Formazione delle sinapsi

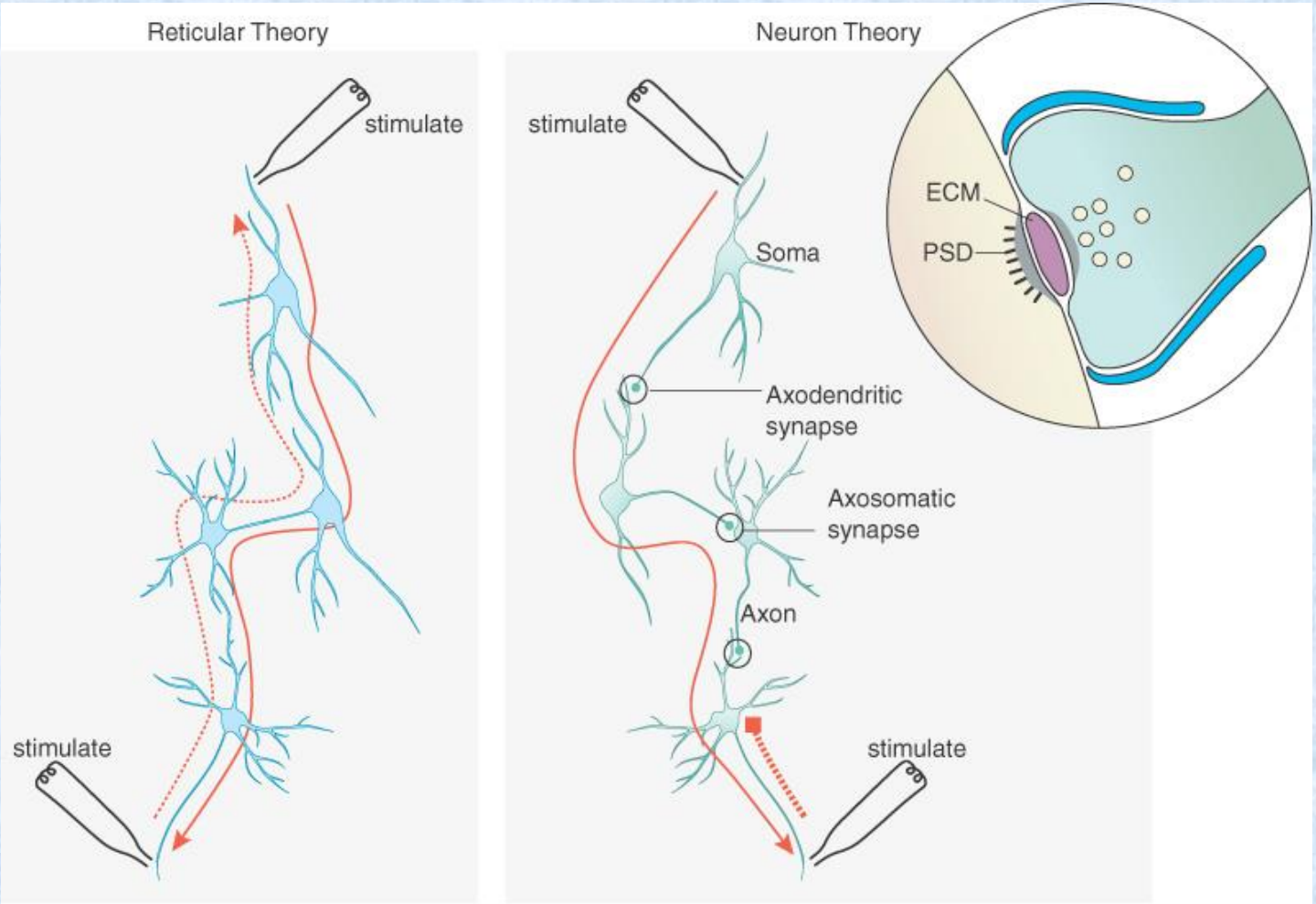
Differenziamento

IDENTITA' NEURONALE → CRESCITA ASSONALE

↓

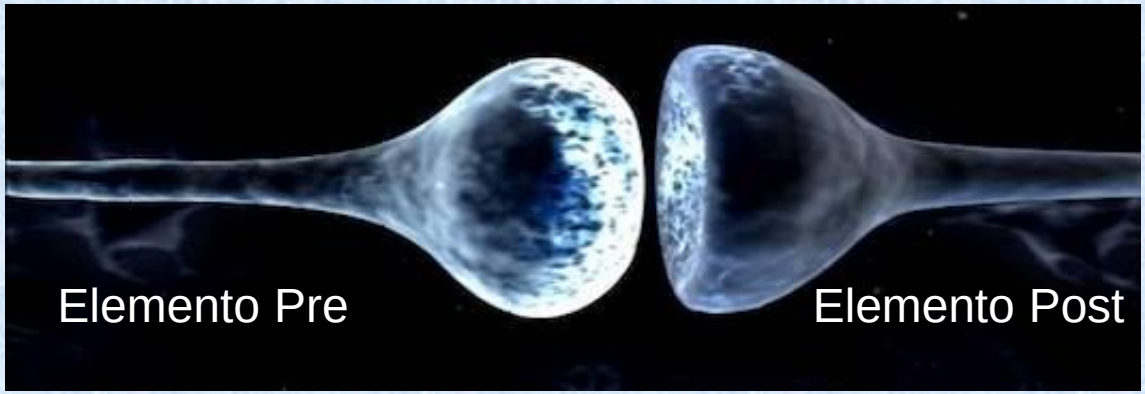
SELEZIONE BERSAGLIO

SINAPSI

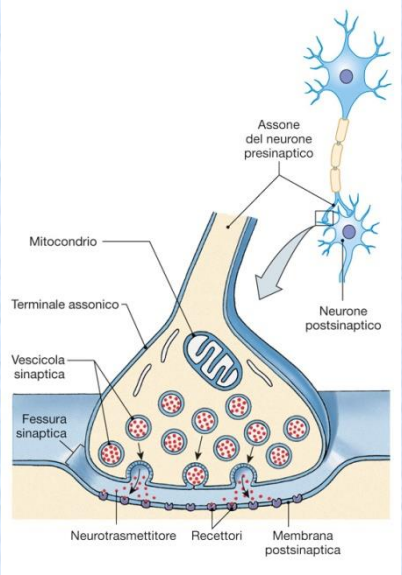


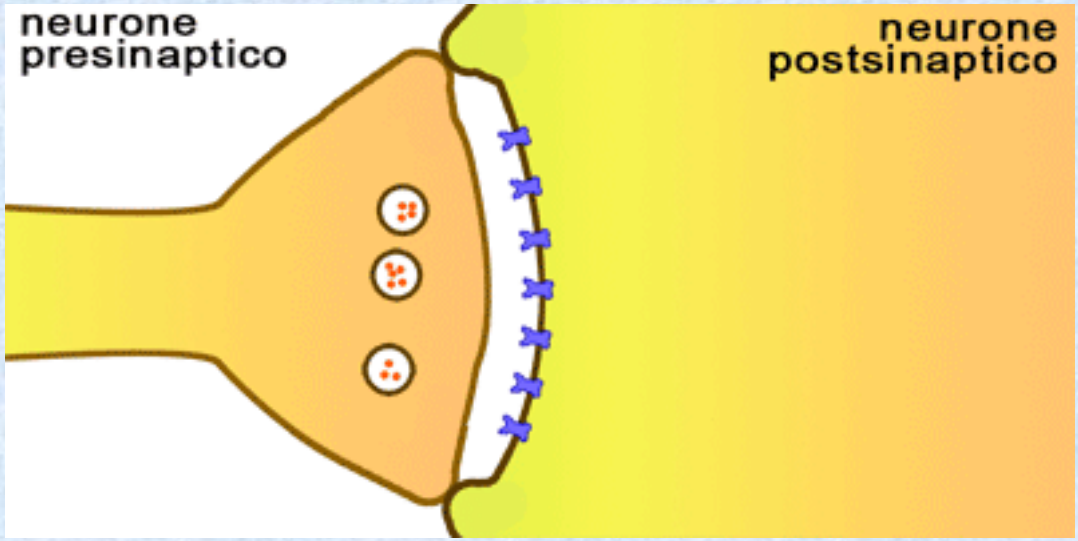
- Teoria reticolare vedeva il sistema nervoso come un sincizio in cui i segnali potevano viaggiare in entrambe le direzioni.
- Teoria neuronale riconosce il SN costituito da unità indipendenti (i neuroni) e sostiene l'ipotesi che i segnali passino da una cellula ad un'altra attraverso giunzioni specializzate: le sinapsi.

Charles Sherrington, premio Nobel per la Medicina nel 1932, coniò il termine di SINAPSI per identificare una nuova forma di comunicazione intercellulare.



Spazio sinaptico- vallo sinaptico





Tipi di sinapsi

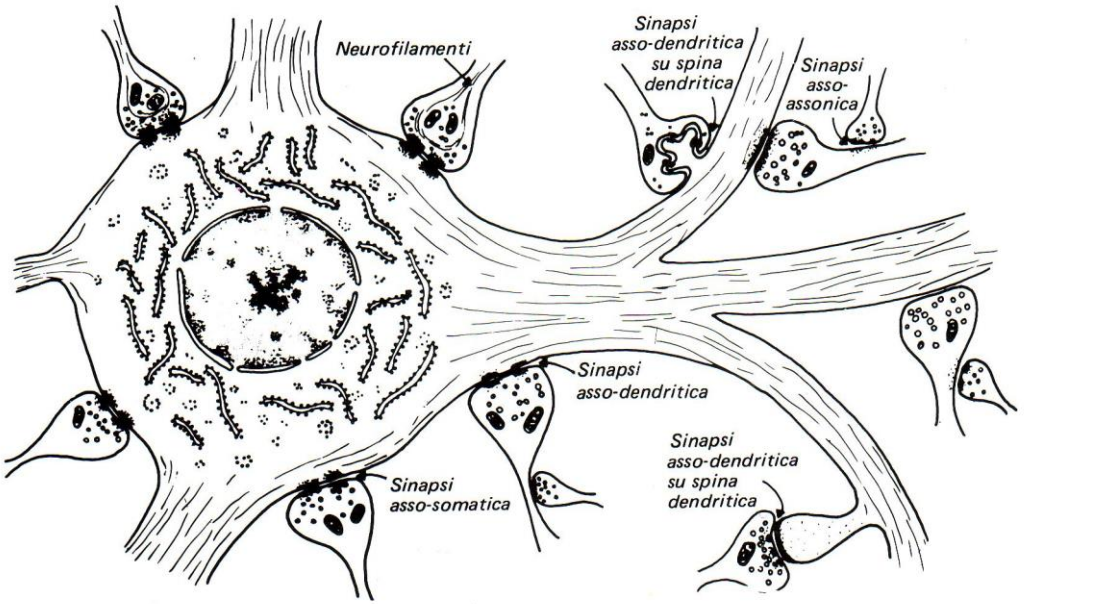
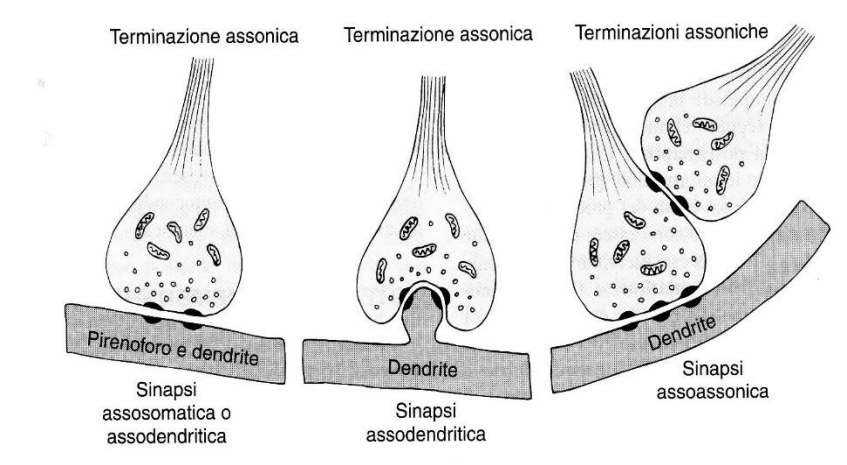


Figura 16.37.

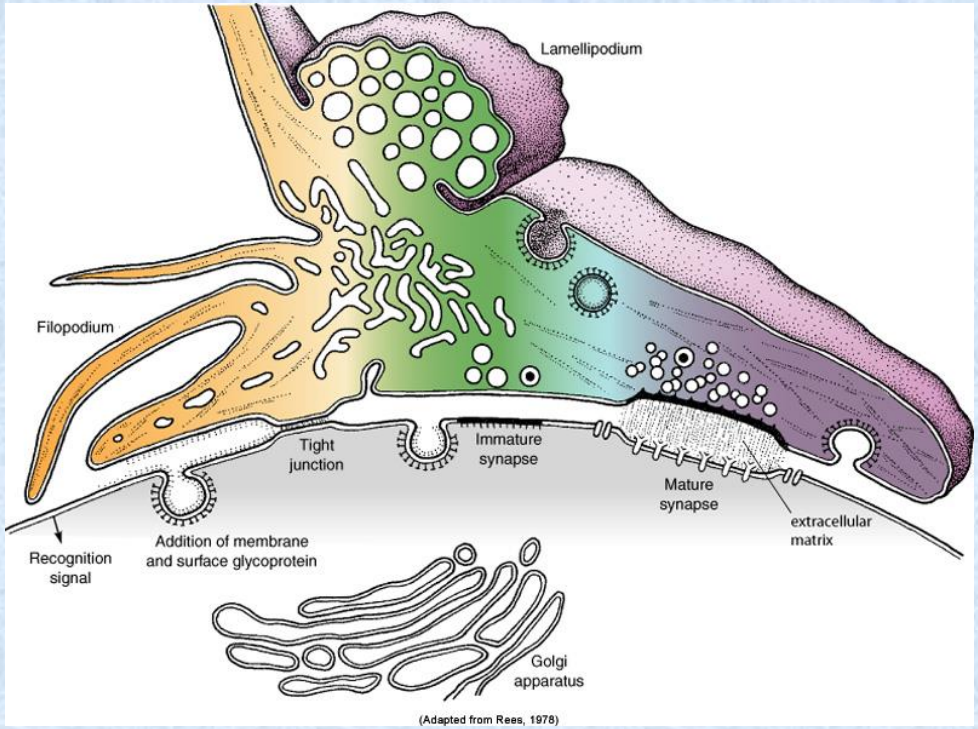
Disegno raffigurante vari tipi di sinapsi interneuroniche.

1. Asso-somatica
2. Asso-assonica
3. Asso - dendritica



a. Sinapsi eccitatorie
b. Sinapsi inibitorie

SINAPTOGENESI



Sinaptogenesi: fase di formazione delle sinapsi. Caratterizza tutta la fase che intercorre tra il primo contatto tra il cono di crescita e il proprio tessuto bersaglio.

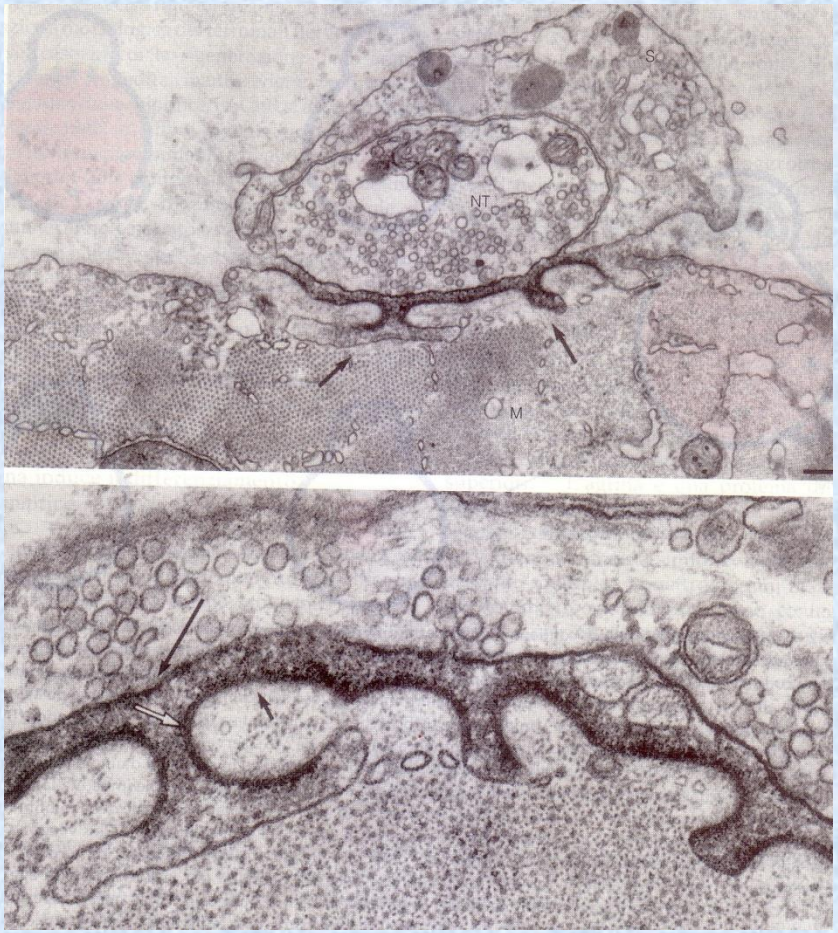
Dal primo contatto tra questi due elementi, avvengono una serie di cambiamenti che determineranno la formazione dell'elemento pre e post sinaptico.

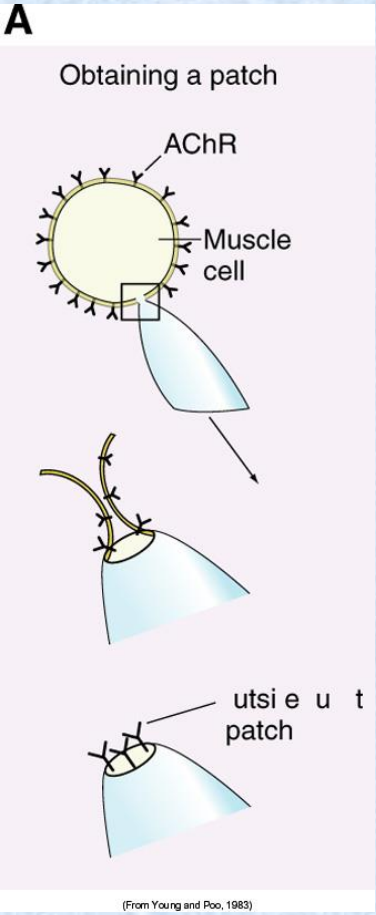
La formazione delle sinapsi dipende dai reciproci segnali che il cono di crescita e il proprio bersaglio si inviano, ma anche dai segnali provenienti dalla ECM e dalla glia adiacente.

Come studiare e come vedere una sinapsi (ogni contatto è di circa 1 μm)

??????????

- **La identificazione delle sinapsi comincia verso il 1950.**
- **Queste evidenze furono favorite dall'avvento di due nuove tecniche: la microscopia elettronica e le registrazioni intracellulari.**

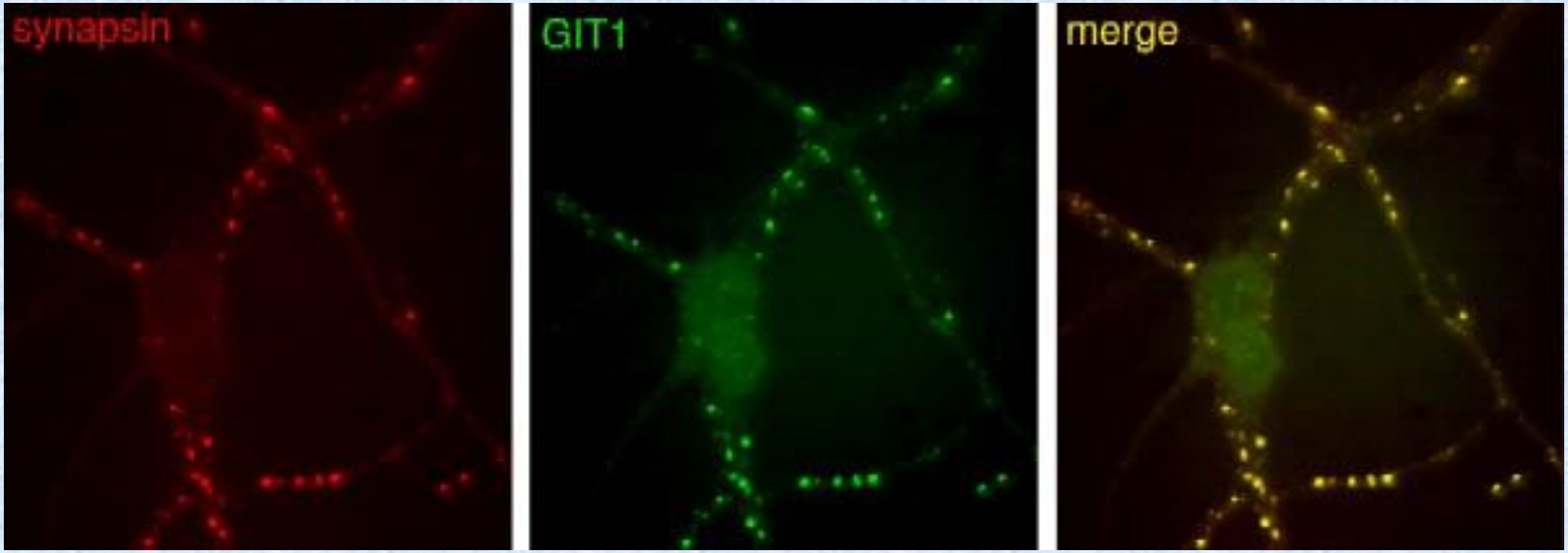


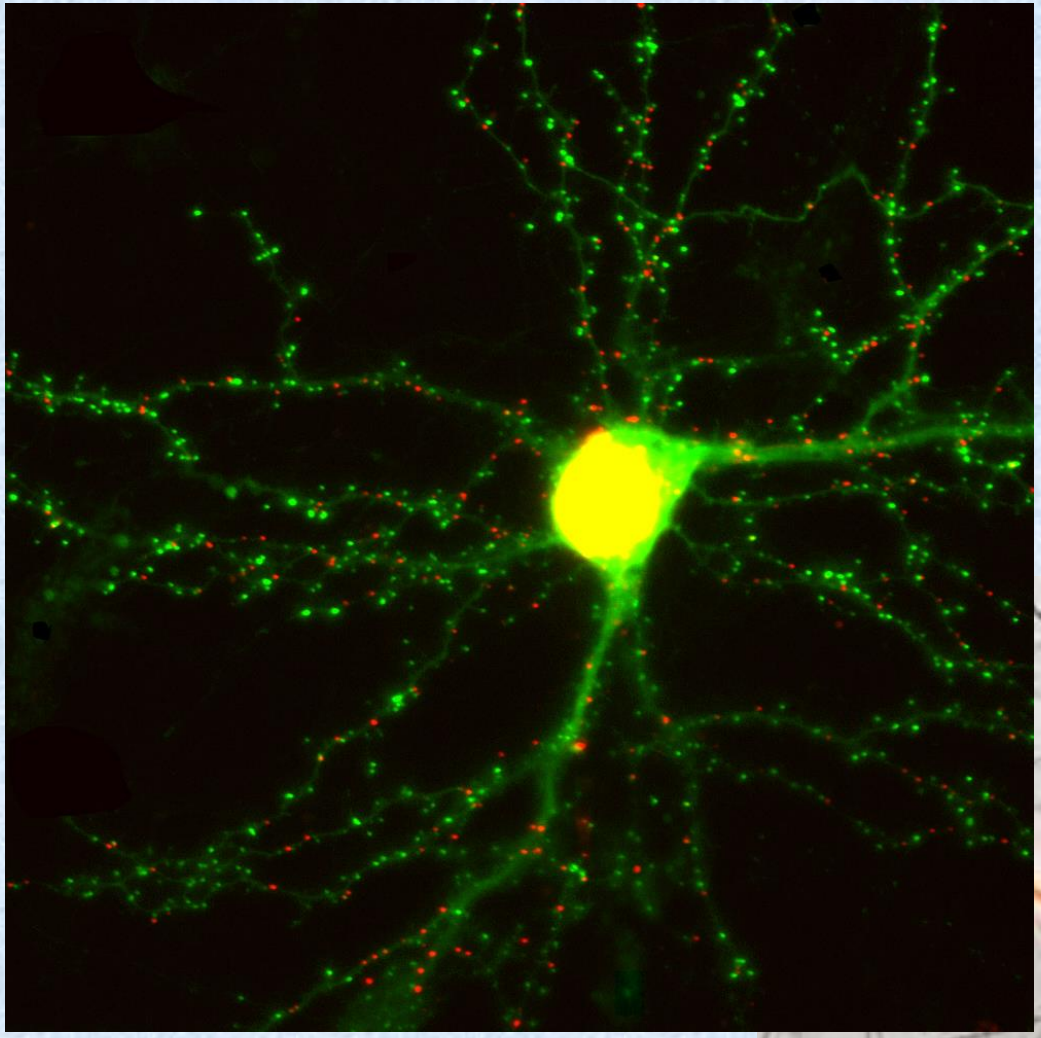


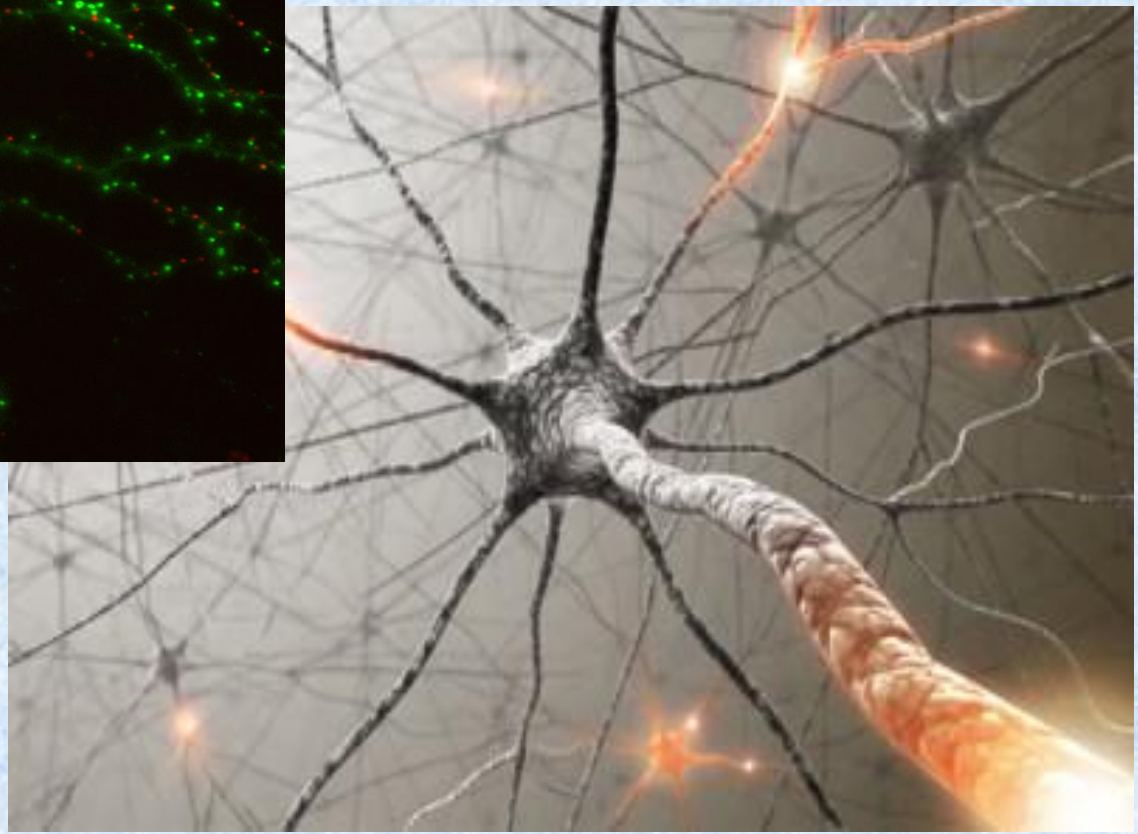
SINAPSI più studiata: giunzione nervo-muscolo (placca motrice)

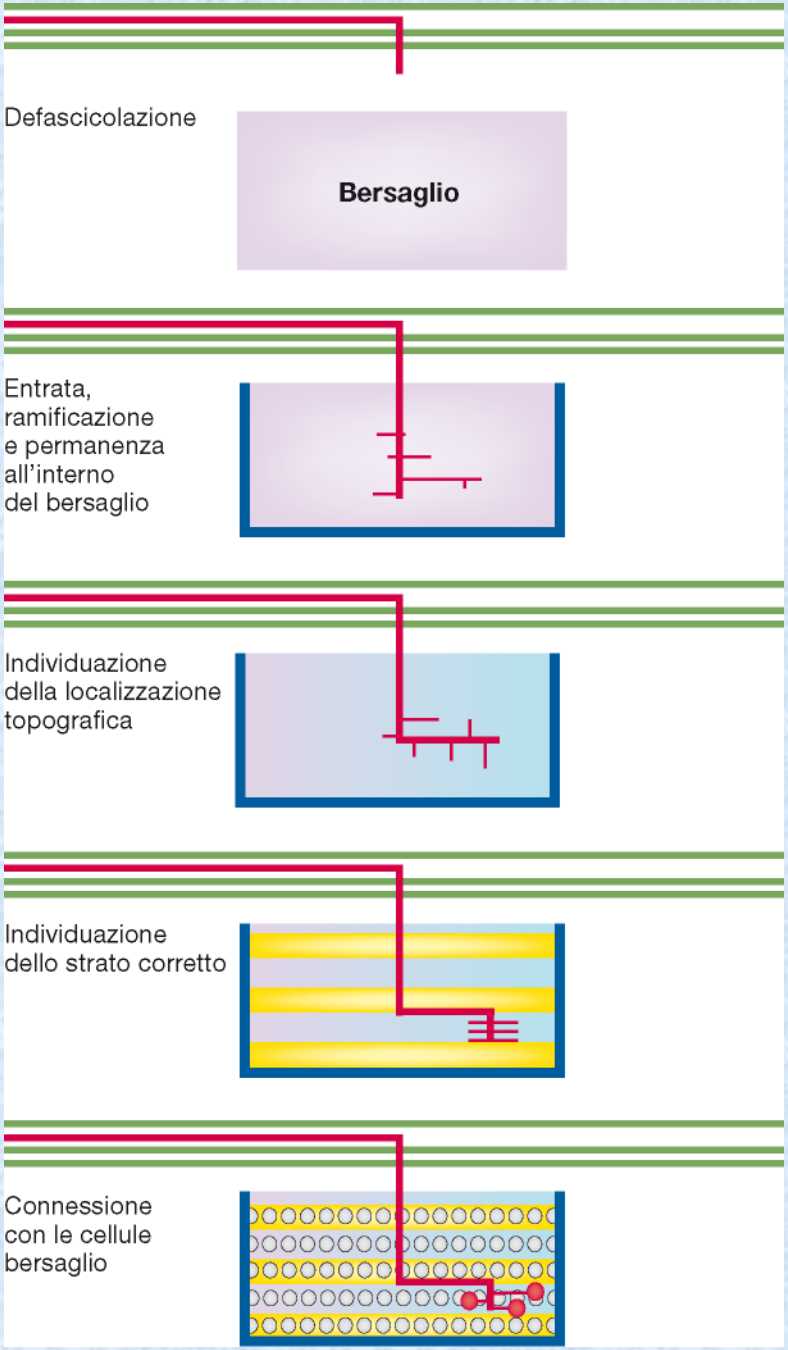
Identificazione di bottoni sinaptici

Immunocitochimica
Sinapsina- (elemento pre sinaptico)
Trasportatore Glutammato- (elemento post sinaptico)



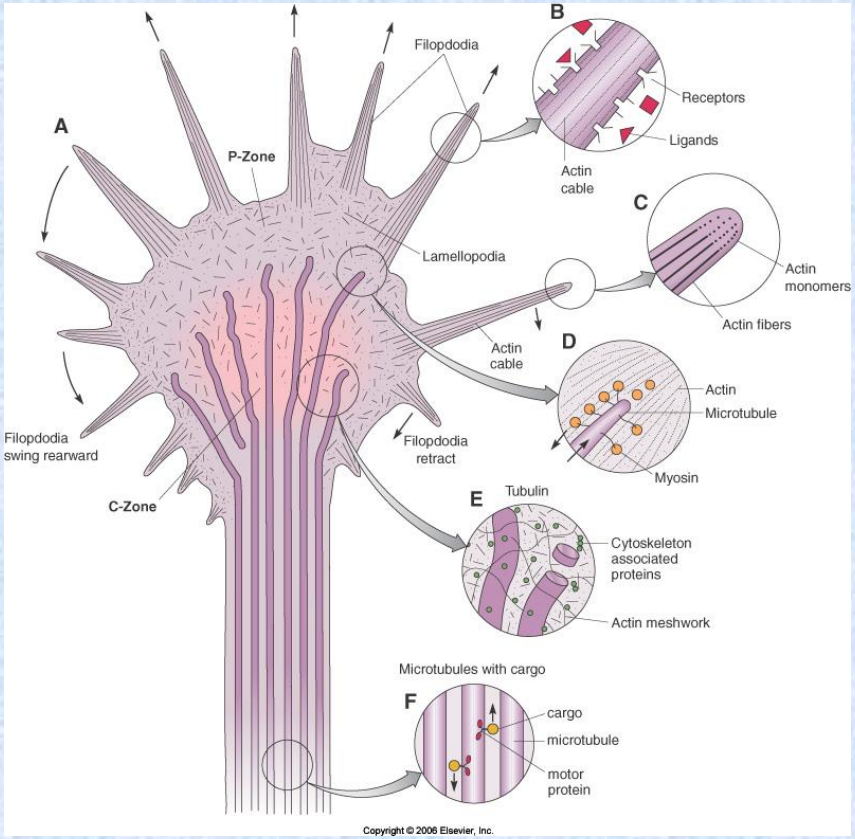


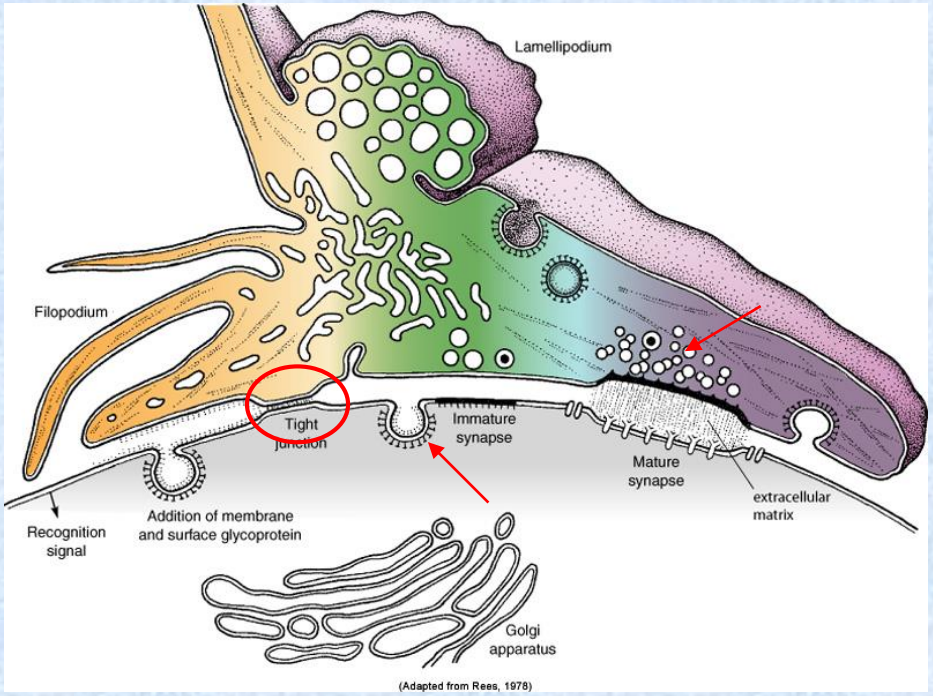




Fattori di crescita
Molecole segnale

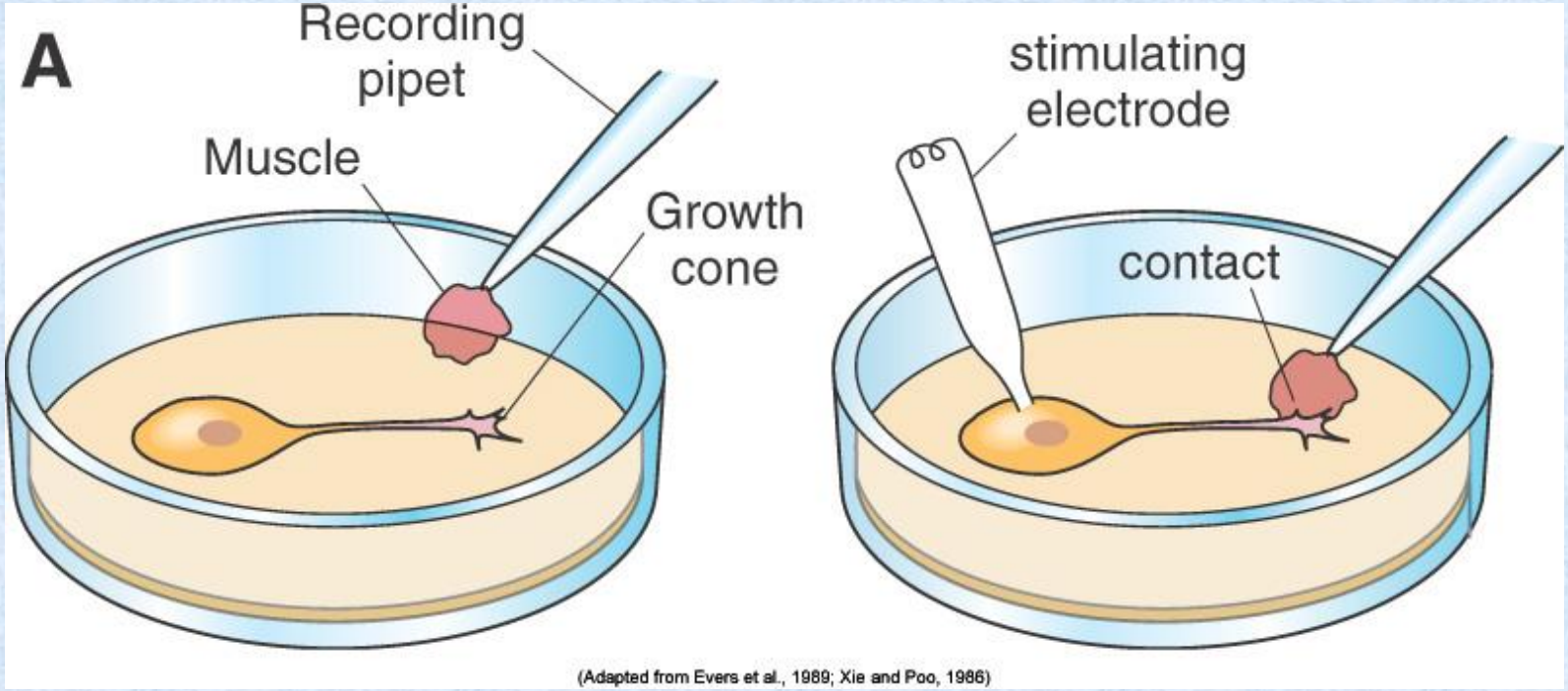
Molecole di superficie





1. Il cono di crescita, attraverso la formazione di lamellipodia, cerca l'orientamento verso il bersaglio
2. Arrivato nelle vicinanze dell'ipotetico bersaglio, e forma dei primi contatti puntinati facilitati da molecole di adesione e ritrae i lamellipodia
3. L'elemento post-sinaptico si modifica per primo, si arricchisce di vescicole che contribuiscono alla esportazione in membrana di recettori per il neurotrasmettitore
4. Nel giro di 24h dal primo contatto, anche l'elemento pre-sinaptico comincia ad accumulare vescicole

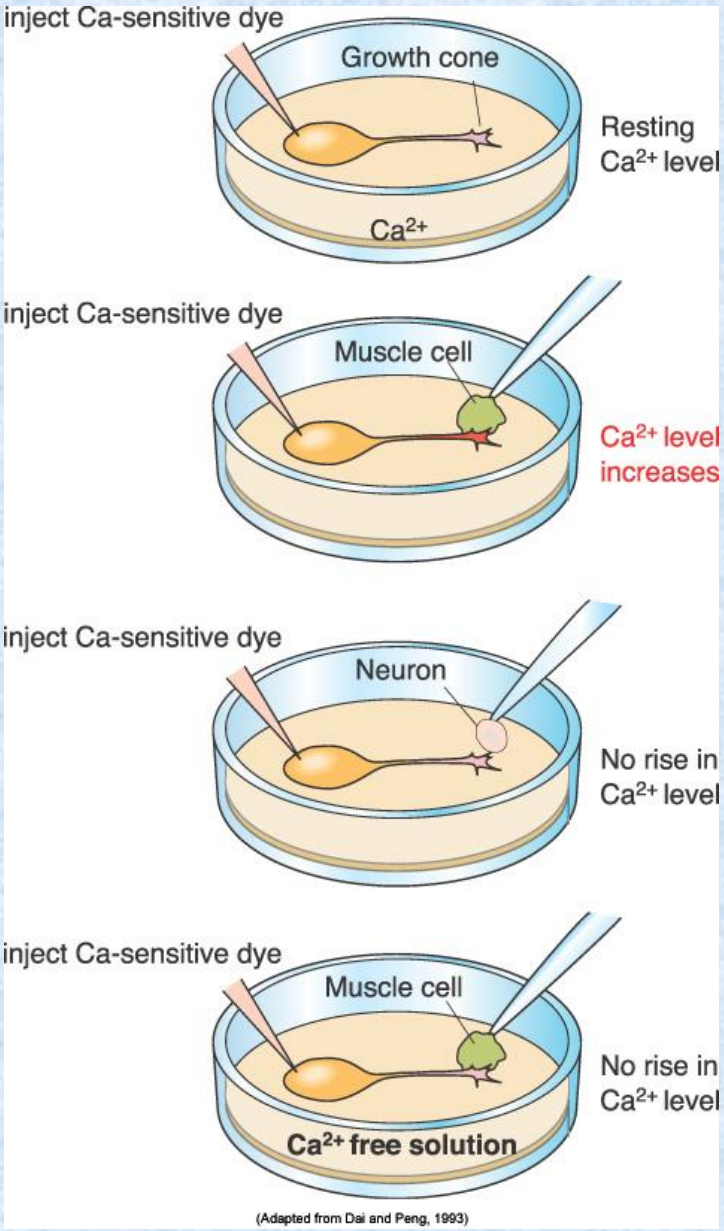
Le colture cellulari



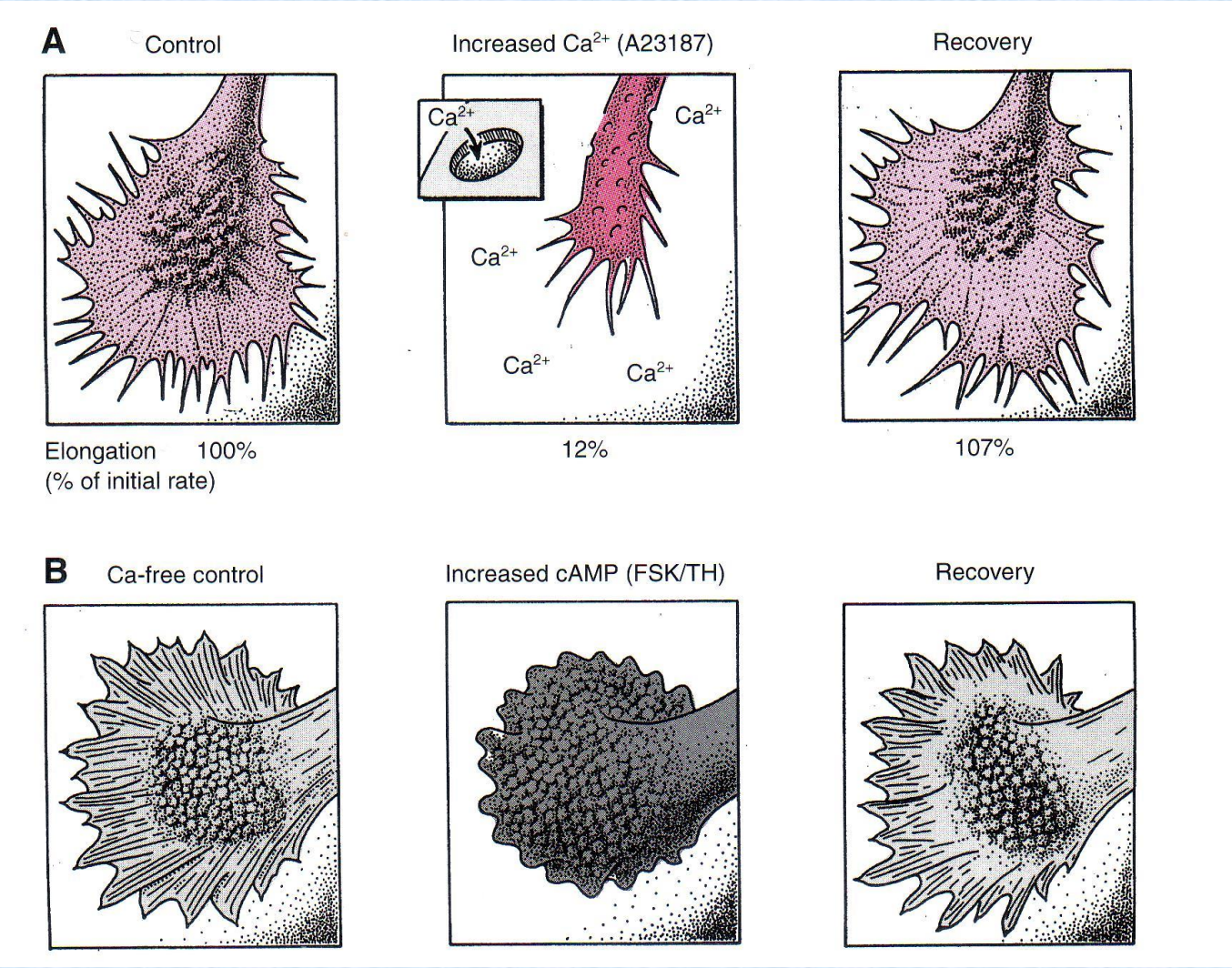
Sinaptogenesi in vitro

La prima rudimentale sinapsi ha la capacità di rilasciare il neurotrasmettitore, come suggerito da primi studi in vitro.

Questo ha suggerito che il macchinario di rilascio è già presente nell'elemento pre-sinaptico prima che la sinapsi si formi.



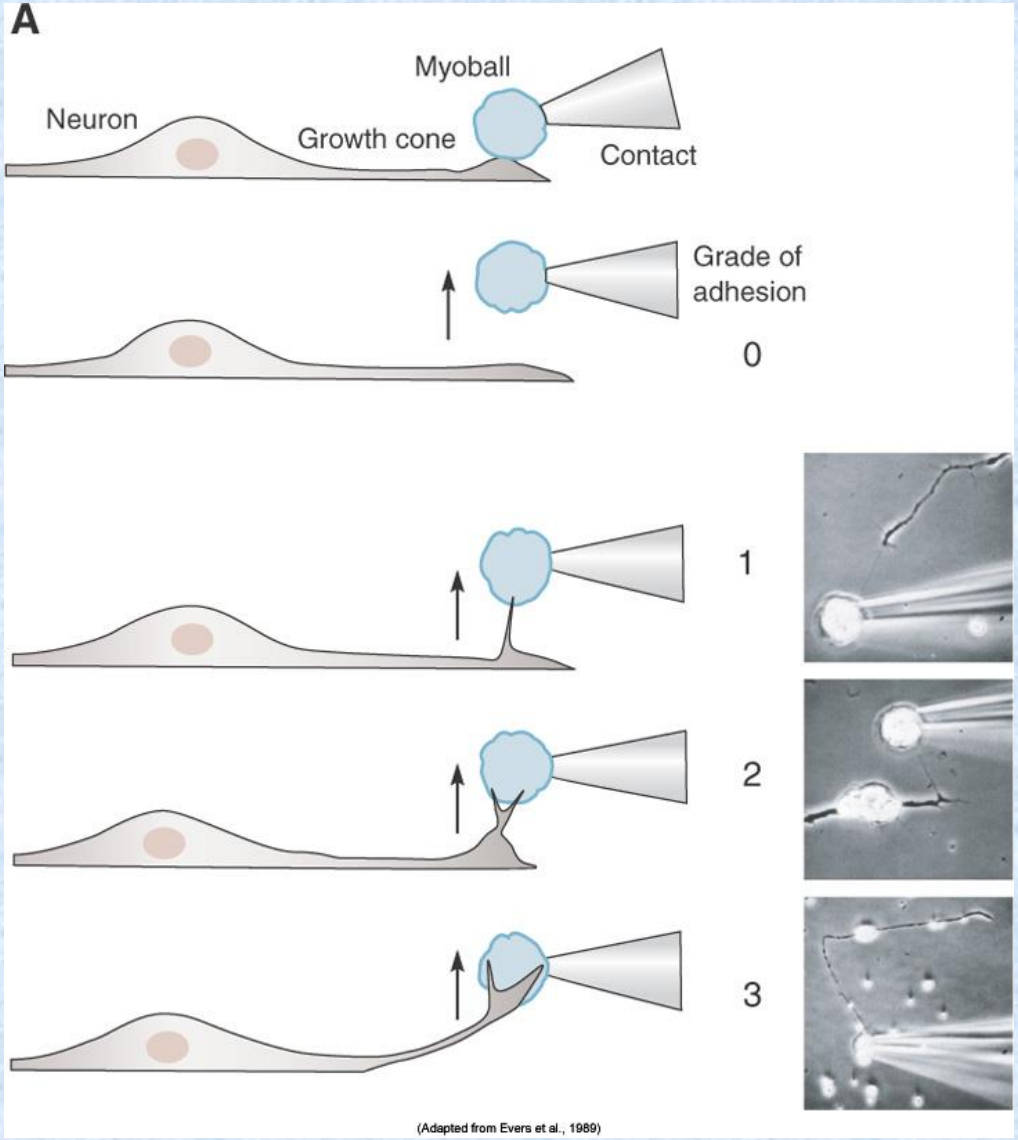
- Il primo dialogo tra l'elemento pre e post sinaptico è mediato dal calcio
- L'incremento di calcio nell'elemento pre-sinaptico viene attivato solo in presenza di un opportuno target



In Aplysia

•In presenza di Calcio intracellulare elevato si osserva retrazione dei lamellipodia.
•Elevati livelli di cAMP determinano l'arresto dell' accrescimento del cono di crescita

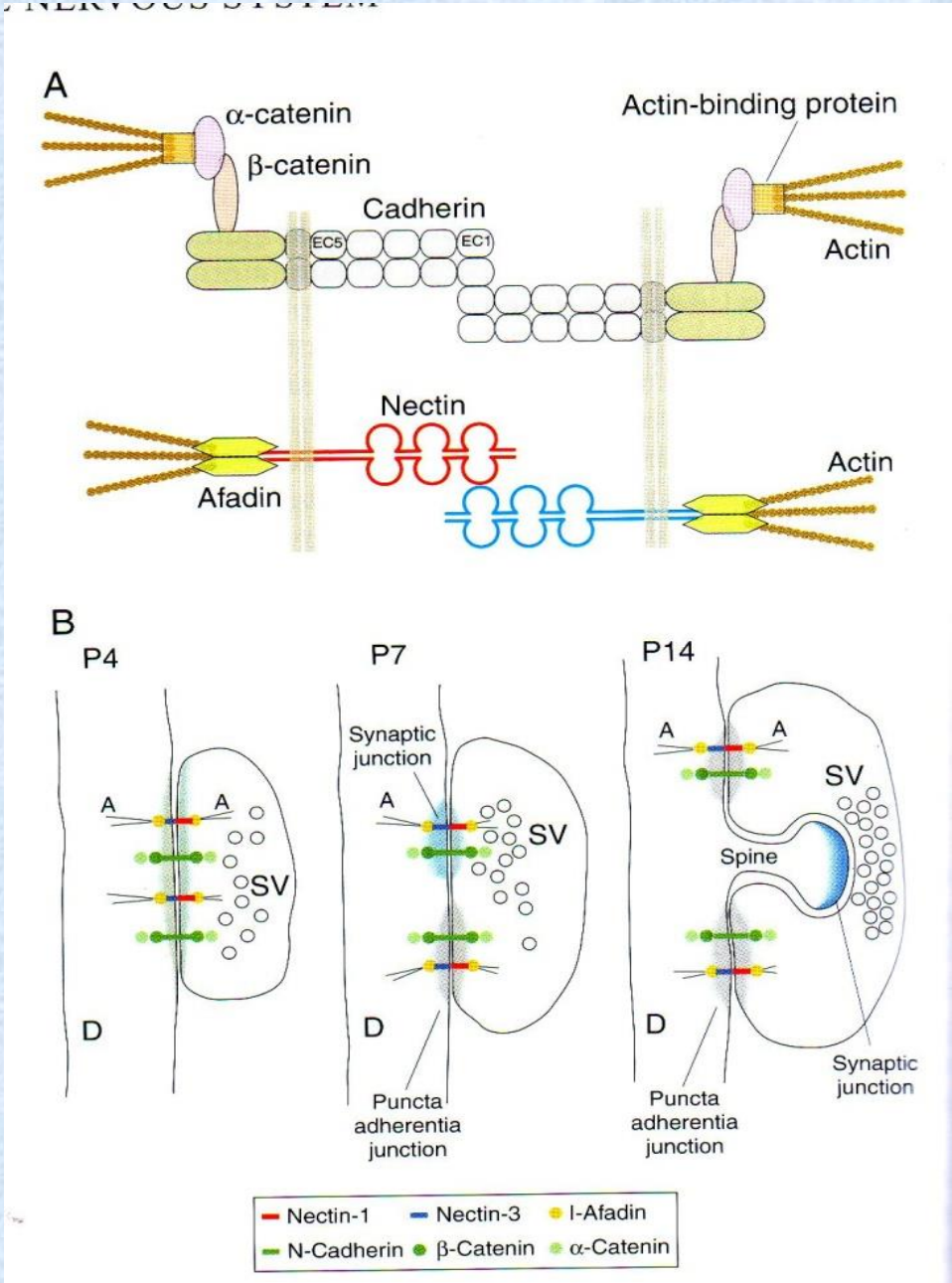
•L'azione di neurotrasmettitori può determinare la modulazione di questi secondi messaggeri.

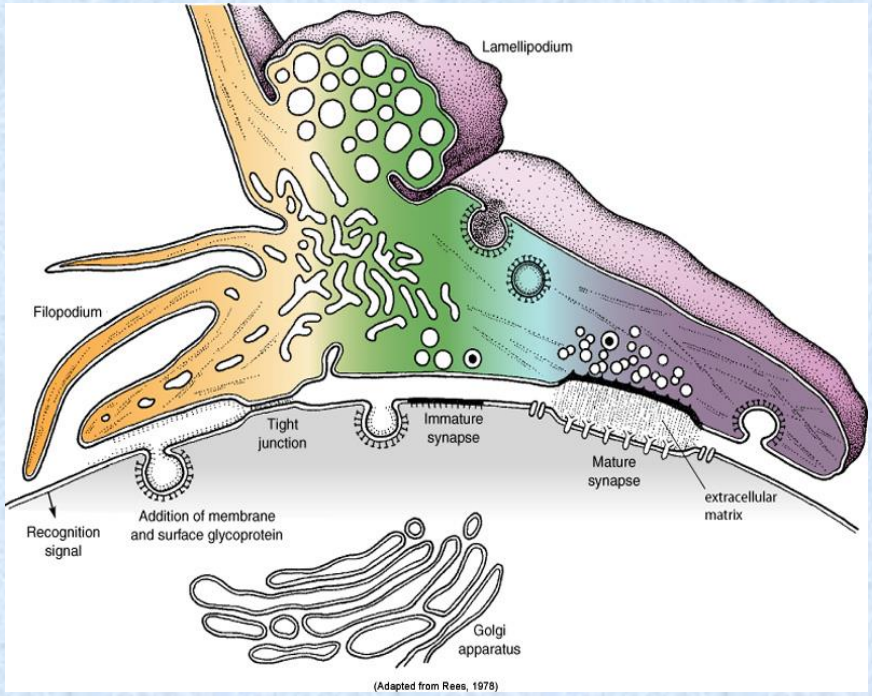


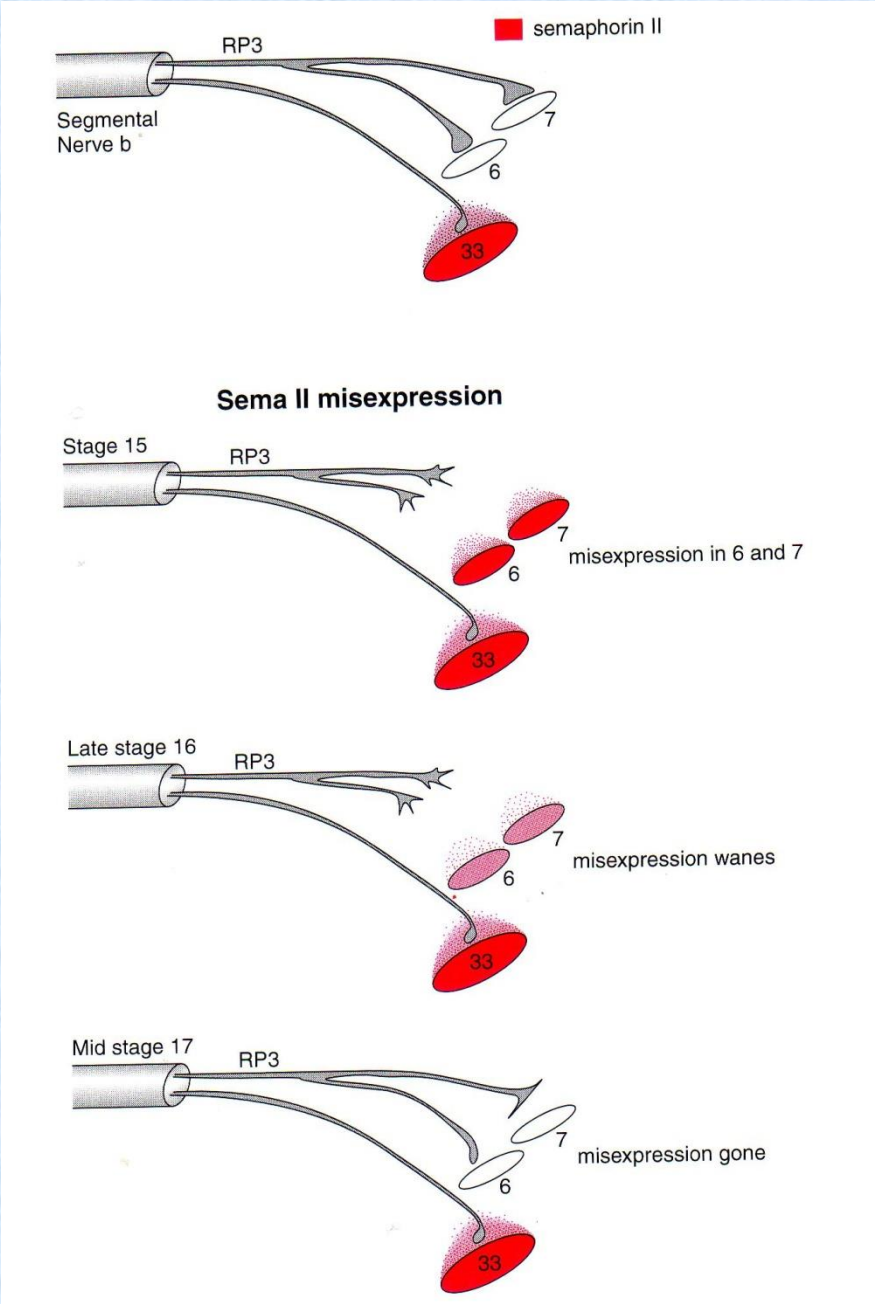
- Esperimenti in vitro dimostrano la formazione di uno stabile contatto tra il cono di crescita e il proprio bersaglio nel giro di pochi minuti (15 min).

La differenziale adesione tra il cono di crescita e il target e la ECM è alla base della formazione della sinapsi rudimentale.

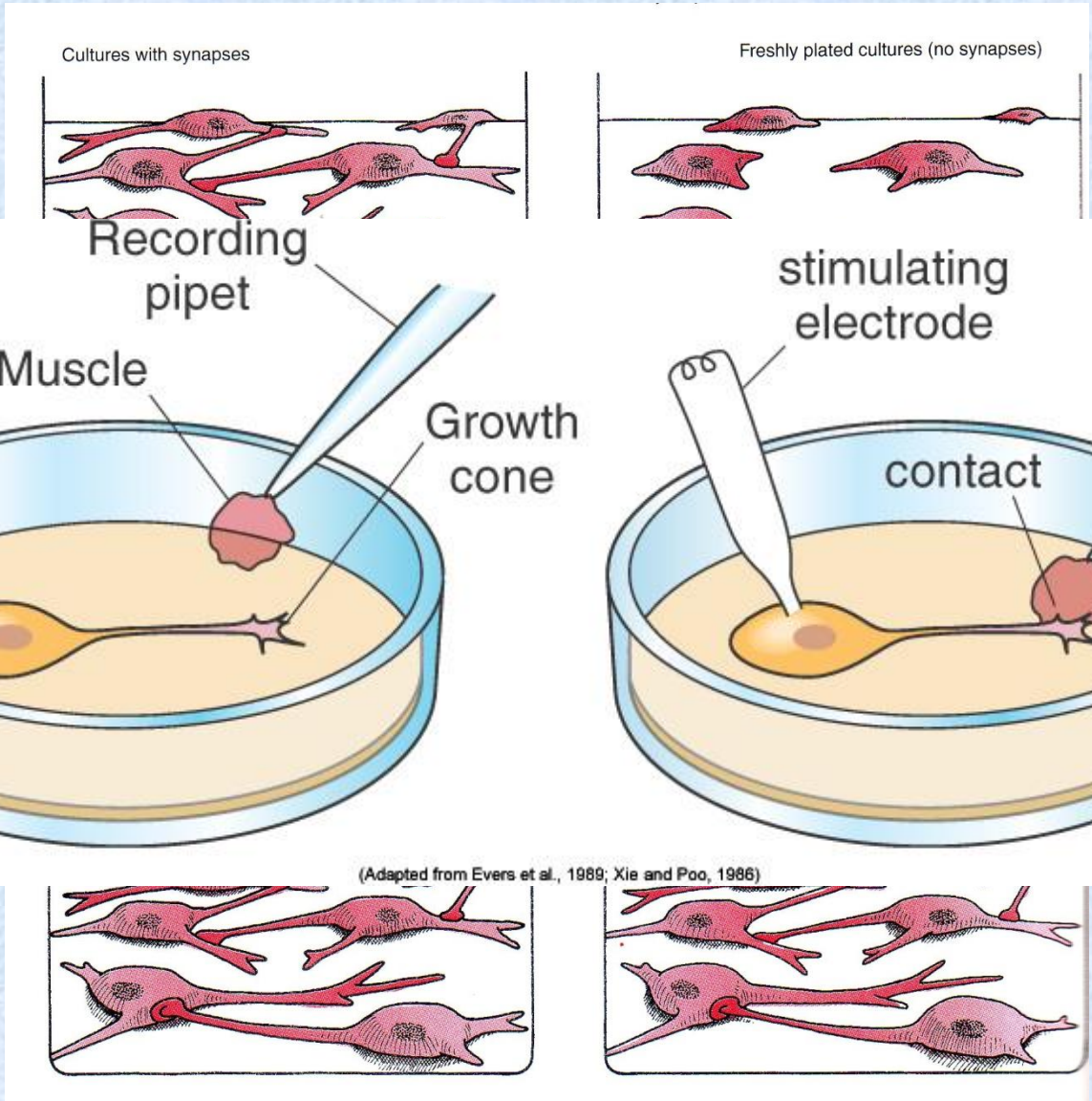
Le molecole di adesione sono importanti per il contatto primario,
Fasc II aiuta la stabilizzazione della sinapsi
Nella ECM la laminina sintetizzata dal muscolo arresta la crescita del cono e induce il suo differenziamento


A
α-catenin
β-catenin
Actin-binding protein
Cadherin
EC5
EC1
Actin
Nectin
Afadin
Actin
B
P4
P7
P14
Synaptic junction
A
A
SV
D
Puncta adherentia junction
Spine
Synaptic junction
Nectin-1
Nectin-3
I-Afadin
N-Cadherin
β-Catenin
α-Catenin


Lamellipodium
Filopodium
Tight junction
Immature synapse
Mature synapse
extracellular matrix
Recognition signal
Addition of membrane and surface glycoprotein
Golgi apparatus
(Adapted from Rees, 1978)

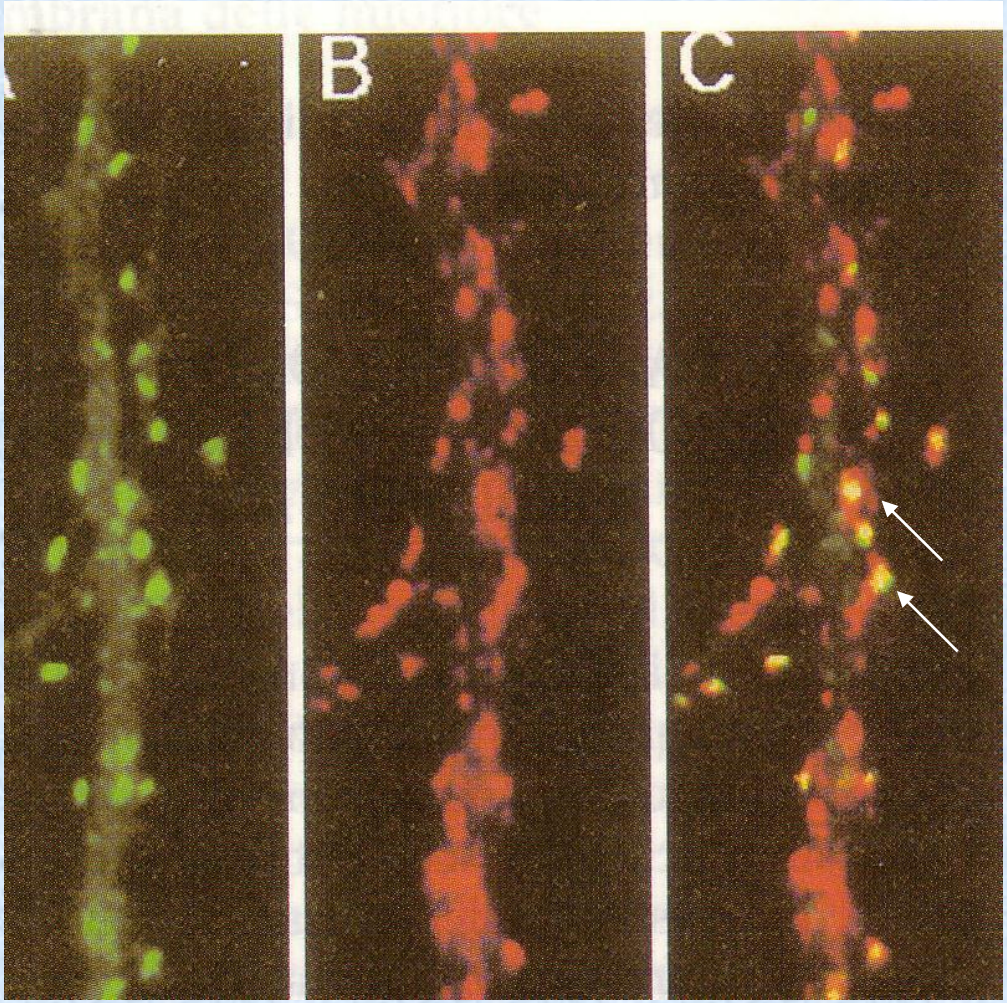


L’espressione della semaforina II, può essere un segnale di selezione del target nella formazione della sinapsi nervo-muscolo in Drosophila, agendo come segnale di stop della crescita assonale o come segnale repulsivo/attrattivo



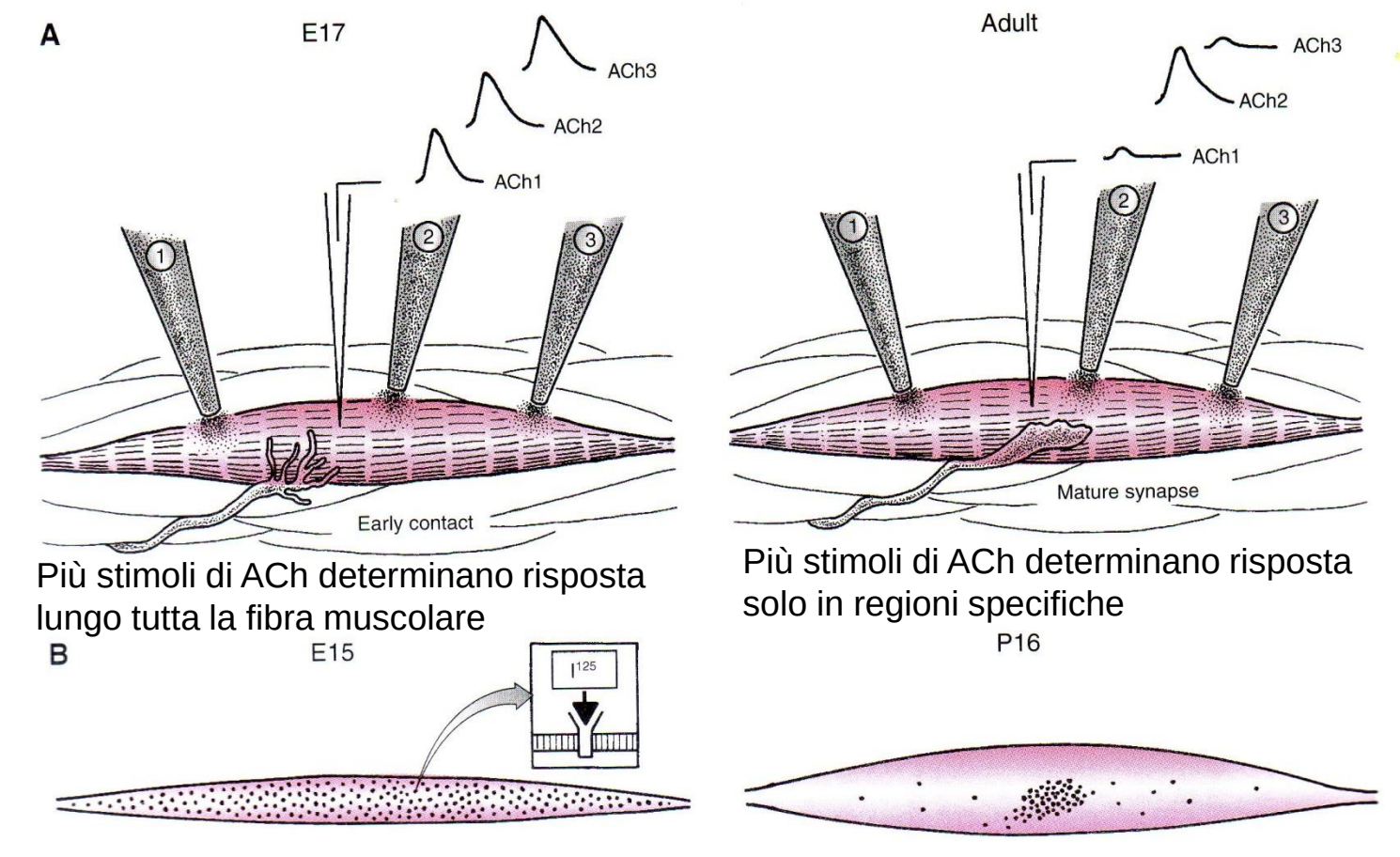
•La sinapsina I è un segnale importante nella formazione delle sinapsi.
•Questo si può correlare con la precoce capacità da parte delle sinapsi di rilasciare il proprio neurotrasmettitore.

Come evidenziare l'elemento pre e post sinaptico



Neuroni ippocampali: co-localizzazione tra sinapsina (rosso) con recettori per il glutammato (verde).

Progressiva clusterizzazione dei recettori per l'ACh

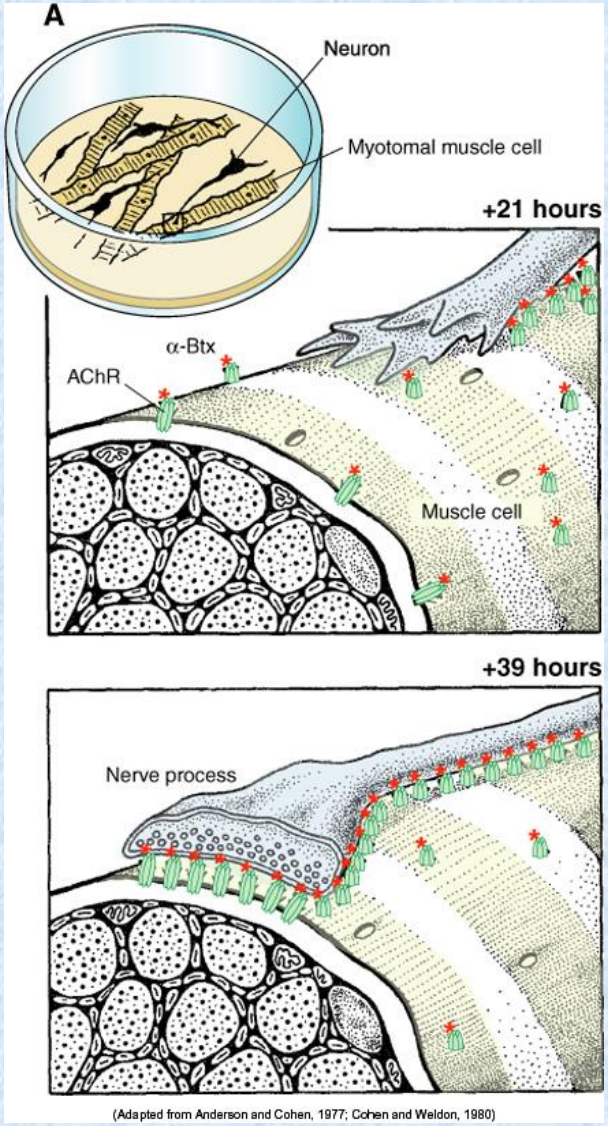


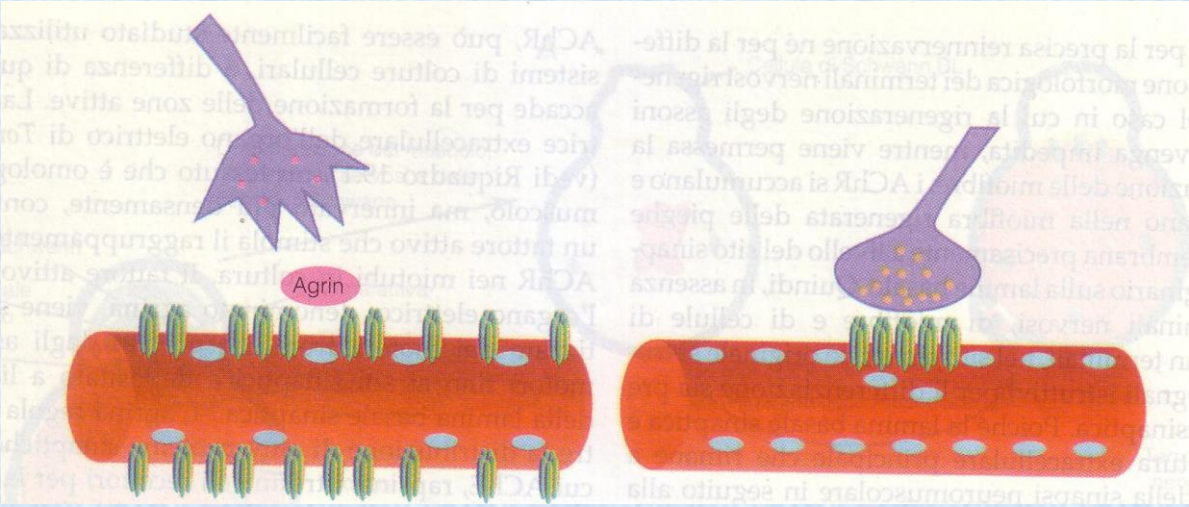
Più stimoli di ACh determinano risposta lungo tutta la fibra muscolare

Più stimoli di ACh determinano risposta solo in regioni specifiche

La sinapsi si modifica nel tempo e tali modifiche favoriscono la stabilizzazione delle sinapsi che devono rimanere e sfavorisce quelle che devono essere rimosse.

La clusterizzazione dei recettori nell'elemento post è favorita dal terminale pre-sinaptico





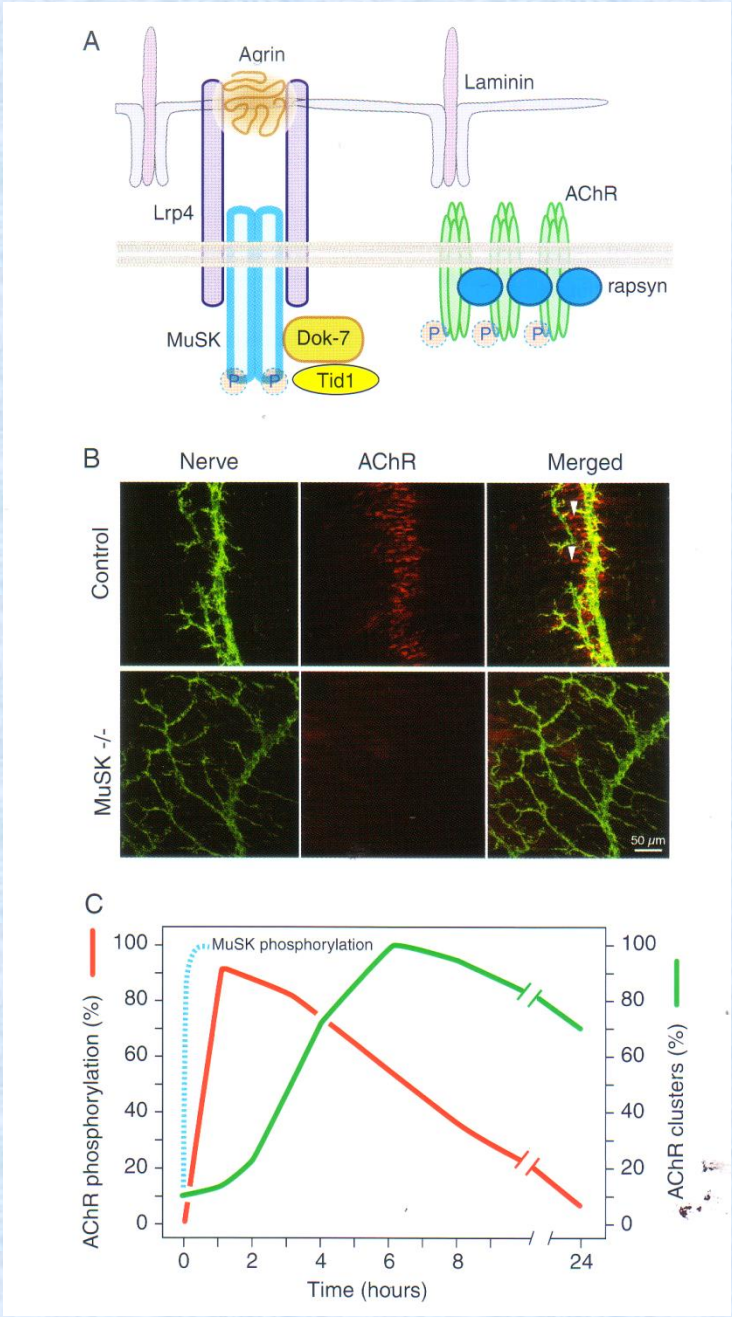
Agrina: proteina di 200 kDa , rilasciata dai motoneuroni, si associa alla lamina basale. Interagisce con alfa-distroglicano

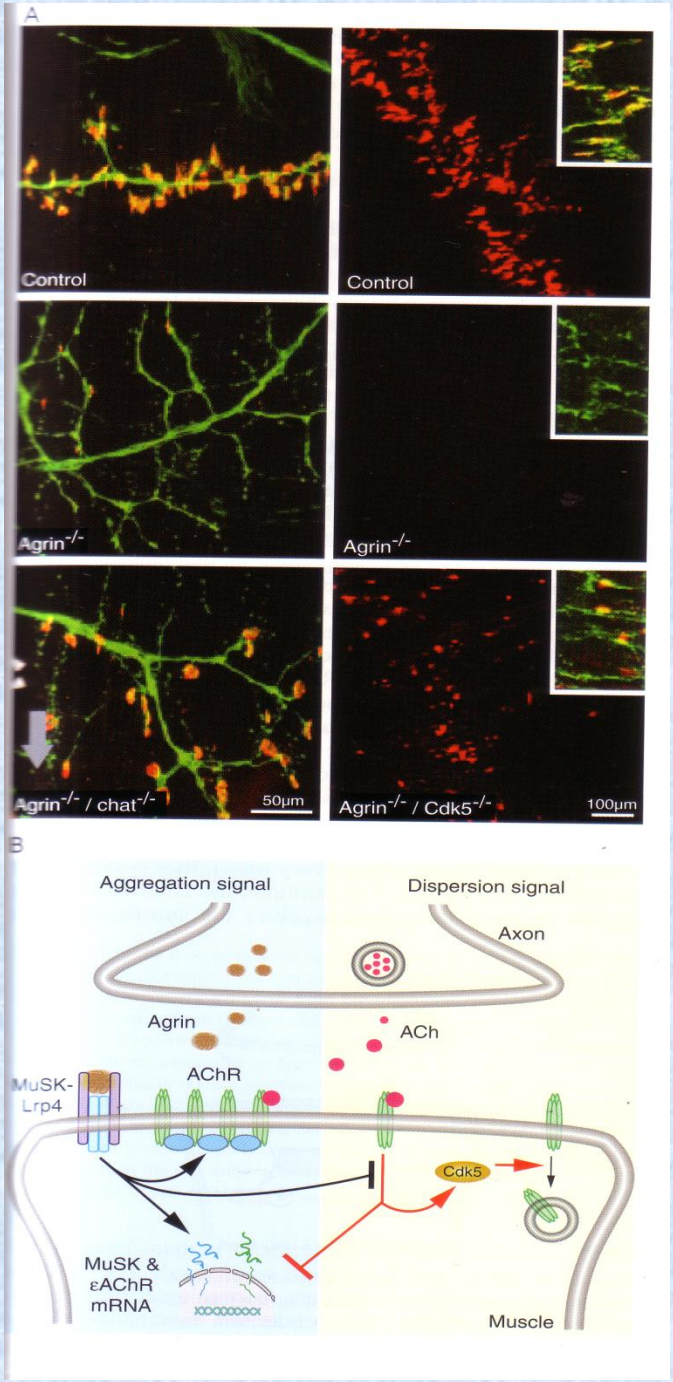
Agrina consente la distribuzione delle proteine sinaptiche (AChE, utrofina) e la maturazione del terminale post-sinaptico con aggregazione dei recettori per ACh

Agrina interagisce con un recettore tirosin chinasico muscolare (MuSK=muscle specific kinase)

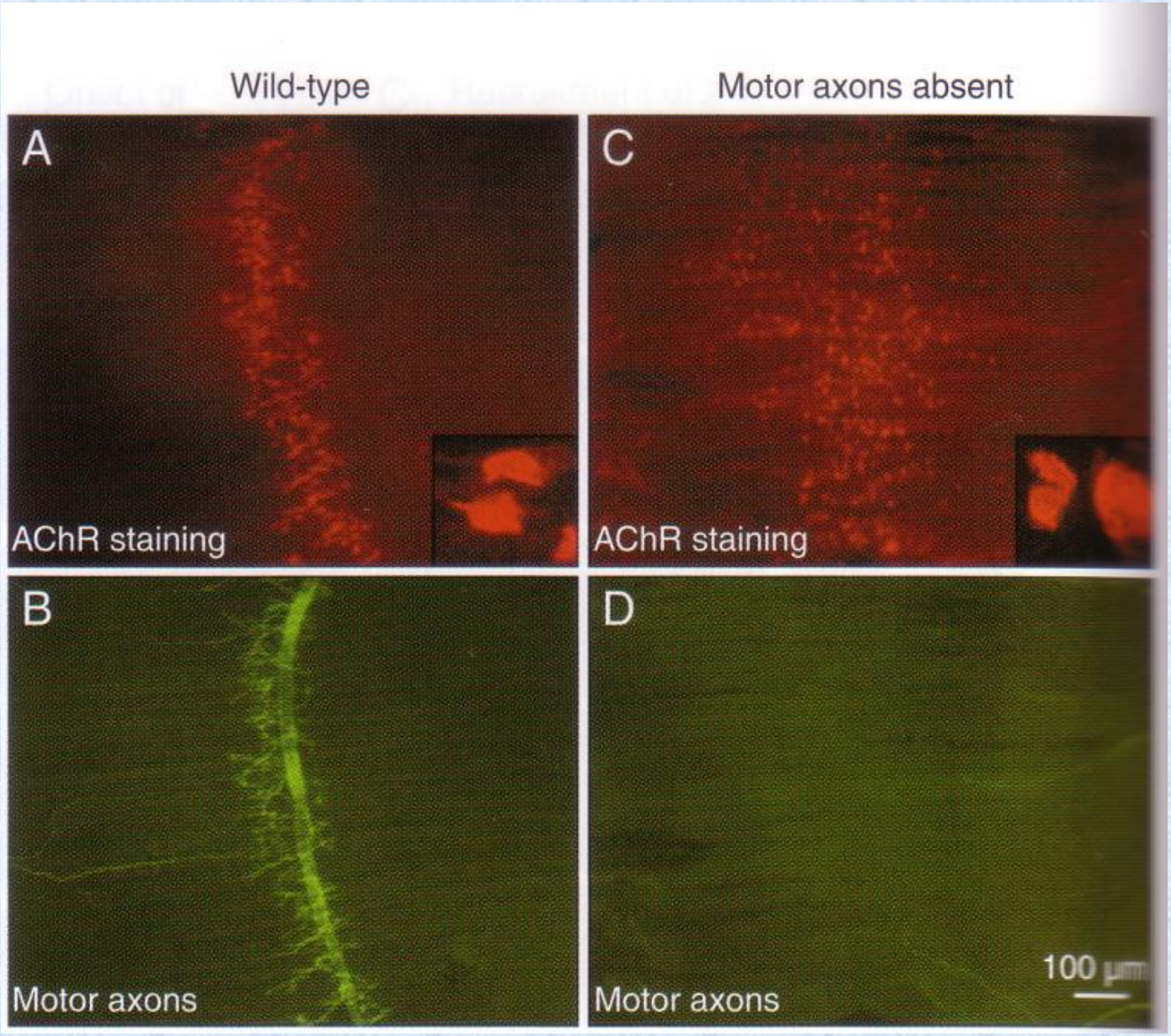
Fosforila subunità Beta del AChR

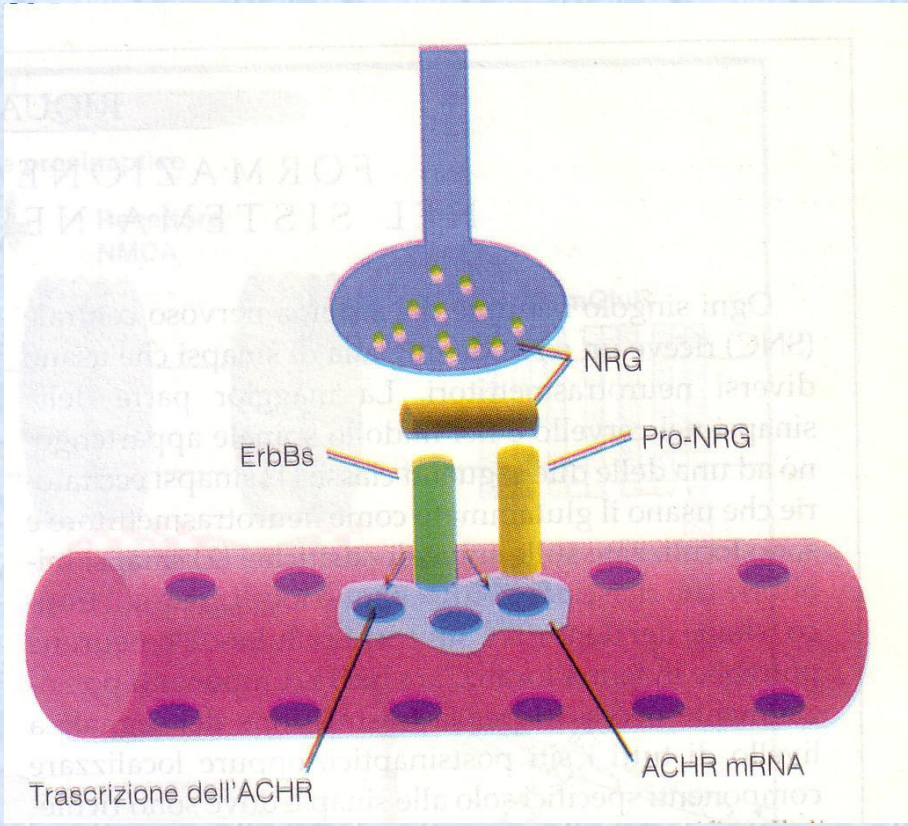
Manda un segnale retrogrado al nervo


A
Agrin
Laminin
Lrp4
AChR
rapsyn
MuSK
Dok-7
Tid1
P
B
Nerve
AChR
Merged
Control
MuSK -/-
50 µm
C
MuSK phosphorylation
AChR phosphorylation (%)
AChR clusters (%)
Time (hours)
0
2
4
6
8
24
20
40
60
80
100


A
Control
Control
Agrin-/-
Agrin-/-
Agrin-/- / chat-/-
50µm
Agrin-/- / Cdk5-/-
100µm
B
Aggregation signal
Dispersion signal
Axon
Agrin
ACh
AChR
MuSK-
Lrp4
Cdk5
MuSK &
εAChR
mRNA
Muscle

FIBRA MUSCOLARE IN PRESENZA E ASSENZA DI FIBRE MOTORIE

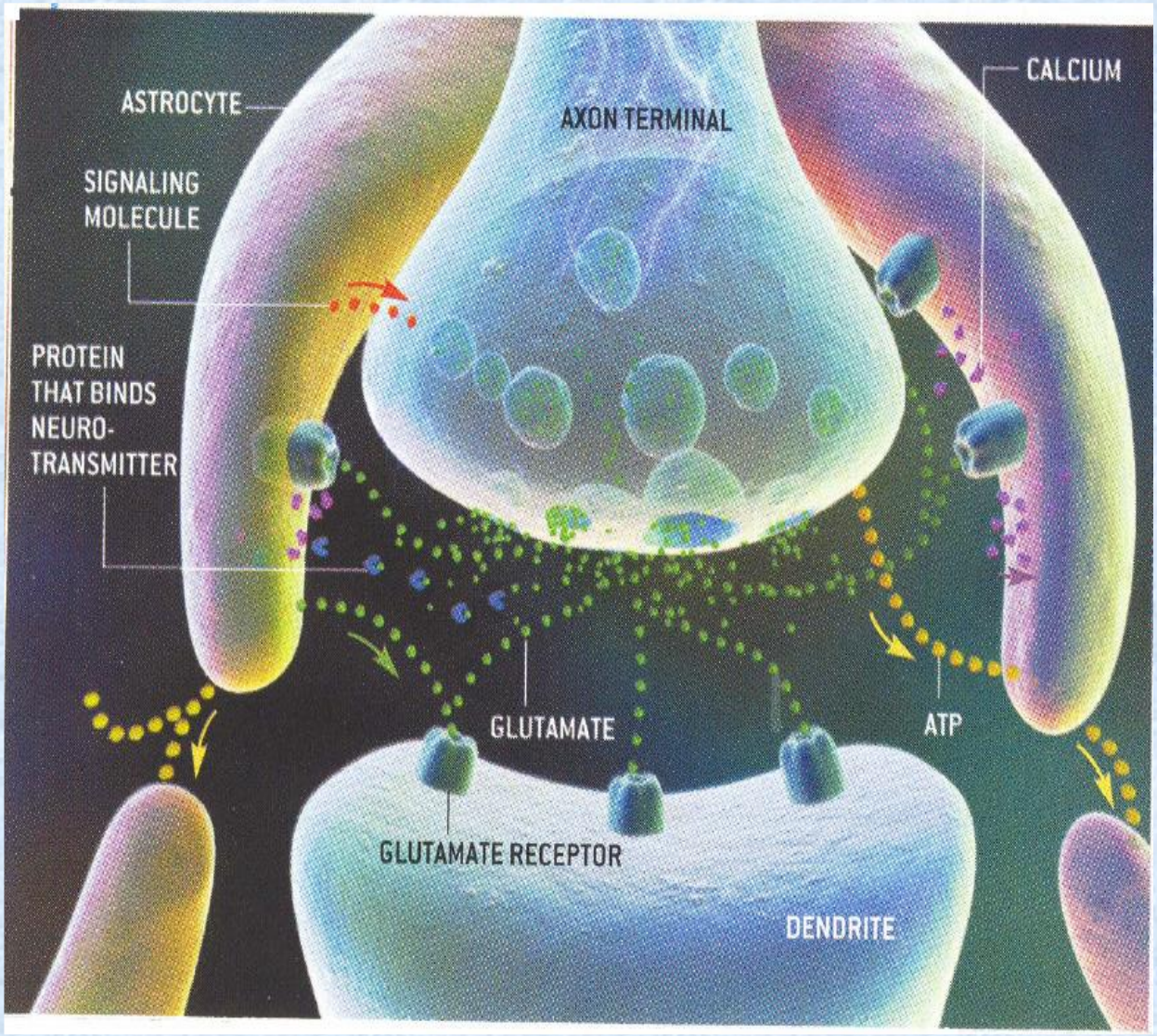




La NRG di origine neuronale (ARIA- ACh receptor inducing activity) è responsabile della sintesi differenziale di recettori per ACh lungo la fibra muscolare.

In più noi sappiamo che NRG prodotta dal target è importante per il mantenimento delle cellule gliali.

Sinapsi tripartita

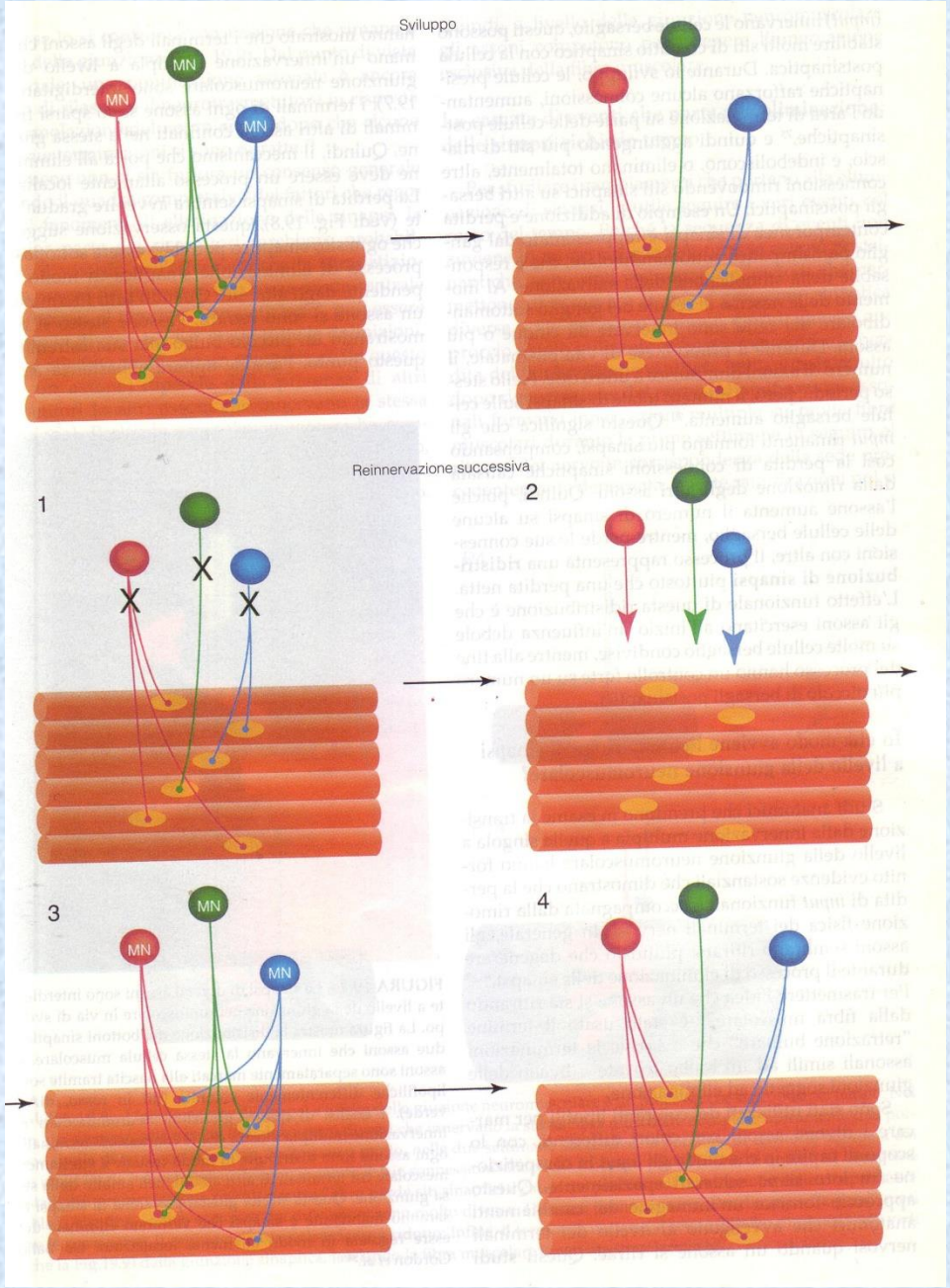


La formazione delle sinapsi è quindi garantita:

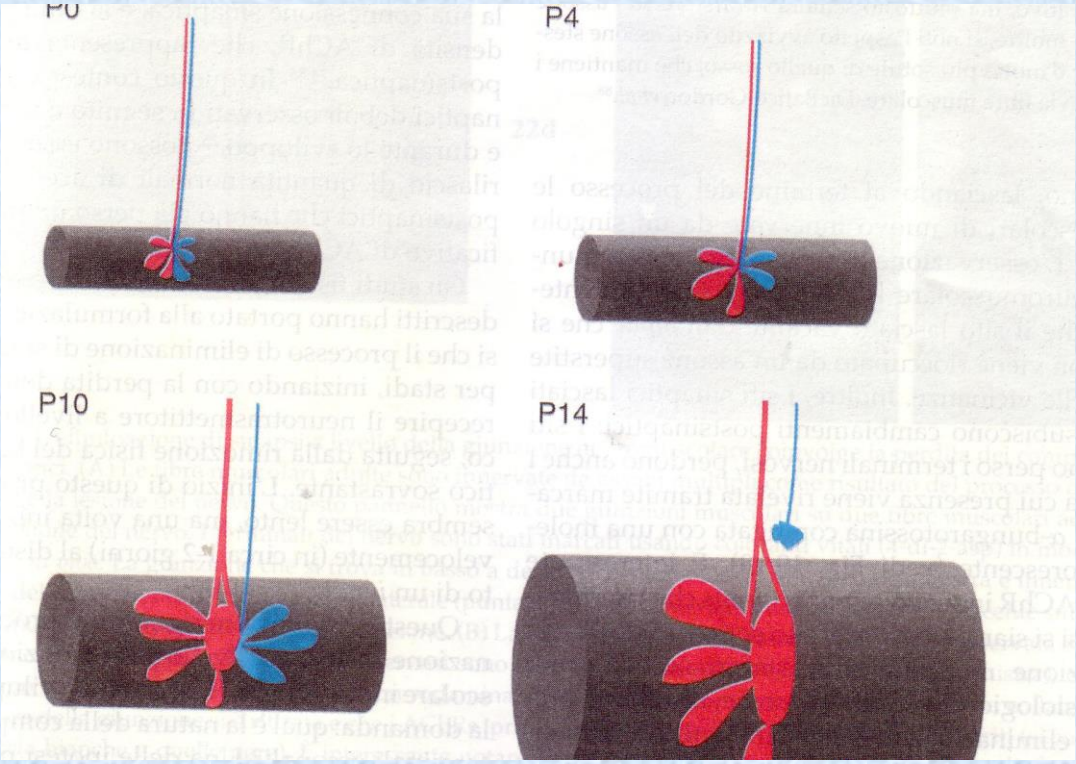
1. Molecole di adesione (N-cad, Fasc II)
2. Molecole della ECM (laminina) e molecole di interazione (integrine e distroglicano)
3. Rilascio di mediatori intracellulari (calcio e cAMP)
4. Precoce attività dell’elemento pre-sinaptico (espressione di sinapsina1 e rilascio del neurotrasmettitore)
5. Segnali paracrini rilasciati sia dall’elemento pre che post sinaptico (ARIA, Neureguline, agrina)
6. Maturazione dell’elemento post (sintesi e aggregazione dei recettori per il neurotrasmettitore)

La maturazione delle connessione nervose è in parallelo accompagnata dalla rimozione delle sinapsi sbagliate

Più neuroni convergono verso stesse fibre muscolari



Selezione dei bersagli: Perdita della ramificazione DIVERGENZA



- Fenomeno di competizione tra le fibre: segnali prodotti dal bersaglio in quantità limitante (es. fattori di crescita)
- E' rilevante come matura l'elemento post sinaptico e questo condiziona la permanenza dell'elemento pre-sinaptico corrispondente

Quindi la fase di eliminizione delle sinapsi è frutto della presenza di segnali limitanti che possono supportare troficamente solo alcune sinapsi.