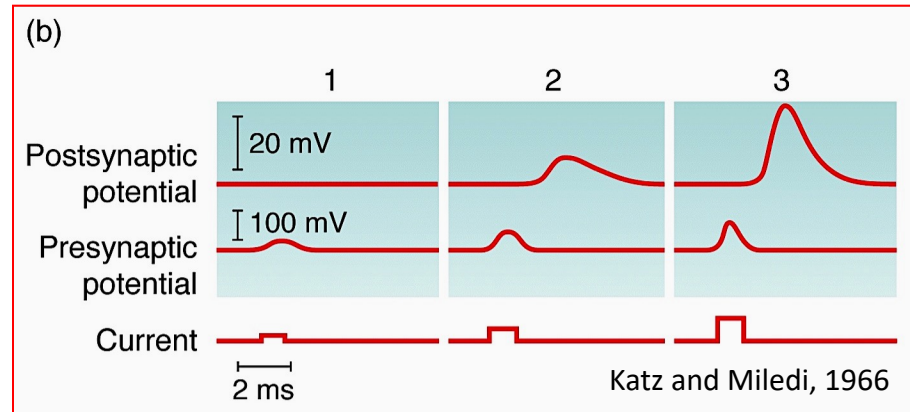
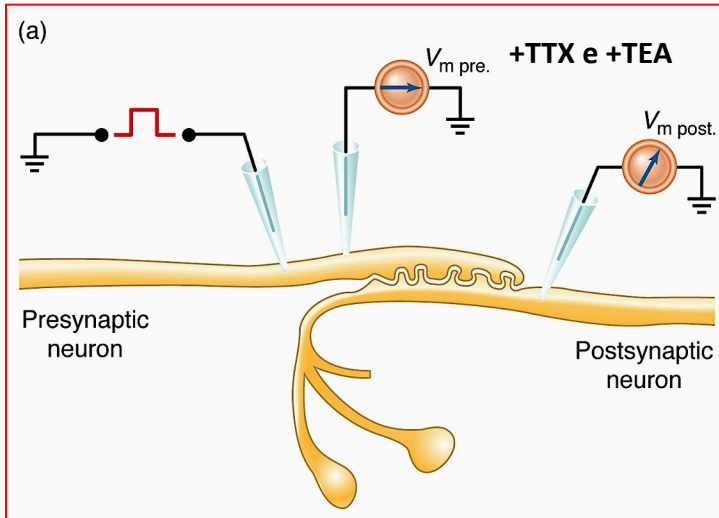
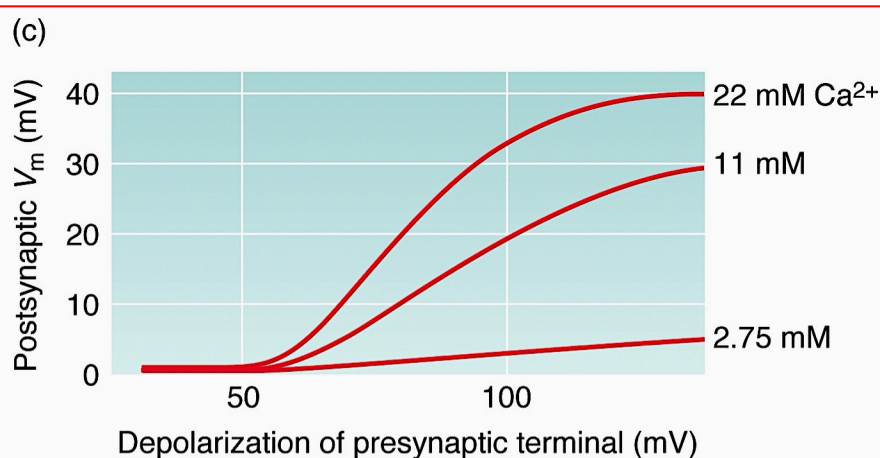


# Accoppiamento depolarizzazione-rilascio del neurotrasmettitore



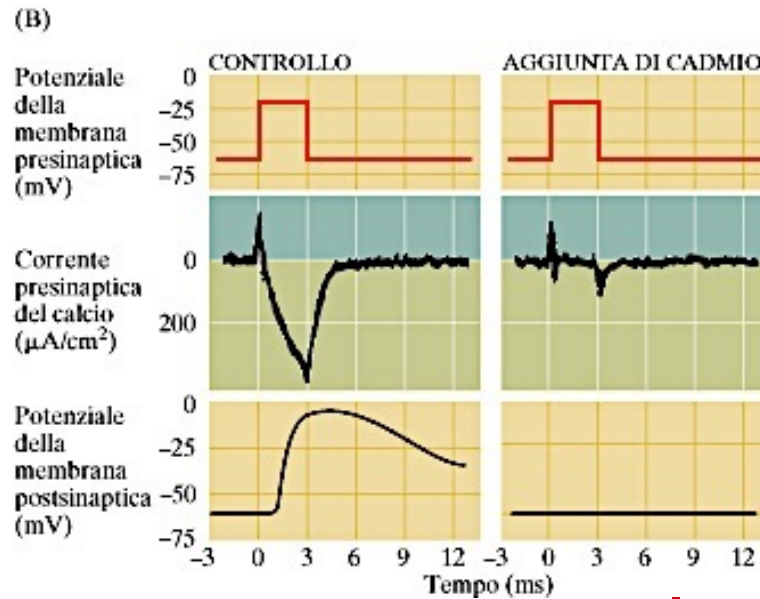
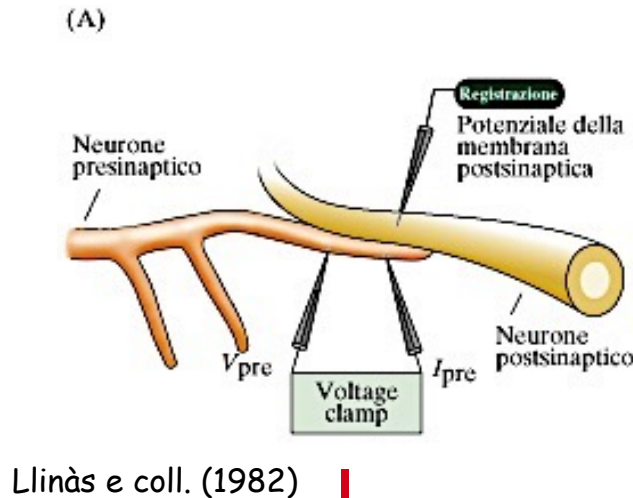
I flussi di  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  responsabili del PA NON sono necessari per il rilascio del NT



Il  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare è importante

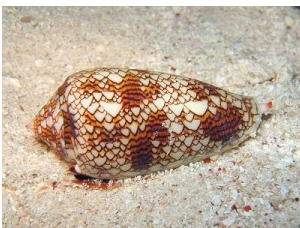
Riducendo  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare si riduce l'ampiezza della depolarizzazione della membrana postsinaptica (Katz e Miledi)

# ...altre prove sperimentali

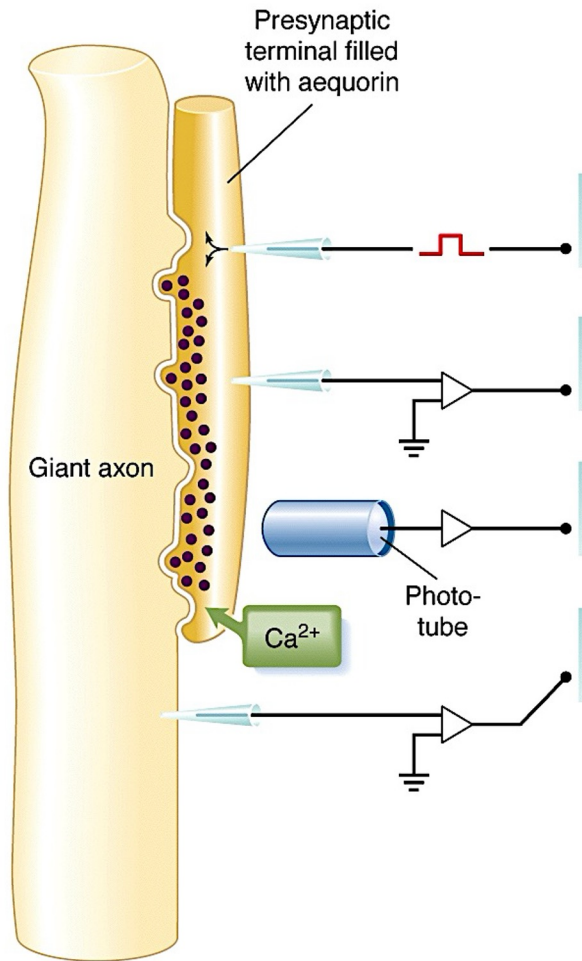


Blocco del voltaggio per studiare le correnti di Ca<sup>2+</sup>

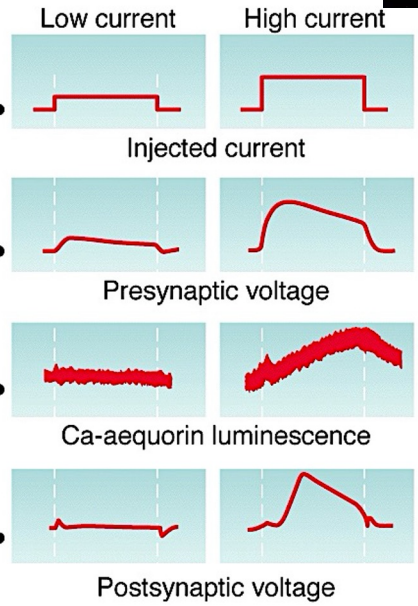
Aggiunta di cadmio (magnesio, nickel, manganese e cobalto)



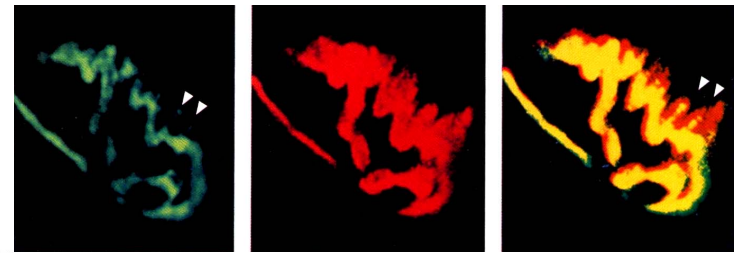
Aggiunta di ω-conotossina, che blocca canali Ca<sup>2+</sup>-voltaggio dipendenti del tipo N  
Ha potenti proprietà analgesiche (100-1000 volte quella della morfina)



+ TTX e TEA

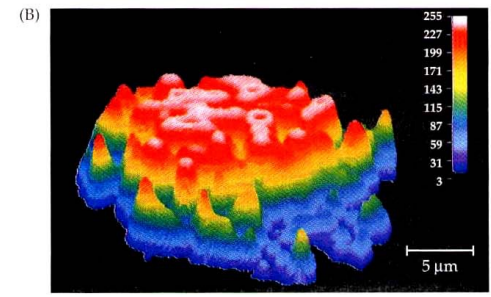
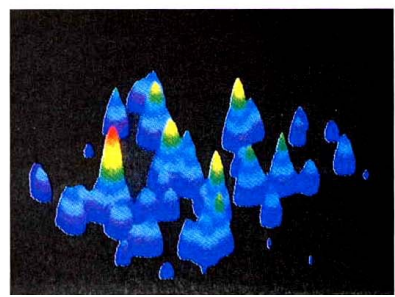


Anticorpo anti-canali del Ca<sup>2+</sup>      α-bungarotossina      sovrapposizione



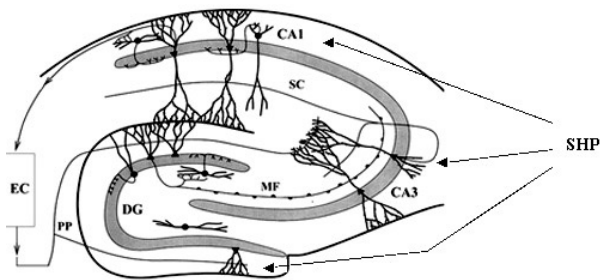
Immunolocalizzazione di canali del Ca<sup>2+</sup> nel terminale pre-sinaptico

Ca<sup>2+</sup> raggiunge 100-200 mM in circa 200 ms



microfluorimetria

# Replica in fibre muscoide di ippocampo

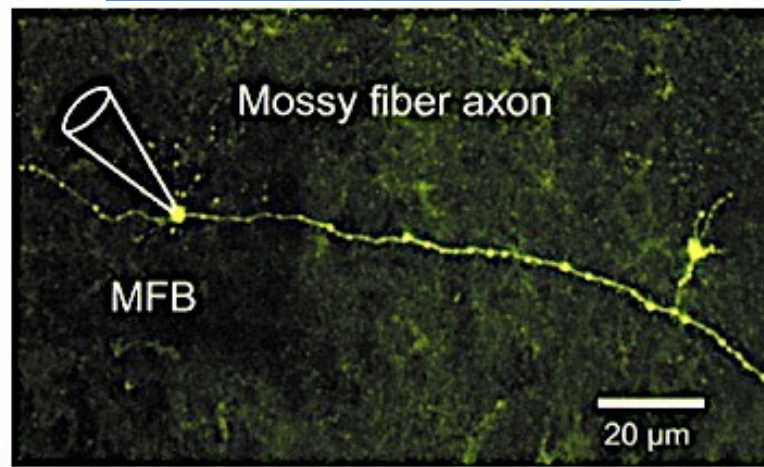


Pipetta di *patch* su un terminale sinaptico di una fibra muscoide

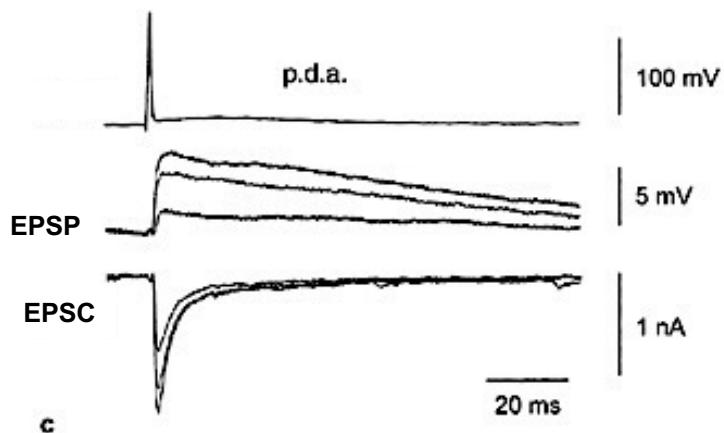


a

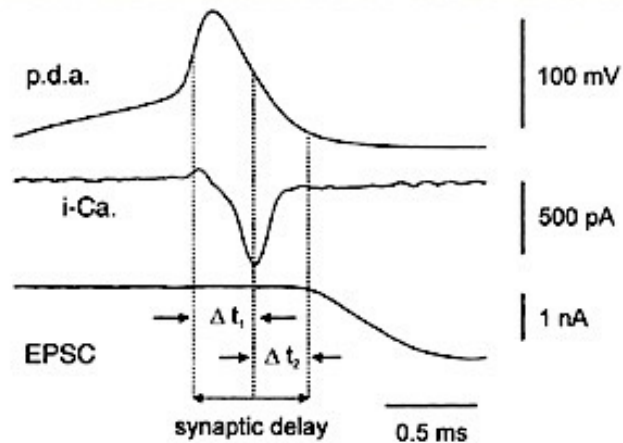
Riempimento dell'assone con un tracciante fluorescente



b

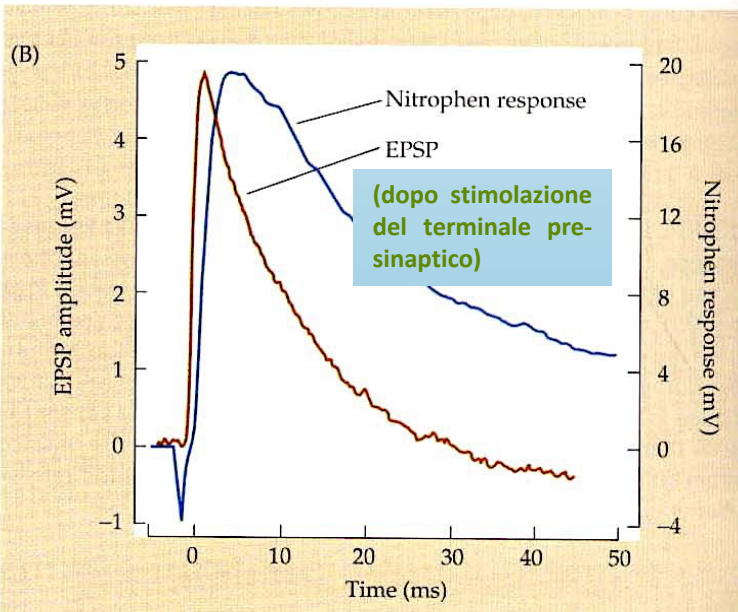
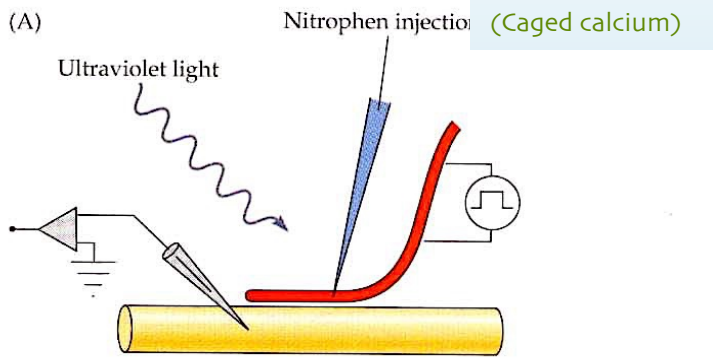


c



d

# "Ca<sup>2+</sup>" ingabbiato



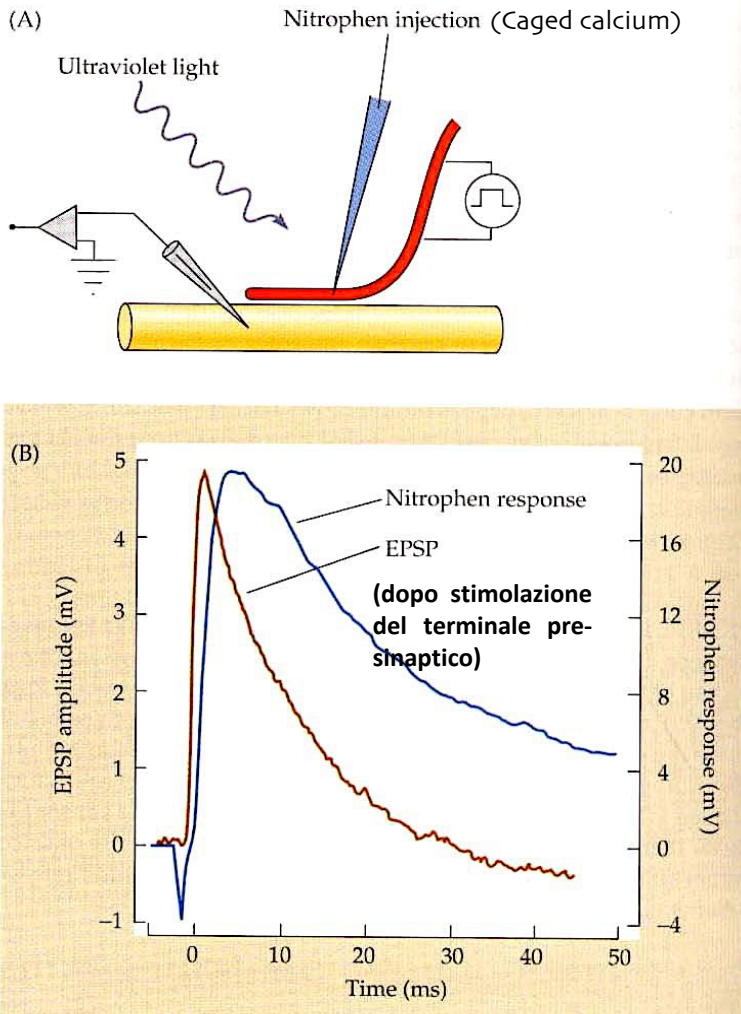
Rapida generazione fotochimica di composti biologicamente attivi a partire da precursori fotosensibili: complessi molecolari contenenti un gruppo di protezione, costituito da un *o*-nitrobenzile. In seguito ad irraggiamento con luce ad una lunghezza d'onda compresa tra 300 e 400 nm sottostanno ad una reazione ossido-riduttiva intramolecolare dando origine all'effettore e ad un nitroso-derivato come sottoprodotto.

Come gruppo di protezione, per il Ca<sup>2+</sup> viene spesso usato il 1-(2-nitrofenil)etile ad elevata sensibilità fotolitica.

Primi modelli sperimentali: sinapsi gigante di calamaro e giunzione neuromuscolare del gambero

Risultati confermati nei terminali delle cellule bipolari della retina di pesce rosso

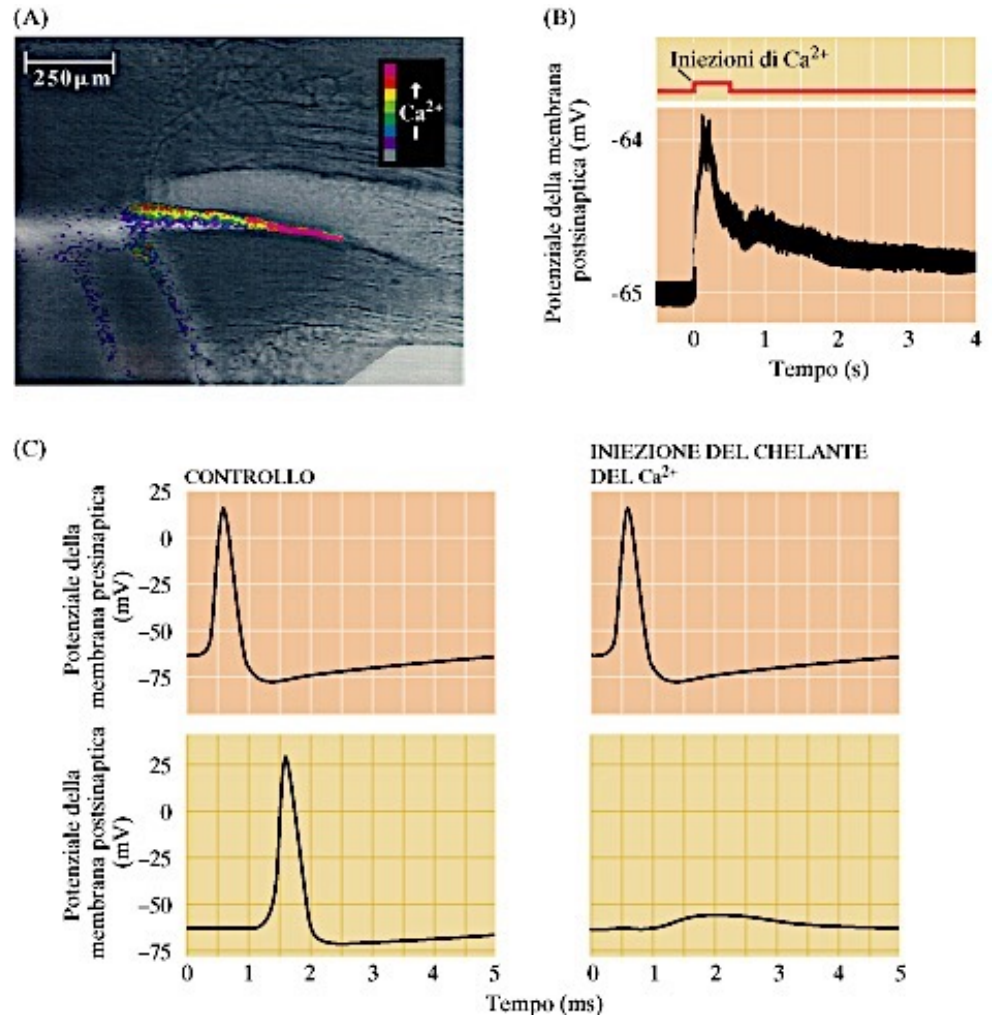
# "Ca<sup>2+</sup>" ingabbiato



Primi modelli sperimentali: sinapsi gigante di calamaro e giunzione neuromuscolare del gambero

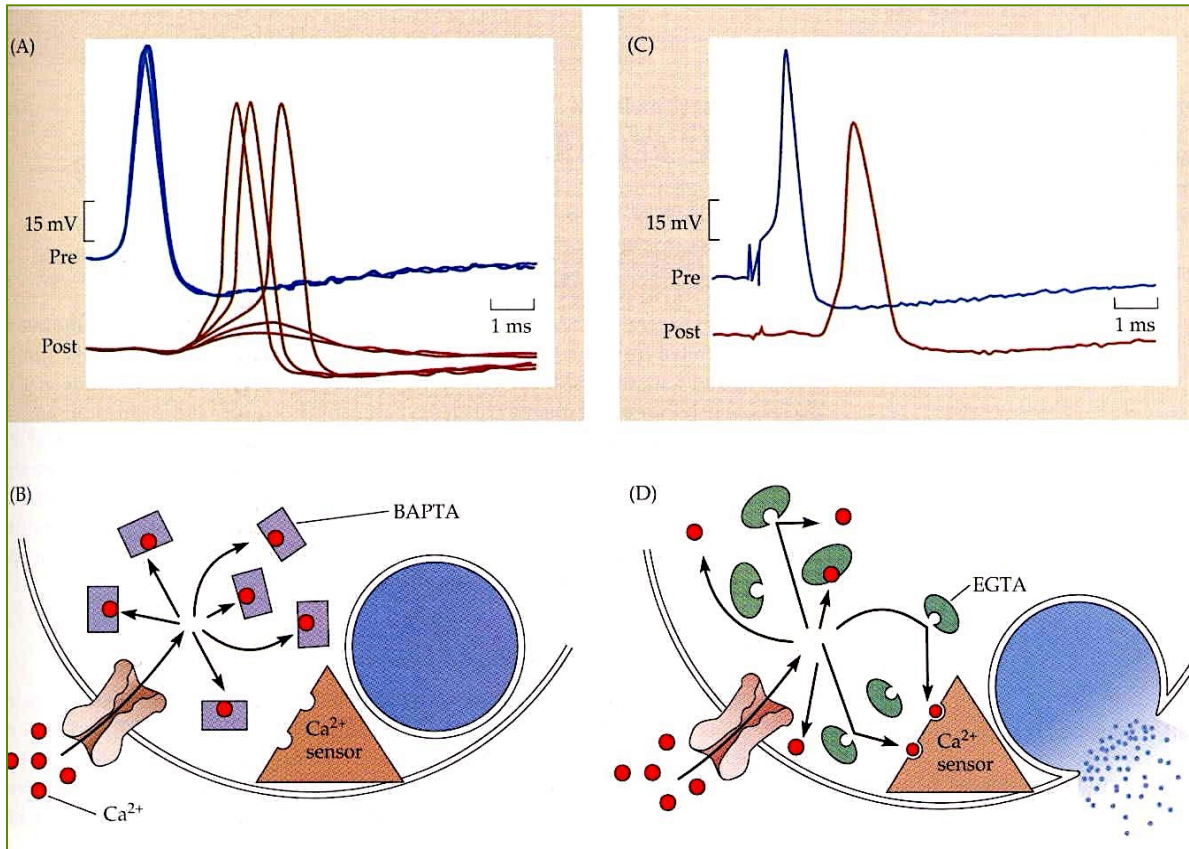
Risultati confermati nei terminali delle cellule bipolari della retina di pesce rosso

# Chelanti del Ca<sup>2+</sup>



BAPTA (Acido Aminophenoxyethane-tetraacetico)

# Localizzazione dei siti d'entrata del calcio

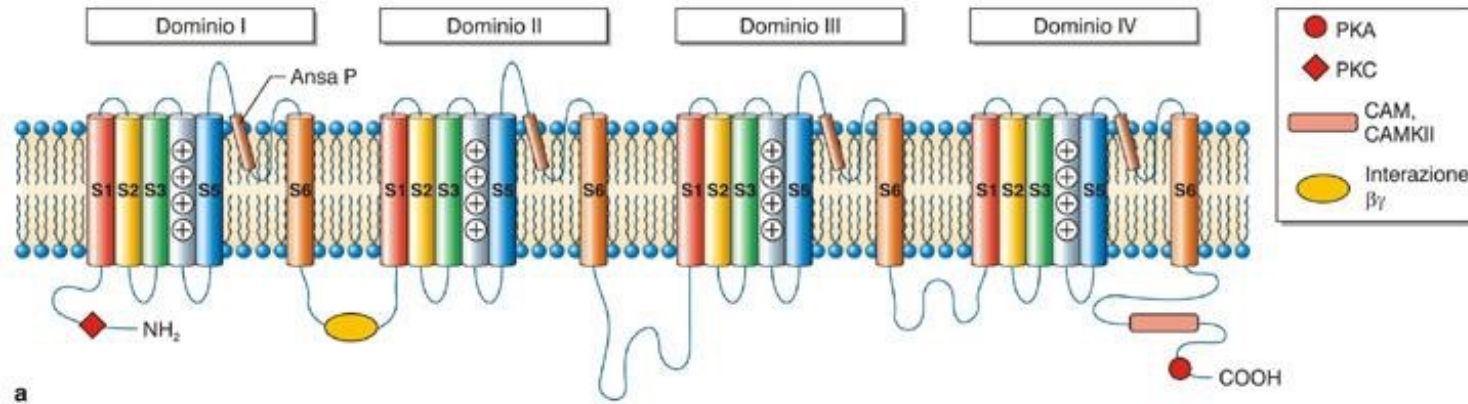


I canali del Ca<sup>2+</sup> voltaggio-dipendenti che conducono la corrente responsabile dell'esocitosi si trovano a circa 100 nm dal sito di rilascio del neurotrasmettitore

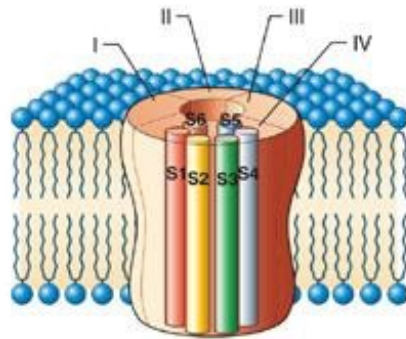
## L'azione del Ca<sup>2+</sup> viene limitata entro pochi millisecondi

- Presenza della pompa Ca<sup>2+</sup>-ATP e dello scambiatore Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> per l'estruzione dal terminale
- Attivazione di canali del K<sup>+</sup> del tipo K<sub>DR</sub> e K<sub>Ca2+</sub>
- In alcune sinapsi centrali sono presenti canali a rapida inattivazione
- Presenza di proteine tampone
- Meccanismo di accoppiamento al gradiente protonico della matrice interna dei mitocondri ne permette l'accumulo in questi organelli (meccanismo lento)

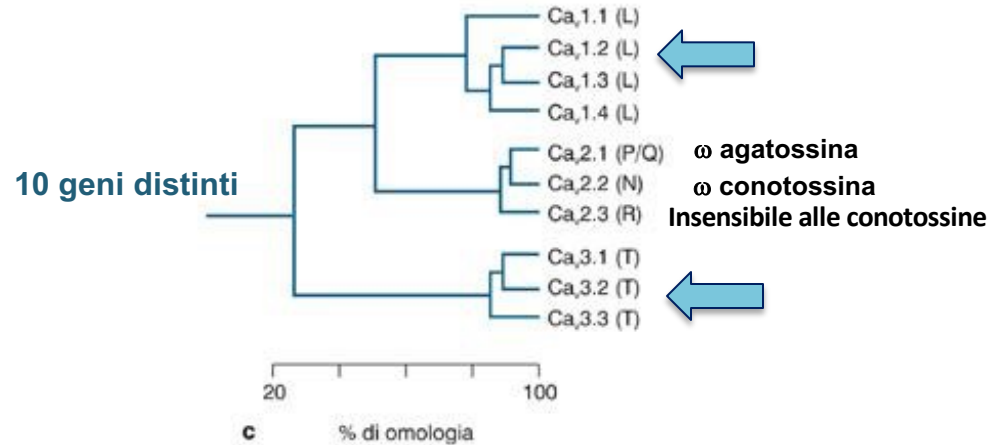
# I canali del $\text{Ca}^{2+}$ voltaggio-dipendenti



a



b

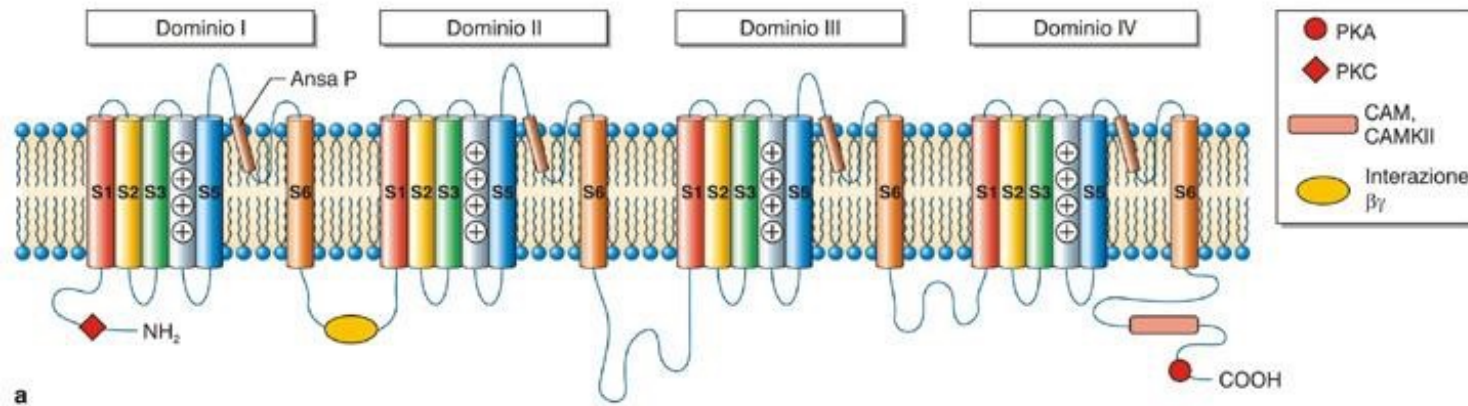


## Canali $\text{Ca}_v$ a bassa soglia di attivazione (LVA):

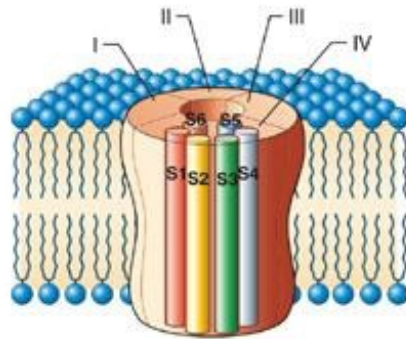
- Si attivano in seguito a piccole depolarizzazioni
- Hanno una cinetica di inattivazione veloce (tipo T, transienti)



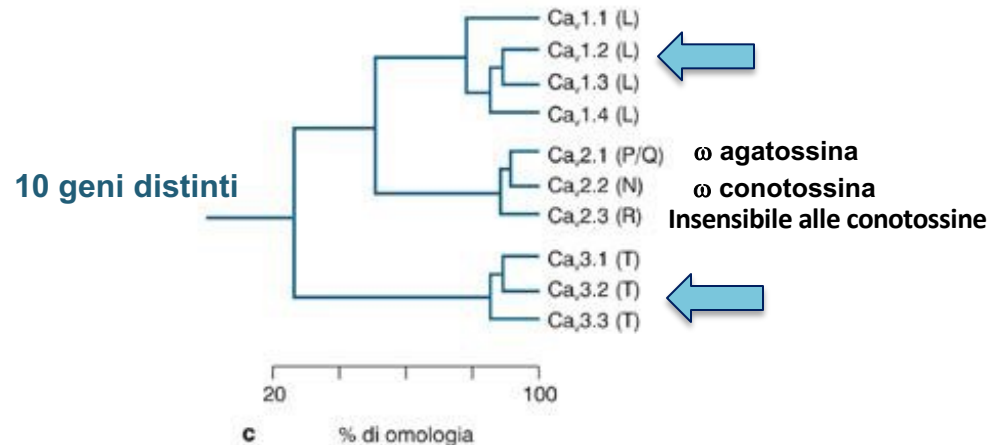
# I canali del $\text{Ca}^{2+}$ voltaggio-dipendenti



a



b



## Canali Ca<sub>v</sub> ad alta soglia (HVA):

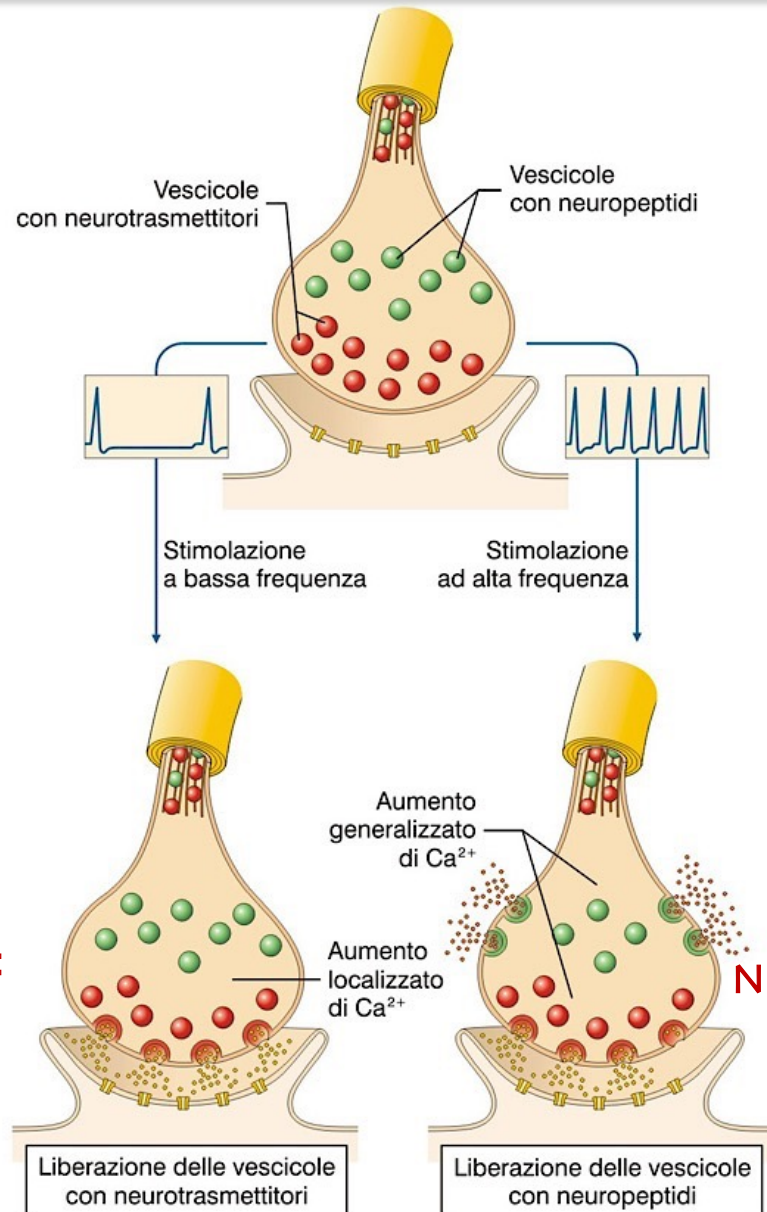
- Alta soglia e cinetica di inattivazione lenta
- Attivano i canali del K Ca<sub>2+</sub>-attivati
- Mediano il processo dell'esocitosi vescicolare del neuromediatore
- Suddivisi in base alla sensibilità alle dididropiridine: (L e non-L)

## Classificazione e principali caratteristiche dei canali al calcio voltaggio-dipendenti.

<i>Tipo di canali</i>	<i>T</i>	<i>L</i>	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>Q</i>	<i>R</i>
Classe molecolare	Ca <sub>v</sub> 3,1 Ca <sub>v</sub> 3,2 Ca <sub>v</sub> 3,3	Ca <sub>v</sub> 1,1 Ca <sub>v</sub> 1,2 Ca <sub>v</sub> 1,3	Ca <sub>v</sub> 2,2	Ca <sub>v</sub> 2,1*	Ca <sub>v</sub> 2,1*	Ca <sub>v</sub> 2,3
Subunità α1	G, H, I	C, D, S	B	A	A	E
Soglia di attivazione	Bassa	Alta	Alta	Intermedia	Alta	Intermedia
Conduttanza	5-9pS	25pS	20pS	9-19pS	9-19pS	-
Ioni permeabili	Ca <sup>2+</sup> >Ba <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> >Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> >Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> >Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> >Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> =Ca <sup>2+</sup>
Ioni bloccanti	Ni <sup>2+</sup> Cd <sup>2+</sup> (20-40 μM)	Cd <sup>2+</sup> (20-40 μM)	Cd <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>
Proprietà elettriche	Canali minuscoli a corrente transitoria, rapida inattivazione	Canali ampi corrente duratura, lenta inattivazione	Caratteristiche intermedie tra T e L	Non si inattivano	Lenta inattivazione	Inattivazione rapida
Distribuzione	Neuroni centrali e sensoriali, glia, cellule muscolari, del nodo SA e sist. Purkinje, c. endocrine	Cellule muscolari lisce e cardiache, cellule endocrine, neuroni centrali, sensoriali e simpatici	Neuroni centrali, sensoriali e simpatici, cellule endocrine	Neuroni (cellule del Purkinje del cervelletto), cellule renali	Neuroni del cervelletto (granuli cerebellari), cellule renali	Neuroni (granuli cerebellari)
Localizzazione subcellulare neuronale	Corpo cellulare	Corpo cellulare e dendriti	Terminali nervosi	Corpo cellulare e terminali nervosi	Corpo cellulare e terminali nervosi	Terminali nervosi (?)
Antagonisti organici	Amiloride, flunarizina	Diidropiridine, difenil-alchilamine, benzotiazepine	ω-conotossina GVIA	ω-agatossina IVA (basse dosi) Funnel web toxin	ω-conotossina MVIIC, ω-agatossina (alte dosi)	?

\* La distinzione tra canali P e Q non è ancora molto definita, tanto che talvolta vengono descritti come canali P/Q. Studi recenti hanno proposto che i canali P e quelli Q si differenzino per uno *splicing* alternativo della subunità α1A e per l'associazione con diverse subunità β.

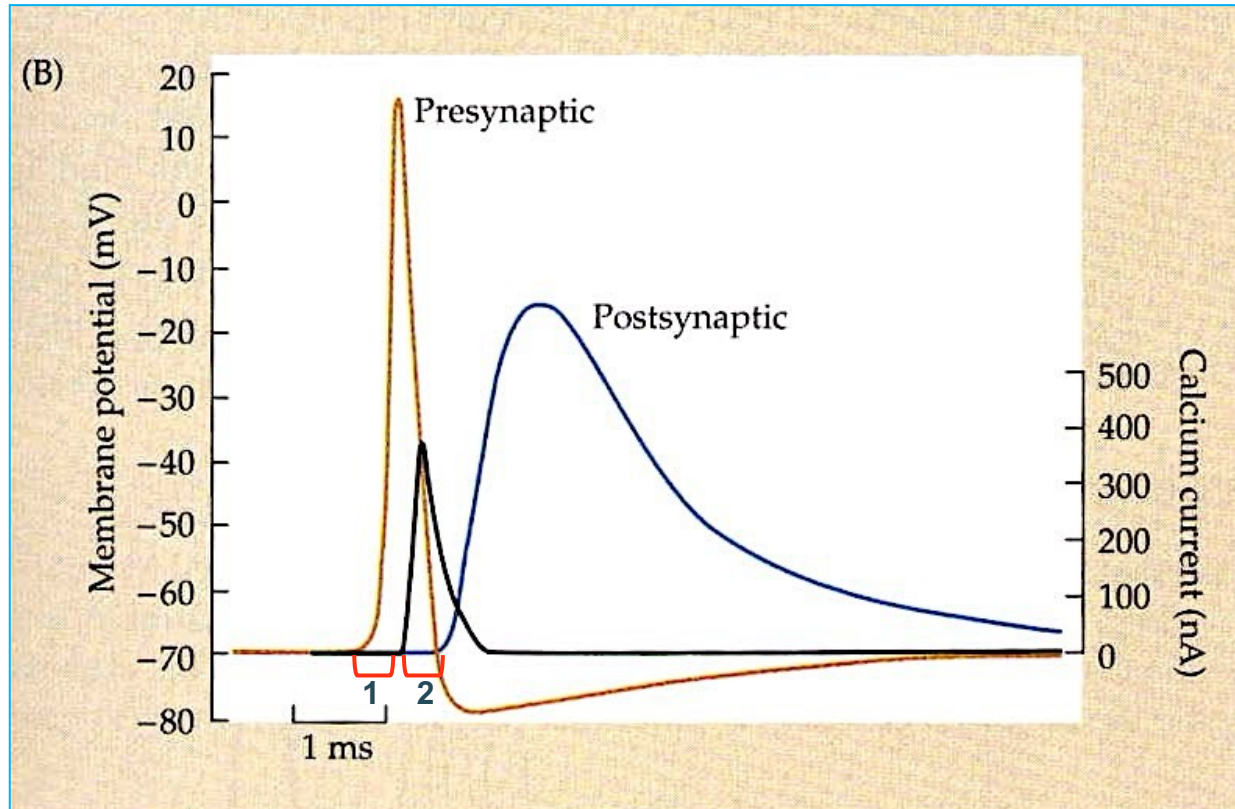
# Neurotrasmettitori classici e neuropeptidi sono rilasciati dal terminale sinaptico in tempi e punti diversi



Neurotrasmettitore classico:  
frazione di millisecondo

Neuropeptidi: diversi secondi

# Il Ritardo Sinaptico



- ritardo:  $0.5 \text{ ms (1)} + 0.5 \text{ ms (2)} = 1 \text{ ms}$  (Llinàs e coll.)
- Dipendente dalla temperatura

# Ruoli presunti dei neurotrasmettitori nel cervello

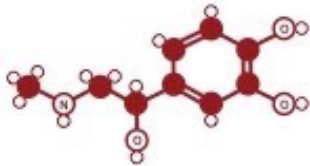
Cacao



Attività fisica



**ADRENALINE**



Fight or flight neurotransmitter

**NORADRENALINE**



Concentration neurotransmitter

**DOPAMINE**



Pleasure neurotransmitter

**SEROTONIN**



Mood neurotransmitter

**GABA**



Calming neurotransmitter

**ACETYLCHOLINE**



Learning neurotransmitter

**GLUTAMATE**



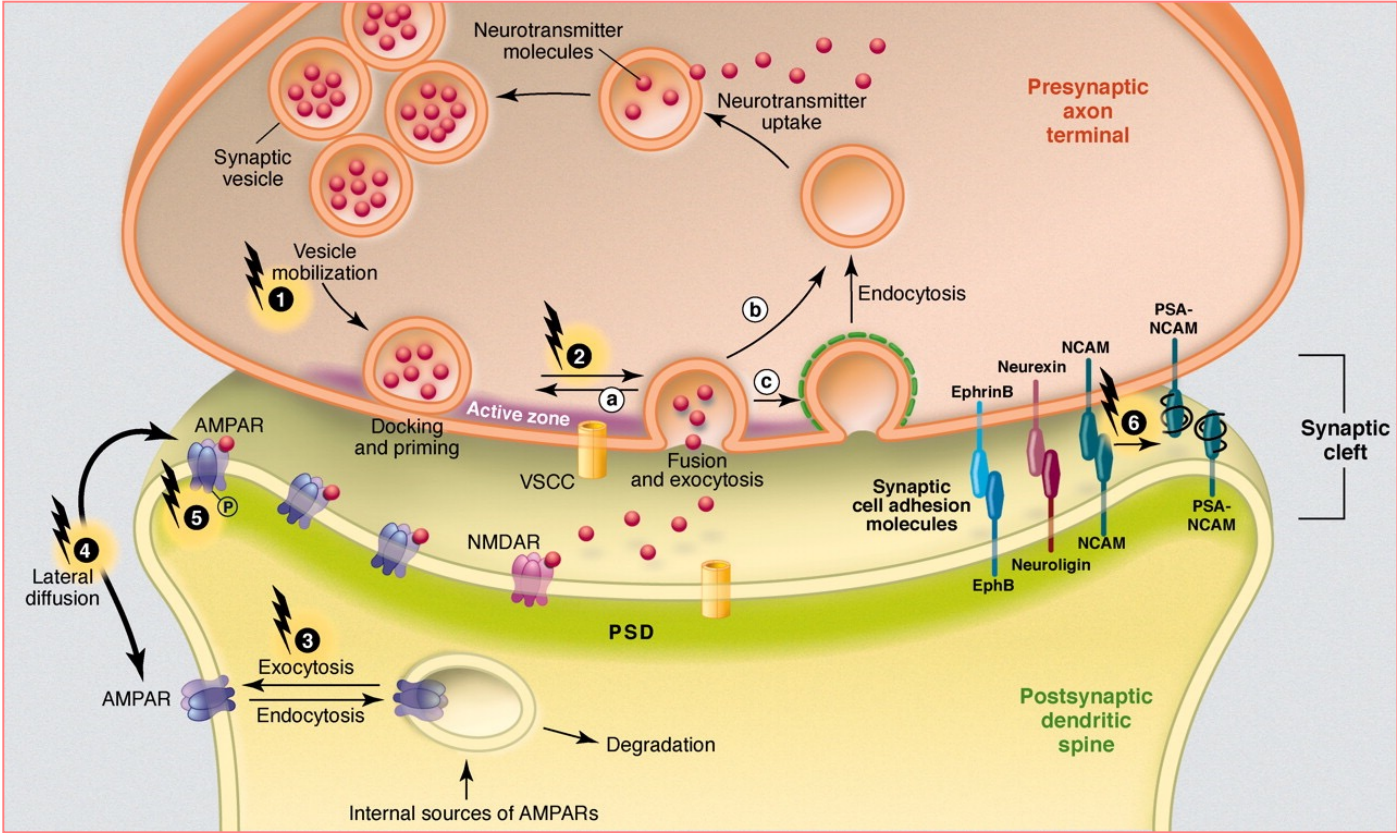
Memory neurotransmitter

**ENDORPHINS**



Euphoria neurotransmitter

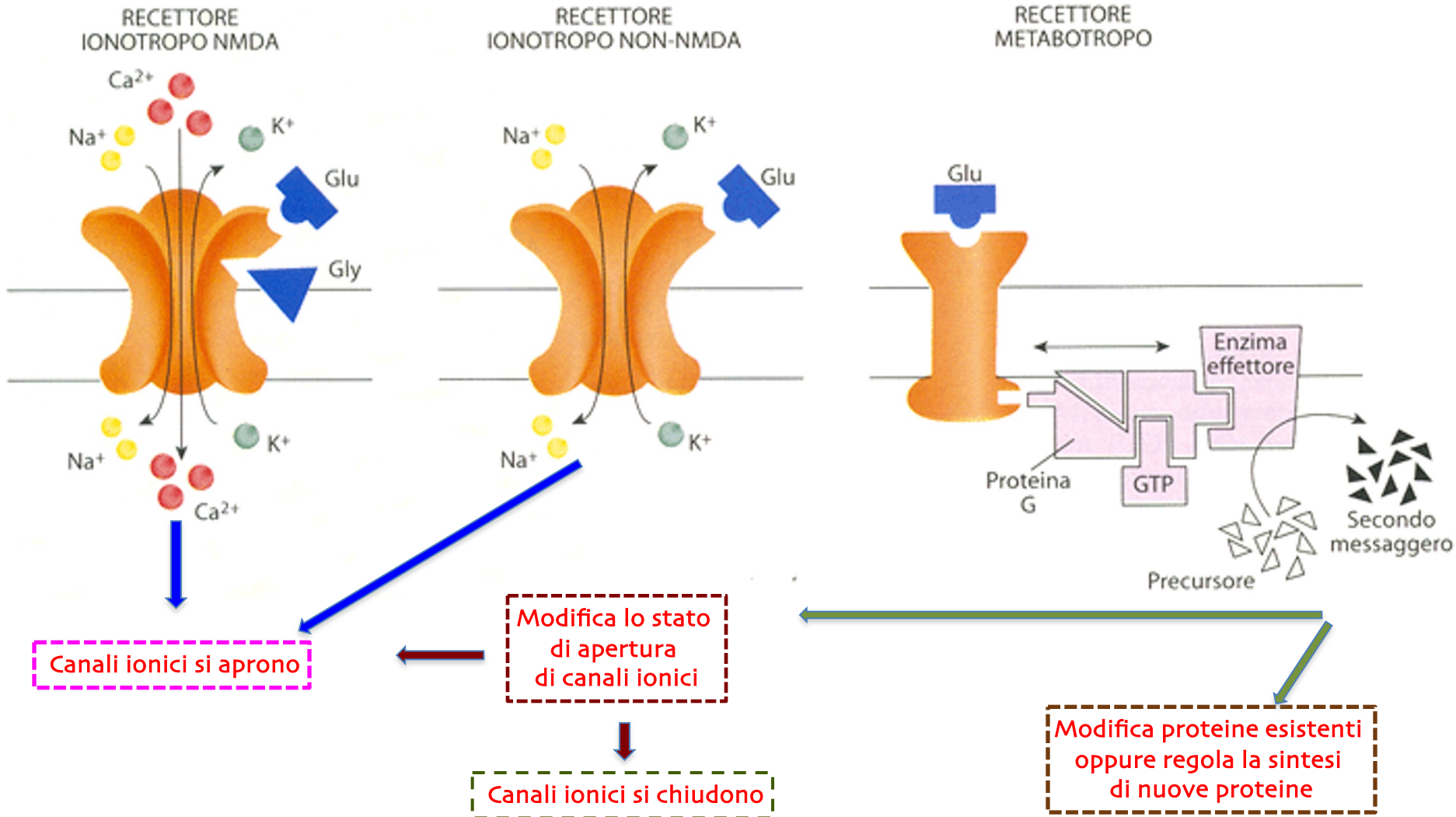
# Recettori postsinaptici



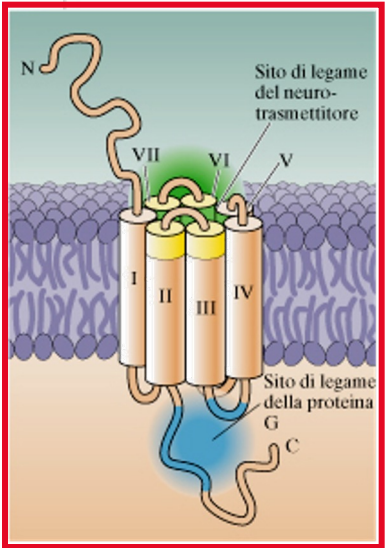
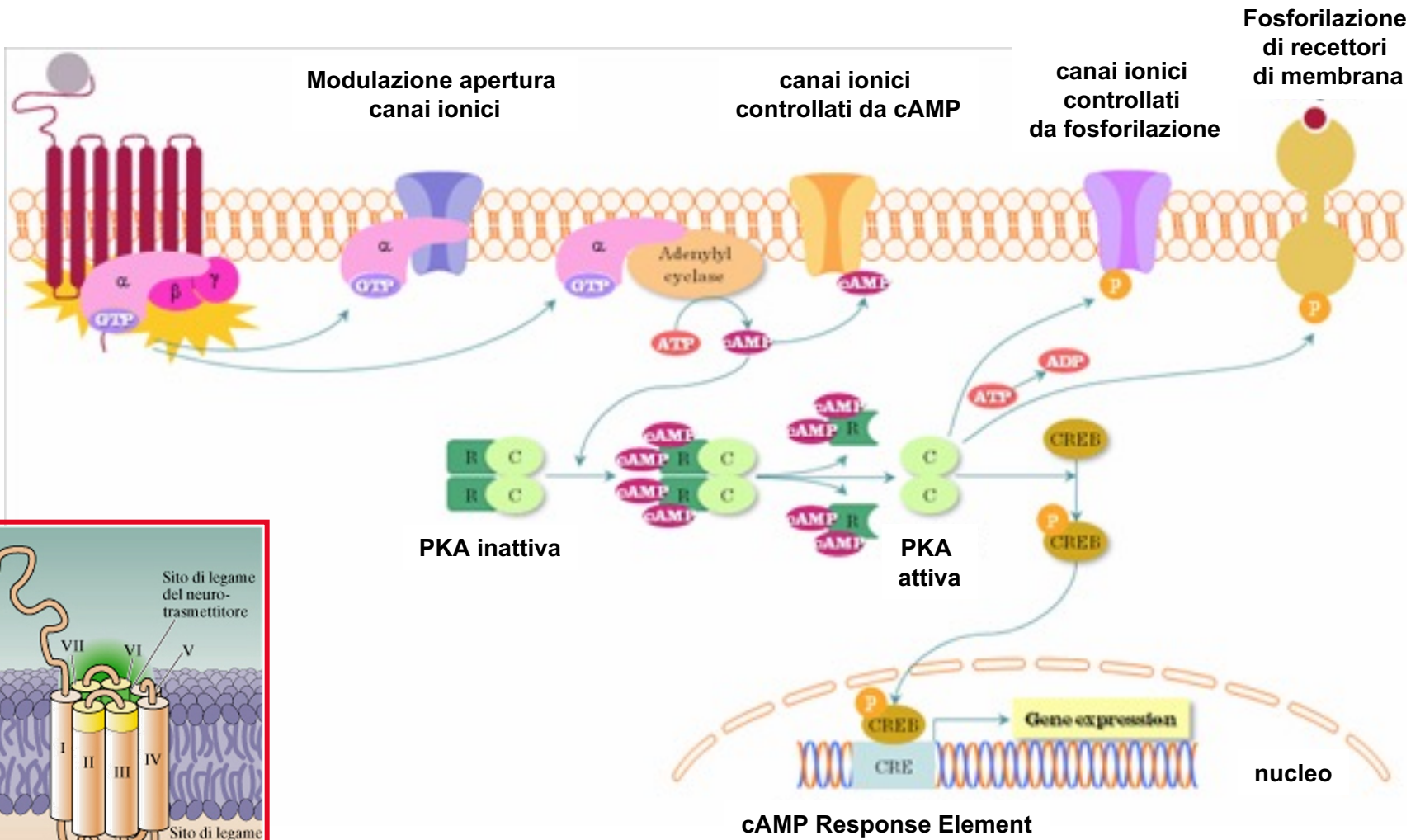
# Due tipi di recettori post-sinaptici: ionotropi e metabotropi

Agonista: N-Metil-D-Aspartato

Agonista: AMPA:  
alfa-Amino-3-Irossi-5-Metil-4-isoxazolone propionato)

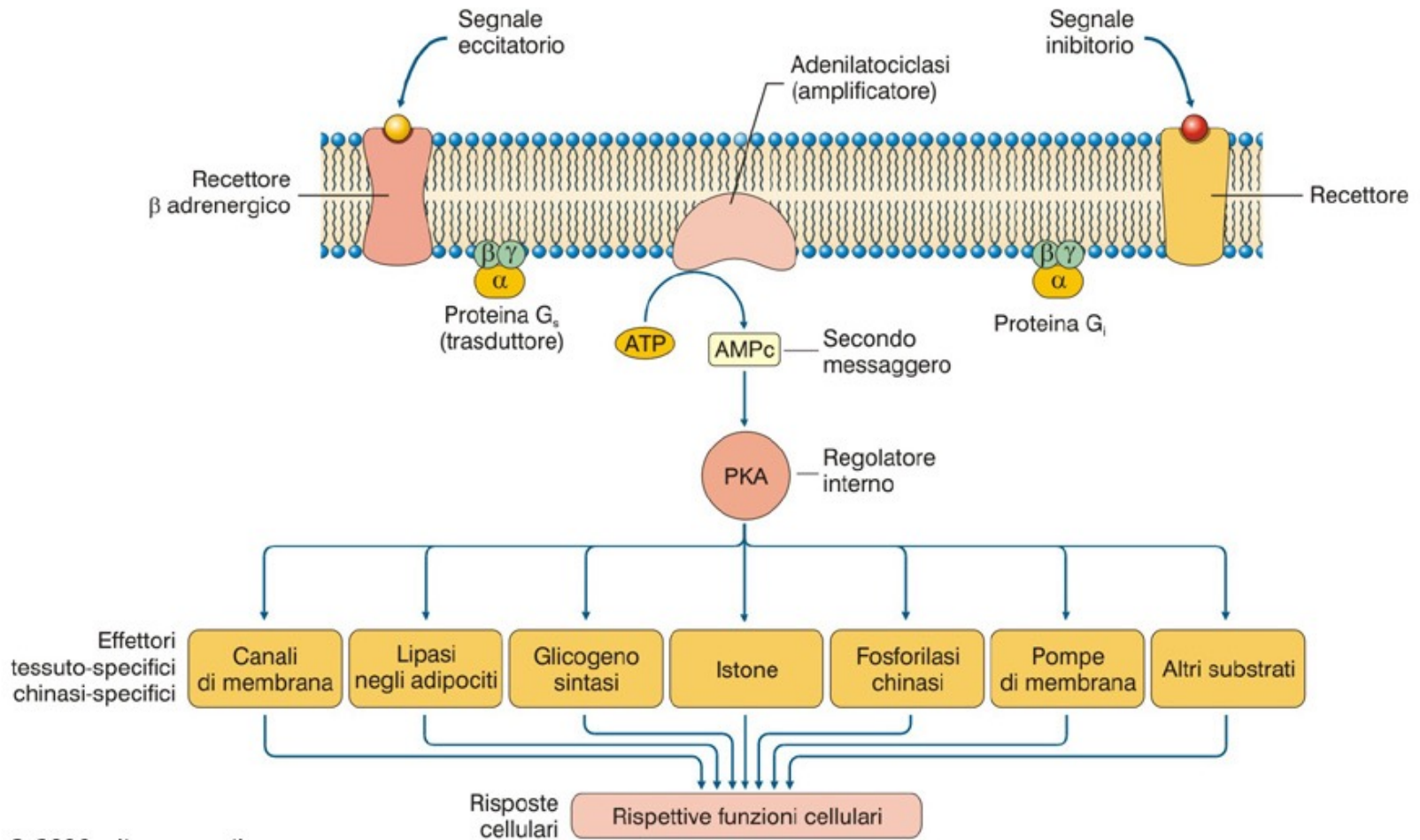


# Recettore metabotropo





# Esistenza di proteine G eccitatorie ed inibitorie



# Amplificazione del segnale

