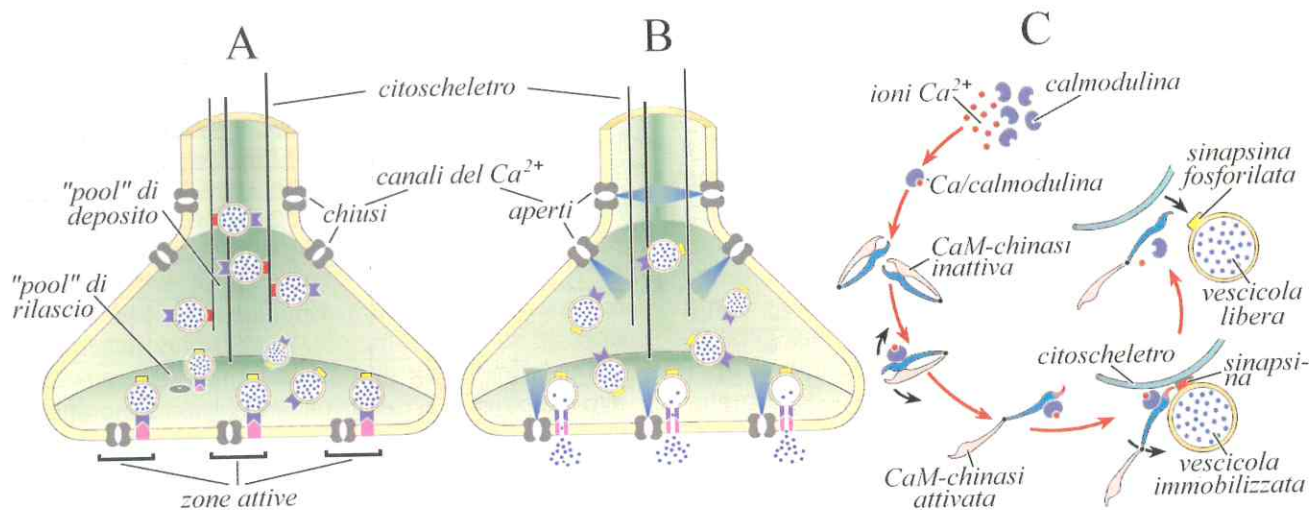


Fig. 7.37 - **A**: le vescicole sinaptiche sono disposte in un "compartimento di rilascio" (vicino alle zone attive) ed in un "compartimento di deposito", dove aderiscono labilmente ad elementi del citoscheletro. **B**: l'ingresso del Ca^{2+} nella terminazione, oltre a determinare la fusione delle vescicole del compartimento di rilascio, promuove anche la mobilitazione delle vescicole del compartimento di deposito, aumentando il numero di vescicole disponibili al processo di ancoraggio-fusione. **C**: il distacco delle vescicole dal citoscheletro è mediato dalla *CaM-chinasi-II* attivata dalla *Ca-Calmodulina* (Vol. II, pag. 215-216), che fosforila la sinapsina.

Questo transito richiede anch'esso l'intervento di una proteina: la *sinapsina* (*), che nello stato di riposo *non è fosforilata* e stabilisce un vincolo delle vescicole coi filamenti del citoscheletro, trattenendole nel "pool" di deposito.

Il passaggio dal "pool" di deposito al "pool" di rilascio è promosso dall'ingresso di ioni Ca^{2+} attraverso *canali voltaggio-dipendenti del tipo L*, attivati anch'essi dall'arrivo del potenziale d'azione (Fig. 7.37/B). La sinapsina viene allora fosforilata dal sistema Ca-dipendente delle *CAM-chinasi* (Fig. 7.37/C) e ciò le fa perdere il legame col citoscheletro; le vescicole, rese libere, possono raggiungere il loro "bersaglio" cioè le zone attive della membrana presinaptica ed entrare nel ciclo di apertura.

L'interazione con la membrana postsinaptica - Le molecole del neurotrasmettitore, rese libere dall'apertura delle vescicole sinaptiche, diffondono nello spazio sinaptico e si legano a specifici recettori chimici presenti nella membrana postsinaptica.

Il ruolo dei recettori postsinaptici va ben oltre a quello di semplici "rivelatori" dell'avvenuta liberazione del neurotrasmettitore, perchè da essi dipendono primariamente sia *il segno* (eccitamento o inibizione) che *l'intensità* della risposta postsinaptica. Il segno della risposta, come si vedrà meglio in altro paragrafo (pag. 65), dipende dalla *selettività* dei canali ionici che verranno attivati, quindi dalle specie ioniche che verranno messe in movimento attraverso la membrana postsinaptica. L'intensità della risposta dipende (a pari quantità di neurotrasmettitore rilasciato) dalla natura dei recettori, dalla densità che essi hanno nell'area subsinaptica e dal loro stato (libero, occupato o desensitizzato).

Esistono due ampie classi di recettori postsinaptici, che si distinguono per la struttura delle molecole proteiche che li costituiscono e per il loro modo di operare: i *recettori ad azione diretta* o

ionotropici (recettori essi stessi canale ionico) ed i *recettori ad azione indiretta* o *metabotropici* (recettori accoppiati a proteine-G trimeriche).

1) I *recettori ionotropici* (o *recettori-canale*, Fig. 7.38/A) sono molecole proteiche che comprendono una porzione *recettoriale* che sporge verso lo spazio sinaptico, ed una porzione strutturata in *canale ionico* che attraversa tutto lo spessore della membrana. La proteina è costituita da 5 *subunità* (ciascuna dotata di 4 *segmenti* idrofobici transmembranari) che, essendo disposte "in cerchio" a formare un condotto, costituiscono nel loro insieme un canale ionico chemo-dipendente. In assenza di neurotrasmettitore, il canale è generalmente nello stato *chiuso* ed impervio agli ioni; quando invece le molecole del neurotrasmettitore si legano ai propri "siti" del dominio recettoriale, il canale passa nello stato *aperto*, e gli ioni permeanti possono fluirvi secondo il proprio gradiente elettrochimico.

L'effetto è molto pronto, tanto che l'EPSP (o l'IPSP) che ne consegue inizia già 1-2 msec dall'arrivo del potenziale d'azione al terminale presinaptico e cessa in qualche decina di msec, quando le molecole del neurotrasmettitore si dissociano dai "siti" recettoriali. La velocità con cui agiscono i recettori ionotropici giustifica il nome di *sinapsi "rapide"* che viene dato a quelle che ne sono dotate.

Un confronto tra le sequenze aminoacidiche delle subunità dei recettori ionotropici suggerisce di raggrupparli in *due famiglie*, derivate da due diversi geni ancestrali:

a) una famiglia che comprende il *recettore nicotino per l'acetilcolina (nAChR)* nelle sue diverse espressioni, il recettore per l'ac. γ -aminobutirrico di tipo A (*GABA_AR*), il recettore per la glicina (*GlyR*) ed il recettore per la *serotonina di tipo 3 (5-HT₃)*;

b) una famiglia che comprende i *recettori ionotropici per l'acido glutamico (iGluR)*, che costituiscono da soli un gruppo molto esteso.

Per un approfondimento sulle caratteristiche molecolari dei recettori ionotropici, si rimanda all'Appendice N° 5 (pag. 151).

2) I *recettori metabotropici* (Fig. 7.38/B) sono

(*) Le sinapsine sono una famiglia di 4 proteine (Ia e Ib, IIa e IIb), che mediano le interazioni delle vescicole con gli elementi del citoscheletro delle terminazioni nervose. In condizioni di riposo, la sinapsina-I (la più studiata) si trova nello stato *defosforilato* ed in questo stato immobilizza le vescicole sul citoscheletro. Quando la concentrazione del Ca^{2+} aumenta, la sinapsina viene *fosforilata* dalla CaM-chinasi e perde affinità per le proteine del citoscheletro; le vescicole sinaptiche, rese libere, portano con sé la sinapsina *fosforilata*.

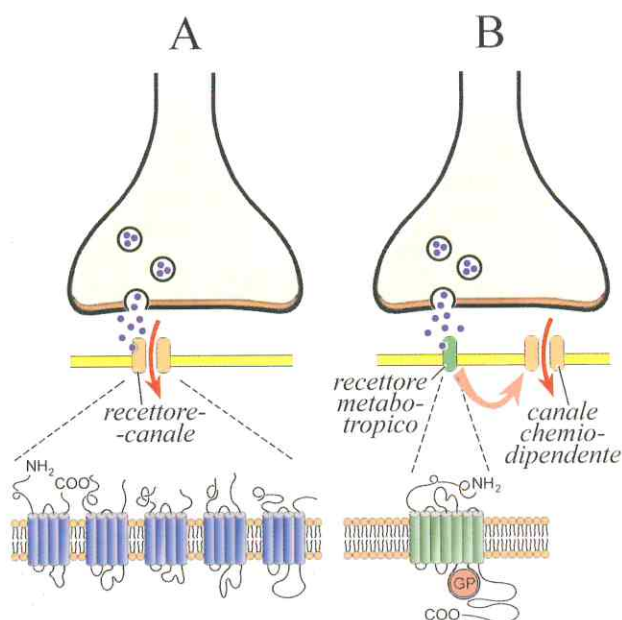


Fig. 7.38 - **A:** schema di una sinapsi "rapida", dotata di *recettori ionotropici* (o "recettori-canale"). Generalmente i recettori-canale sono dotati di 5 subunità (in basso), ciascuna delle quali contiene 4 segmenti transmembrani strutturati in α -elica. **B:** schema di una sinapsi "lenta", dotata di *recettori metabotropici* (o GPCR: "recettori accoppiati ad una proteina-G trimerica"). Questi recettori sono dotati di 7 segmenti transmembrani strutturati in elica (in basso). L'attivazione della proteina-G attiva a sua volta una cascata di reazioni enzimatiche (freccia marrone), che porta alla apertura (o chiusura) di canali ionici chemio-dipendenti della membrana postsinaptica, operati dal lato citoplasmatico. In entrambi i casi si immagina che il flusso ionico attraverso i canali ionici attivati (freccia rossa) abbia direzione entrante, quindi che si tratti di sinapsi eccitatorie.

molecole proteiche costituite da una singola catena polipeptidica strutturata in 7 segmenti transmembrani. Hanno anch'essi uno o più domini recettoriali esposti allo spazio sinaptico e predisposti al legame col neurotrasmettitore, tuttavia non formano un canale transmembranario, anche se attraversano l'intero spessore della membrana postsinaptica per sporgere al suo lato intracellulare con un dominio effectore predisposto a legarsi con una *proteina-G trimerica* (PG). Quando questa venga attivata, innescata la ben nota sequenza di passaggi enzimatici al termine dei quali può avvenire, per via intracellulare, l'apertura (o la chiusura) di canali ionici della membrana postsinaptica; a seconda degli ioni permeanti, questa si tradurrà in un EPSP o in un IPSP. E' evidente che i potenziali postsinaptici, per la complessa catena di eventi che li genera, insorgeranno sempre con una notevole latenza (almeno qualche secondo), con relativa lentezza e saranno molto duraturi (fino a molte decine di secondi); perciò le sinapsi operanti con recettori metabotropici vengono denominate sinapsi "lente".

I recettori postsinaptici metabotropici costituiscono una classe particolarmente estesa, anche per il fatto che, agendo tramite PG, i loro effetti possono non limitarsi all'apertura (o chiusura) di

canali ionici (quindi all'insorgenza di un potenziale postsinaptico), ma estendersi alla sfera del biochimismo cellulare, aprendolo al controllo nervoso. Ciò avviene soprattutto per le funzioni cellulari regolate dal sistema nervoso vegetativo, ove la risposta delle cellule effettrici (metabolica, secretoria, vasomotoria, ecc.) ai potenziali d'azione che giungono alle terminazioni presinaptiche è sempre mediata dalla presenza nella membrana postsinaptica di recettori di tipo metabotropico.

Per un approfondimento sulle caratteristiche molecolari dei recettori metabotropici, si rimanda all'Appendice N° 6 (pag. 165).

La maggior parte dei neurotrasmettitori "classici" (ad es. l'acetilcolina, il GABA, l'acido glutamico) dispongono, non di rado anche nella stessa sinapsi, sia di recettori ioni- che metabotropici; uno stesso neurotrasmettitore può quindi evocare sia risposte postsinaptiche *rapide* che risposte postsinaptiche *lente*. Vi sono però anche intere classi di neurotrasmettitori (come quella delle catecolamine e dei neuropeptidi) che non dispongono di recettori ionotropici, ed evocano perciò *solo risposte lente*.

L'esistenza nelle vie nervose di sinapsi dotate

di diversa velocità operativa per la prevalente presenza di recettori meta- piuttosto che ionotropici, offre la possibilità di evocare risposte *differenziate nel tempo*, non solo in vie nervose distinte, ma anche (quando i due tipi di recettori siano presenti in una stessa sinapsi) di ottenere in una stessa via risposte "*bimodali*", cioè composte da una fase iniziale rapida seguita (o continuata) da in una fase tardiva più lenta. In altre parole, la capacità del sistema nervoso di regolare nell'ambito temporale la distribuzione dei segnali che corrono nelle sue vie è affidata in buona parte alla natura dei recettori postsinaptici.

La sorte del neurotrasmettitore - L'azione dei neurotrasmettitori sulla membrana postsinaptica *si estingue* ad opera di tre meccanismi che hanno rilevanza diversa nelle varie sinapsi:

1) la diffusione del neurotrasmettitore al di fuori della fessura sinaptica, che ne riduce rapidamente la concentrazione a ridosso dei recettori;

2) la scissione enzimatica del neurotrasmettitore ad opera di un adatto enzima idrolitico che ne distrugge l'attività. Ciò avviene praticamente solo per il neurotrasmettitore più noto: l'*acetilcolina*, che viene scissa dall'enzima specifico *acetilcolin-esterasi* (pag. 78);

3) il riassorbimento del neurotrasmettitore (re-uptake) nella terminazione presinaptica. Questo processo da un lato allontana il neurotrasmettitore dalla membrana postsinaptica, e dall'altro ne permette il riutilizzo per la "ricarica" di nuove vescicole.

I potenziali postsinaptici

Com'è già stato anticipato fin dalla Fig. 7.31, il legame di un neurotrasmettitore coi suoi recettori determina l'apertura o la chiusura (*direttamente* se si tratta di *recettori ionotropici* di una sinapsi "rapida", *indirettamente* se si tratta di *recettori metabotropici* di una sinapsi "lenta") di canali ionici *chemio-dipendenti* della membrana postsinaptica. La corrente ionica che fluisce attraverso questi canali modifica per un tempo più o meno lungo il potenziale della membrana postsinaptica, cioè vi determina un *potenziale postsinaptico* ("Post Synaptic Potential" o PSP) che è il segnale con cui l'informazione viene trasferita attraverso la sinapsi.

Per comprendere le proprietà di questo fondamentale anello di collegamento tra l'elemento pre- e quello postsinaptico, converrà iniziare con la descrizione dei PSP "rapidi" utilizzando il modello della giunzione neuromuscolare, che ne è l'esempio meglio conosciuto. Successivamente verranno descritte le principali proprietà dei PSP "rapidi" che si osservano nel sistema nervoso centrale, mentre ai PSP "lenti" si accennerà solo brevemente, alla fine del capitolo (pag. 69).

Gli studi sulla giunzione neuromuscolare -

Per la sua facile accessibilità sperimentale, la sinapsi tra una fibra nervosa motrice ed una fibrocellula muscolare scheletrica (giunzione o "*placca neuromuscolare*") ha costituito per lungo tempo il modello d'elezione per lo studio delle sinapsi "rapide" dei Vertebrati. Si tratta di una struttura osservabile in vivo con pochi ingrandimenti di un normale microscopio da dissezione, nella quale l'elemento postsinaptico (una fibra muscolare scheletrica), avendo dimensioni giganti, si presta bene all'inserimento dei microelettrodi intracellulari necessari per le registrazioni elettrofisiologiche; inoltre ogni fibrocellula è innervata da una sola fibra nervosa motrice e possiede un'unica placca neuromuscolare. La corrente postsinaptica della giunzione neuromuscolare viene detta *corrente di placca* ("end plate current") e *potenziale di placca* è detto il potenziale postsinaptico che essa genera.

Con l'avvento della tecnica del "patch clamp", è stato possibile dimostrare che la corrente di placca risulta dalla *somma di molte migliaia* di correnti elementari: le *correnti di singolo canale*, attivate in modo *quasi* simultaneo dall'impatto delle molecole del neurotrasmettitore (l'acetilcolina) sui recettori-canale della membrana postsinaptica. Questo concetto è stato poi esteso a tutte le altre sinapsi "rapide".

Come illustrato in Fig. 7.39, esponendo la superficie extracellulare di un frammento (un "patch") di membrana postsinaptica contenente un singolo canale nicotinico ad una "nuvola" di molecole di Ach, si ottiene l'*attivazione* di questo canale, che si apre e si chiude continuamente in modo stocastico. Vi sono indicazioni per ritenere che il recettore-canale passi prontamente dallo stato chiuso allo stato *aperto* (*) quando si lega a due molecole di Ach, e vi permanga per un certo tempo (il "tempo di apertura" del canale); quando poi una delle due molecole che l'hanno attivato si

(*) lasciando passare una corrente $i = \gamma(V_m - E_{syn})$, ove γ è la conduttanza del singolo canale postsinaptico. Nella placca neuromuscolare, ad esempio, ad un potenziale di riposo di -90 mV la corrente di singolo canale è di circa 2,7 pA, corrispondente ad una conduttanza elementare $\gamma = 30$ pS.

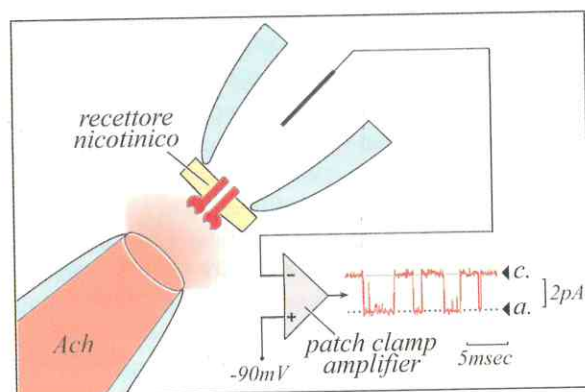


Fig. 7.39 - Schema della disposizione sperimentale per la registrazione delle correnti di un singolo recettore-canale nicotinico (tecnica del "patch clamp" nella configurazione "outside out"). Il "tassello" di membrana contenente un recettore-canale viene "bloccato" ad un potenziale di -90mV. La somministrazione di acetilcolina, ottenuta applicando una debole pressione positiva ad una micro-pipetta che la contiene in opportuna concentrazione, evoca una sequenza stocastica di aperture e di chiusure del canale.

distacca, esso ritorna altrettanto prontamente allo stato *chiuso* (di riposo).

Se ora si immagina (Fig. 7.40/A) che un certo numero dei recettori-canale sia investito da uno "sciame" di molecole di neurotrasmettitore che subito si dissolve (per diffusione o per demolizione enzimatica) così da attivare ogni canale *una volta sola*, la somma delle correnti di singolo canale raggiungerà molto rapidamente la massima intensità (quando tutti i canali si trovano nello stato aperto), e poi decadrà gradualmente nel tempo, mano a mano che le molecole del neurotrasmettitore si distaccano dai recettori-canale. Alla fine, quando i canali ionici saranno tutti ritornati nello stato chiuso, la corrente postsinaptica evocata dallo "sciame" di molecole attivatrici sarà spenta (2*).

E' allora facile prevedere quanto avverrà quando un potenziale d'azione invade la terminazione presinaptica, provocando il rilascio simultaneo di *milioni* di molecole di neurotrasmettitore: queste si legheranno a molte migliaia di recettori postsinaptici, che passeranno *quasi contemporaneamente* (3*) nello stato di apertura. Si genera così una corrente "macroscopica" che, nella giunzione neuromuscolare, in condizioni di "voltage clamp" (4*), è facilmente evidenziabile come "*corrente di placca*" (Fig. 7.40/B).

Altrettanto facile è prevedere che la corrente di placca in condizioni fisiologiche, quando il potenziale di membrana non è sottoposto a "voltage clamp" ma è libero di evolversi nel tempo, si tradurrà (avendo direzione "entrante") in una *depolarizzazione* della membrana postsinaptica, cioè in

(2*) Il decadimento esponenziale della corrente postsinaptica sarà ovviamente correlato al *tempo medio di apertura* dei singoli recettori-canale ed è caratteristico di ogni particolare sinapsi. Nella placca motrice, il tempo medio di apertura dei singoli canali è di 2-3 msec, pari alla costante di tempo del decadimento esponenziale della corrente di placca.

(3*) Più precisamente, con una dispersione temporale che deriva dalla casualità con cui le singole molecole di neurotrasmettitore percorrono per diffusione lo spazio sinaptico; questa dispersione temporale si riflette nel *tempo di salita* della corrente di placca.

(4*) solitamente realizzata infiggendo due microelettrodi (uno per la registrazione del potenziale, l'altro per l'iniezione della corrente) nella membrana postsinaptica in prossimità della giunzione; i due microelettrodi devono naturalmente essere collegati, nel modo descritto nel Vol. II. (pag. 88), ai due ingressi (+ e -) di un adatto amplificatore operazionale.

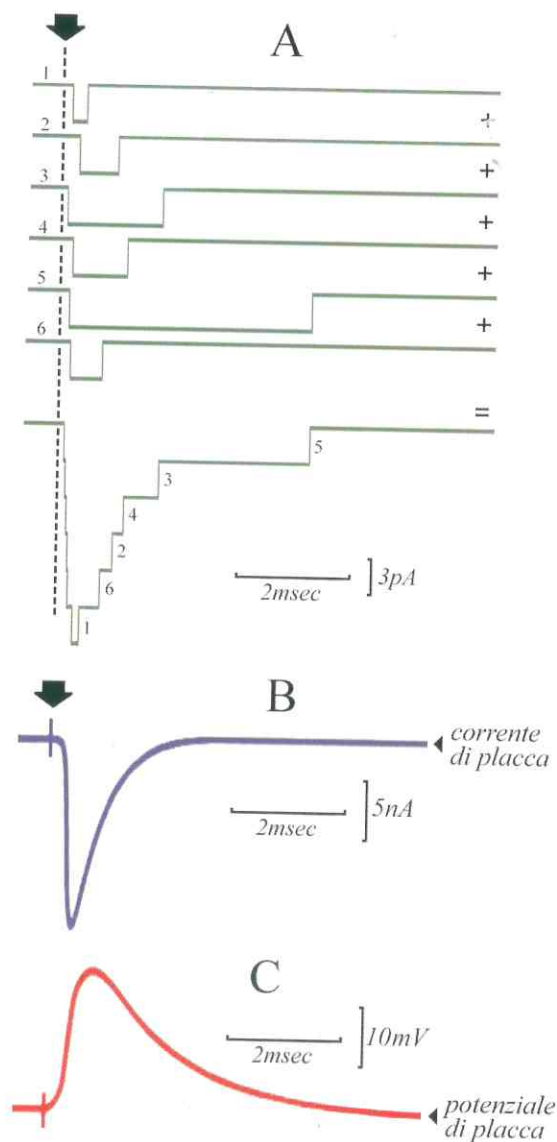


Fig. 7.40 - A: si immagina che un brevissimo "puff" di acetilcolina (freccia) attivi una volta sola 6 recettori-canale presenti in un "tassello" di membrana nella configurazione "outside out". Sommando tra loro le correnti di singolo canale, si ottiene una piccolissima "corrente di placca" nella quale sono chiaramente riconoscibili le fasi di apertura e di chiusura dei singoli canali. **B:** registrazione in "voltage clamp" (a -90 mV) della corrente di placca reale, evocata dalla stimolazione della fibra nervosa motrice (freccia). Pur avendo l'aspetto di un segnale continuo, la corrente di placca è la somma di molte migliaia di correnti di singolo canale aventi la stessa ampiezza e la stessa forma di quelle illustrate in A (si noti che il fattore di amplificazione della corrente è ridotto di 1000 volte). Per il suo carattere di corrente "entrante", la corrente postsinaptica è convenzionalmente rappresentata da una deflessione del tracciato verso il basso. **C:** registrazione del corrispondente potenziale di placca (dopo blando trattamento con curaro, per evitare l'insorgenza del potenziale d'azione nella fibra muscolare) in condizione di "current clamp", cioè lasciando libero il potenziale di membrana di variare nel tempo. Si noti che il potenziale di placca, per la presenza della corrente capacitiva (che era assente nella condizione di "voltage clamp", Vol. II, pag. 88), insorge e decade più lentamente della corrispondente corrente di placca.

re il carattere di *potenziale locale* (pag. 5), comune a tutti i potenziali postsinaptici. Essendo evocati dall'attivazione di canali ionici *chemio-dipendenti* ben diversi dai canali *voltage-dipendenti* che generano i potenziali d'azione, essi *non si propagano*, ma decadono elettrotonicamente nell'intorno della sinapsi (Fig. 7.41); sono *graduali*, infatti la loro ampiezza dipende (a pari natura e densità dei recettori postsinaptici) dalla quantità di neurotrasmettitore che è stato liberato; infine, non presentando il fenomeno della refrattarietà, sono *sommabili*.

Il potenziale di placca tuttavia differisce dagli EPSP delle altre sinapsi "rapide" per un'importante caratteristica: esso *ha un'ampiezza considerevole* (30-40 mV), largamente sufficiente per evocare, ogni volta che esso venga generato dall'attivazione della fibra nervosa motrice, un potenziale d'azione propagato nella membrana della fibrocel-

un *PSP eccitatorio* (un "EPSP") che viene chiamato "*potenziale di placca*" (Fig. 7.40/C). Il potenziale di placca sarà immediatamente distinguibile da un potenziale d'azione per avere una *velocità d'insorgenza più lenta*, una *minore ampiezza* (*) ed una *durata molto maggiore* (2*).

Il potenziale di placca illustra in modo esempla-

(*) per l'intensità relativamente debole delle correnti ioniche che li generano, ma anche (v. Appendice N° 4) per il cospicuo "shunt" di queste correnti, esercitato dalle aree di membrana limitrofe a quella attivata dal neurotrasmettitore.

(2*) Quest'ultima proprietà è la diretta conseguenza della relativa lentezza con cui i recettori-canale attivati dal neurotrasmettitore passano nello stato chiuso dopo essere stati aperti quasi simultaneamente, ma può anche derivare dal fatto che le molecole del neurotrasmettitore, prima di essere demolite o comunque allontanate dallo spazio sinaptico, possono "rimbalzare" più volte da un recettore postsinaptico all'altro, di modo che uno stesso recettore-canale può essere attivato più volte.

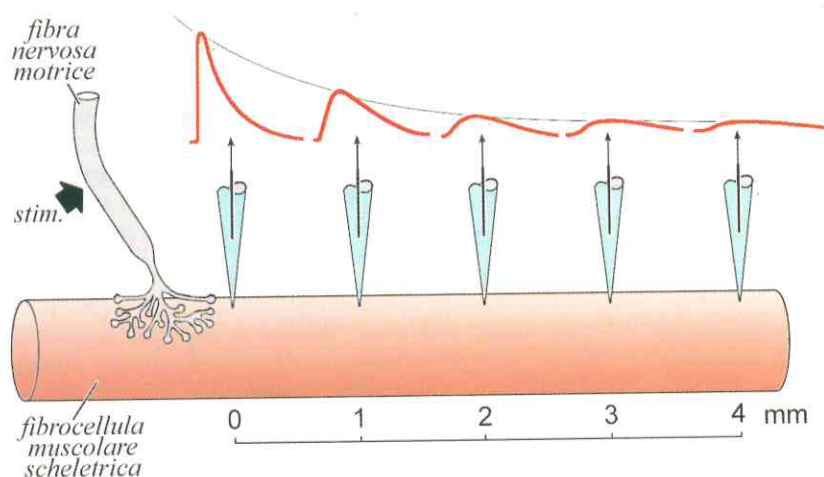


Fig. 7.41 – L'ampiezza di un potenziale postsinaptico (la figura illustra l'esempio del potenziale di placca) è massima nel suo luogo di insorgenza e si riduce esponenzialmente, secondo quanto previsto dalla "teoria del cavo", mano a mano che ci si allontana dalla giunzione sinaptica. Il suo decorso temporale, inoltre, diviene progressivamente più lento.

lula muscolare (elettricamente eccitabile) circostante al luogo in cui insorge. Si dice perciò che la giunzione neuromuscolare ha un *rapporto di trasmissione 1:1*.

Questa caratteristica è un ostacolo per lo studio accurato del potenziale di placca, sia perché il potenziale d'azione ne "maschera" l'andamento temporale, sia perché la contrazione che esso determina può lacerare la membrana della fibrocellula nel punto in cui è infisso un microelettrodo. Perciò, al fine di evitare l'insorgenza del potenziale d'azione nella fibrocellula muscolare, l'ampiezza del potenziale di placca viene convenzionalmente *ridotta* in modo da renderla *sottoliminare*. Vengono impiegati a questo scopo due accorgimenti sperimentali: o *riducendo la concentrazione del Ca^{2+} nel mezzo extracellulare* (diminuendo con ciò la *quantità di neurotrasmettitore liberato*) o *bloccando una frazione dei recettori postsinaptici* con un'opportuna dose di *curaro* (diminuendo con ciò l'effetto del neurotrasmettitore liberato).

Natura "quantale" del rilascio di neurotrasmettitore – E' questo un altro punto, fondamentale per la comprensione del funzionamento di tutte le sinapsi "rapide", su cui ha fatto luce lo studio della trasmissione neuromuscolare. La "teoria quantale" si fonda sul fatto che il neurotrasmettitore, all'interno delle terminazioni presinaptiche, si trova *racchiuso in vescicole* mediantemente uguali tra loro, quindi la sua liberazione non può che avveni-

re in modo *discreto*, vale a dire per *multiplici interi* (1, 2, ecc.) della quantità di neurotrasmettitore contenuto in una vescicola.

La dimostrazione della "teoria quantale" è venuta attorno agli anni '50, quando la fine analisi della trasmissione neuromuscolare nella *Rana* ha rivelato l'esistenza, in condizioni di riposo, di rapide e casuali *depolarizzazioni "spontanee"* della membrana postsinaptica aventi la stessa forma, ma ampiezza molto minore (ca. 0,5 mV), dei potenziali di placca "evocati" dalla stimolazione della fibra nervosa motrice. Per la loro minima ampiezza, questi potenziali postsinaptici furono chiamati "*potenziali postsinaptici eccitatori in miniatura*" (*mEPSP*); essi sono l'effetto dell'aper-

(*) Questa liberazione spontanea di neurotrasmettitore, sia perché casuale, sia per la minima quantità di sostanza che viene liberata, non ha certo il significato di un'effettiva trasmissione di un segnale elettrico attraverso la sinapsi, anche se testimonia la predisposizione dell'elemento presinaptico ad operarla. Si ritiene che l'esocitosi spontanea delle vescicole sinaptiche possa sostenere l'importante funzione di "informare" le due cellule che partecipano alla giunzione di trovarsi in effettivo reciproco contatto. Infatti, oltre al neurotrasmettitore, le vescicole riverserebbero nello spazio sinaptico dei "*fattori trofici anterogradi*" che sarebbero necessari per garantire l'integrità morfologica e funzionale dell'elemento postsinaptico; questo a sua volta riverserebbe nello spazio sinaptico dei "*fattori trofici retrògradi*" che, captati dall'elemento presinaptico per endocitosi, svolgerebbero la funzione speculare. Anche se questi "fattori trofici" non sono ancora stati identificati con certezza, le imponenti modificazioni biochimiche e morfologiche che sopravvivono sia nell'elemento pre- che in quello postsinaptico dopo l'assotomia, nonché dalla pronta regressione di queste modificazioni dopo la reinnervazione, costituiscono una forte indicazione a favore della loro esistenza.

tura spontanea e casuale di *singole vescicole sinaptiche* (* pag. 62), ad ognuna delle quali corrisponde la liberazione di un *"quanto"* di neurotrasmettitore, costituito da un numero mediamente costante di *molecole di acetilcolina* (ca. 10.000). Il confronto quantitativo tra l'ampiezza delle correnti spontanee "in miniatura" e l'ampiezza delle correnti evocate dall'arrivo di un potenziale d'azione alla terminazione presinaptica ha dimostrato che, statisticamente, l'ampiezza di ogni corrente postsinaptica evocata (anche nelle sinapsi inibitorie) è sempre un *multiplo intero* dell'ampiezza delle correnti in miniatura.

Per un approfondimento della liberazione quantale del neurotrasmettitore, si rimanda all'Appendice N° 3 (pag. 143).

Potenziali postsinaptici nei neuroni dei centri nervosi - Nella placca motrice dei muscoli scheletrici, la quantità di acetilcolina contenuta in ogni vescicola e l'estensione del contatto sinaptico (quindi il numero delle vescicole rilasciate) sono talmente rilevanti che l'arrivo di un singolo potenziale d'azione genera un EPSP largamente sufficiente a determinare l'insorgenza di un potenziale d'azione (e la conseguente contrazione) nella fibra muscolare scheletrica. Considerando che una fibra

muscolare scheletrica (diam. 100-300 μ) ha dimensioni "giganti" rispetto alla fibra nervosa motrice, la placca motrice costituisce un chiaro esempio della capacità di *amplificazione* delle sinapsi chimiche.

Ben diversa è la situazione nelle sinapsi (assosomatiche o asso-dendritiche) dei centri nervosi, che si stabiliscono tra le terminazioni assoniche dei numerosi neuroni presinaptici che "convergono" sul soma ed i dendriti di uno stesso neurone postsinaptico (Fig. 7.42/A). Qui ogni fibra nervosa si suddivide in numerosi sottili rami terminali, ognuno dei quali prende contatto con la membrana postsinaptica tramite un'espansione *molto più ristretta* della placca neuromuscolare, detta *bottone sinaptico* (Fig. 7.42/A, inserto). Sui *dendriti delle cellule piramidali* della corteccia cerebrale e del cervelletto (le cellule del Purkinje), i singoli contatti sinaptici presentano una morfologia del tutto particolare (Fig. 7.42/B) e sono denominate *spine*, essendo formati dalla giunzione ancor più

(*) Si ritiene che in ogni spina si crei un "microambiente" il cui stato biochimico (concentrazione del Ca^{2+} , dei secondi messaggeri ecc.) può essere prontamente alterato in relazione alla maggiore o minore attività della sinapsi. Si ammette in particolare che la sezione e la lunghezza del peduncolo di ciascuna spina (quindi la resistenza che esso frappone al flusso delle correnti elettrotoniche) possano variare in relazione ai diversi momenti funzionali, contribuendo a rendere variabile ("plastico") l'effetto che l'attivazione sinaptica avrà sul neurone post-sinaptico.

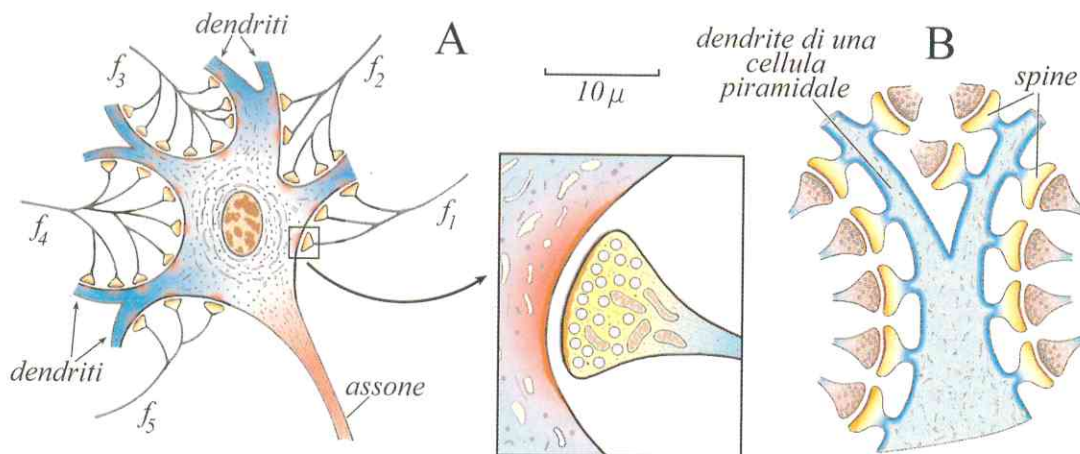


Fig. 7.42 - A: rappresentazione schematica di alcuni contatti sinaptici sul soma e sui dendriti di un motoneurone spinale (f1... f5: fibre nervose afferenti al neurone). Nell'inserto: immagine ingrandita di un bottone sinaptico, contenente vescicole di neurotrasmettitore. B: rappresentazione schematica di alcune "spine" sui dendriti di una cellula piramidale della corteccia cerebrale.

ristretta tra un bottone terminale e la *propaggine pedunculata* della membrana postsinaptica (* pag. 63).

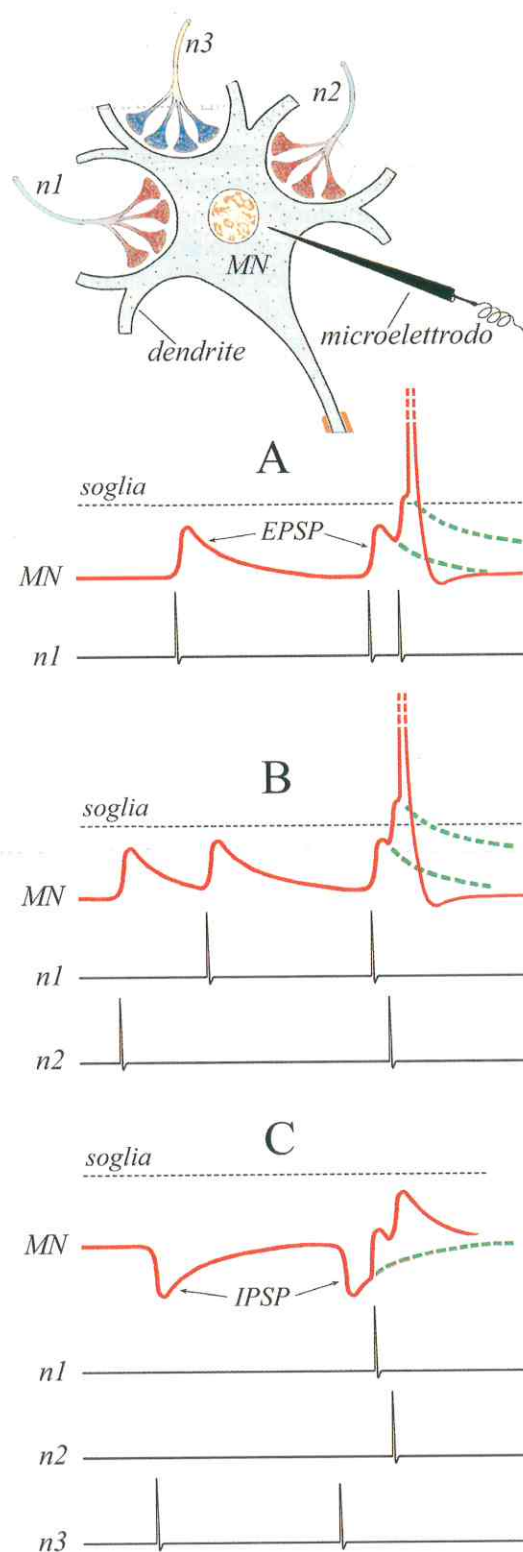
Qualunque sia l'aspetto morfologico delle sinapsi centrali, l'estensione delle membrane affrontate in ogni giunzione sinaptica è sempre molto limitata (pochi μ^2), con la conseguenza che la quantità di neurotrasmettitore liberato dall'arrivo di un potenziale d'azione, quindi il numero di recettori postsinaptici che vengono attivati, è anch'essa relativamente *modesta*. Ne viene che i singoli EPSP, nei neuroni dei centri nervosi, hanno un'ampiezza di *almeno 20 volte inferiore* al potenziale di placca (dell'ordine del mV), certamente insufficiente a generare un potenziale d'azione nell'elemento postsinaptico. Ci si chiede allora come possa procedere la trasmissione dell'eccitamento attraverso le sinapsi interneuroniche.

Sommazione (spaziale e temporale) dei potenziali postsinaptici - Per portare alla soglia di eccitamento il potenziale di membrana di un neurone centrale, gli EPSP devono sommarsi tra loro. Si può avere:

a) *sommazione temporale* (Fig. 7.43/A), quando *le stesse* terminazioni sinaptiche eccitatorie siano attivate ripetutamente a brevi intervalli di tempo;

b) *sommazione spaziale* (Fig. 7.43/B), quando terminazioni sinaptiche eccitatorie *diverse* siano attivate in modo pressoché simultaneo.

Fig. 7.43 - Nelle vignetta (in alto) s'immagina che sullo stesso un motoneurone spinale (MN) convergano tre neuroni afferenti (*n1*, *n2* ed *n3*), formando sinapsi asso-dendritiche eccitatorie (bottoni sinaptici *rossi* di *n1* ed *n2*) o inibitorie (bottoni sinaptici *blu* di *n3*). I sottostanti tracciati illustrano schematicamente le tre modalità di sommazione: *temporale* (A), *spaziale* (B) ed *algebrica* (C), immaginando che un microelettrodo registri il potenziale di membrana del motoneurone, e che le sinapsi siano attivate da diverse combinazioni temporali di potenziali d'azione, evocati dalla stimolazione elettrica dei tre neuroni presinaptici. Nello schema s'immagina a scopo didattico che la sommazione di due EPSP sia sufficiente a generare un potenziale d'azione nel neurone postsinaptico. Nella realtà, considerando che è necessaria una depolarizzazione di ca. 10 mV per raggiungere la soglia d'eccitamento, e che l'ampiezza dei singoli EPSP non è superiore al mV, occorrerà la sommazione (temporale e/o spaziale) di un numero molto superiore di EPSP.



A parità di altre condizioni, la maggiore o minore capacità di sommazione dei diversi neuroni centrali è strettamente legata alle "proprietà elettriche passive" (Vol. II, pag. 82) della loro membrana somato-dendritica.

E' evidente infatti che la capacità di *sommazione temporale* sarà maggiore nei neuroni caratterizzati da una maggior *costante di tempo* (τ), la quale comporta che il decadimento temporale dei potenziali postsinaptici sia *più lento*. In questi neuroni, essendo di fatto maggiore la durata dei singoli potenziali postsinaptici, sarà maggiore la probabilità che l'attivazione *delle stesse sinapsi* possa raggiungere la soglia di eccitamento.

Altrettanto evidente è che la capacità di *sommazione spaziale* sarà maggiore nei neuroni con una maggior *costante di spazio* (λ , pag. 22), la quale comporta che l'effetto elettrotonico dell'attivazione di ogni sinapsi si estenda ad una *maggior distanza* dal luogo d'origine. In questi neuroni sarà maggiore la probabilità che l'attivazione simultanea di *sinapsi situate ad una certa distanza* sulla membrana somato-dendritica possa raggiungere la soglia di eccitamento.

Potenziali postsinaptici eccitatori (EPSP) ed inibitori (IPSP) — Le sinapsi eccitatorie, depolarizzando la membrana postsinaptica tramite un EPSP, tendono a far insorgere i potenziali d'azione. Accanto a queste, tuttavia, esistono nel sistema nervoso centrale *sinapsi inibitorie* che hanno l'effetto opposto: iperpolarizzando la membrana postsinaptica tramite un *potenziale postsinaptico inibitorio* ("inhibitory postsynaptic potential" o IPSP), diminuiscono la probabilità che possa insorgervi un potenziale d'azione.

I due effetti contrapposti dipendono unicamente dalla *diversa permeabilità dei canali ionici* attivati dal neurotrasmettore in una particolare sinapsi: se questi lasciano passare una corrente "entrante" (o riducono una corrente "uscente"), la sinapsi sarà eccitatoria; se invece i recettori-canali della membrana postsinaptica attivati dal neurotrasmettore lasciano passare una corrente "uscente" (o riducono una corrente "entrante") la sinapsi sarà inibitoria.

Gli ioni che fluiscono nella membrana postsin-

naptica quando il neurotrasmettore si lega ai propri recettori, possono essere identificati utilizzando i principi introdotti nel Vol. II (pag. 90 e pagg. 145-146). Infatti, poiché anche le correnti postsinaptiche ubbidiscono all'equazione generale di tutte le correnti ioniche:

$$I_{syn} = g_{syn} (V_m - E_{syn}) \quad (1)$$

(ove g_{syn} è la variazione di conduttanza della membrana postsinaptica dovuta all'apertura dei canali ionici attivati dal neurotrasmettore, V_m è il potenziale di membrana ed E_{syn} è il "potenziale d'inversione" della corrente), è evidente che la corrente postsinaptica avrà direzione "entrante" (quindi produrrà una *depolarizzazione*, cioè un EPSP) o "uscente" (quindi produrrà una *iperpolarizzazione*, cioè un IPSP), a seconda che E_{syn} sia *positivo o negativo rispetto al potenziale di riposo* della membrana postsinaptica.

Sappiamo d'altro canto che il valore di E_{syn} dipende dai potenziali d'equilibrio (E_j) degli ioni vettori della corrente postsinaptica. Ricordando allora che ai due lati di tutte le membrane cellulari la distribuzione dei cationi (Na^+ , Ca^{2+} e K^+) è tale per cui sia E_{Na} che E_{Ca} sono *positivi* rispetto a V_m , mentre E_K è *negativo*, l'apertura di canali chemio-dipendenti strettamente selettivi al Na^+ o al Ca^{2+} darebbe una corrente *eccitatoria*, mentre l'apertura di canali strettamente selettivi al K^+ darebbe una corrente *inibitoria* (un flusso uscente di cariche positive). Anche l'apertura di canali strettamente selettivi al Cl^- , essendo E_{Cl} normalmente negativo (anche se debolmente: ca. -70 mV) rispetto a V_m , darebbe una corrente *inibitoria* (un flusso entrante di cariche negative).

Nella realtà si è osservato che, in tutte le sinapsi "rapide":

a) quando si tratti di sinapsi *eccitatorie*, il neurotrasmettore determina l'apertura nella membrana postsinaptica di *canali cationici* (Fig. 7.44/A) che consentono il passaggio di cationi di varia specie (Na^+ , Ca^{2+} e K^+). L'effetto combinato dei flussi di questi tre cationi è tuttavia sempre una *depolarizzazione* della membrana postsinaptica (cioè un EPSP); infatti il Na^+ ed il Ca^{2+} sono spinti verso

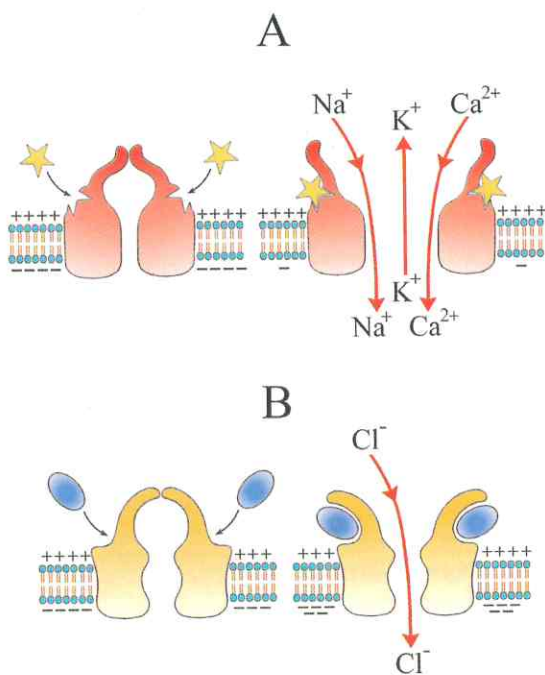


Fig. 7.44 - A: attivazione da parte del neurotrasmettitore (stella gialla) di un recettore-canale permeabile ai tre cationi: Na^+ , K^+ e Ca^{2+} in una *sinapsi eccitatoria* (tipo placca motrice). La variazione delle cariche ai due lati della membrana indica una depolarizzazione, cioè l'insorgenza di un *EPSP*. **B:** attivazione da parte del neurotrasmettitore (ovale blu) di un recettore-canale selettivamente permeabile agli ioni Cl^- (tipo GABA_A) in una *sinapsi inibitoria*. La variazione delle cariche ai due lati della membrana indica un'iperpolarizzazione, cioè l'insorgenza di un *IPSP*.

l'interno della membrana da un gradiente elettrochimico molto maggiore di quello che spinge il K^+ verso l'esterno, per cui il flusso di cariche positive "entranti" è nettamente predominante su quello delle cariche positive "uscenti". Il potenziale d'inversione delle sinapsi eccitatorie è infatti invariabilmente vicino allo zero.

b) quando si tratti di sinapsi *inibitorie*, tipicamente quelle in cui opera come neurotrasmettitore l'acido γ -aminobutirrico (GABA) agendo su recettori-canale del tipo GABA_A (Fig. 7.44/B), il neurotrasmettitore determina l'apertura di canali ionici selettivi per il Cl^- , la cui apertura ad opera delle

molecole del neurotrasmettitore genera una corrente anionica "entrante", quindi produce un'iperpolarizzazione (cioè un *IPSP*).

L'intensità di questa corrente anionica è relativamente debole (e parallelamente di modesta ampiezza sono gli *IPSP* che essa produce), perché E_{Cl} è vicino al potenziale di riposo della membrana postsinaptica, e perciò la "driving force" che muove gli ioni è scarsa. Ciononostante l'effetto inibitorio del GABA può essere considerevole, perché l'attivazione dei canali al Cl^- nelle sinapsi inibitorie agisce da "shunt" per le correnti postsinaptiche che vengano simultaneamente generate dalle sinapsi eccitatorie, riducendone fortemente l'effetto depolarizzante.

Per un approfondimento sull'analisi delle correnti postsinaptiche in condizioni di "voltage clamp" e sulla ricostruzione dei corrispondenti potenziali postsinaptici, si rimanda all'Appendice N° 4 (pag. 147).

La "sommazione algebrica" dei potenziali postsinaptici. L'integrazione sinaptica – Anche gli *IPSP*, in quanto potenziali locali, possono dar luogo a sommazione (temporale e/o spaziale), ed inoltre possono interferire negativamente con gli *EPSP* che vengano generati contemporaneamente nello stesso neurone, riducendone l'effetto depolarizzante. A questa composizione di segnali di opposta polarità si dà il nome di *sommazione algebrica* dei potenziali postsinaptici (Fig. 7.43/C).

Le fibre che convergono su un singolo neurone possono essere numerosissime, ed il numero dei contatti sinaptici unitari (alcuni dei quali saranno eccitatori, altri inibitori) sulla sua membrana somato-dendritica può essere talmente elevato da ricoprire l'intera superficie come un "mosaico". Data la frequenza solitamente elevata con la quale essi vengono attivati, è evidente che il potenziale di membrana di un neurone centrale rifletterà in ogni istante la *sommatoria* (o meglio l'*effetto medio*) di un gran numero di *EPSP* ed *IPSP*. Si può dire che la membrana somato-dendritica dei neuroni centrali è chiamata in ogni istante a "calcolare la media" di un gran numero di segnali afferenti, che possono avere ampiezza diversa e segno opposto.

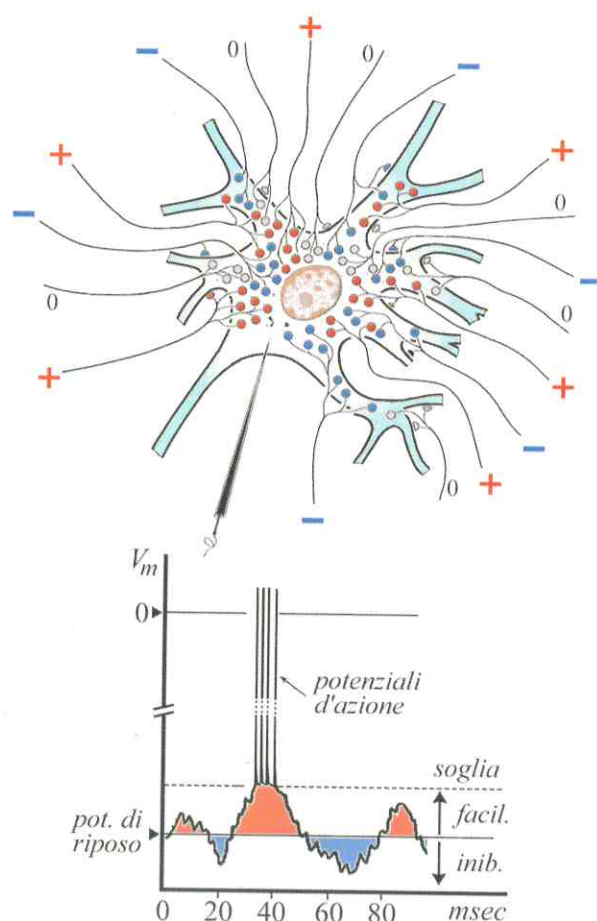


Fig. 7.45 - Principio dell'integrazione sinaptica. Per la continua sommazione (temporale e spaziale) di potenziali post-sinaptici eccitatori ed inibitori, il potenziale di membrana di un neurone fluttua continuamente, in condizioni stazionarie, attorno al suo valore di riposo. Quando prevalgono gli EPSP, il neurone è facilitato (*aree rosse*) perché il potenziale di membrana sale verso la soglia di scarica ed eventualmente la raggiunge; quando invece prevalgono gli IPSP, il potenziale di membrana si allontana dalla soglia ed il neurone è inibito (*aree blu*).

A questa "operazione" svolta dalla membrana somato-dendritica dei neuroni centrali si dà il nome di *integrazione sinaptica*, perché richiama il calcolo del valor medio di una qualunque funzione variabile nel tempo, che richiede l'integrazione matematica della funzione.

E' allora evidente che, se la membrana somato-dendritica è sottoposta ad un continuo "bombarda-

mento" di "input" sinaptici (Fig. 7.45), il potenziale di membrana subirà delle continue *oscillazioni*, a seconda che in ogni istante prevalga l'azione delle sinapsi eccitatorie o di quelle inibitorie. Quando prevalga l'azione delle sinapsi *eccitatorie*, il potenziale di membrana si sposterà verso la soglia e, se questa viene raggiunta e superata, si avrà l'insorgenza di uno o più potenziali d'azione. Per converso, quando prevalga l'azione delle sinapsi *inibitorie*, il potenziale di membrana si allontanerà dalla soglia, rendendo meno eccitabile il neurone post-sinaptico.

Più schematicamente si può dire che in condizioni stazionarie, per effetto dell'integrazione sinaptica, il neurone *oscilla statisticamente* tra due stati, storicamente denominati *stato eccitatorio centrale* e *stato inibitorio centrale*: nel primo l'insorgenza dei potenziali d'azione è facilitata, mentre è sfavorita nel secondo.

L'insorgenza dei potenziali d'azione nei neuroni centrali – Un problema di grande interesse per la fisiologia dei centri nervosi (*) è la precisa regione del neurone dove insorge il potenziale d'azione.

Un gran numero di evidenze sperimentali permettono di individuare tale regione nel tratto iniziale dell'assone, comprendente il suo *cono di emergenza* dal soma ("axon hillock") ed il *segmento iniziale* ("initial segment" o IS, non ancora ricoperto dalla guaina mielinica), che gli fa seguito. Il tratto iniziale dell'assone presenta infatti una soglia di eccitamento nettamente inferiore (di 2-3 volte) a tutte le altre regioni del neurone, non solo perché in questo "imbuto cellulare" le correnti elettrotoniche generate dall'attivazione delle sinapsi somato-dendritiche convergono con la massima densità, ma anche (e soprattutto) perché nella sua mem-

(*) Anche dal punto di vista storico; questo problema (posto da Sir John Eccles e Coll.) segna infatti l'inizio della moderna Neurofisiologia.

(2*) Il segmento iniziale è infatti l'"encoder" del neurone, perché è il luogo ove gli EPSP vengono "codificati" in una scarica ripetitiva di potenziali d'azione, la cui frequenza riflette l'intensità dell'attivazione sinaptica. Questa codificazione richiede, come spiegato a pag. 133, l'interazione dei canali del Na^+ con almeno due tipi di canali ionici per il K^+ : i canali K_p , sprovvisti di inattivazione, ed i canali K_A , che invece presentano una inattivazione voltaggio-dipendente.

brana si raggiunge la massima densità di canali voltaggio-dipendenti del Na^+ .

Il tratto iniziale dell'assone è quindi la "sede naturale" d'insorgenza dei potenziali d'azione (2* pag. 67), che da qui lasciano immediatamente il soma neuronale, propagandosi a grande velocità lungo la fibra nervosa. Si è tuttavia osservato che i potenziali d'azione insorti nel segmento iniziale si propagano anche "per via retrograda" al soma ed ai dendriti del neurone, percorrendo con relativa lentezza le ristrette aree membranali interposte tra i contatti sinaptici. Queste infatti non solo sono provviste di canali del Na^+ , ma anche di canali voltaggio-dipendenti del Ca^{2+} .

L'intera sequenza è illustrata schematicamente in Fig. 7.46, dove s'immagina di registrare, tramite un microelettrodo infisso nel soma, il potenziale transmembranario di un neurone centrale durante un'attivazione sinaptica sovraliminare. Si può vedere che, nella fase di depolarizzazione del potenziale d'azione (dopo la somma degli EPSP) si succedono due tratti caratterizzati da una diversa pendenza: il primo tratto (IS) corrisponde all'attivazione del segmento iniziale, mentre il secondo tratto (SD) corrisponde all'invasione retrograda del soma e dei dendriti; l'angolatura che separa i due tratti esprime il ritardo con cui il potenziale d'azione interessa in successione queste due formazioni.

L'invasione retrograda del soma e dei dendriti da parte del potenziale d'azione, una volta che questo sia insorto nel segmento iniziale, ha il significato di "informare" tutte le sinapsi (eccitatorie o inibitorie, somatiche o dendritiche) che il neurone ha raggiunto la soglia di eccitamento, e di "resettare" il potenziale della membrana postsinaptica ad uno stesso valore. Inoltre, considerando che l'invasione retrograda della membrana somato-dendritica comporta un transiente aumento della concentrazione intracellulare degli ioni Ca^{2+} , essa lascia dietro di sé una "traccia mnestica" che può essere di grande importanza nei processi di apprendimento che hanno luogo nelle sinapsi centrali.

Un altro punto di grande interesse, correlato all'esistenza di una regione critica del neurone (il tratto iniziale dell'assone) nella quale il potenziale d'azione può insorgere o non insorgere per effetto

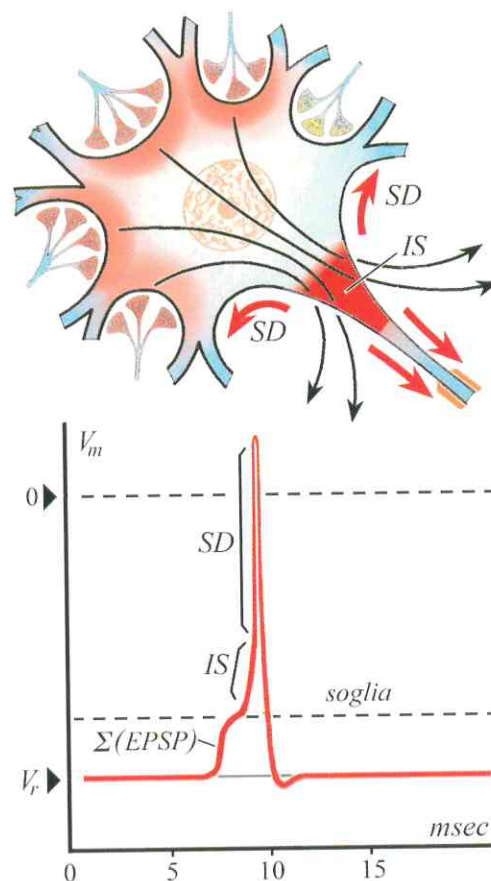


Fig. 7.46 – Nella vignetta, le frecce nere indicano le correnti elettrotoniche originate dall'attivazione di un gruppo di sinapsi eccitatorie, disposte sul soma di un neurone. Esse attraversano la membrana del cono di emergenza e del segmento iniziale in direzione uscente (depolarizzante), e s'immagina che vi generino un potenziale d'azione (IS). Le frecce rosse indicano che il potenziale d'azione IS si propaga verso la periferia lungo la fibra nervosa, ma si propaga anche "in retromarcia" al soma ed ai dendriti, generandovi il potenziale d'azione SD. Il tracciato in basso è la registrazione del potenziale di membrana del neurone: dopo la depolarizzazione sovraliminare imposta dalla somma degli EPSP; nella fase iniziale del potenziale d'azione si riconoscono due tratti con pendenza diversa (IS e SD), corrispondenti rispettivamente all'attivazione del segmento iniziale e della membrana somato-dendritica.

anche di piccole variazioni istantanee del potenziale di membrana, riguarda la diversa efficacia delle correnti elettrotoniche, a seconda che esse vengano generate dall'attivazione di sinapsi (eccit-

tatorie o inibitorie) situate più o meno vicino a questa regione. E' evidente che le sinapsi *somatiche*, ed in particolare quelle situate in prossimità del cono di emergenza dell'assone, avranno una maggiore efficacia, mentre le sinapsi *dendritiche*, essendo più lontane, avranno un'influenza minore per il maggior decadimento elettrotonico delle correnti che esse generano.

Si è osservato a questo riguardo che i contatti sinaptici sui neuroni dei centri nervosi non sono disposti in modo casuale, ma secondo un criterio che è correlato alla loro funzione: tra le sinapsi somatiche hanno larga prevalenza quelle inibitorie, mentre tra le sinapsi dendritiche hanno larga prevalenza quelle eccitatorie. Se ne deduce che, nell'economia del sistema nervoso, l'informazione che serve per *frenare* (quando ciò sia necessario) le scariche neuronali ha carattere prioritario rispetto a quella che serve per generarle.

A questa considerazione di carattere generale, si aggiunga che molto spesso l'attivazione delle sinapsi inibitorie non mette capo ad una sensibile iperpolarizzazione (per il fatto che E_{Cl} è sempre molto vicino - e può addirittura essere uguale - al potenziale di riposo), ma consiste semplicemente in un aumento di conduttanza (g_{Cl}) che "cortocircuita" le correnti eccitatorie, riducendone l'efficacia. E' allora evidente che questo "shunt" elettrico prodotto dalle sinapsi inibitorie potrà essere efficace soltanto se queste sono interposte tra le sinapsi eccitatorie e la zona d'innescio dei potenziali d'azione (com'è nella realtà), mentre sarebbe completamente inutile nel caso opposto.

I potenziali postsinaptici delle sinapsi "lente"

- In contrasto alle sinapsi "rapide", nelle quali l'unico effetto del neurotrasmettitore è quello di combinarsi con recettori-canale e di determinarne direttamente il passaggio dallo stato chiuso a quello aperto, nelle sinapsi "lente" il neurotrasmettitore si combina con *recettori metabotropici* i quali, essendo funzionalmente *accoppiati a proteine-G trimeriche* ("GPCR"), aprono la strada al vasto mondo delle reti di comunicazione intracellulare.

Tra i possibili bersagli molecolari delle vie di comunicazione intracellulare attivate a livello sinaptico, stanno molto spesso (ma non sempre) dei *canali ionici* i quali, operati dal neurotrasmettitore per una via che questa volta è *indiretta*, vengono indotti a passare dallo stato chiuso a quello aperto (spesso viceversa). Si verificheranno allora delle variazioni del potenziale di riposo della membrana postsinaptica che richiamano, a seconda che la corrente postsinaptica "netta" abbia direzione "entrante" o "uscente", gli EPSP o gli IPSP delle sinapsi "rapide". Di solito le "vie" attivate dalle proteine-G influenzano contemporaneamente ed in modo opposto i canali del K^+ e del Ca^{2+} : quando l'effetto elettrico finale deve essere inibitorio, i canali al K^+ vengono attivati e quelli del Ca^{2+} inibiti, e viceversa quando l'effetto elettrico finale deve essere eccitatorio.

Sono state identificate tre possibili vie di accoppiamento tra recettori metabotropici e canali ionici:

a) un'azione mediata *"direttamente"* dalla *proteina-G trimerica* (piuttosto rara);

b) un'azione mediata *dal secondo messaggero* (molto frequentemente l'AMPc, ma può anche essere il GMPc), la cui concentrazione intracellulare aumenta (o diminuisce) per effetto dell'azione (eccitatoria o inibitoria, a seconda dei casi) esercitata dalla proteina-G trimerica sull'enzima che lo produce (l'AC nel caso dell'AMPc) (*);

c) la fosforilazione del canale ionico, mediata

(*) I canali CNGC (Vol.II, pag. 126) sono tipici esempi di bersagli molecolari di questa "via" di accoppiamento tramite secondo messaggero.

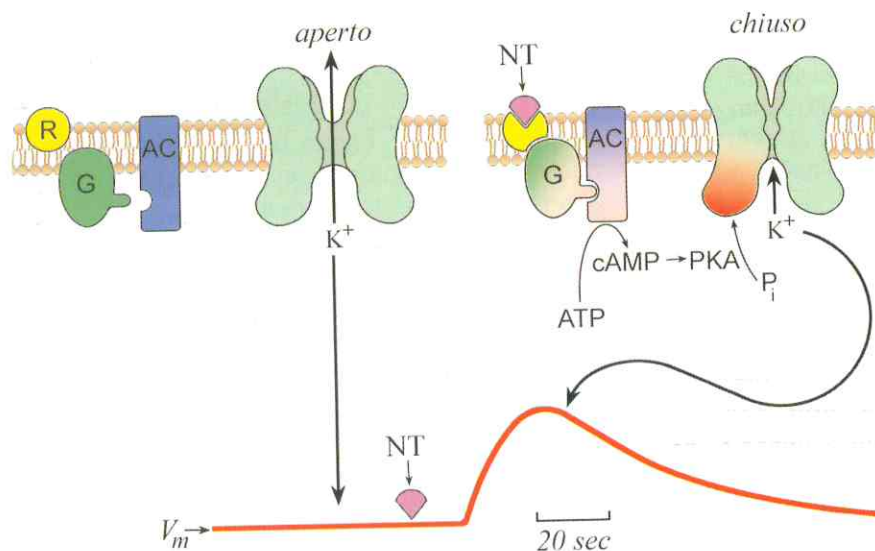


Fig. 7.47 – Gli EPSP delle sinapsi "lente" sono il prodotto dell'interazione del neurotrasmettitore (NT) con recettori metabotropici (R) accoppiati indirettamente con canali ionici, quasi sempre per il K^+ o per il Ca^{2+} . Tra le varie possibilità, la figura illustra il caso (tutt'altro che infrequente) di un lento EPSP determinato dalla chiusura di canali ionici selettivi per il K^+ per effetto della loro fosforilazione (catalizzata dalla PKA, attivata dal neurotrasmettitore con l'intervento di una proteina-G). Si noti che la scala dei tempi (20 sec) è superiore di almeno tre ordini di grandezza a quella che si applicherebbe allo sviluppo temporale di un EPSP generato in una sinapsi "rapida".

da una *protein-chinasi* (molto frequentemente la PKA, ma può anche essere la PKC) che è stata attivata dal secondo messaggero. Quest'ultima modalità di accoppiamento funzionale tra recettori metabotropici e canali ionici (*) è certamente la più diffusa, e comprende la possibilità di modulare il "gating" dei canali voltaggio-dipendenti (del Na^+ , del Ca^{2+} e del K^+).

A prescindere dallo specifico meccanismo molecolare con cui si realizza l'accoppiamento (indiretto) tra neurotrasmettitore e canali ionici della membrana postsinaptica, è evidente che esso avrà *carattere diffusionale ed enzimatico*, quindi occorrerà del tempo affinché l'effetto del "messaggero" intracellulare (qualunque ne sia la natura) insorga, si sviluppi ed infine regredisca. Ne viene che i potenziali postsinaptici prodotti dall'attivazione dei recettori metabotropici (un esempio è riportato in Fig. 7.47) sono tipicamente più lenti nel manifestarsi e durano molto più a lungo di quelli prodotti dall'attivazione dei recettori ionotropici.

Si vedrà tra breve che i *neurotrasmettitori "classici"* (l'Ach, il GABA, l'ac. glutamico) dispongono sia dell'uno che dell'altro tipo di recettore (più frequentemente in sinapsi diverse, ma anche nella

stessa sinapsi); essi perciò possono produrre sia un risposta *rapida* (i "tipici" EPSP ed IPSP, sulla scala delle decine di millisecondi) che una *risposta lenta* (dalle decine di secondi alle ore). Le *catecolamine* ed i *neuropeptidi* invece, che non dispongono di recettori ionotropici, danno solo risposte lente.

Per la loro intrinseca lentezza, le risposte mediate da recettori metabotropici possono essere influenzate fortemente dalla *desensitizzazione*: un processo comune a tutti i recettori chimici delle membrane cellulari (Vol. II, pag. xx), che in questo caso tende a far decadere nel tempo la risposta elettrica al neurotrasmettitore (o a suoi agonisti) anche se questi continuano ad agire nello spazio sinaptico.

Per un approfondimento sulla desensitizzazione dei recettori postsinaptici, si rimanda all'Appendice N° 7 (pag. 171).

(*) che comporterà l'intervento di opportune *protein-fosfatasi* per de-fosforilare i canali ionici, quando si tratti di ritornare alla condizione di partenza.

La regolazione presinaptica della trasmissione

Una terminazione presinaptica è stata finora descritta come un apparato che traduce l'arrivo di potenziali d'azione in rilascio di neurotrasmettitore in modo invariante; nel senso che, essendo costante l'ampiezza dei potenziali d'azione, il loro effetto sul rilascio del neurotrasmettitore dovrebbe dipendere solo dalla loro frequenza. Ciò nella realtà non è sempre vero perché, sia nel sistema nervoso degli Invertebrati che dei Vertebrati, nelle terminazioni assinali presinaptiche l'efficacia dei potenziali d'azione in arrivo sul rilascio del neurotrasmettitore può essere variata da una potente *regolazione presinaptica* della trasmissione.

La via delle sinapsi asso-asoniche -

L'organizzazione neuronica del tipo più conosciuto di regolazione presinaptica è schematizzato in Fig. 7.48 e richiede la presenza, oltre alla terminazione presinaptica primaria (A, oggetto di regolazione) ed attivatrice di un neurone postsinaptico (N), di una terminazione assonica regolatrice (B), che forma con la prima un contatto sinaptico asso-asonico. E' evidente che la terminazione A, presinaptica per il neurone finale N, è in effetti "postsinaptica" per quella regolatrice B.

A seconda dei casi, i potenziali d'azione che giungono alla terminazione regolatrice (B) possono *accrescere* o *diminuire* la liberazione del neurotrasmettitore da parte della terminazione primaria (A), e quindi *facilitare* o *inibire* (a seconda della natura del neurotrasmettitore operante alla sinapsi primaria) l'attivazione del neurone finale (N). La Fig. 7.48 illustra il caso più frequente nel sistema nervoso dei Vertebrati: quello della *inibizione presinaptica*, che interviene ad esempio nella regola-

(*) Il GABA ad esempio esplica un'*inibizione* presinaptica attivando sia i recettori $GABA_A$ che i recettori $GABA_B$: i primi portano in apertura i canali ionici del Cl^- e i secondi (per la via delle Pr-G) canali ionici del K^+ , ambedue azioni che accrescono la "fuga" delle correnti elettrotoniche dalla terminazione e deprimono la liberazione di neurotrasmettitore.

La serotonina (5HT) può esplicare invece una facilitazione presinaptica portando nello stato di chiusura canali del K^+ (del gruppo GIRK) per la via fosforilativa mediata dall'AMPc, quindi diminuendo la "fuga" delle correnti ed aumentando la liberazione di neurotrasmettitore.

zione di molti centri riflessi del midollo spinale. Soprattutto negli Invertebrati tuttavia è frequente anche la *facilitazione presinaptica*, ad esempio nei neuroni motori dei gangli nervosi del mollusco Aplysia.

I meccanismi che sono alla base della facilitazione o dell'inibizione presinaptica possono essere molto diversificati nei dettagli molecolari, ma tutti riguardano la *regolazione dell'ingresso* (o dell'*efficacia*) nella terminazione sinaptica primaria, quando questa sia attivata dall'arrivo di un potenziale d'azione, degli ioni Ca^{2+} : il fattore immediato da cui dipende la liberazione del neurotrasmettitore (*).

La via dei recettori presinaptici - Con l'affinarsi delle tecniche di riconoscimento e di localizzazione dei recettori specifici per i diversi neurotrasmettitori, sono divenute sempre più numerose le osservazioni che recettori per i neurotrasmettitori, oltre che nella membrana postsinaptica, si trovano, sebbene meno numerosi, anche nella membrana delle terminazioni assoniche presinaptiche, disposti più o meno vicino alla zona di contatto. Dimostrati inizialmente nelle sinapsi neuromuscolari ed identificati come tipici recettori nicotinici (pag. 78), sono stati poi ritrovati anche in molti tipi di sinapsi del sistema nervoso centrale (*).

La funzione dei recettori presinaptici è ancora oggetto di varie interpretazioni:

- è certo che i recettori presinaptici (a differenza di quelli postsinaptici) non intervengono direttamente nella trasmissione delle sinapsi in cui si trovano, anche se la loro attivazione può facilitarla o deprimerla; essi operano quindi da "modulatori presinaptici" della trasmissione sinaptica;

- vi è sicuramente diversità nel significato funzionale dei recettori presinaptici quando essi siano dello stesso tipo di quelli postsinaptici (e definiti perciò "autorecettori", come avviene nelle sinapsi neuromuscolari) e quelli invece che sono *diversi* da quelli postsinaptici (e definiti "eterorecettori",

(*) La presenza dei recettori presinaptici è stata inizialmente ipotizzata osservando l'aumento di frequenza dei mEPSPs evocato da droghe mimetiche del neurotrasmettitore dopo aver soppresso i potenziali d'azione (per azione della TTX). Successivamente è venuta la loro marcatura con anticorpi fluorescenti.

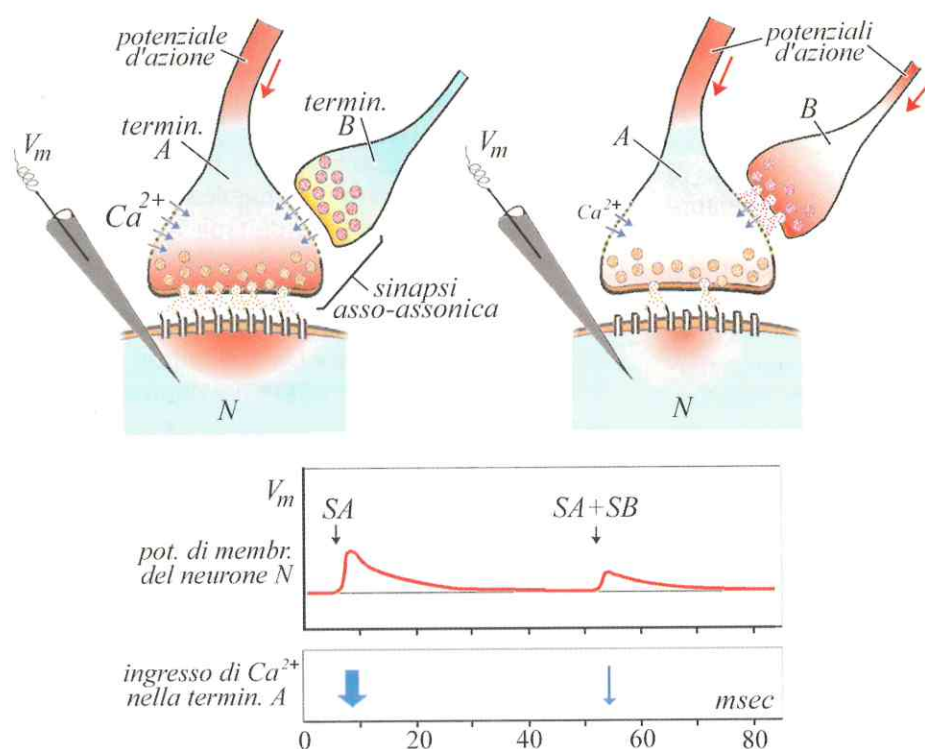


Fig. 7.48 – Le vignette illustrano in modo schematico il principio dell'inibizione presinaptica. Nei riquadri in basso, SA ed SB indicano gli stimoli sopraliminari applicati rispettivamente all'assone che fa capo alla terminazione A ed alla terminazione B. Il diverso spessore delle frecce azzurre indica la diversa intensità della corrente entrante di Ca^{2+} nella terminazione A (quindi la diversa quantità di neurotrasmettitore rilasciato sul neurone N).

come avviene frequentemente nelle sinapsi interneuriche).

Più facile da interpretare è indubbiamente la funzione degli autorecettori. Si ritiene che, quando una sinapsi viene attivata intensamente, una parte delle molecole del neurotrasmettitore rilasciato possa sfuggire dalla fessura sinaptica, agendo in modo retrogrado sugli autorecettori presenti nella membrana della terminazione presinaptica. La loro azione in genere facilita la depolarizzazione della terminazione presinaptica, potenziando (per "feed back" positivo) il rilascio di neurotrasmettitore e la prontezza della trasmissione (*). Il "feedback" positivo mediato dagli autorecettori non assume però mai carattere "distruttivo" della riserva di neurotrasmettitore, sia perché gli autorecettori sono relativamente pochi, sia perché vanno incontro ad una precoce desensitizzazione che pone un limite alla loro azione.

(*) Questo effetto parteciperebbe in modo significativo al "potenziamento post-tetnico" della trasmissione sinaptica (pag. 122).

Più difficile è invece interpretare il significato funzionale degli eterorecettori, che sono numerosi (accanto ad autorecettori altrettanto numerosi) nel sistema nervoso centrale. Il caso più studiato è quello delle numerose sinapsi centrali "non colinergiche" (ad es. glutamatergiche o dopaminergiche) che presentano però recettori presinaptici per l'acetilcolina (di tipo nicotinico); si è osservato che questa facilita la liberazione del loro specifico neurotrasmettitore. Dato che questa acetilcolina non può che essere di origine sinaptica, si ritiene che l'attivazione delle sinapsi colinergiche di un centro nervoso possa facilitare, per diffusione "paracrina", la trasmissione in sinapsi di natura diversa, che possiedono però eterorecettori per l'acetilcolina. In accordo con questo tipo di interazione è l'osservazione sperimentale che, nelle sinapsi dopaminergiche del corpo striato, il rilascio della dopamina è fortemente aumentato dall'azione della nicotina, potente agonista dell'acetilcolina sugli eterorecettori nicotinici; un effetto analogo è stato dimostrato anche sulle sinapsi GABA-ergiche dei nuclei cere-

bellari.

Lo studio dei recettori presinaptici ha proposto un nuovo modo di interpretare le basi neurologiche dei sistemi neurochimici del sistema nervoso centrale. Essa ha svelato che, a fianco delle tradizionali *vie proiettive* costituite da catene di neuroni sinapticamente congiunti come nel "cablaggio" di dei circuiti elettrici ("*wiring transmission*"), esiste una modalità di comunicazione affidata alla *diffusione* negli spazi interneuronici dei neurotrasmettitori, che possono "modulare" la trasmissione sinaptica nelle catene agendo sui recettori presinaptici: una via di comunicazione "*paracrina*" ("*volume transmission*").