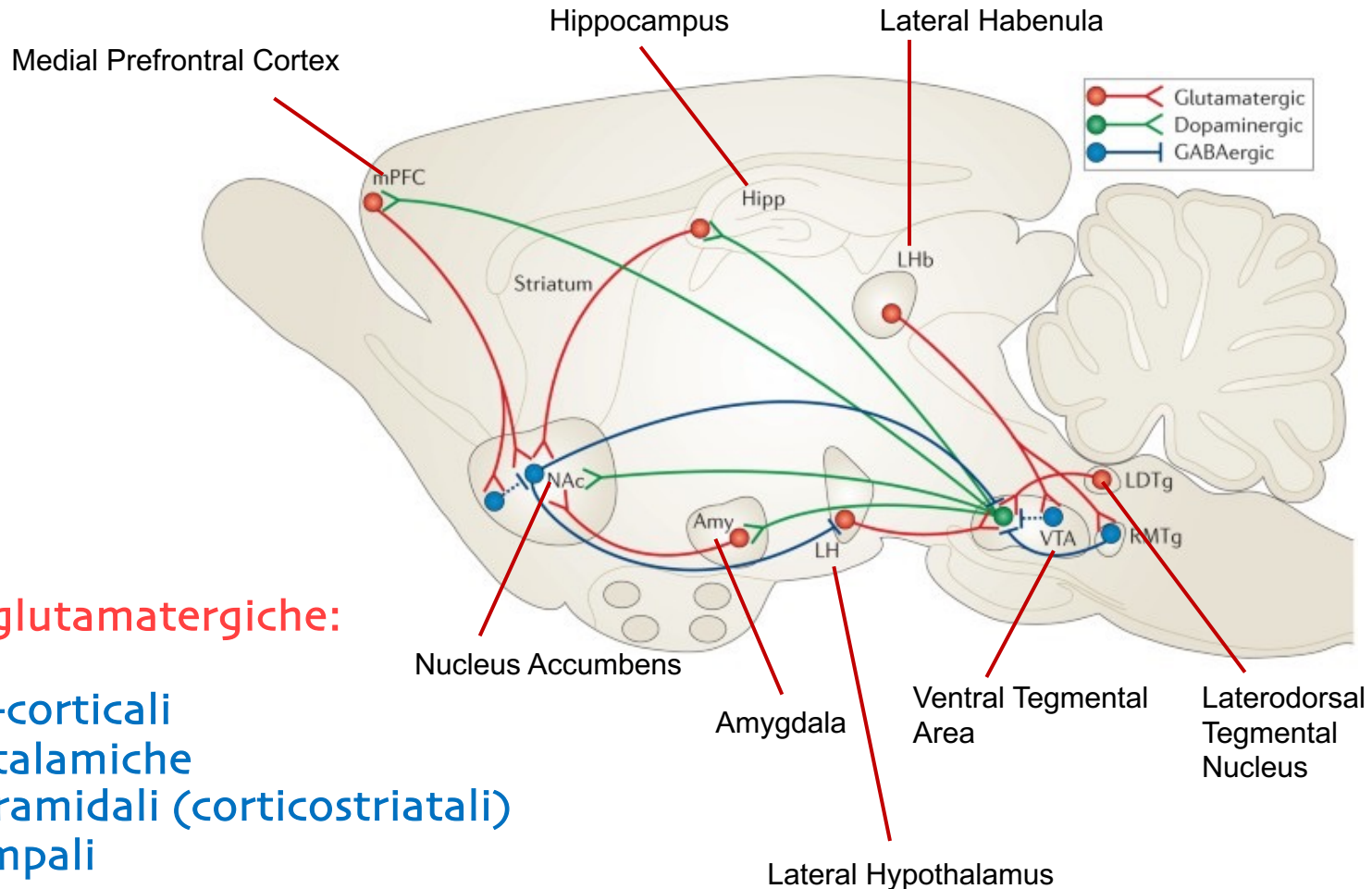


Circuiti glutamatergici



Principali vie glutamatergiche:

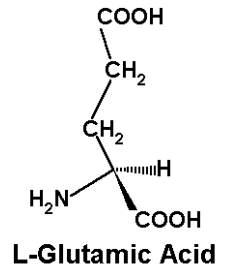
- Vie cortico-corticali
- Vie corticotalamiche
- Vie extrapiramidali (corticostriatali)
- Vie ippocampali

Altre vie glutamatergiche:

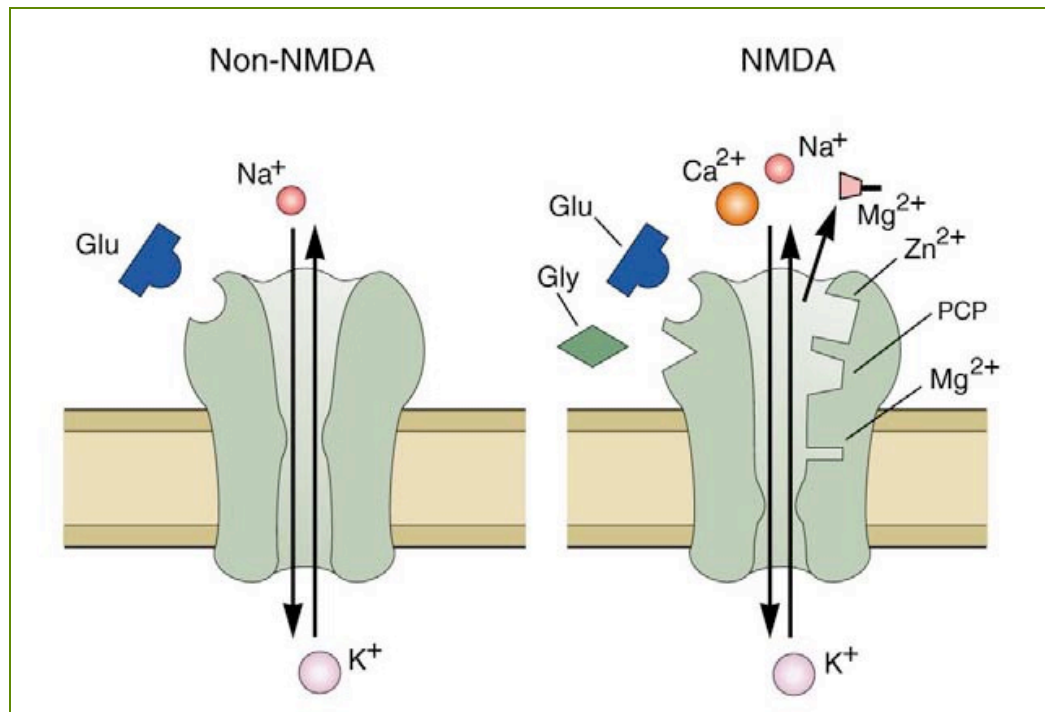
Proiezioni tra la corteccia, la substantia nigra, il nucleo subtalamico e il globus pallidum

Il Glutammato ed i suoi recettori

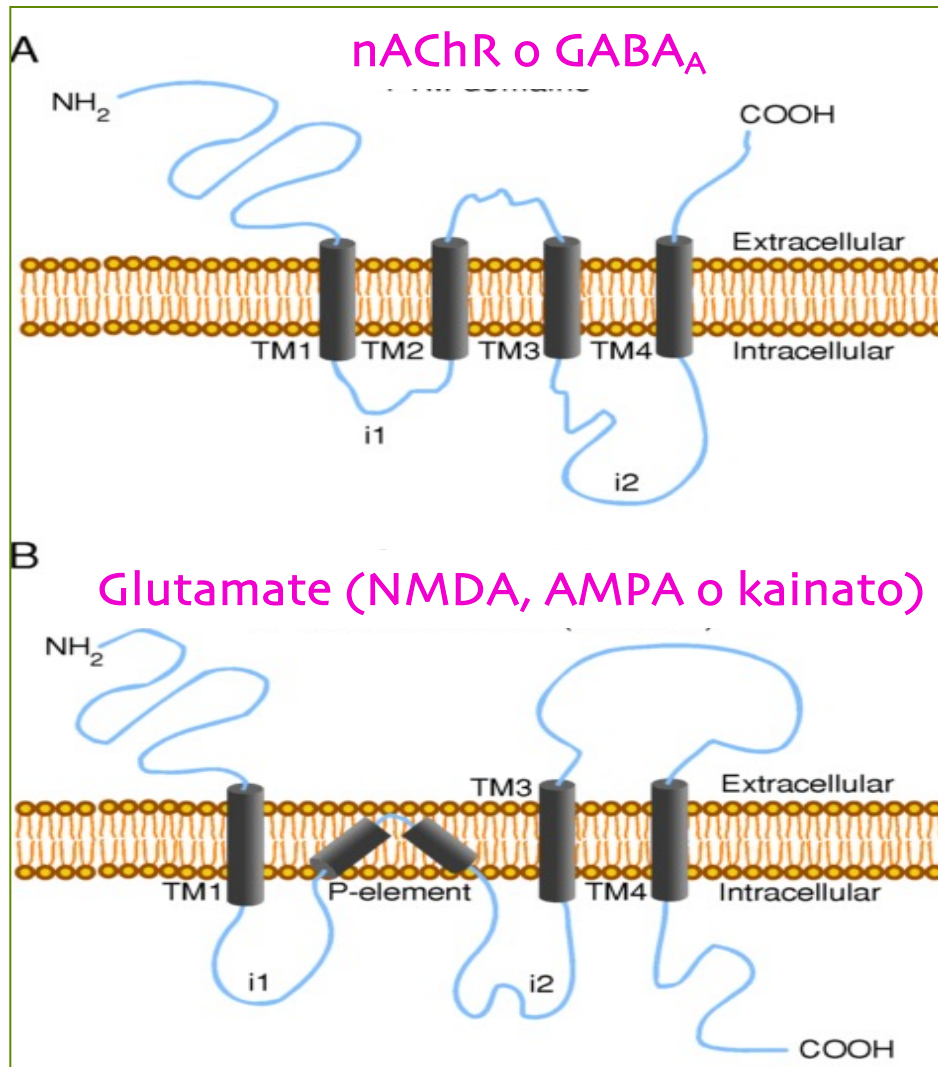
Ionotropi



- **AMPA** (alfa-Amino-3-Idrossi-5-Metil-4-isoxazolone propionato): controlla canali ionici Na^+/K^+
- **NMDA** (N-metil-D-aspartato): controlla canali ionici $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$
- **Kainato**: controlla canali ionici Na^+/K^+



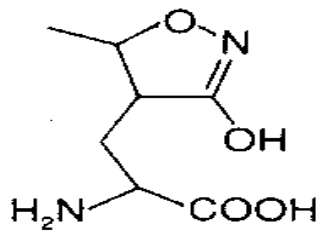
I recettori ionotropi del glutammato hanno tre domini transmembrana ed un *loop* rientrante



5 subunità

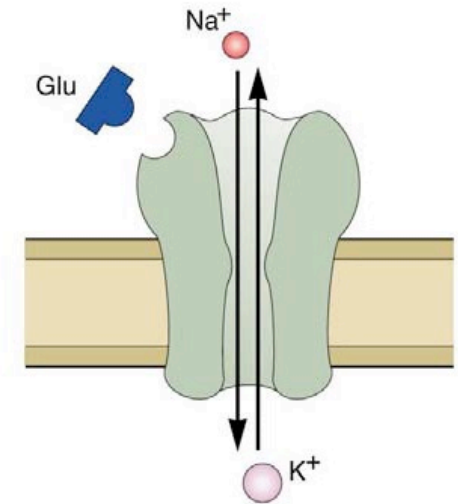
•4 subunità

•Catene polipeptidiche più lunghe dei nAChR



AMPA

Recettori AMPA



Varietà di segnali eccitatori:

- ❖ Hanno cinetiche di attivazione/inattivazione e molto rapide
- ❖ Sono permeabili al Na^+ (entrata) e K^+
- ❖ Sono localizzati nella densità **postsinaptica**
- ❖ Sono responsabili della risposta eccitatoria rapida (depolarizzante) tipica delle sinapsi glutammatergiche

➤ **Agonista:** AMPA

➤ **Antagonista:** CNQX (6-ciano-7-nitroquinaxalin-2,3-dione)

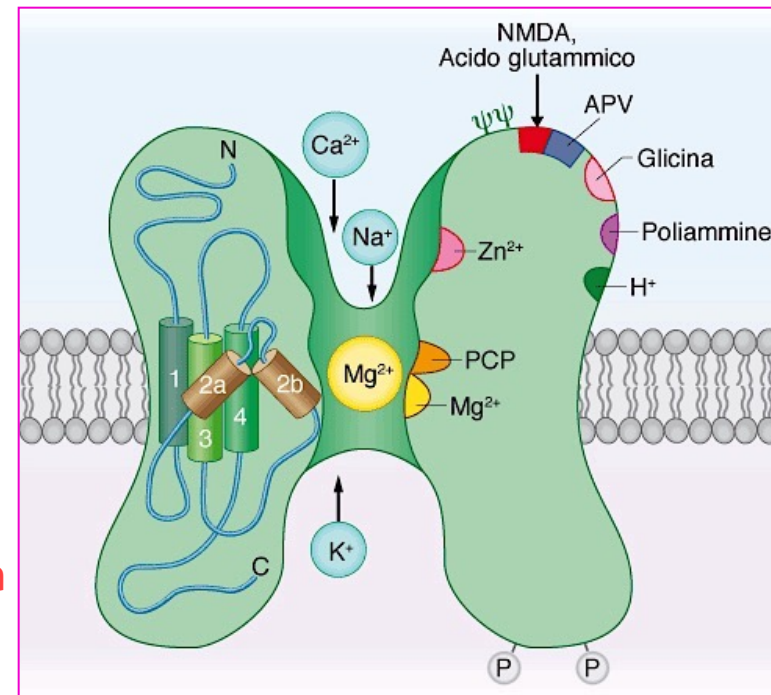
Azioni:

- ❖ Processamento sensoriale
- ❖ Apprendimento (ruoli diversi nello sviluppo)
- ❖ Regolatore del dolore (media i segnali dolorifici)
- ❖ Induzione di crisi epilettiche

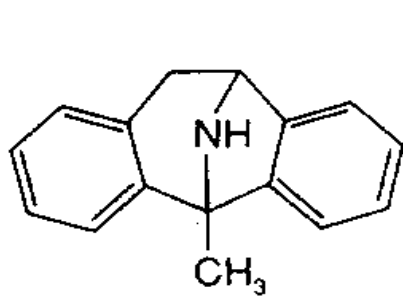
Recettori NMDA

NMDA (N- metil-D-aspartato)

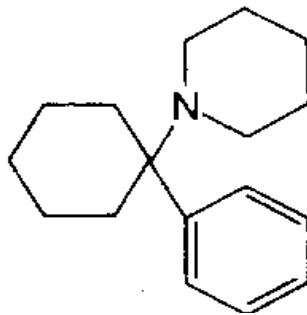
- Molto espressi in corteccia e ippocampo:
7 varianti di NMDAR₁; 4 varianti di NMDAR₂
- L'attivazione richiede glicina come un co-agonista
- Ha molti siti di legame e ligandi:
 1. sito per il glutammato
 2. sito per la glicina
 3. sito per il Mg^{2+}
 4. sito per lo Zn^{2+}
 5. sito allosterico per le poliammine (può amplificarne la funzione)
 6. sito di blocco dell'apertura del canale (antagonisti non competitivi: PCP, MK 801, ketamina)[@]
- Mantenuto inattivo dallo ione Mg^{2+} all'interno del canale
- Bloccati dall'acido fosfoaminovalerico (APV) (antagonista competitivo)



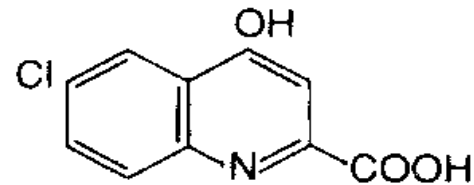
Phencyclidina, MK-801 e ketamina sono bloccanti dell'apertura del canale dei recettori NMDA



MK-801 (Dizolcipina)



Fenciclidina (PCP)



Ketamina

NOTA:

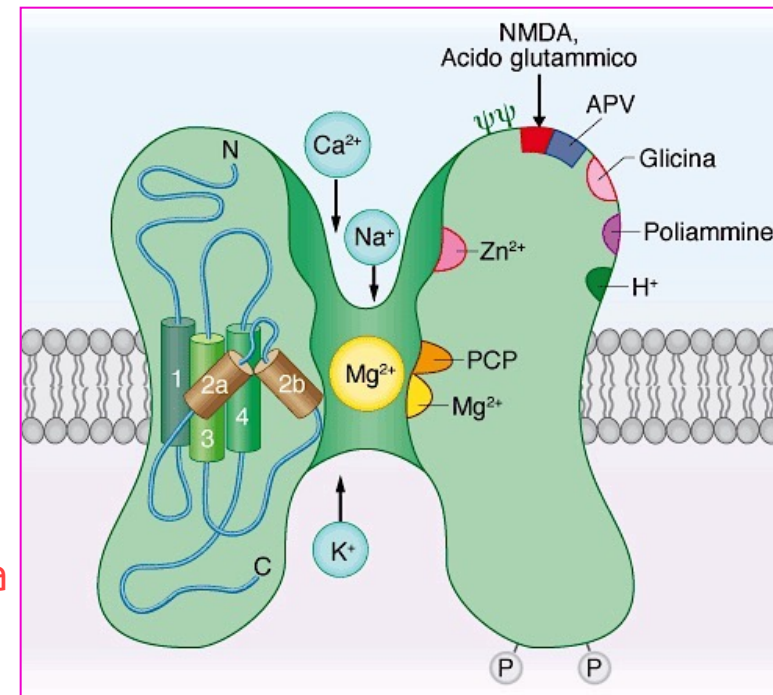
La **Fenciclidina** è una sostanza allucinogena ad azione oppiomimetica (usata come droga negli anni '60-'70)

•La **Ketamina** può provocare fenomeni allucinogeni. Viene usata per indurre un'anestesia "dissociativa" (dissociazione funzionale tra il sistema limbico e talamo-corticale. Questo produce analgesia e amnesia profonda, mentre il paziente può avere gli occhi aperti e mantenere riflessi di protezione)

Recettori NMDA

NMDA (N- metil-D-aspartato)

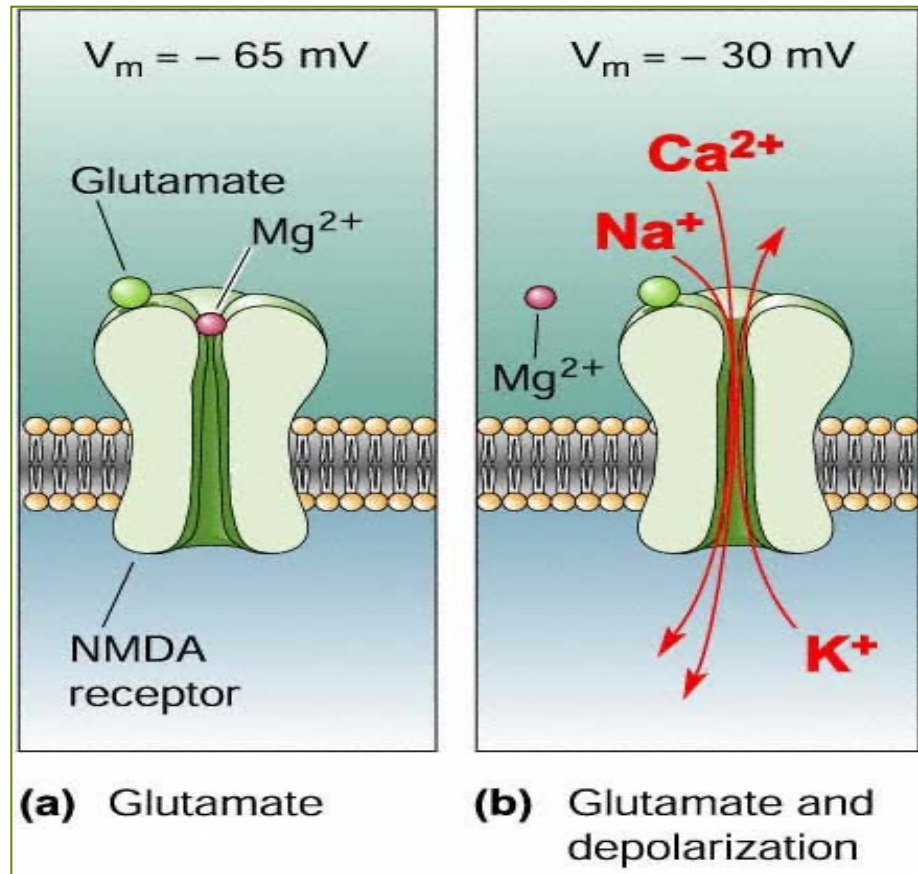
- Molto espressi in corteccia e ippocampo:
7 varianti di NMDAR₁; 4 varianti di NMDAR₂
- L'attivazione richiede glicina come un co-agonista
- Ha molti siti di legame e ligandi:
 1. sito per il glutammato
 2. sito per la glicina
 3. sito per il Mg^{2+}
 4. sito per lo Zn^{2+}
 5. sito allosterico per le poliammine (può amplificarne la funzione)
 6. sito di blocco dell'apertura del canale (antagonisti non competitivi: PCP, MK 801, ketamina)[@]
- Mantenuto inattivo dallo ione Mg^{2+} all'interno del canale
- Bloccati dall'acido fosfoaminovalerico (APV) (antagonista competitivo)



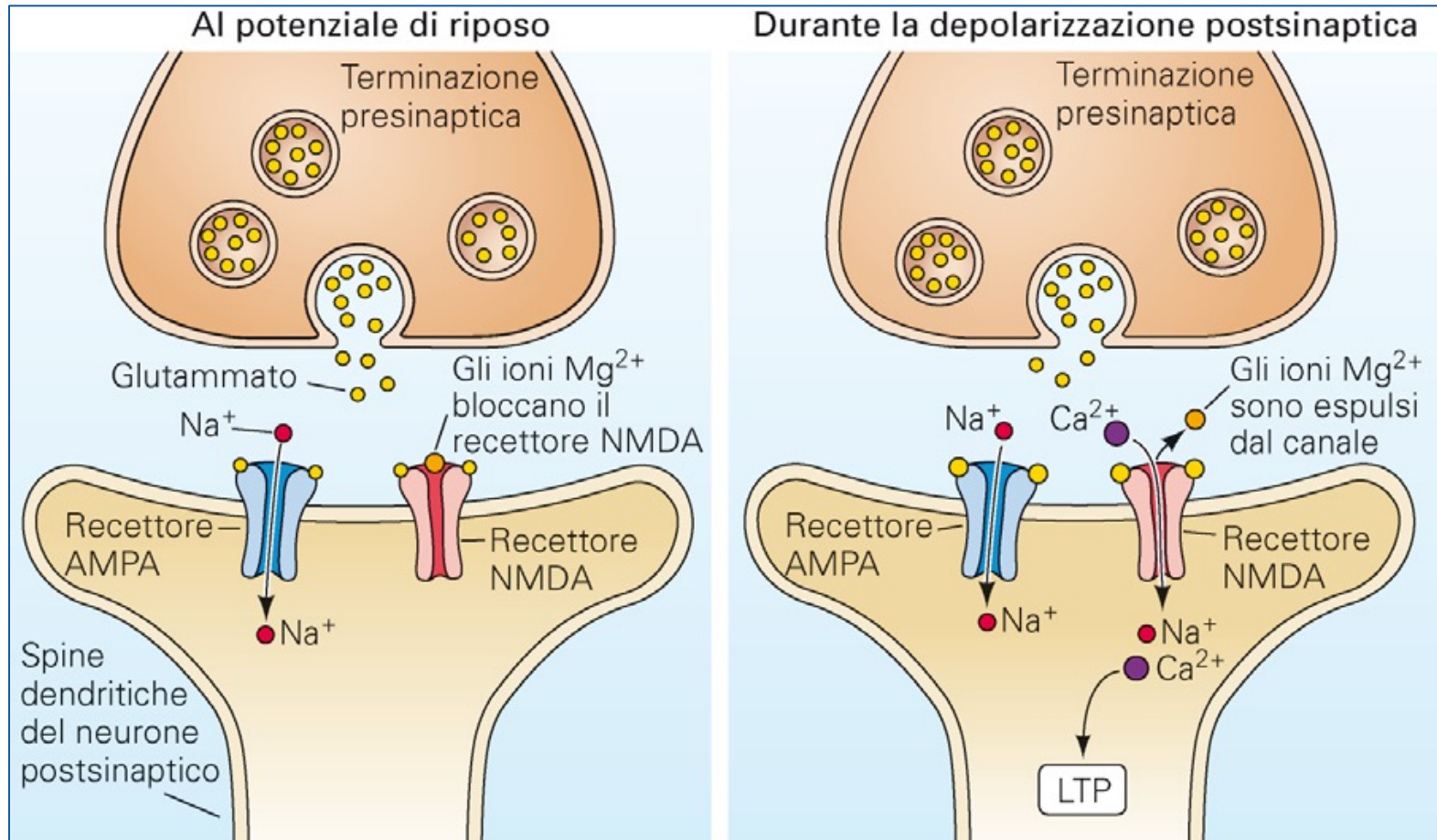
I recettori NMDA sono bloccati da uno ione Mg^{2+} con modalità voltaggio-dipendente

Mantenuto inattivo dallo ione Mg^{2+} all'interno del canale

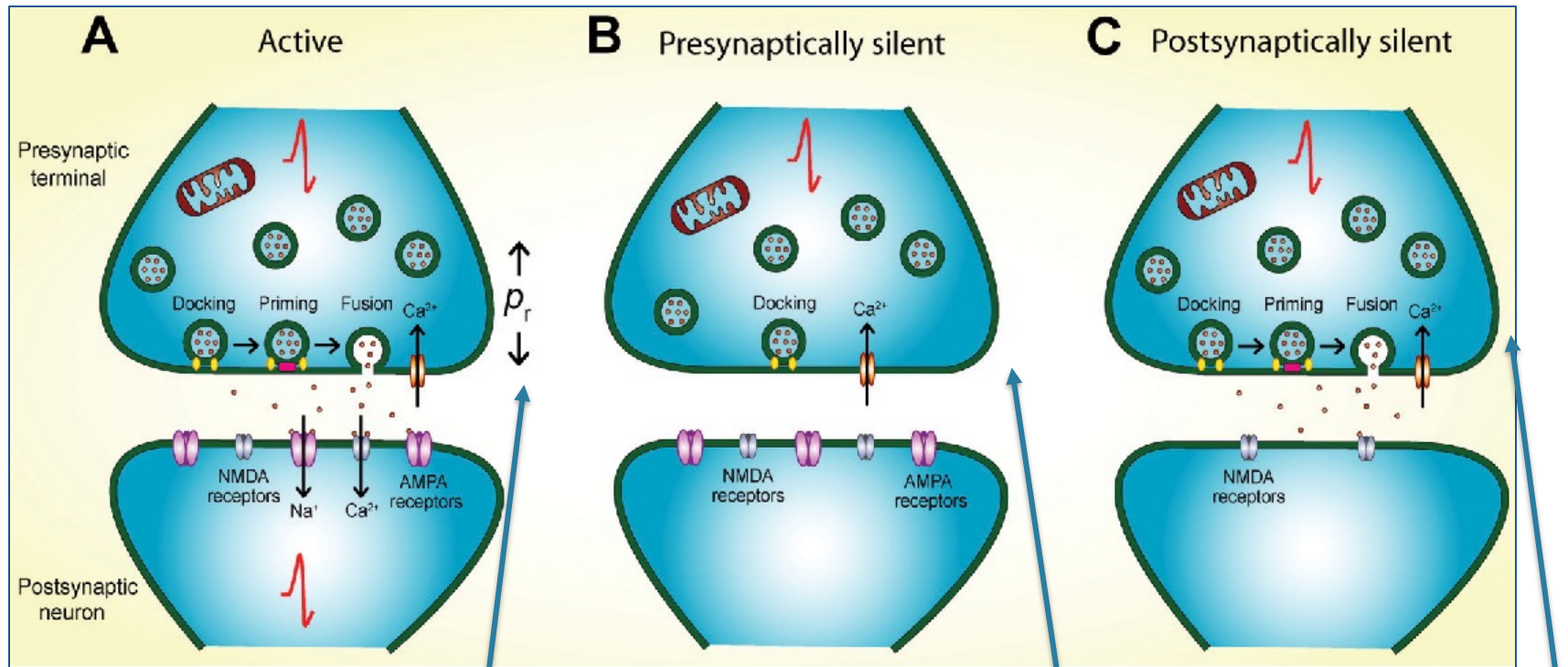
- E' richiesta una depolarizzazione per spostare lo ione e consentire l'attività del canale
- "Coincidence detector": si attiva solo in casi di attività ripetuta o simultanea in sinapsi adiacenti



Attivazione recettori NMDA nella stessa sinapsi



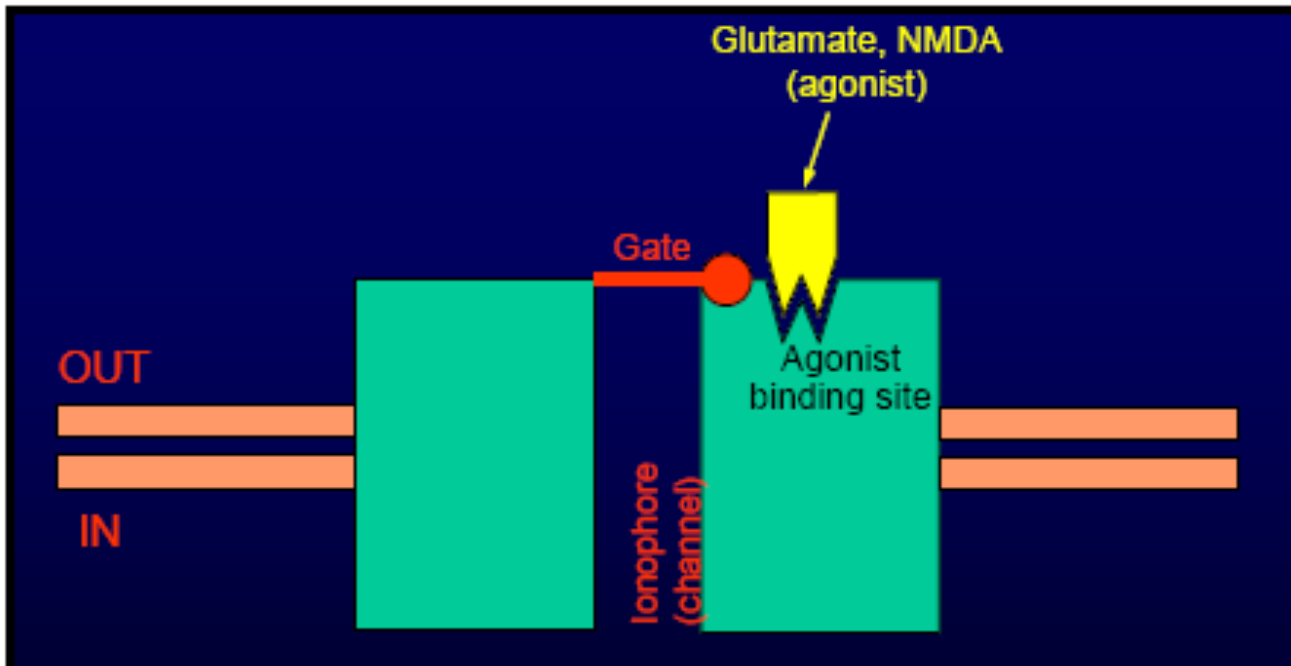
Terminazioni presinaptiche dormienti e sinapsi silenziose post-sinapticamente



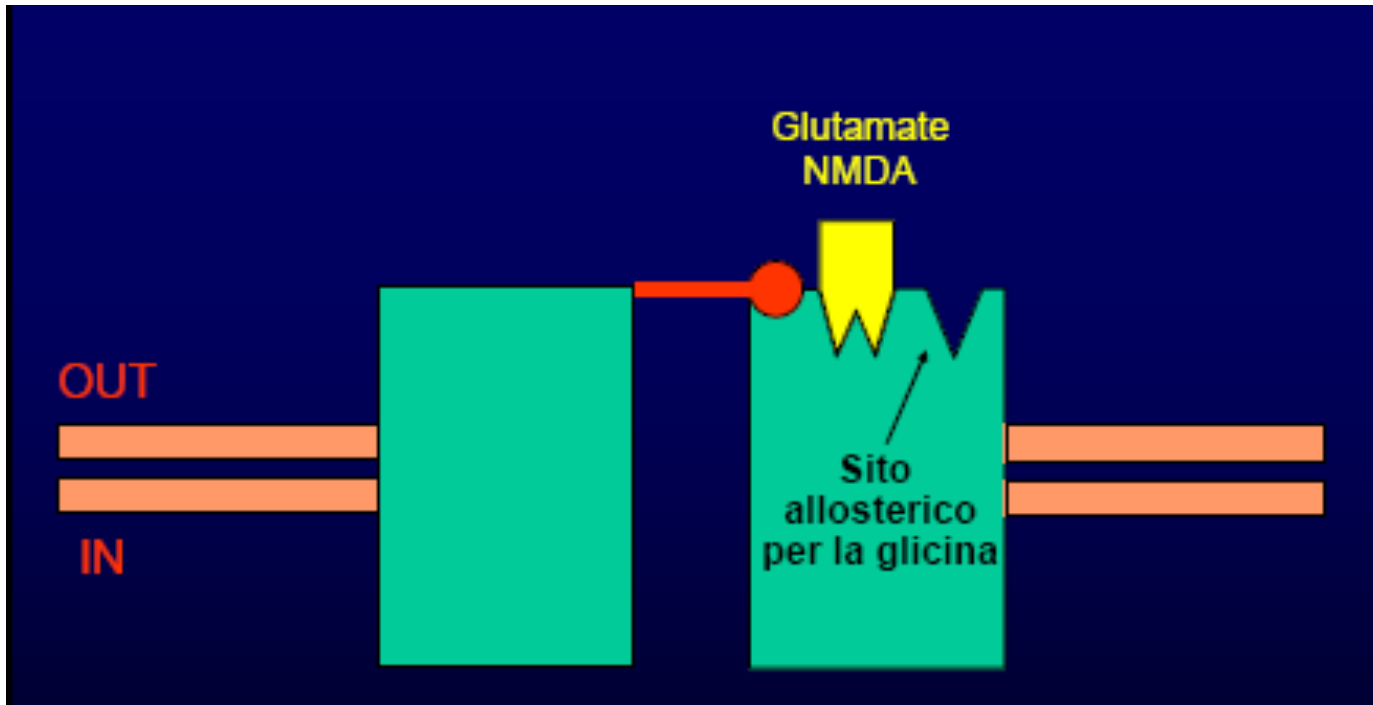
Probabilità di rilascio nella norma. Si ha **risposta postsinaptica**

Probabilità di rilascio al di sotto della norma, nonostante ingresso di Ca^{2+} . Poche vescicole nel pool di rilascio. **Non si ha risposta postsinaptica**

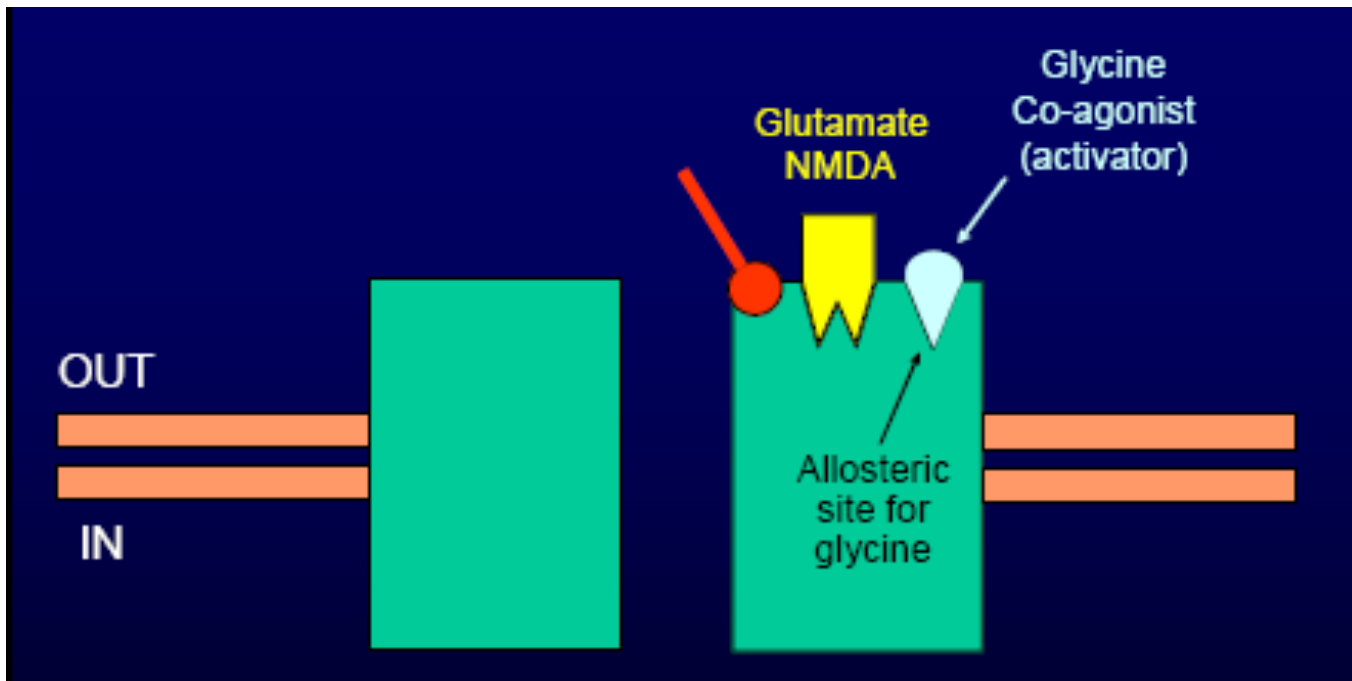
Probabilità di rilascio al nella norma, ma presenti solo recettori NMDA postsinaptici. **Non si ha risposta postsinaptica**



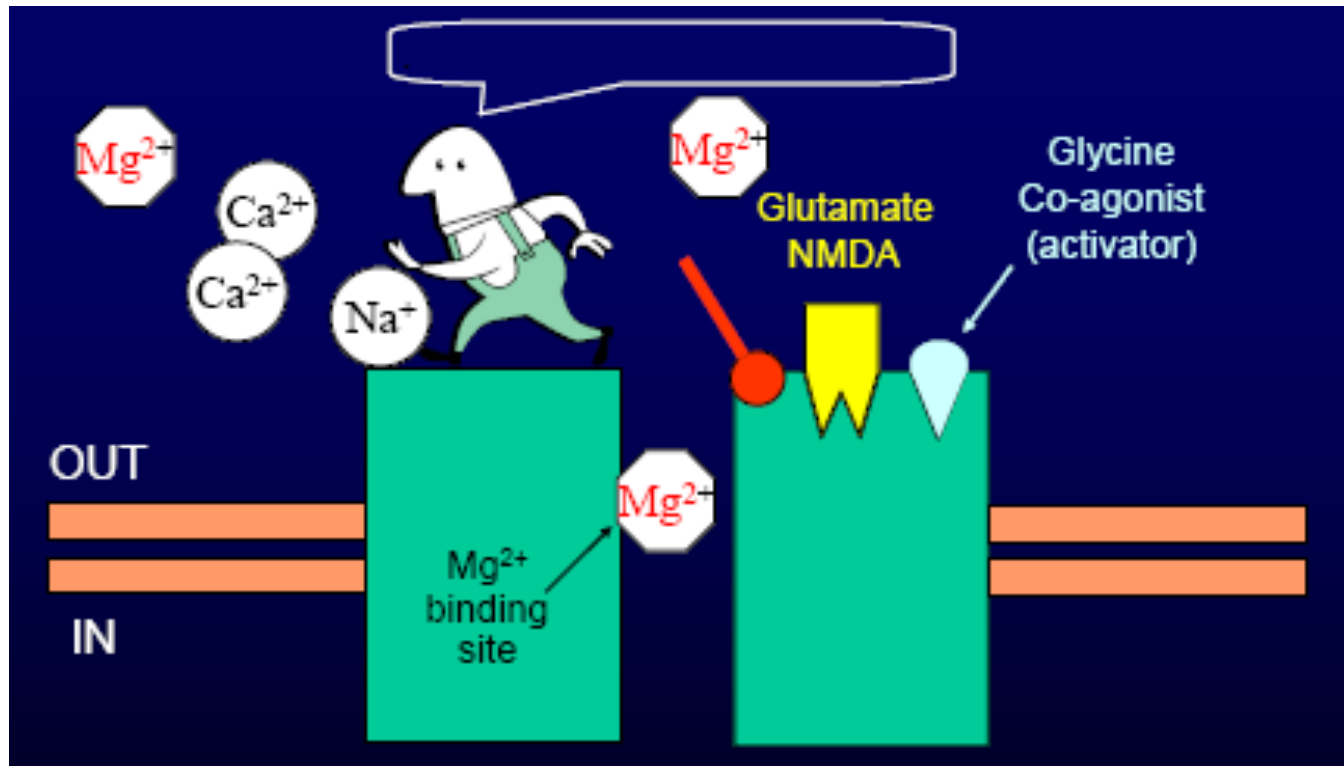
Il complesso NMDA-recettore ha un sito di legame per l'agonista, ma l'occupazione del sito di legame del NMDA o del glutammato non è sufficiente ad "aprire il gate"



Perché il glutammato possa attivare questo recettore, occorre che un secondo sito di legame allosterico sia occupato dalla glicina (co-agonista)

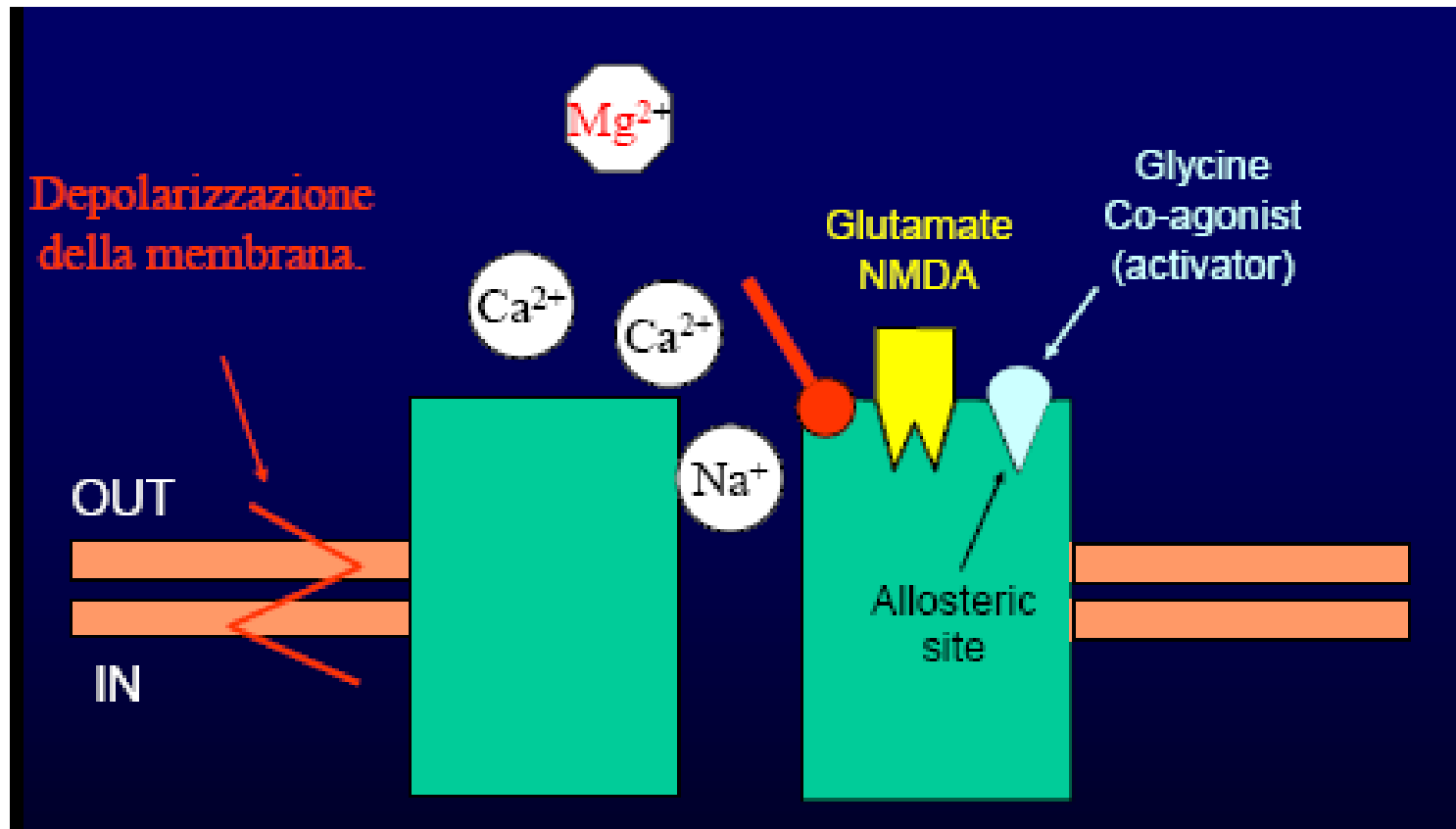


La glicina potenzia l'affinità del glutammato per il proprio recettore ed è privo di attività intrinseca (agonista allosterico)



La sola apertura del "gate" non è sufficiente per lasciar passare gli ioni attraverso il complesso NMDA-recettore

Questo perché l'influsso di calcio avviene solo se la membrana post-sinaptica è sufficientemente depolarizzata, così da rimuovere il blocco che lo ione Mg^{2+} esercita a livello del canale ionico recettoriale



La membrana deve essere sufficientemente depolarizzata (*per es. attraverso l'attivazione dei recettori AMPA*) per rimuovere il blocco

L' influsso di calcio mediato dall'attivazione del recettore NMDA ha importanti effetti biologici sul neurone

Sviluppo, plasticità, apprendimento:

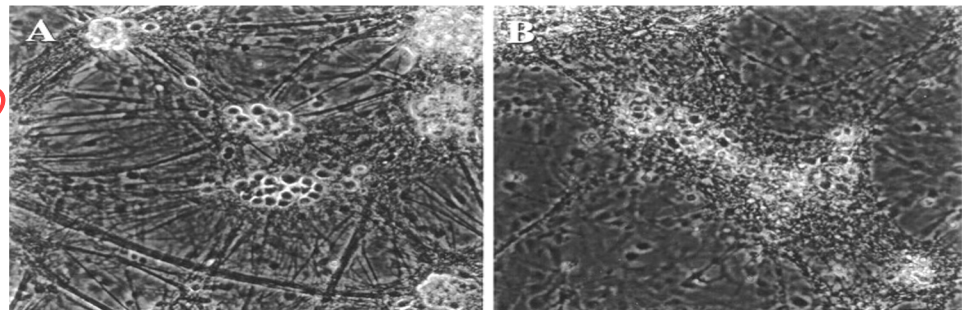
• Effetti di tipo trofico

- Aumenta il numero delle sinapsi
- Aumenta l'arborizzazione dendridica
- Aumenta il numero di spine
- Aumenta l'arborizzazione neuritica

• Effetti di tipo regolatorio della trasmissione sinaptica (*potenziamento e depressione sinaptica di lunga durata*)

- Long-term Depression (LTD)
- Long-term Potentiation (LTP)

• Effetti di tipo tossico (*eccitotossicità*)

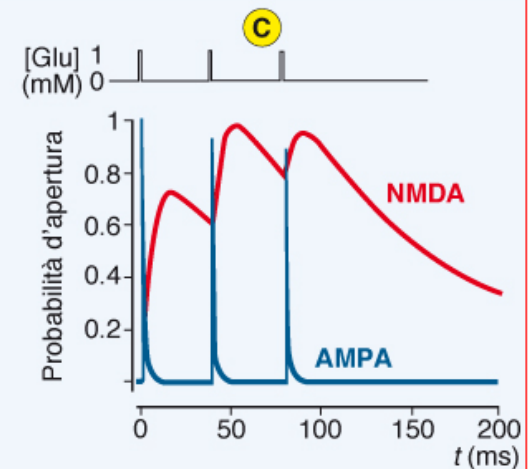
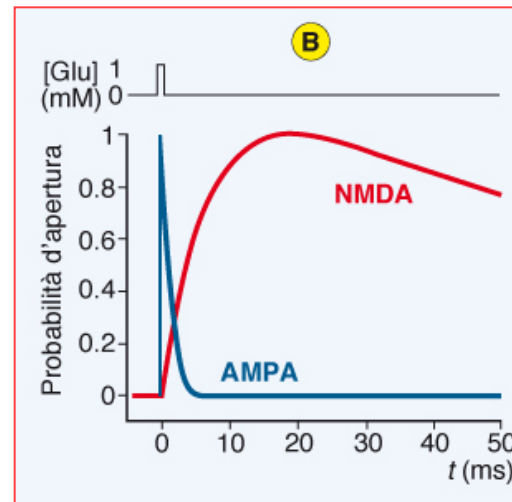
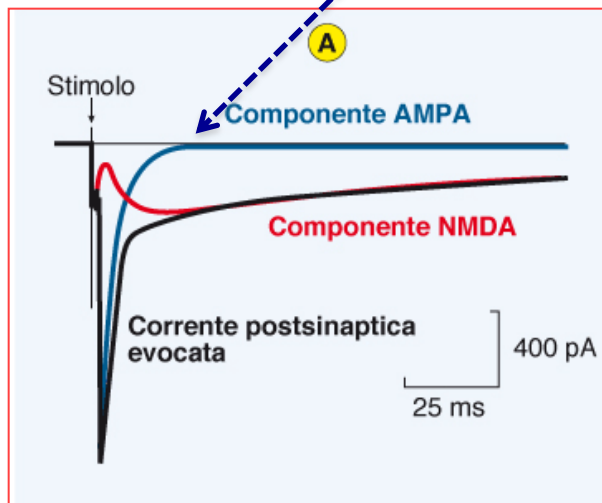


Esposizione all'NMDA (300 mM) per 24 h

Le correnti post-sinaptiche glutamatergiche hanno una componente veloce ed una lenta

AMPA: si attivano rapidamente e si estinguono entro 20 ms

Le correnti AMPA si possono attivare ripetutamente in risposta ad un'attività sinaptica ad alta frequenza = efficace sommazione temporale degli EPSP



+ APV (acido 2-amino-5-fosfonovalerico)

+ CNQX (6-ciano-7-nitroquinaxalin-2,3-dione)

Sinapsi ippocampale di ratto

Blocco di Voltaggio postsinaptico a -60 mV e in assenza di Mg^{2+} extracellulare per rimuovere il blocco voltaggio-dipendente della componente NMDA

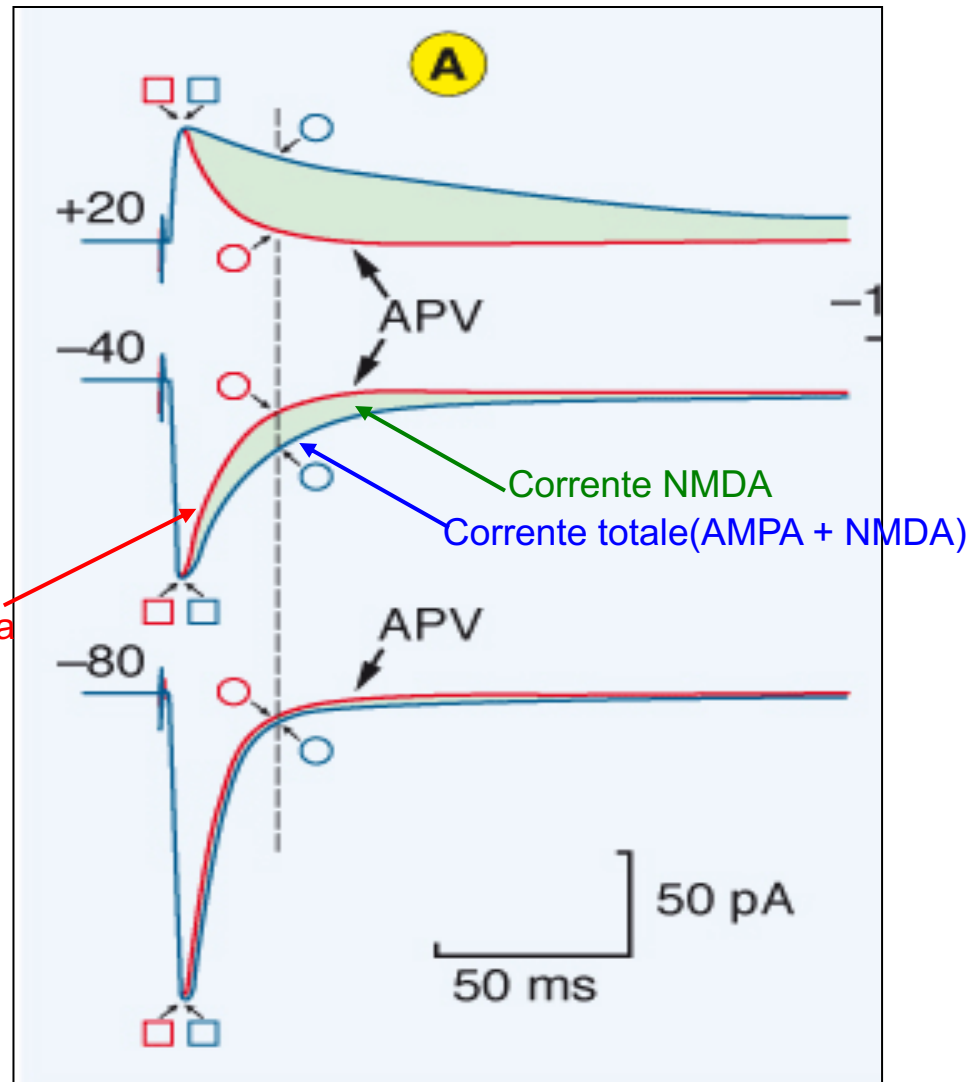
Le correnti post-sinaptiche glutamatergiche hanno una componente veloce ed una lenta

Sinapsi ippocampale di ratto

Correnti post-sinaptiche registrate in tre condizioni di blocco di Voltaggio postsinaptico

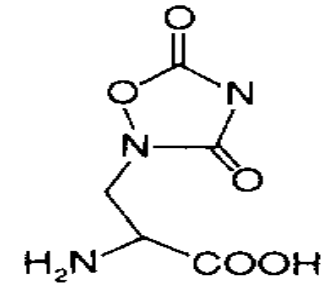
- corrente precoce prima di APV
- corrente precoce dopo APV
- corrente tardiva prima di APV
- corrente tardiva dopo APV

Corrente "veloce" mediata dai recettori AMPA



Recettori Kainato

Kainate

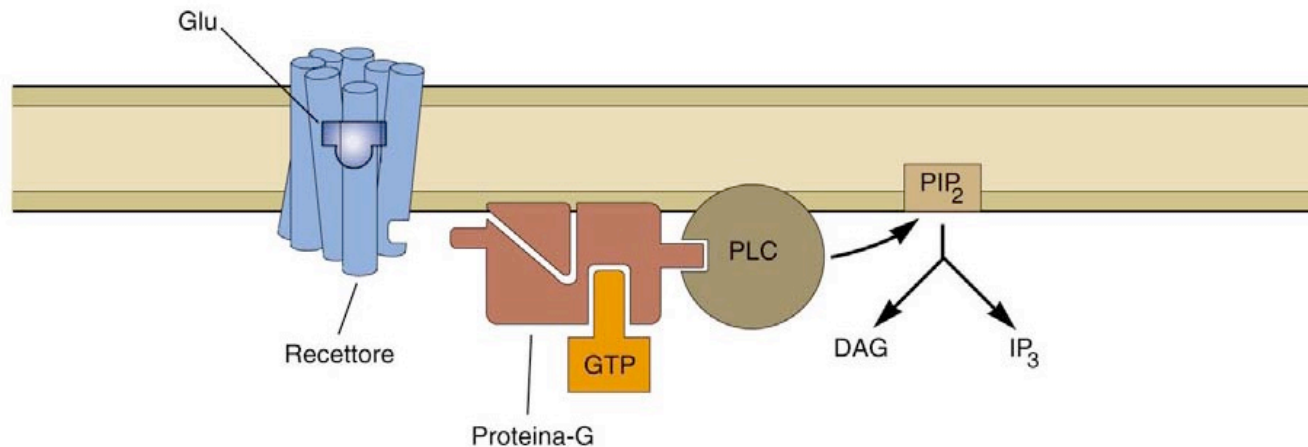


- Sono diffusi in tutto il SNC (*ma meno abbondanti dei recettori AMPA*)
- Sono poco permeabili al Ca²⁺
- Responsabili della trasmissione sinaptica rapida
- Possibili funzioni controllo presinaptico sul rilascio del neurotrasmettitore GABA (eterorecettori) o GLU (autorecettori)
- Corrente che si confonde con quella degli AMPA, possibile individuarli grazie al antagonista selettivo AMPA GYKI 5365
- Corrente post-sinaptica minore di quella evocata dagli AMPA e richiede attivazione ripetitiva del terminale pre-sinaptico
- Cinetica di decadimento più lenta degli AMPA

Recettori metabotropici

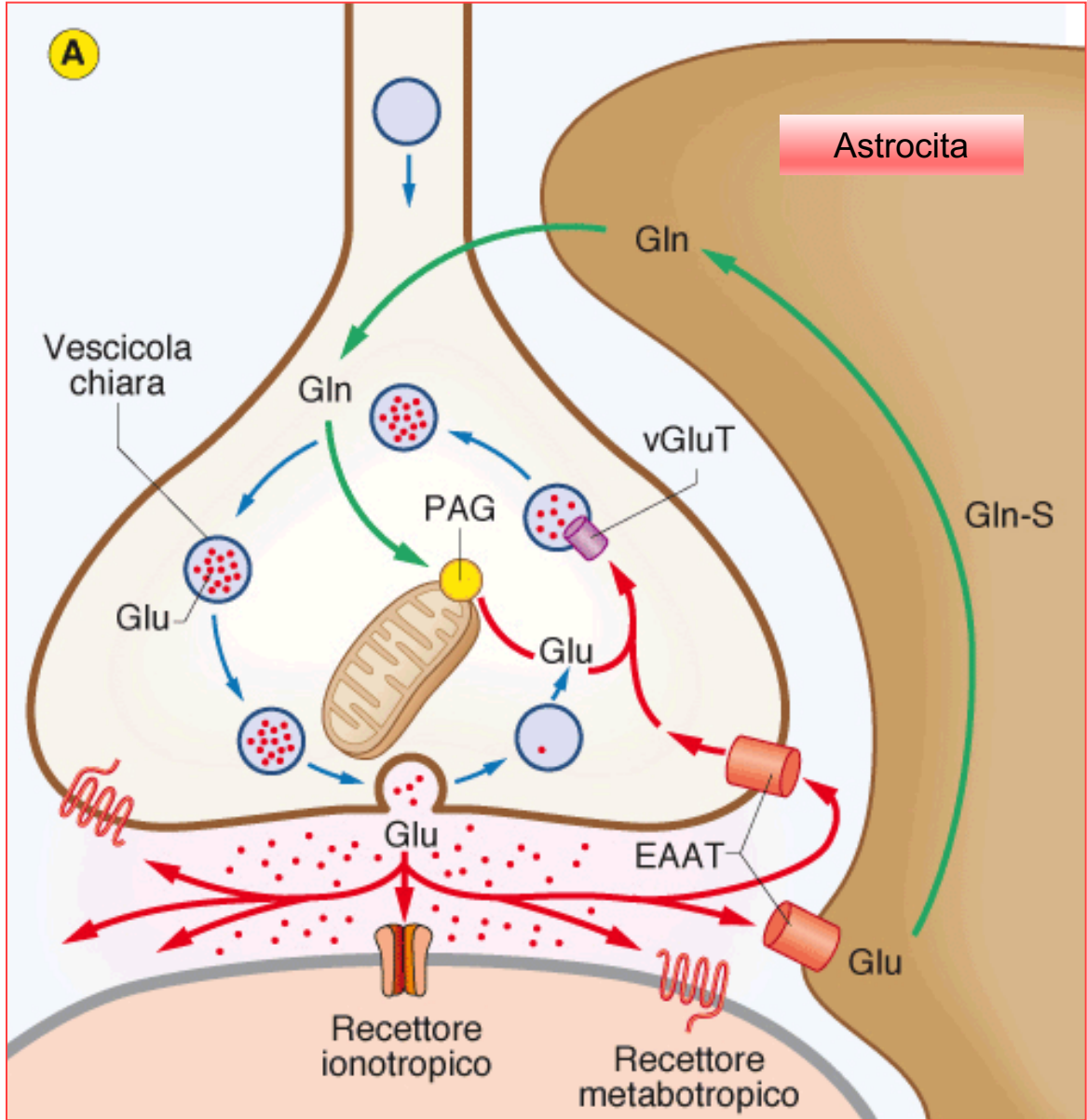
- Gruppo I: mGluR1, mGluR5: Gq, attivazione della fosfolipasi C (PLC)
- Gruppo II: mGluR2, mGluR3: Gi, inibizione dell'adenialto ciclasi (AC)
- Gruppo III: mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8: Gi, inibizione dell'AC

B Recettore dipendente da secondo messaggero (metabotropico)



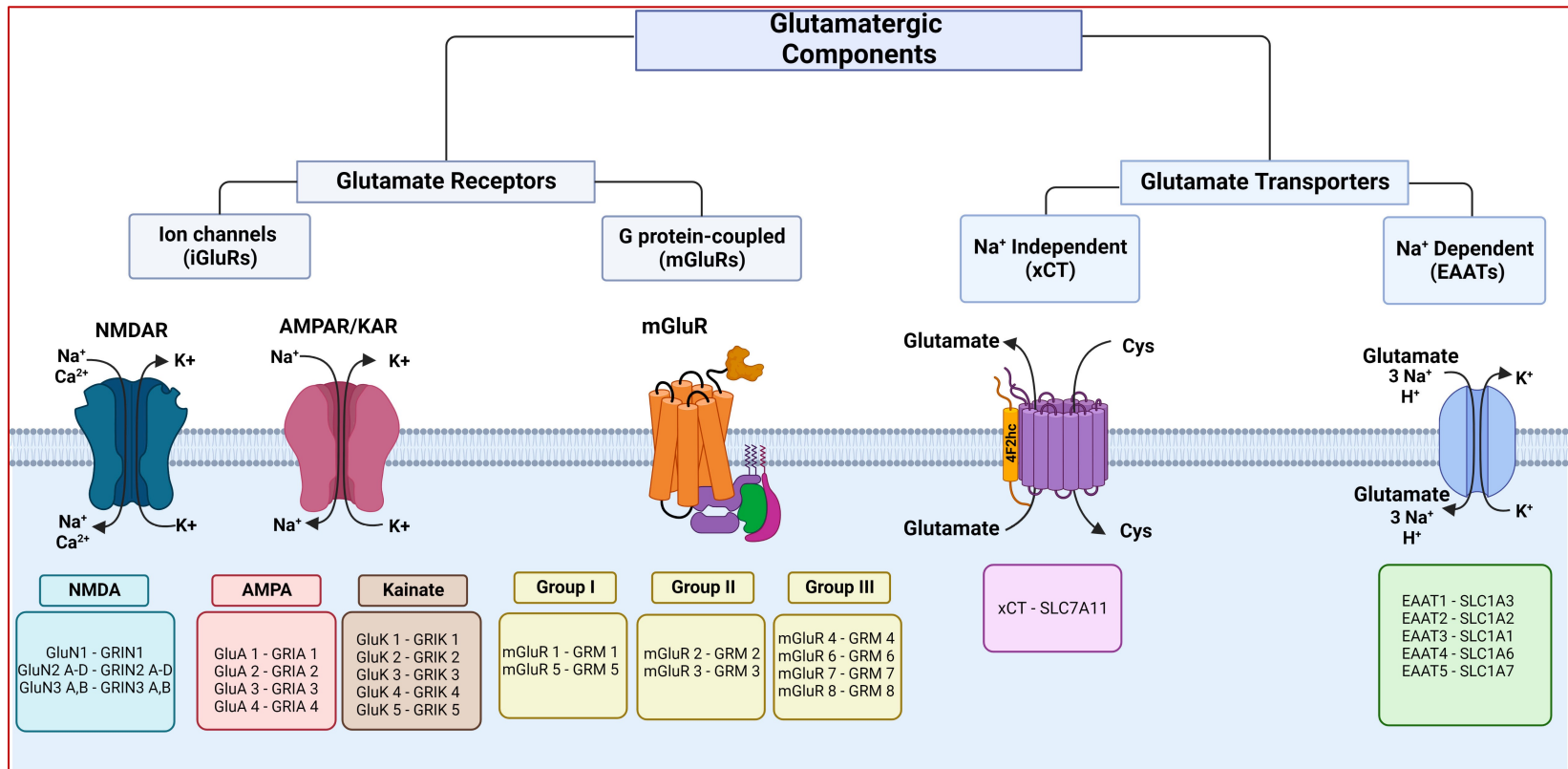
- Pochi agonisti ed antagonisti selettivi
- Coinvolti nell'ansia, crisi epilettiche, neuroprotezione, sostanze di abuso (*ad es. topi mGluR5 KO non hanno auto-somministrazione di cocaina*), apprendimento

La sinapsi glutamatergica



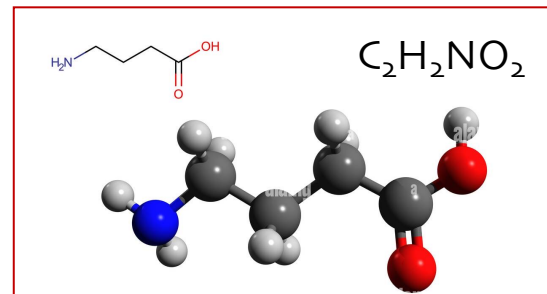
PAG: phosphate Activated Glutaminase
Gln-S: Glutamine synthase
EAAT: Excitatory Amino Acid Transporter

Visione d'insieme dei componenti glutamatergici

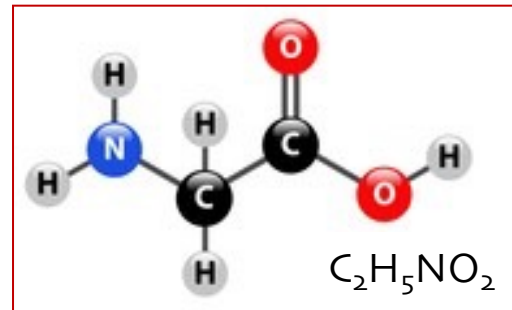


Aminoacidi inibitori del SNC

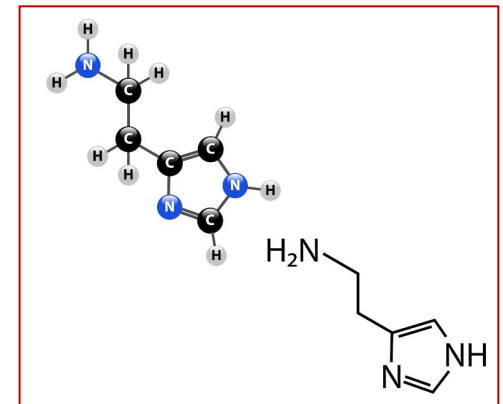
GABA (g-aminobutyric acid)



Glicina



Istamina



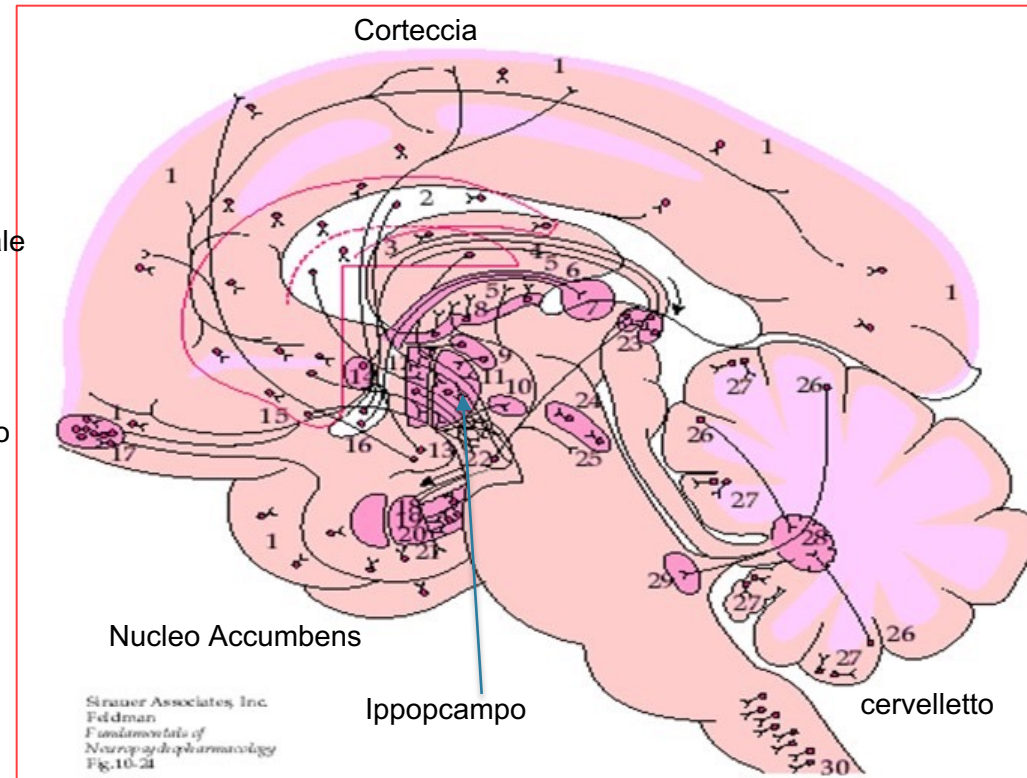
Circuiti GABAergici

Presenza di GABA (mM):

- Corteccia
- Bulbo olfattivo
- Cervelletto
- Ippocampo
- Striato
- Nuclei della base
- Substantia nigra
- Globo pallido
- Ponte/Bulbo

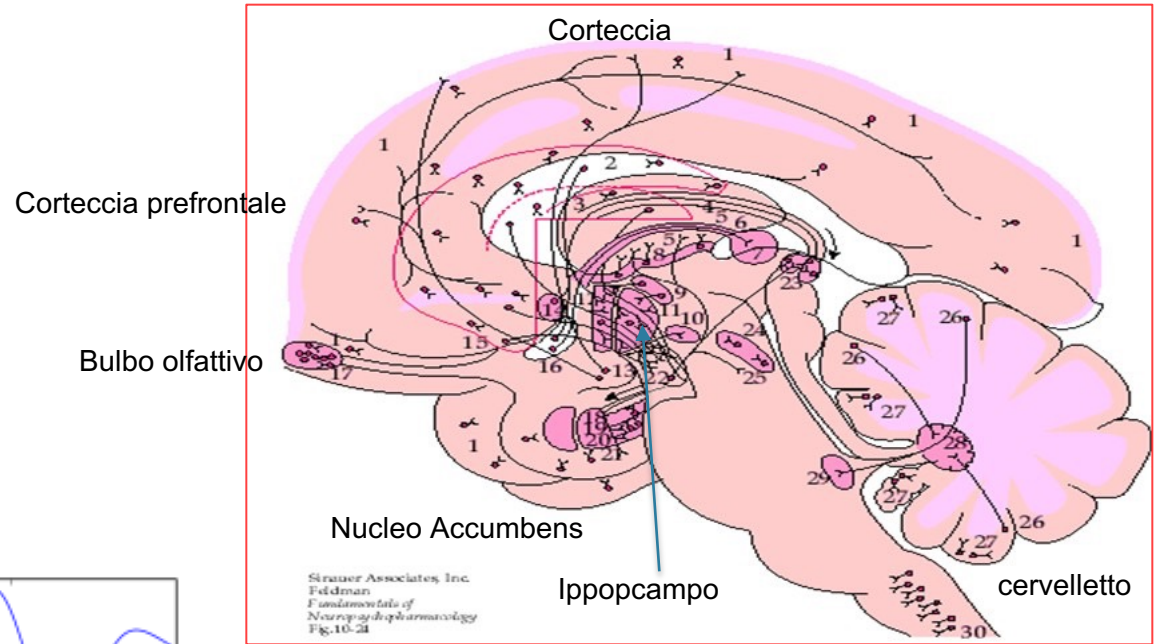
Corteccia prefrontale

Bulbo olfattivo

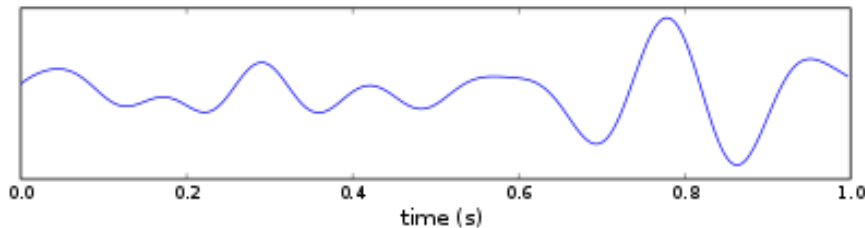


- Normalmente presente in interneuroni di circuiti locali
- Anche presente in:
 - **Cellule Amacrine** della retina (media le interazioni laterali tra le cellule bipolari e i dendriti delle cellule gangliari)
 - **Cellule granulari** del bulbo olfattivo
 - **Basket cells** dell'ippocampo e del cervelletto (neuroni inibitori i cui copri cellulari sono all'interno dello strato delle cellule di Purkinje -PC- e i cui assoni formano arborizzazioni terminali a canestro che circondano i corpi cellulari delle PC)

Circuiti GABAergici



Oscillazioni teta



La liberazione di GABA nei circuiti locali partecipa alla generazione di oscillazioni dell'attività spontanea dei neuroni cerebrali, come le **oscillazioni teta** (che determinano *il ritmo teta*, con frequenze diverse). Queste sono alla base di vari aspetti funzionali cognitivi e comportamentali, inclusi l'apprendimento, la memoria e la navigazione spaziale. Può essere registrato mediante diverse tecniche elettrofisiologiche come l'elettroencefalogramma (EEG), sia profondo (elettrodi interni) che extracranico.

Come agisce il GABA?

Nel SNC, il GABA inibisce l'attività di neuroni noradrenergici, serotoninergici (5-HT), colinergici e peptidergici

L'attività inibitoria si esercita attraverso l'azione di recettori post-sinaptici e pre-sinaptici

Recettori Post-sinaptici:

- Inducono iperpolarizzazione in seguito all'aumento della conduttanza per il Cl^- , con conseguente aumento della soglia di eccitabilità
- Nelle cellule piramidali dell'ippocampo l'iperpolarizzazione è causata dall'aumento della conduttanza al K^+

Recettori Pre-sinaptici:

- Inducono una corrente entrante di Cl^- che rallenta e stabilizza la depolarizzazione locale (mantenendo uno stato di refrattarietà) con conseguente blocco del rilascio del NT (neuroni peptidergici della neuroipofisi)
- Inibisce le correnti di Ca^{2+} pre-sinaptico (cellule dei gangli delle radici dorsali)

Recettori del GABA

Due classi di recettori

- GABA_A e GABA_C ionotropi
- GABA_B metabotropi

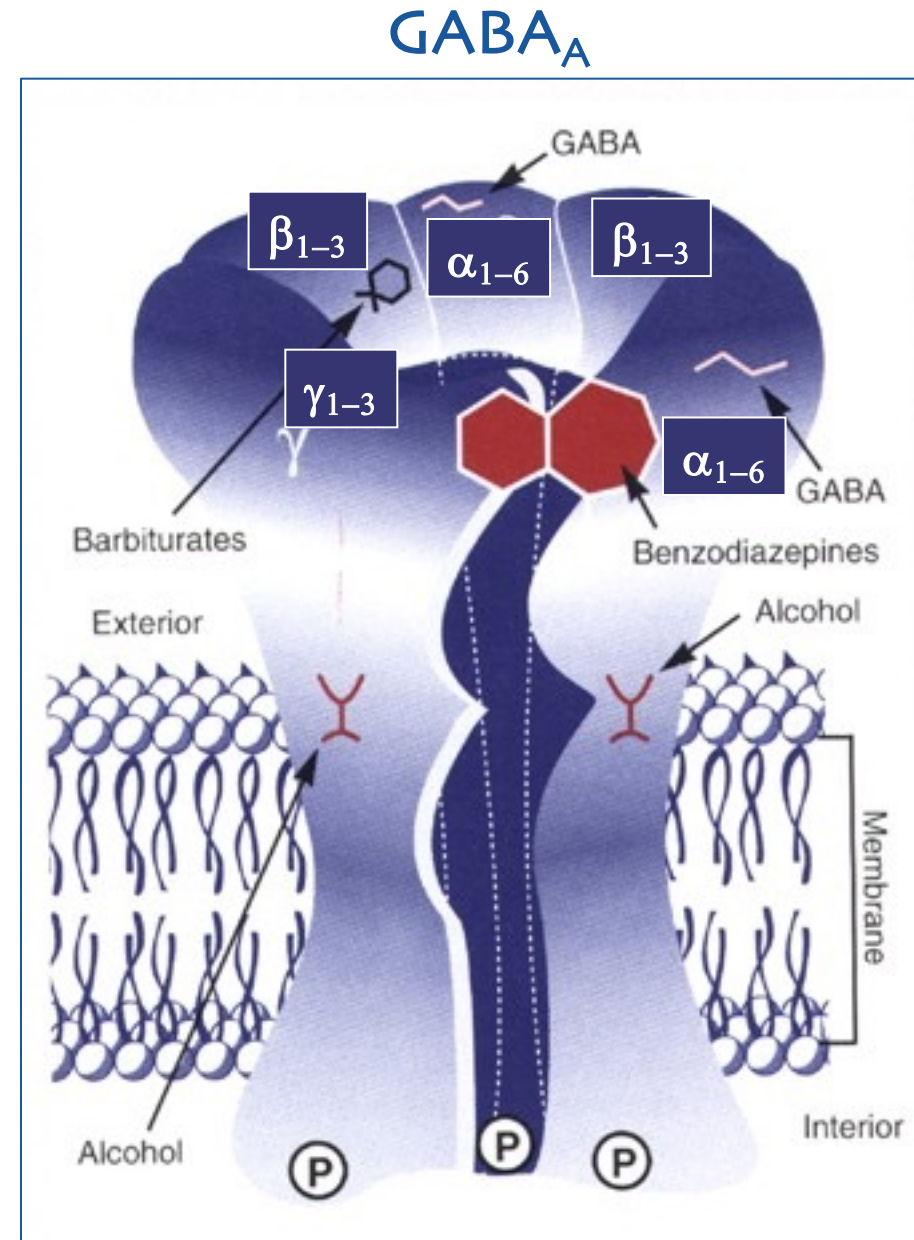
GABA_A

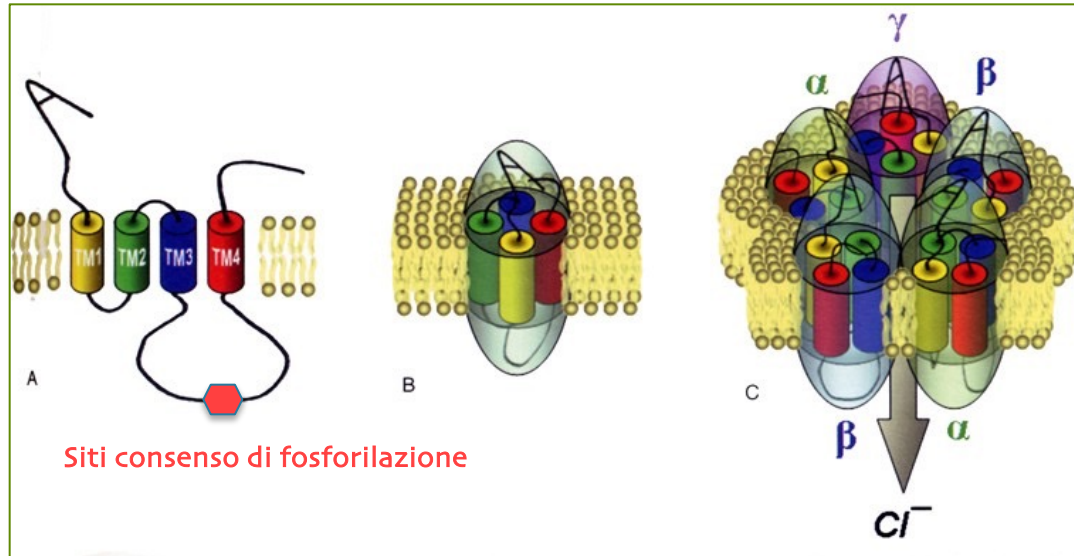
recettore pentamerico costituito da tre tipi di subunità che si associano con una configurazione $2\alpha 2\beta \gamma$

Il sito di legame per il GABA è localizzato tra le subunità α e β

Siti di legame anche per:

- benzodiazepine (α - γ)
- Barbiturici (β)
- alcohol

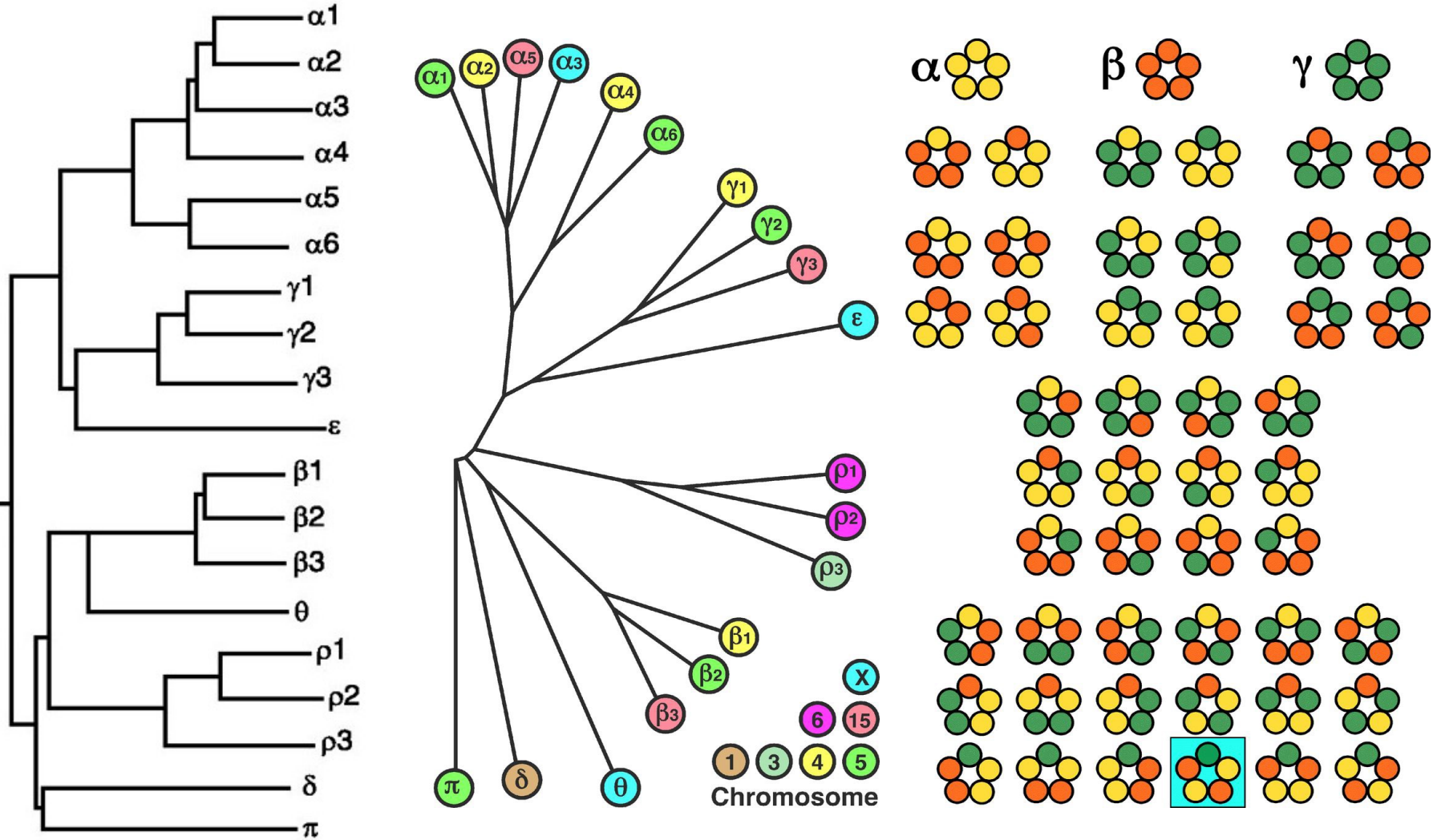




Ogni subunità è formata da 4 alfa-eliche transmembrana (terminazione amminica e carbossilica extracellulari)

GABA_A

Recettori del GABA

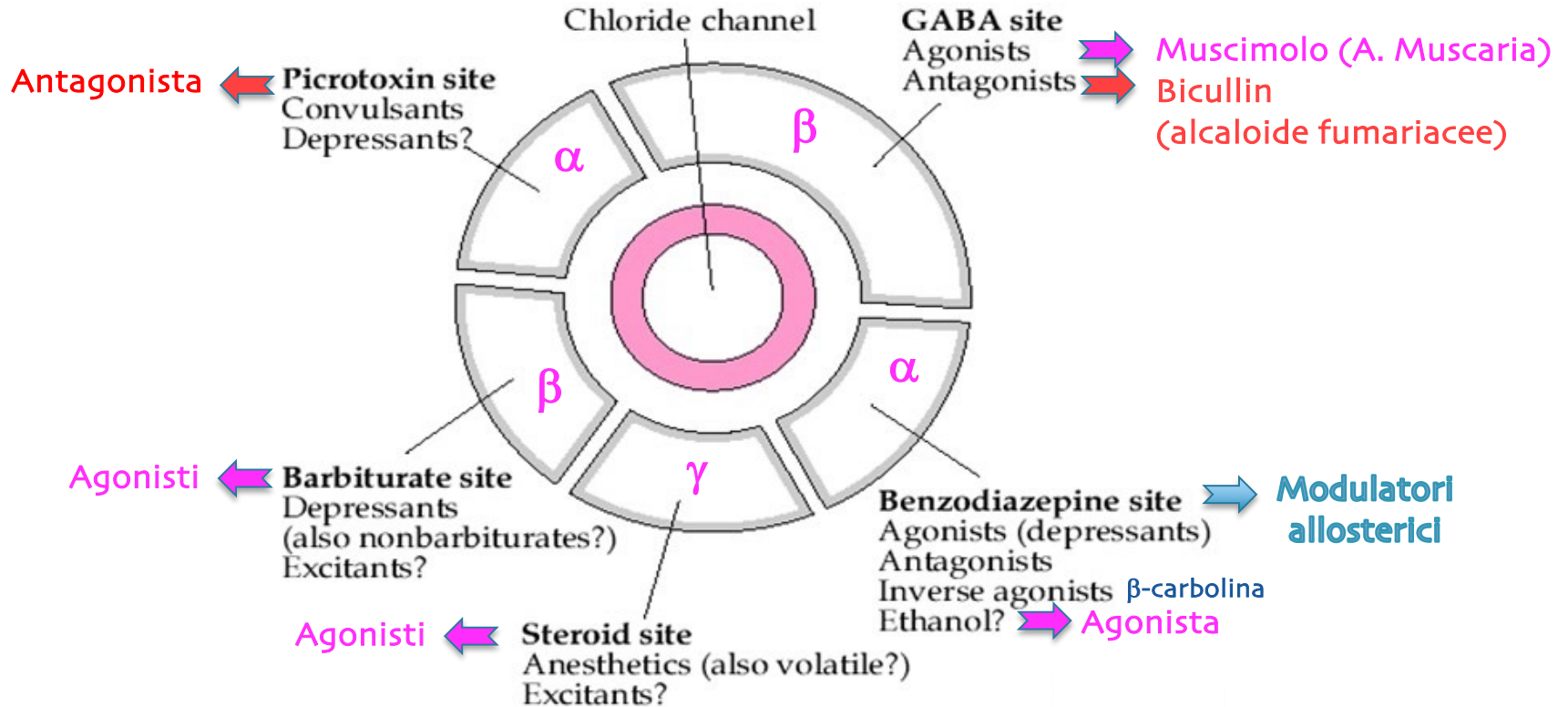


Ciascuna subunità è presente in diverse isoforme che possono associarsi tra loro in un elevato numero di combinazioni, di cui la più comune nel cervello è la $\alpha 1\beta 2\gamma 2$

GABA_A

Recettori del GABA

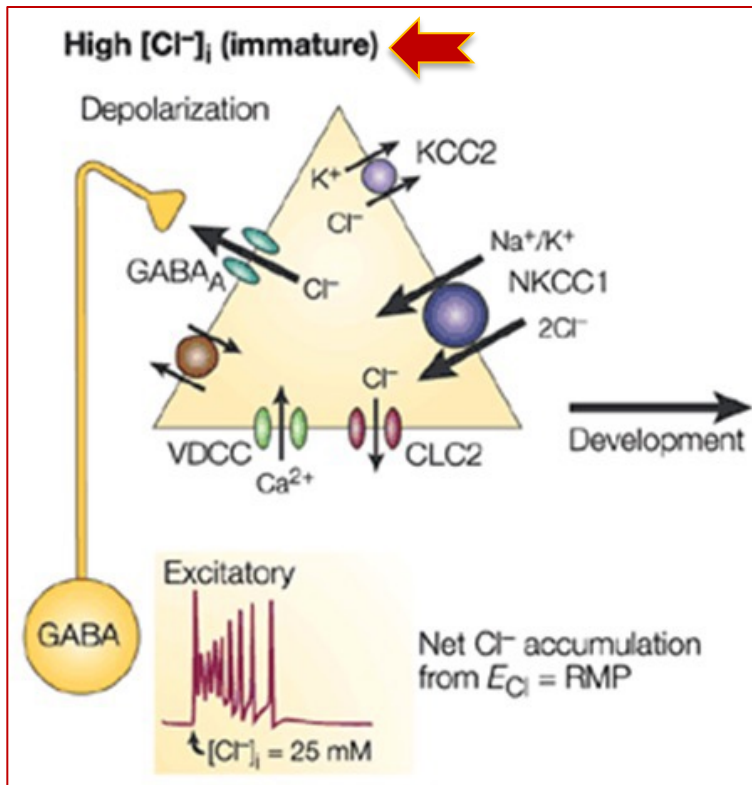
La sensibilità alle diverse sostanze varia con il variare della composizione in subunità



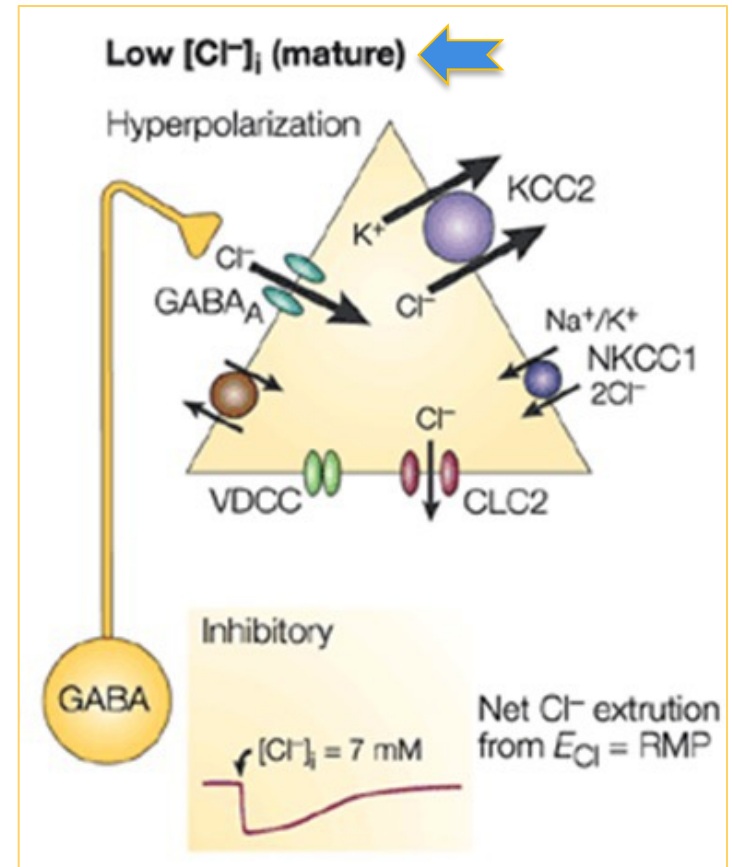
Recettore	GABA _A	GABA _C
Effettore	Cloro	Cloro
Agonista	Muscimolo	Baclophen
Antagonista	Bicucullin	

GABA eccitatorio

Ma il GABA è sempre inibitorio?



GABA inibitorio



Journal of Physiology (1989), 416, pp. 303-325
With 13 text-figures
Printed in Great Britain

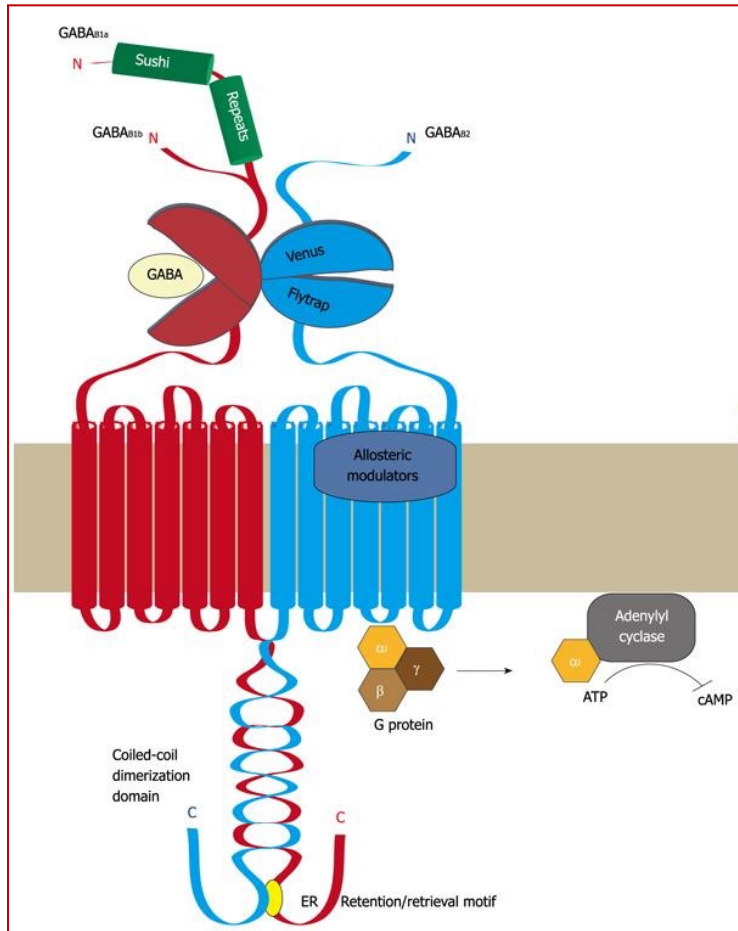
303

GIANT SYNAPTIC POTENTIALS IN IMMATURE RAT CA3 HIPPOCAMPAL NEURONES

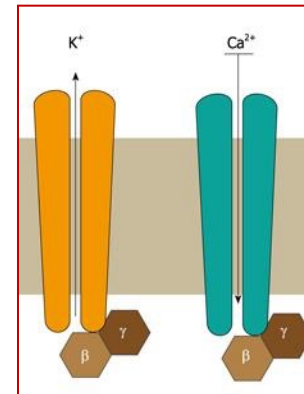
By YEHEZKEL BEN-ARI, ENRICO CHERUBINI, RENATO CORRADETTI
AND JEAN-LUC GAIARSA

From the Unité 29, INSERM, Hôpital de Port-Royal, 123 Boulevard de Port-Royal,
75014 Paris, France

(Received 13 December 1988)



Post-sinapico



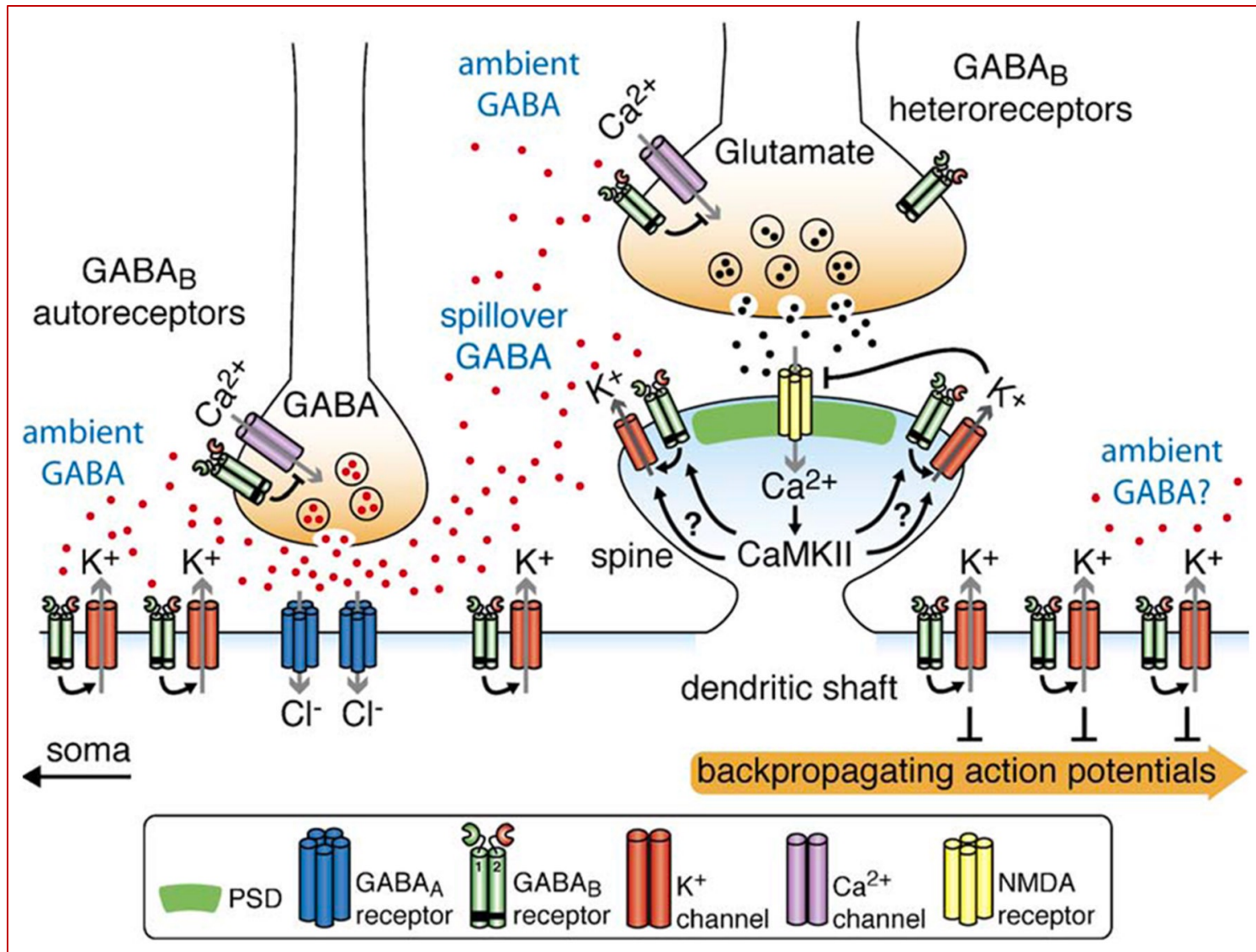
Pre-sinapico

Recettore	GABA _B
Effettore	↑K+, ↓Ca2+
Agonista	Baclofen
Antagonista	Saclofen, CGP 35348

Rilassante muscolare, trattamento nevralgia trigemino, disturbi epilettici, ansia, depressione, crisi d'astinenza

Tattamento crisi di assenza, incremento delle capacità cognitive

Localizzazione e funzione dei recettori GABA_B



La sinapsi GABAergica

Esistono almeno 4 GAT

GAT₁

GAT₂

GAT₃

BGT

Richiedono Na⁺ e Cl⁻ come co-transportatori,

Trasporto mediato dal gradiente elettrochimico del Na⁺

PAG: phosphate Activated Glutaminase
GABA-T: GABA transaminasi
Gln-S: Glutamine synthase
GAD: Glutamic Acid decarboxylase
GAT: GABA transporter

