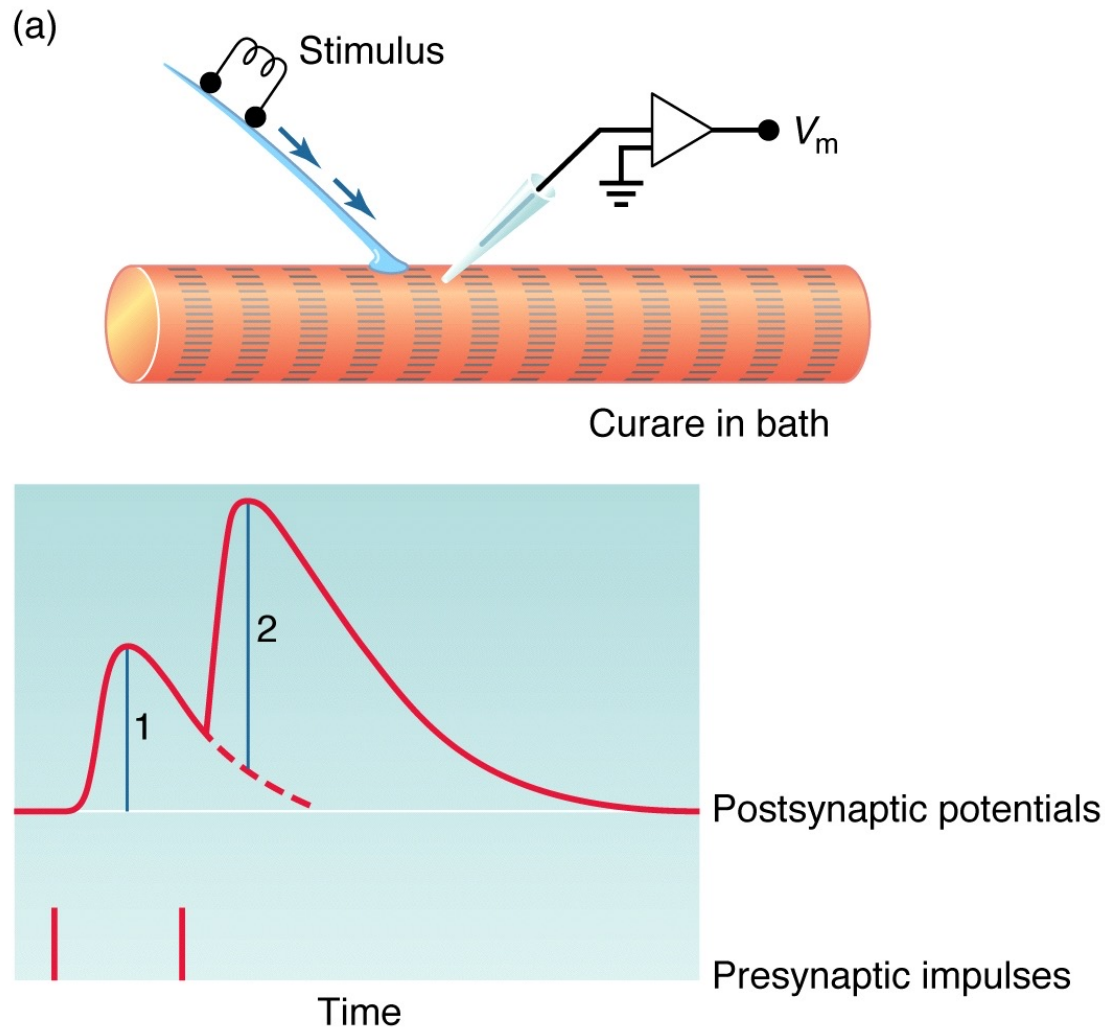


# Plasticità sinaptica

*in circuiti stabilizzati di organismi adulti si basa su cambiamenti dell'efficacia sinaptica*

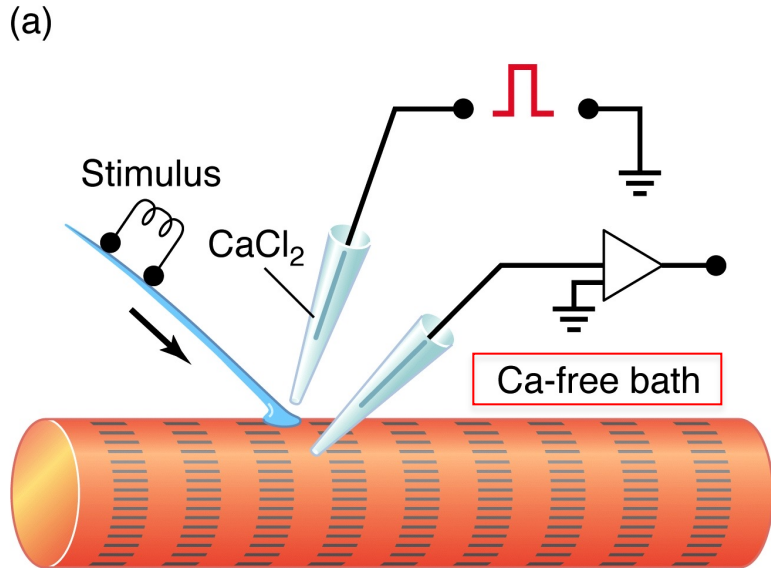
1. **Cambiamenti nelle terminazioni pre-sinaptiche:** Variazioni della quantità di neurotrasmettitore rilasciata
  - a. **Modulazione Omosinaptica** (modificazione uso-dipendente dell'efficacia sinaptica)
  - b. **Modulazione Eterosinaptica** (ha una durata maggiore di quella omosinaptica)
  
2. **Meccanismi post-sinaptici:** Cambiamenti dell'apparato post-sinaptico che alterano l'ampiezza della depolarizzazione prodotta da una stessa quantità di neurotrasmettitore

# Modulazione omosinaptica: *Facilitazione*

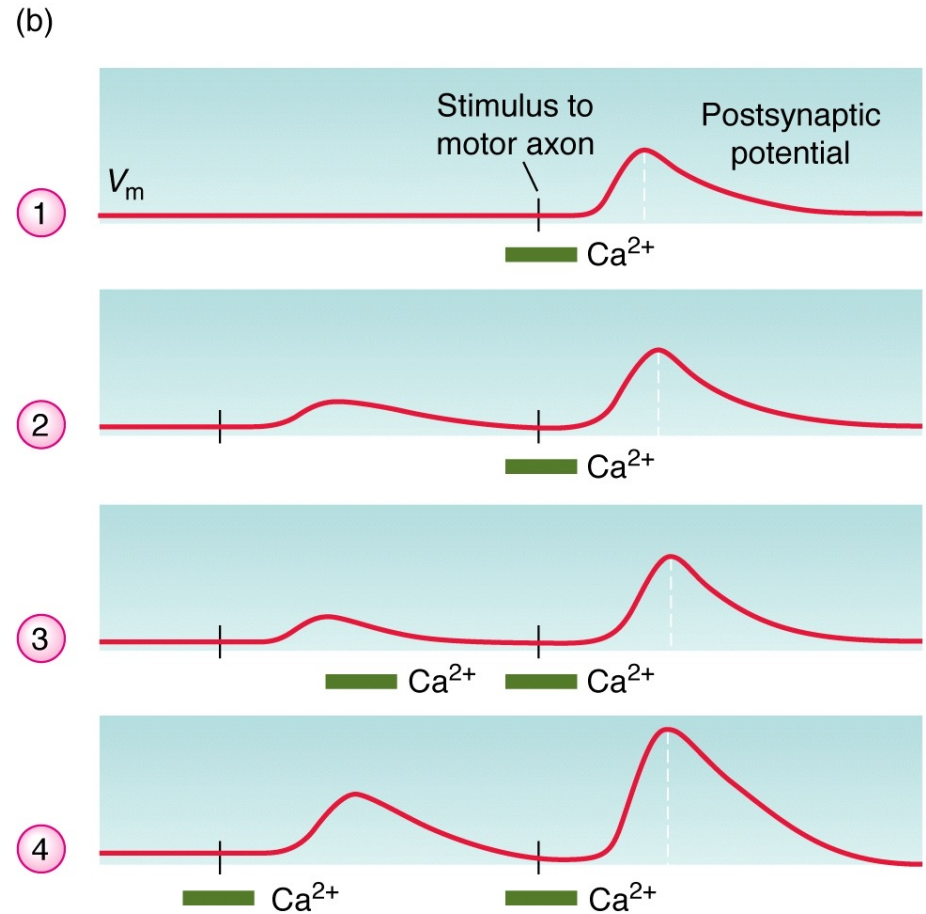


La facilitazione sinaptica dipende dalla  $[Ca^{2+}]$  libero nella terminazione sinaptica

# Modulazione omosinaptica: *Facilitazione*



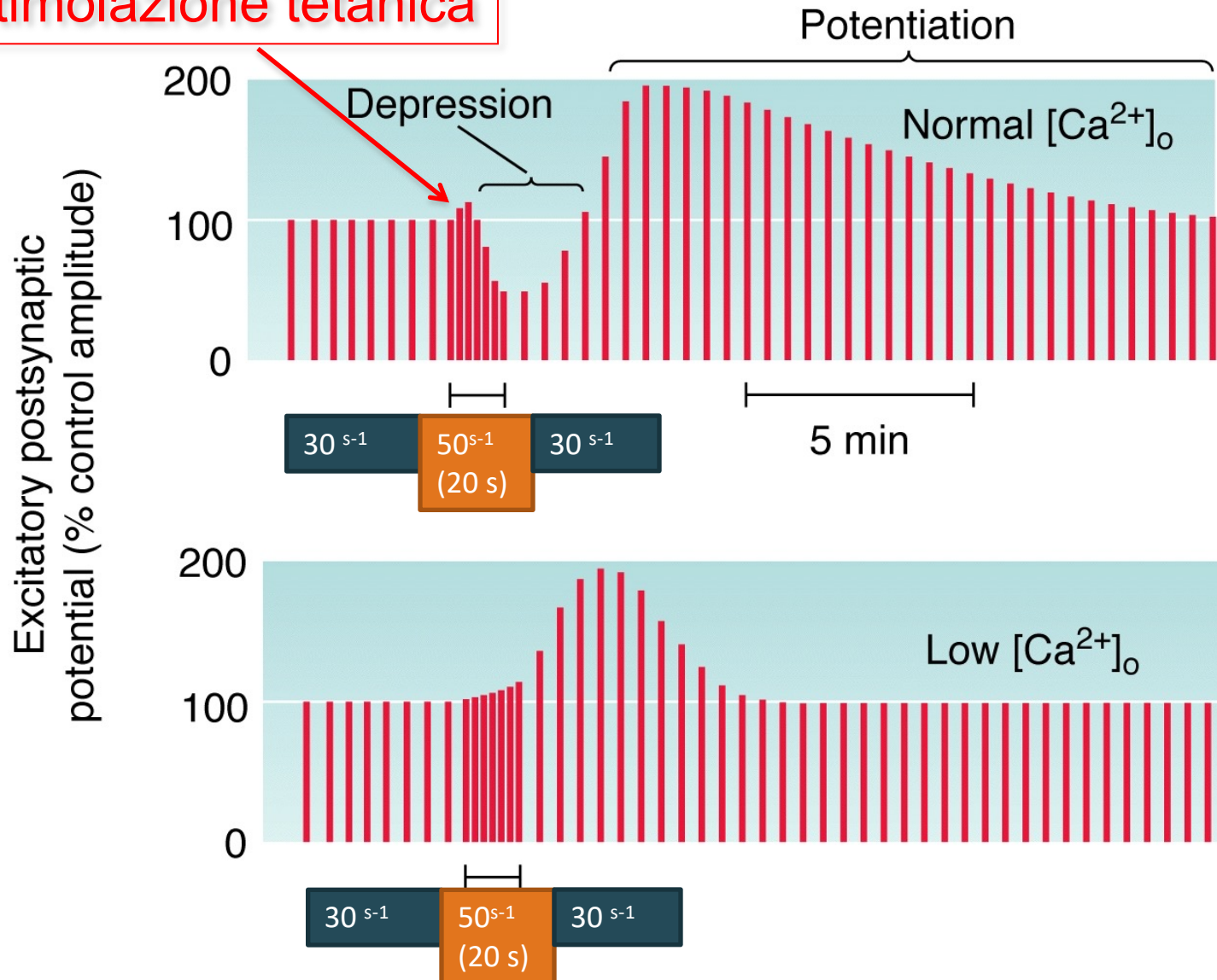
La facilitazione del potenziale post-sinaptico evocato dal secondo stimolo è massima quando l'infusione di ioni Ca<sup>2+</sup> dalla pipetta viene fatta coincidere con l'arrivo del primo potenziale d'azione



Katz and Miledi (1968)

# Modulazione omosinaptica: *Potenziamento post-tetanico*

Stimolazione tetanica



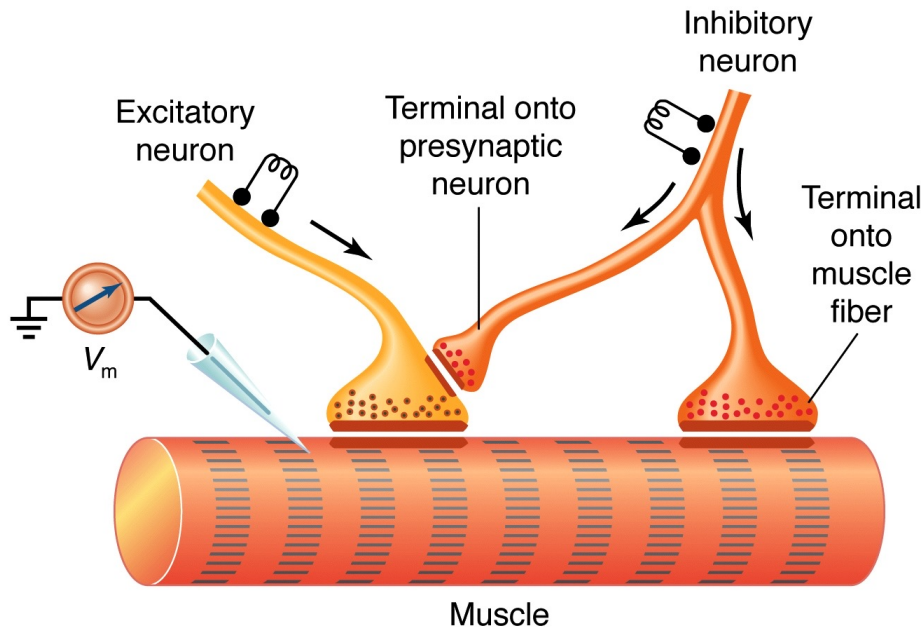
# Modulazione eterosinaptica

## Rilascio pre-sinaptico di neurotrasmettitore influenzato da neuromodulatori

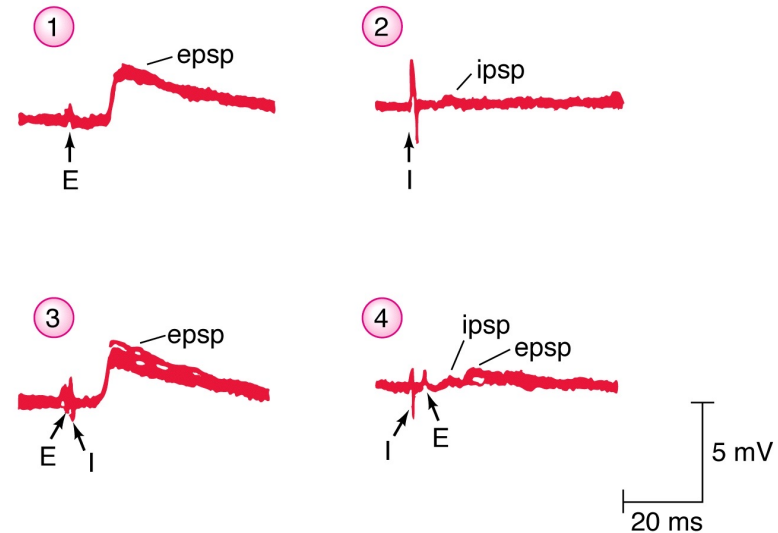
- Noradrenalina e GABA (vertebrati)
- Oppioidi endogeni: encefaline, endorfine, dinorfine (neuroni dei vertebrati)
- Serotonina (molluschi e vertebrati)

### 1. Inibizione pre-sinaptica

(a)



(b)



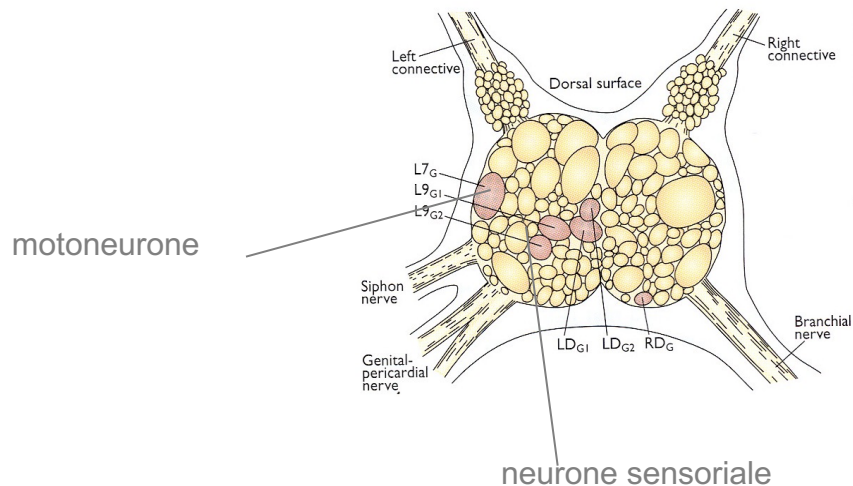
- Aumento  $g_{K^+}$  e  $g_{Cl^-}$
- Modifica proprietà  $Ca_v$

# Modulazione eterosinaptica

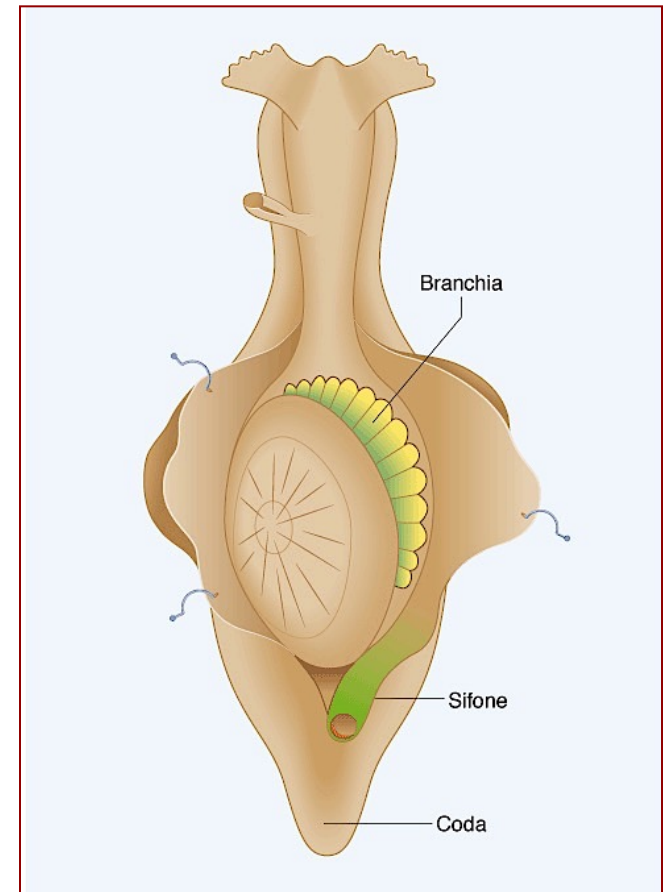
## 2. Facilitazione pre-sinaptica

1960-1970: Kandel (premio Nobel per la Medicina nel 2000) inizia i suoi studi sui meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'acquisizione di forme elementari di memorizzazione (memorie "implicite") in un gasteropode marino *Aplysia californica*

Sistema nervoso semplice, con pochi neuroni ed organizzati in gangli

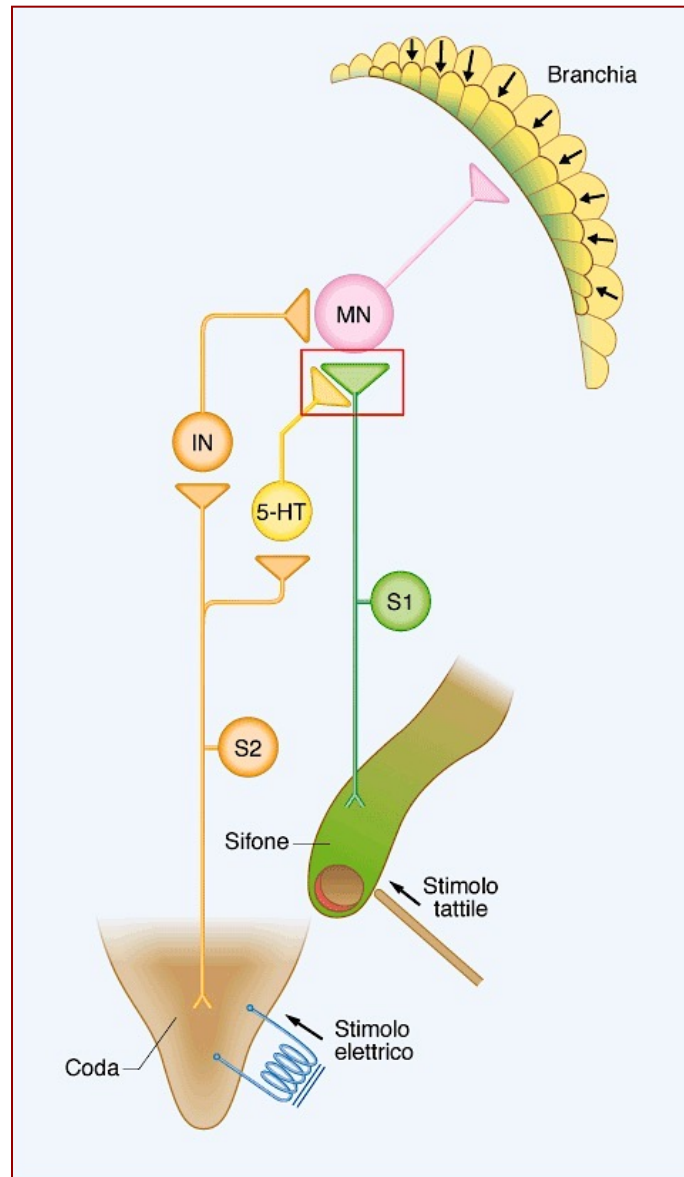


Scoperta dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'abituazione e della sensibilizzazione, forme diverse di Modulazione Eterosinaptica



# Controllo del riflesso della retrazione della branchia di Aplysia: **Depressione Omosinaptica**

Circuito soggetto a sensibilizzazione



Circuito soggetto ad abituazione

Si genera una Depressione Omosinaptica riduzione dell'efficienza di una sinapsi dipendente dalla sua stessa attività

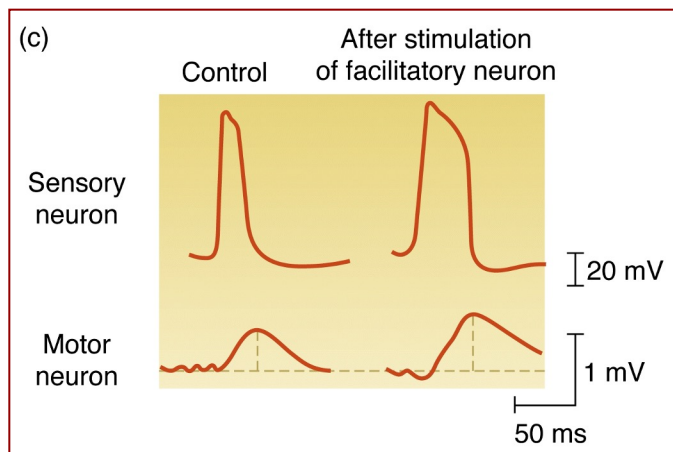
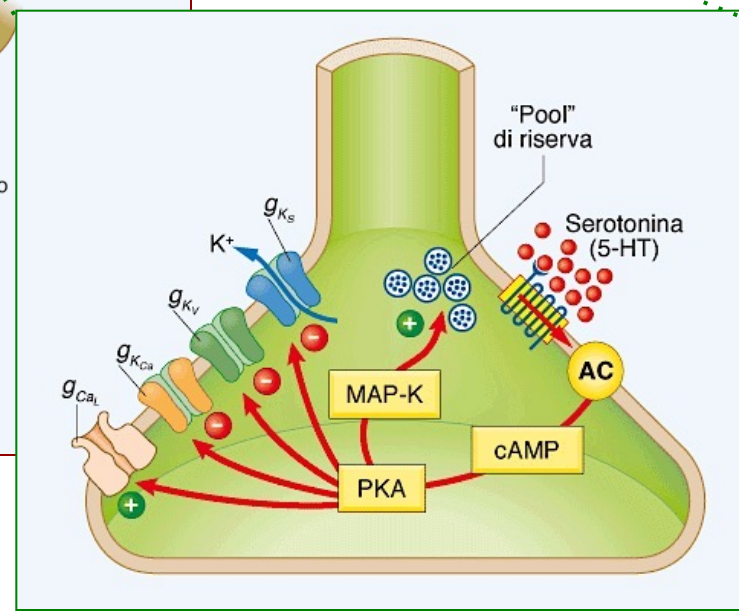
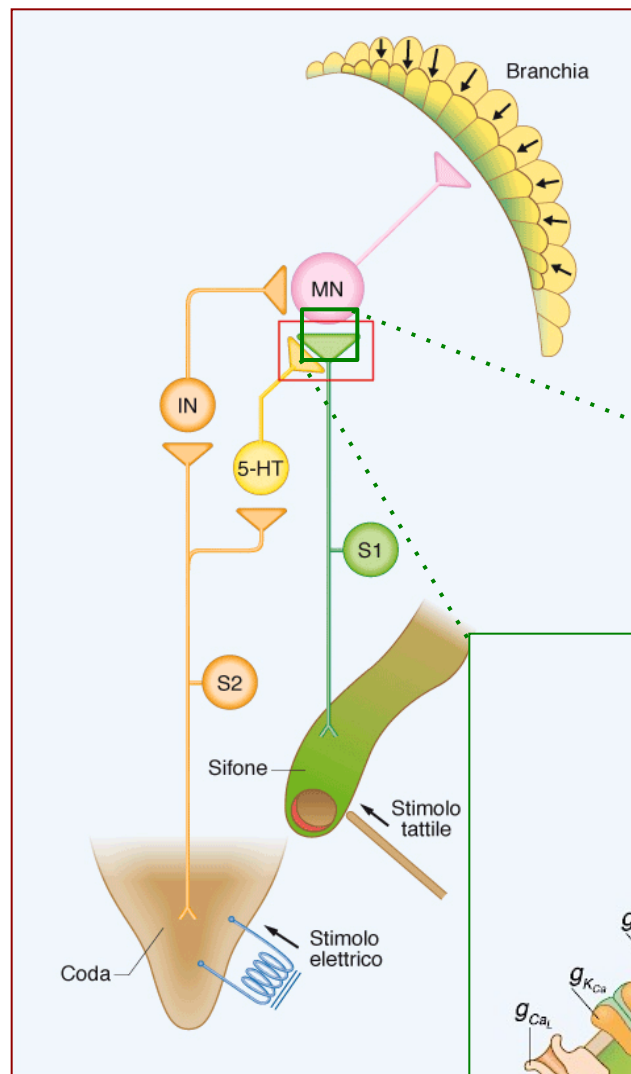
Riduzione della probabilità di rilascio del neurotrasmettitore:

1. riduzione dell'ingresso di  $Ca^{2+}$  a causa di una progressiva accentuazione dell'inattivazione di canali voltaggio-dipendenti

2. diminuzione del numero di vescicole nel *pool* di rilascio per ridotta mobilizzazione dal *pool* di riserva

# Meccanismi molecolari della sensitizzazione in *Aplysia*: Facilitazione Eterosinaptica

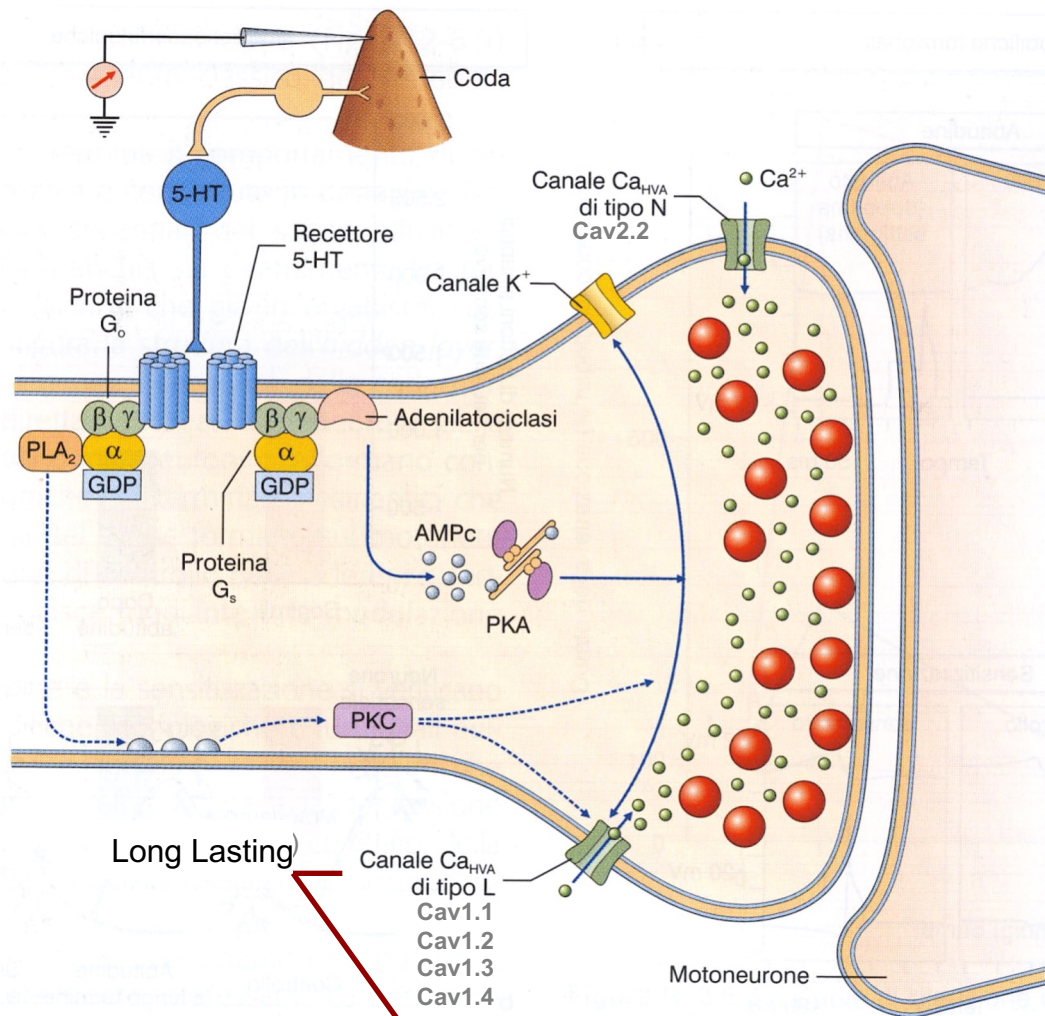
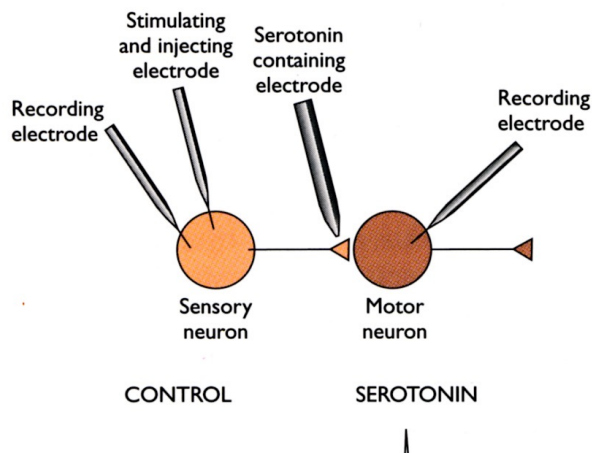
Aumento di rilascio del  
neurotrasmettitore :  
glutammato



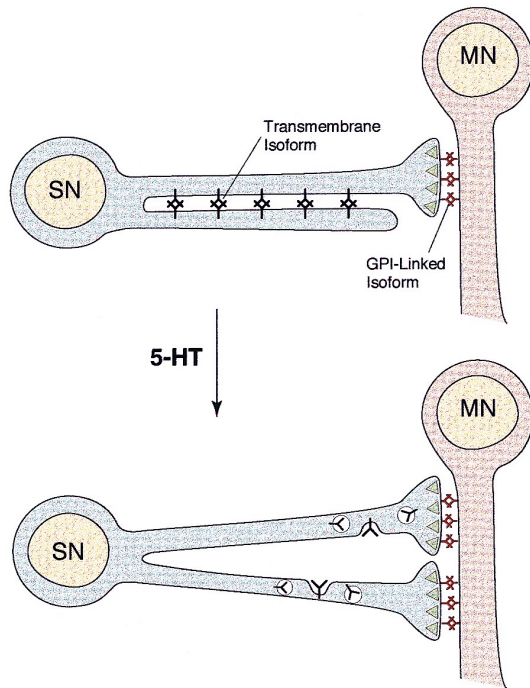




# Sistema sperimentale

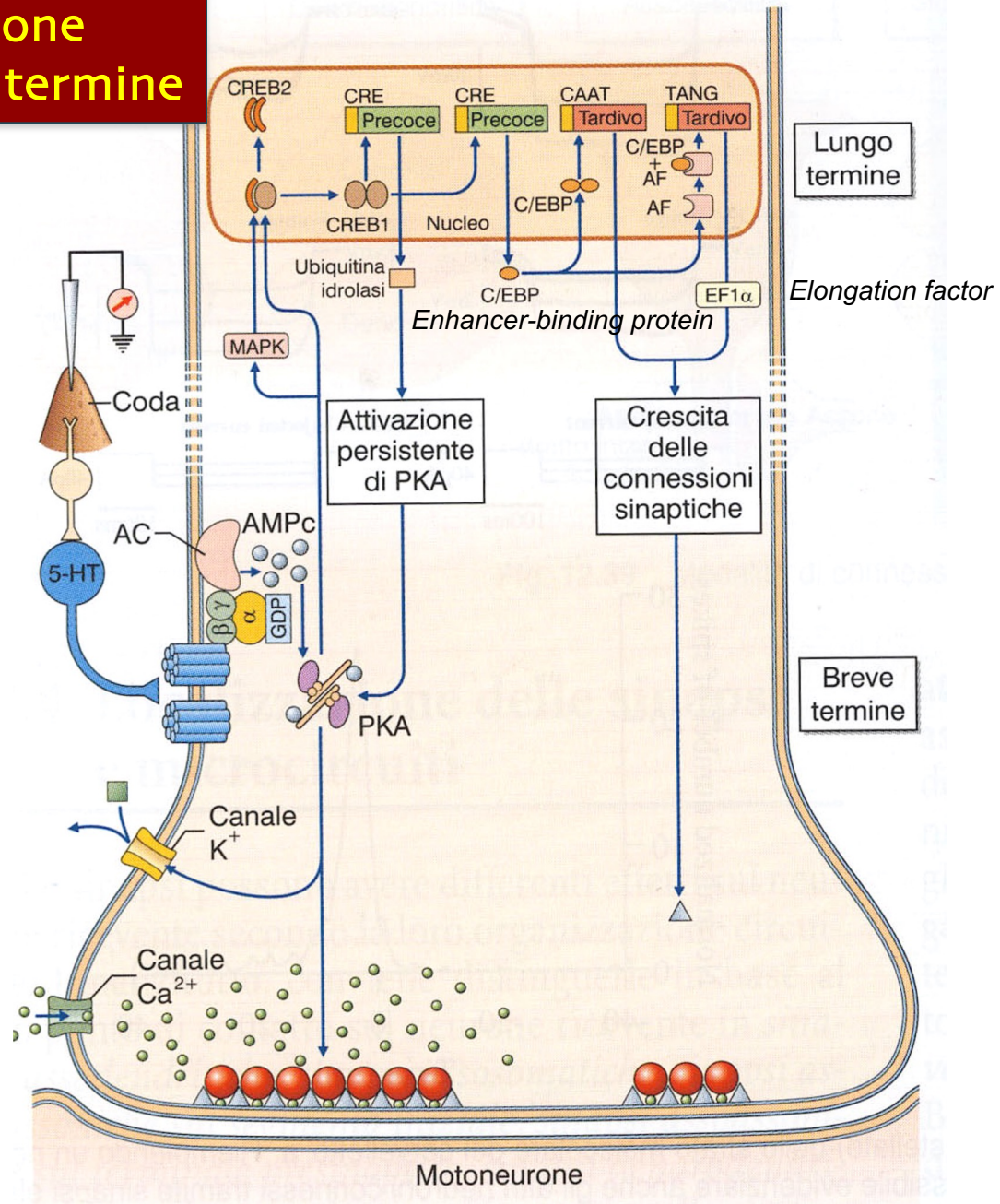
Gli stessi effetti si ottengono con una stimolazione diretta in vivo con Serotonina



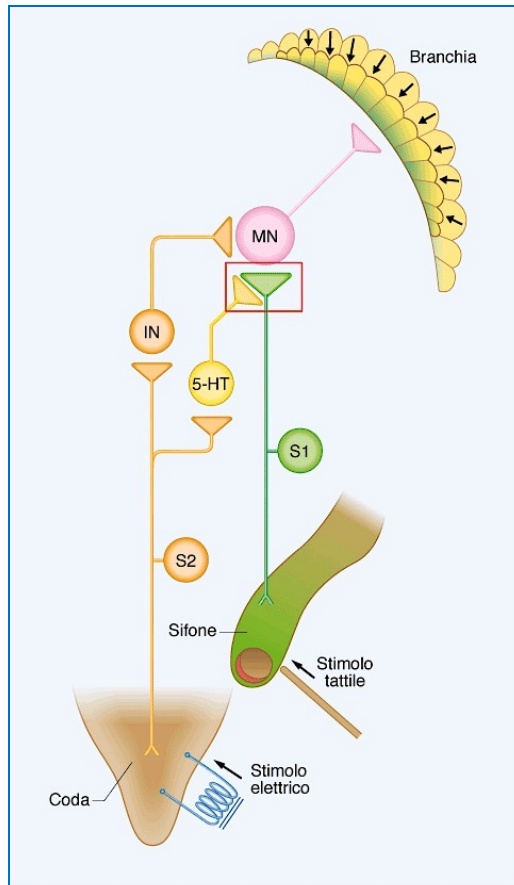
# Consolidamento: modulazione dell'espressione genica a lungo termine



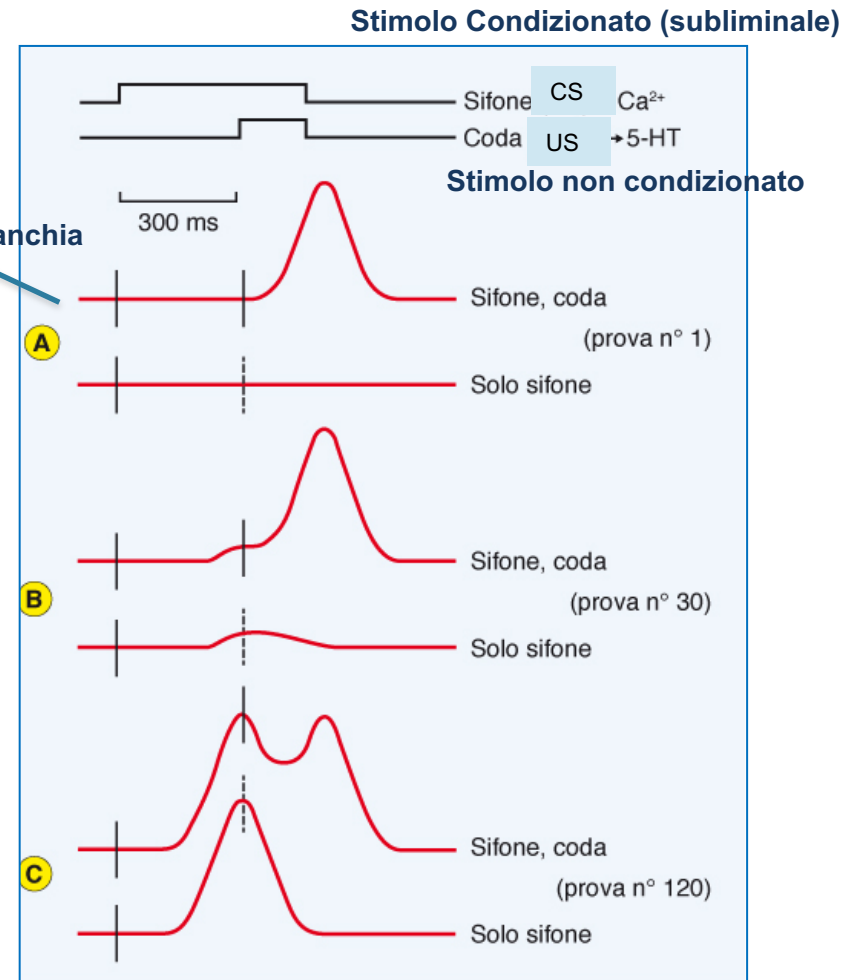
 Transmembrane Isoform of apCAM  
 GPI-Linked Isoform of apCAM



# Sensitizzazione e memoria associativa in *Aplysia*

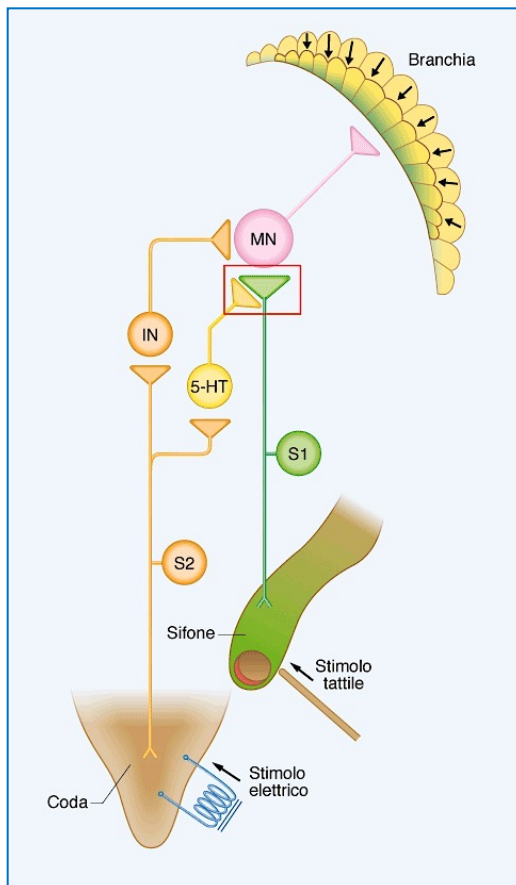


Retrazione della branchia



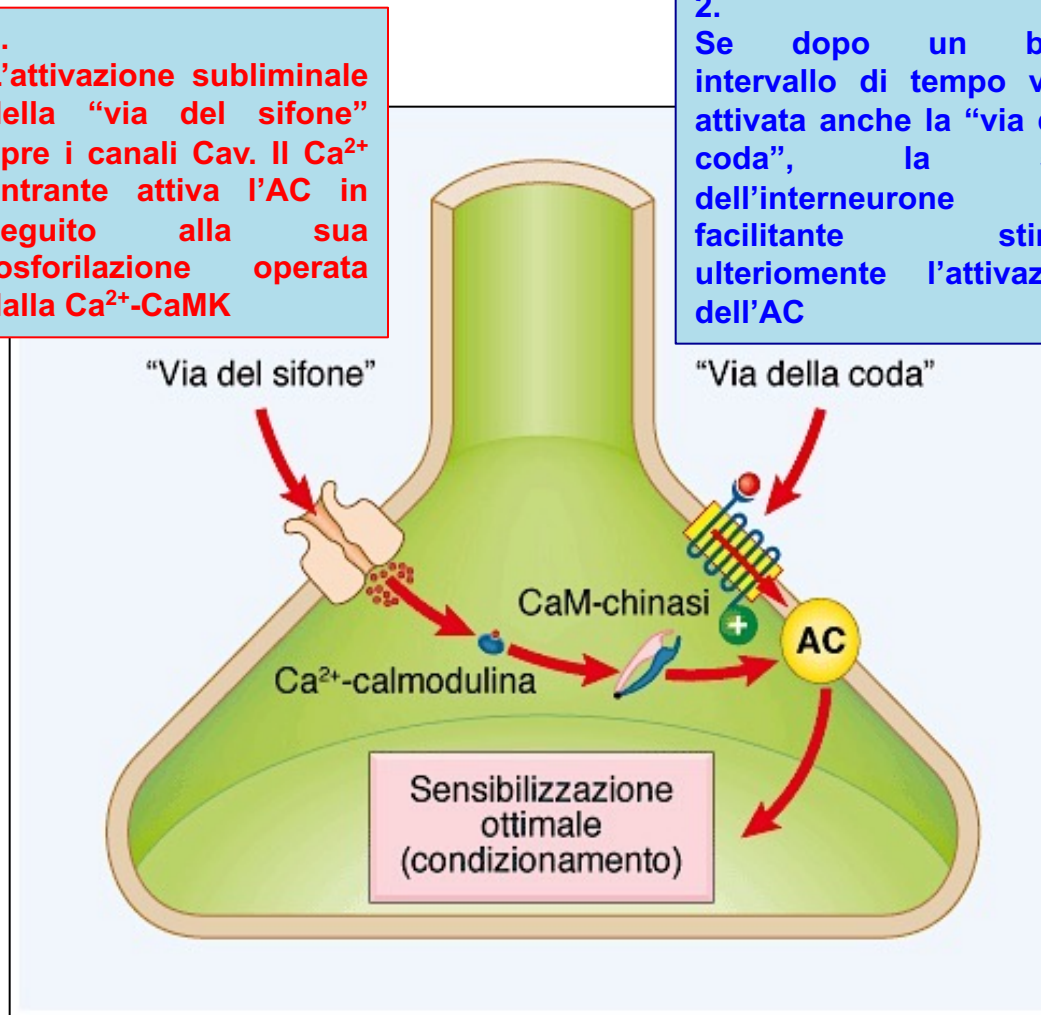
- Effetto massimale della sensitizzazione si ha quando la stimolazione del sifone precede quella della coda di 0.3-0.5 sec
- Un rapporto temporale tra i due stimoli rende la sensitizzazione così intensa e duratura da farle assumere delle caratteristiche di un classico *condizionamento pavloviano*

# Sensitizzazione e memoria associativa in Aplysia



1. L'attivazione subliminale della "via del sifone" apre i canali Cav. Il  $\text{Ca}^{2+}$  entrante attiva l'AC in seguito alla sua fosforilazione operata dalla  $\text{Ca}^{2+}$ -CaMK

2. Se dopo un breve intervallo di tempo viene attivata anche la "via della coda", la 5-HT dell'interneurone facilitante stimola ulteriormente l'attivazione dell'AC



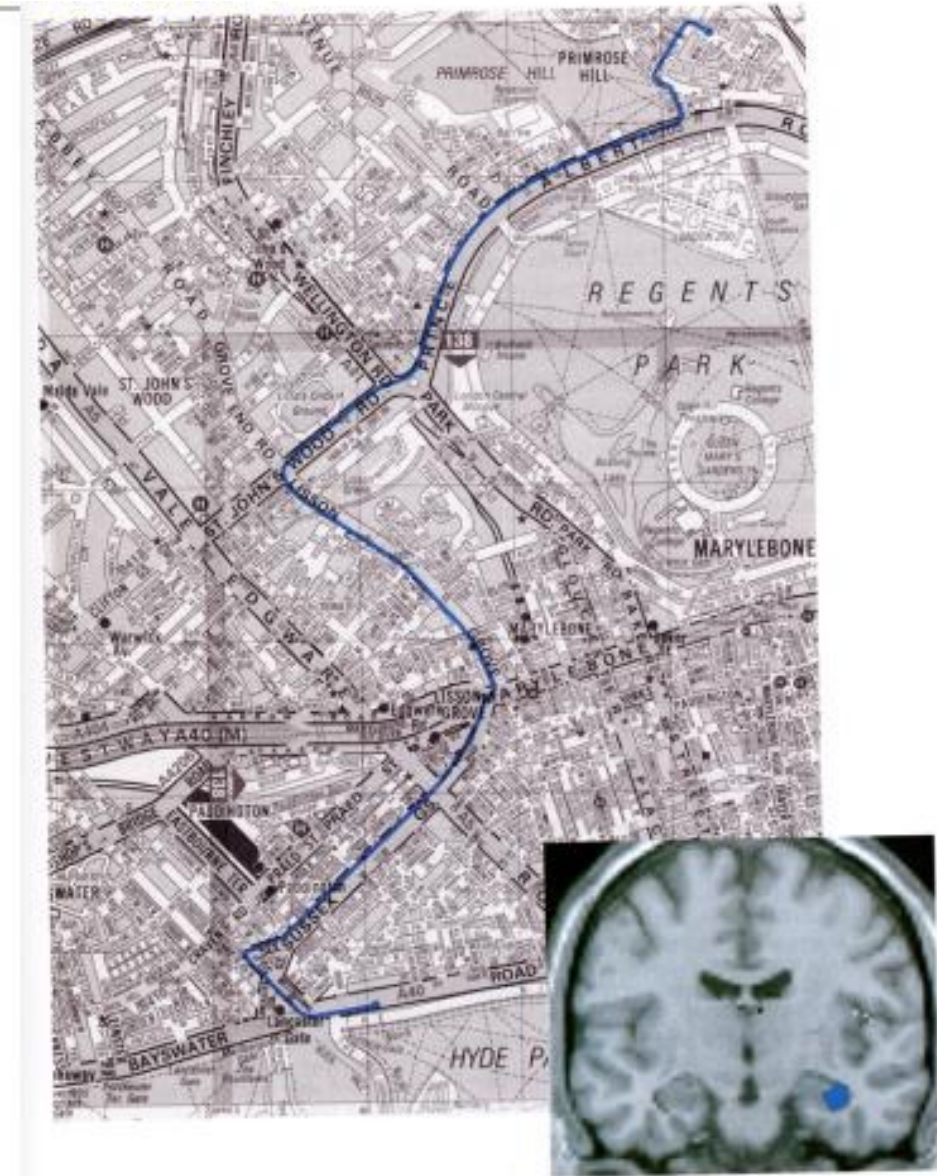
- Attivazione duplice e sinergica dell'AC è necessaria per ottenere un evento di sensitizzazione e l'instaurarsi di una memoria associativa
- Il condizionamento riflesso viene abolito se si blocca farmacologicamente uno dei due circuiti

# Plasticità sinaptica e ippocampo

## Perché studiare proprio l'ippocampo?

- Dati su soggetti umani normali e lesionati
- Labirinti radiali
- Labirinti acquatici
- Place cells ippocampali
- Potenziamiento a lungo termine

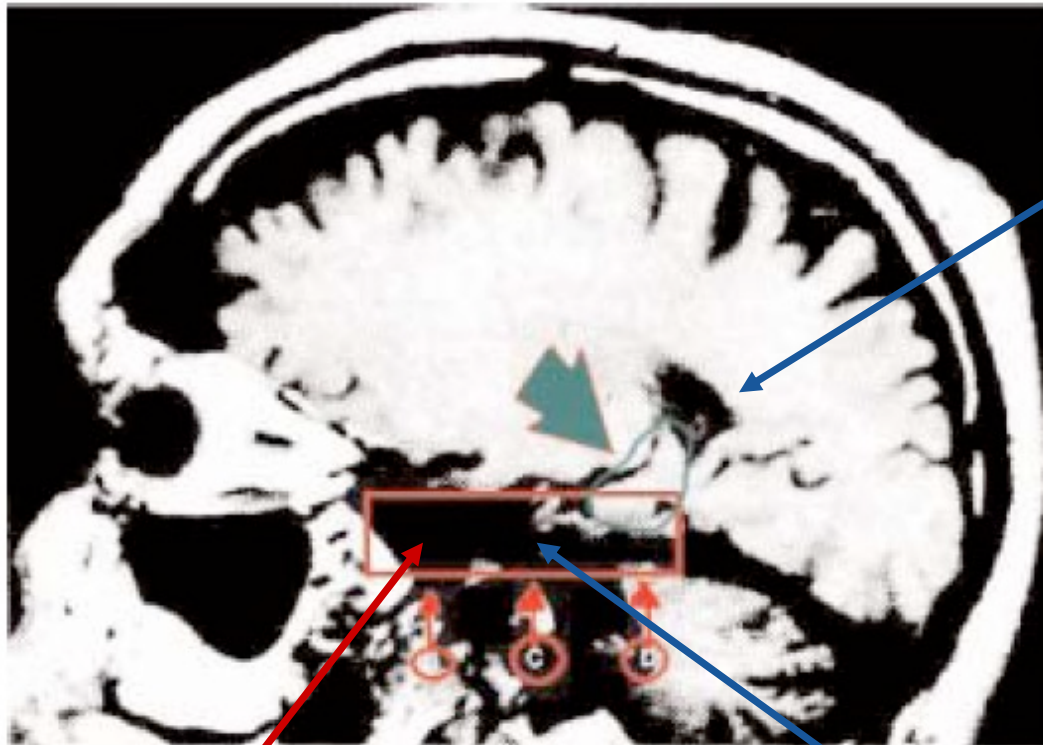
Nell'uomo l'ippocampo si attiva in compiti di memoria spaziale (immagine ottenuta con la PET del cervello di un tassista londinese mentre sta immaginando di percorrere un certo itinerario)



## Il caso di H.M.

- H. M. aveva sempre sofferto di crisi epilettiche
- Quando aveva 27 anni i medici decisero che l'unico modo per intervenire sulla sua epilessia resistente ai farmaci era attraverso un'operazione chirurgica
- Vennero asportati dal suo cervello l'amigdala, l'uncus, il giro ippocampale e i due terzi anteriori dell'ippocampo.

## Risonanza magnetica del cervello del paziente H.M.



Regione caudale dell' ippocampo,  
unica rimasta intatta

amigdala

parte rostrale dell' ippocampo

- Problemi di memoria diagnosticati con sistematicità circa due anni dopo l'intervento
- Quando gli venne chiesto se sapeva che giorno fosse, lui rispose che era un giorno di marzo del 1953. I suoi ricordi si fermavano al giorno dell'intervento che H. M. negava avesse mai avuto luogo
- Il quoziente intellettivo non subì nessun declino
- Sembrava che insieme al suo lobo temporale mediale i medici avessero asportato anche la sua capacità di formare nuovi ricordi
- Grave perdita della memoria dichiarativa a breve termine
- Della sua memoria H.M. aveva conservato solo i ricordi precedenti l'intervento chirurgico

# Cambiamenti della forza sinaptica dipendenti dall'attività

- L'esperienza attiva delle vie sensoriali che convogliano l'informazione al SNC
- L'incremento a breve termine dell'attività neuronale si distribuisce in circuiti riverberanti (*reverberating loop*)
- Se l'attività riverberante è mantenuta, vengono indotti cambiamenti strutturali nelle sinapsi, che risultano in un'alterazione della forza delle connessioni sinaptiche
- I cambiamenti della forza sinaptica facilitano la trasmissione di informazioni specifiche



Input sensoriale

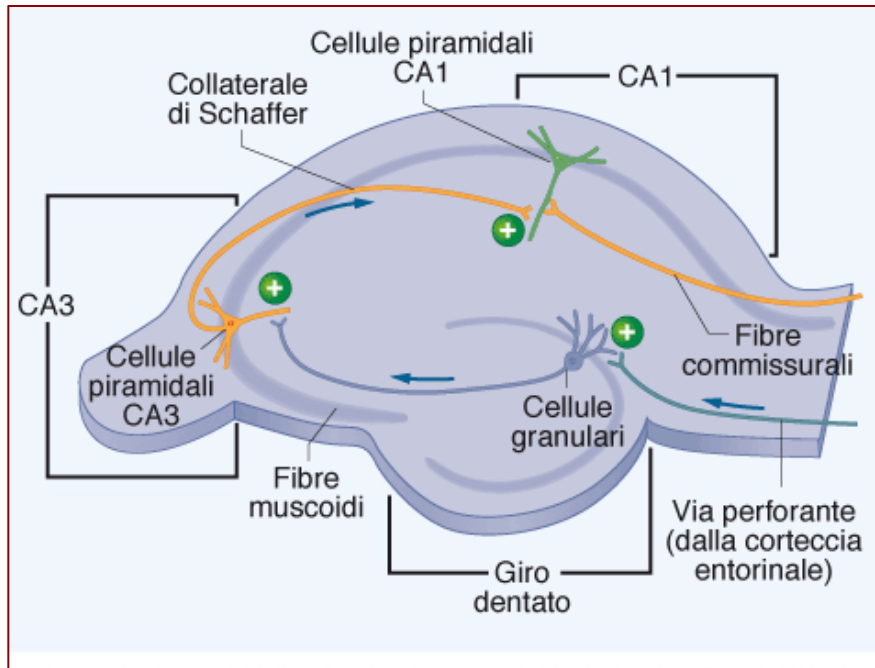
Attività riverberante

Output facilitato

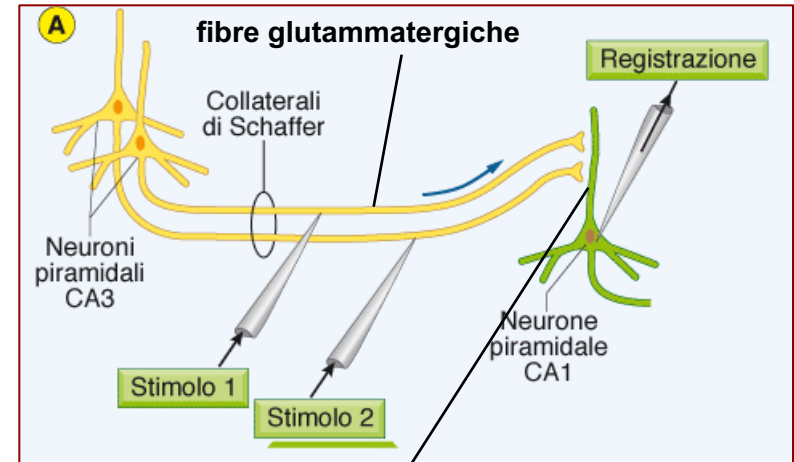


# L'ippocampo è costituito da un circuito tri-sinaptico

## Le sinapsi ippocampali sono estremamente plastiche

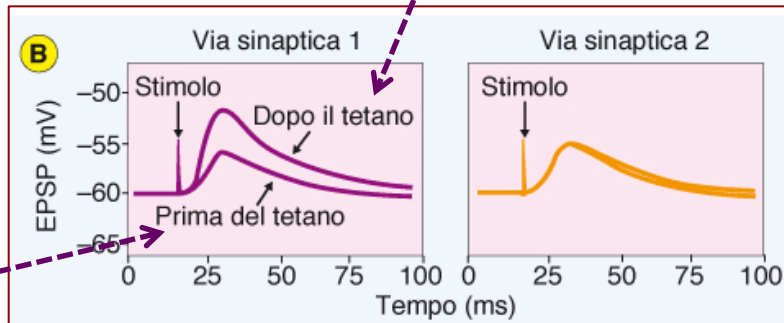


Nel 1973 Bliss and Lomo scoprirono che uno stimolo ad alta frequenza in una qualsiasi delle tre vie dava origine a fenomeni di potenziamento a lungo termine (LTP) osservabile sia *in vitro* che *in vivo*



Recettori sia AMPA che NMDA

Dopo una stimolazione tetanica (100 Hz per 1 sec) la risposta a bassa frequenza è amplificata in modo persistente (anche 1 h) e se si perpetua la stimolazione, l'amplificazione dura anche molte ore



Stimolazione a bassa frequenza, uno stimolo ogni 1-2 min

Si genera un **Potenziamento a Lungo termine (LTP)**

## Caratteristiche del LTP osservato nelle sinapsi CA<sub>3</sub>-CA<sub>1</sub> ( e similari):

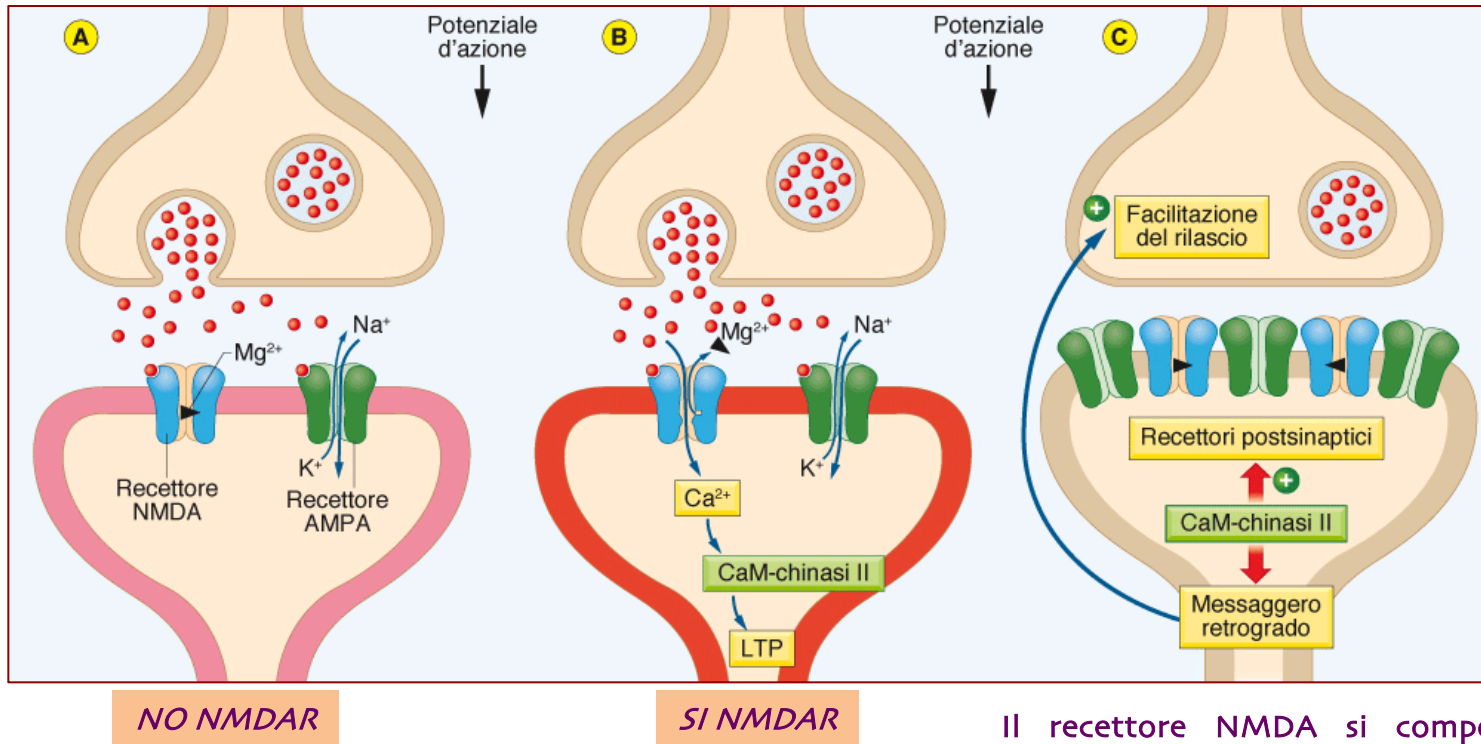
- *Specificità*: non si ha combinazione di fase. Solo l'assone stimolato tetanicamente viene indotto verso LTP
- *Cooperatività* (sommazione temporale e spaziale): si ottiene quando si stimolano tetanicamente più fibre contemporaneamente. Nell'elemento post-sinaptico si somma il contributo depolarizzante di ogni assone
- *Associatività* (sommazione temporale e spaziale): Induzione di LTP da parte di una fibra stimolata tetanicamente su altre fibre adiacenti, presupposto che le fibre siano stimulate contemporaneamente

*Questo tipo di LTP è definito ASSOCIATIVO  
fenomeno voltaggio-dipendente*

# Meccanismi molecolari di induzione di un LTP associativo

Attivazione sinaptica  
a bassa frequenza

Attivazione sinaptica  
ad alta frequenza  
(sommazione temporale)



Il recettore NMDA si comporta  
come un *interruttore molecolare ad  
attivazione condizionata*

Non si ha LTP :

- In seguito a blocco dell'attività della CaMII
- In topi CaMII knockout
- Iniezione post-sinaptica di chelanti del  $Ca^{2+}$

# Come si esprime un LTP?

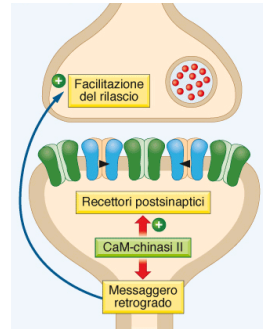
***Fase precoce: aumento dell'efficacia sinaptica per un periodo di tempo che va da ore a settimane***

➤ **Modificazioni post-sinaptiche: aumento del numero di recettori post-sinaptici o della corrente generata da ciascuno di essi**

- Fosforilazione recettori AMPA mediata da CAMKII (aumento conduttanza)
- Modificazione composizione molecolare dei recettori AMPA (*splicing* alternativo)
- Mobilizzazione di un maggior numero di recettori AMPA verso la membrana post-sinaptica (sia extra-sinaptici che immagazzinati nella cellula)
- Attivazione di sinapsi silenti (sinapsi che normalmente contengono solo recettori NMDA)

➤ **Modificazioni pre-sinaptiche: aumento della probabilità di rilascio quantale del neurotrasmettitore**

- Esistenza di un messaggero retrogrado (NO, sintetizzato dalla nNOS)



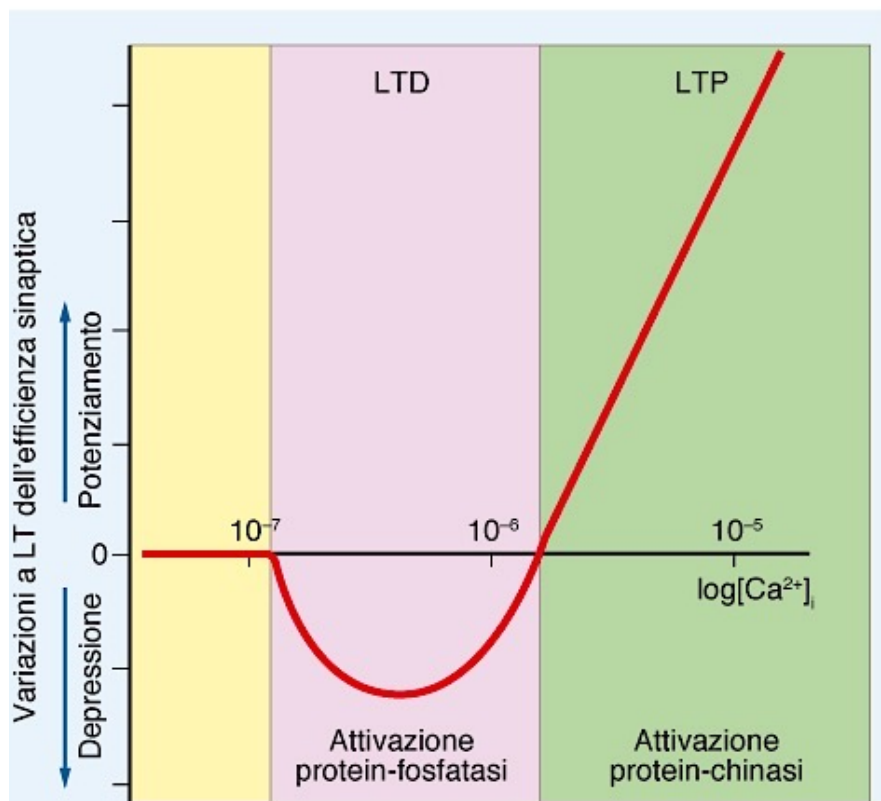
***Fase tardiva: consolidamento dell'LTP***

- Attivazione dell'espressione genica mediante il reclutamento del sistema: cAMP-PKA-CREB-CRE
- Il  $\text{Ca}^{2+}$  attiva l'adenilato ciclasi-1 ( $\text{Ca}^{2+}$  sensibile)
- Sintesi di proteine implicate nelle funzioni di sinapsi pre-formate e nella formazione di nuove sinapsi

# La depressione a lungo termine: LTD

Stimolazione a bassa frequenza (1 Hz) per tempi prolungati (10-15 min) riduce l'attività della stessa sinapsi, ma non incide sull'attività di sinapsi adiacenti (LTD Omosinaptico)

- Simile nelle proprietà cardine dell'LTP: la specificità
- Ruolo chiave dei recettori NMDA (LTD inibito dal loro blocco)
- Ruolo fondamentale del  $\text{Ca}^{2+}$  (bloccato da chelanti del  $\text{Ca}^{2+}$ )
- Il tipo di stimolazione induce un grado di reclutamento minore dei recettori NMDA rispetto all'LTP



1. Bassissima  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  intracellulare: non si attiva nessun meccanismo induttivo; efficacia sinaptica a livelli basali

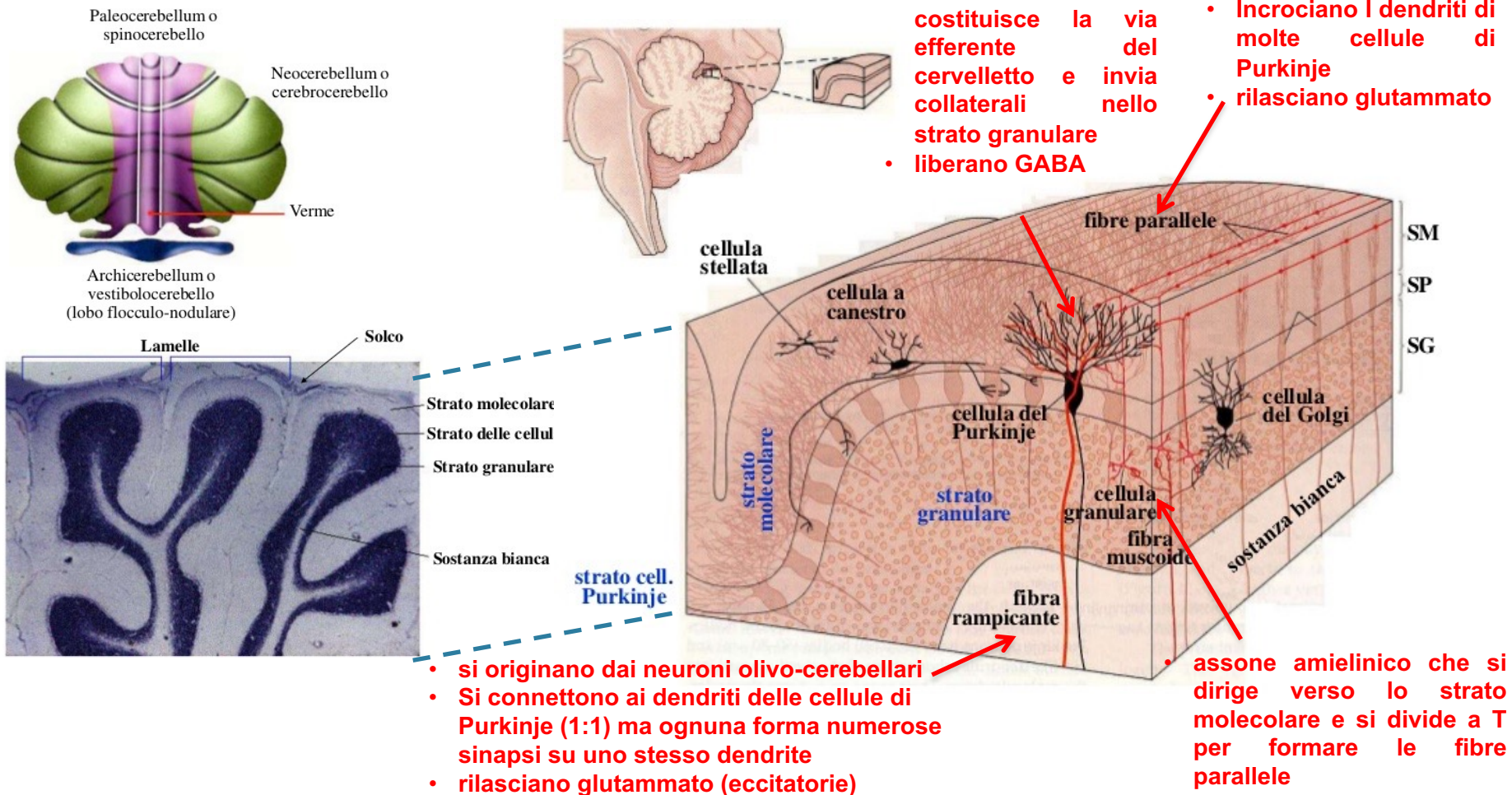
2. Modesta  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  intracellulare: attivazione di meccanismi induttivi dell'LTD, che sono speculari rispetto a quelli dell'LTP associativo; attivazione di proteine fosfatasi che defosforilano i recettori AMPA

3. Cospicuo aumento della  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  intracellulare: superamento del livello soglia e attivazione dei meccanismi induttivi dell'LTP

# LTD cerebellare: un esempio particolare di LTD associativo

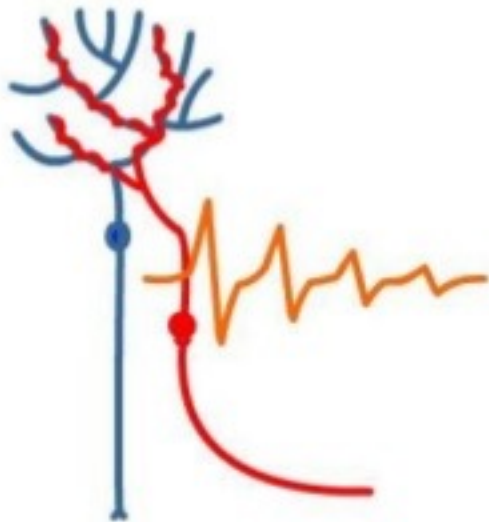
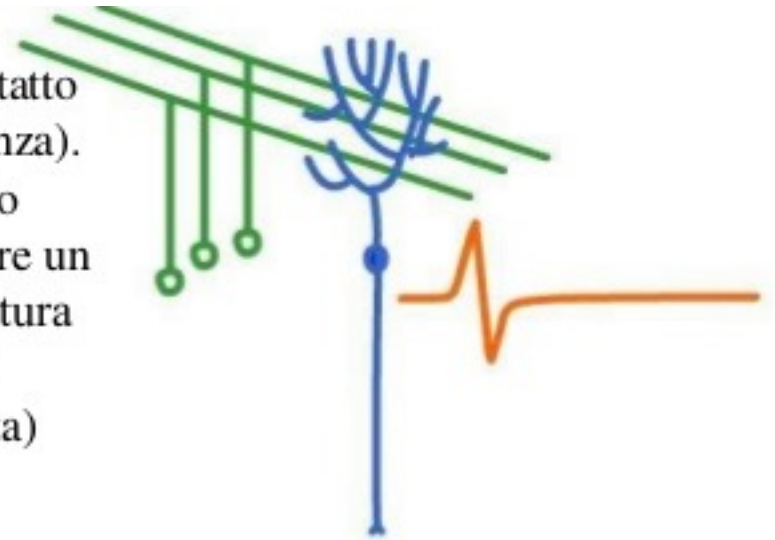
La funzione cerebellare è integrata per:

- Raffinamento e coordinazione dei movimenti
- Regolazione del tono muscolare e mantenimento dell'equilibrio
- Apprendimento dei movimenti



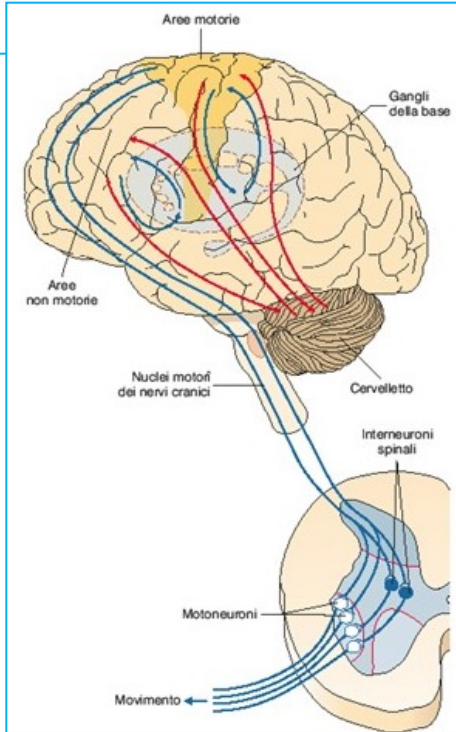
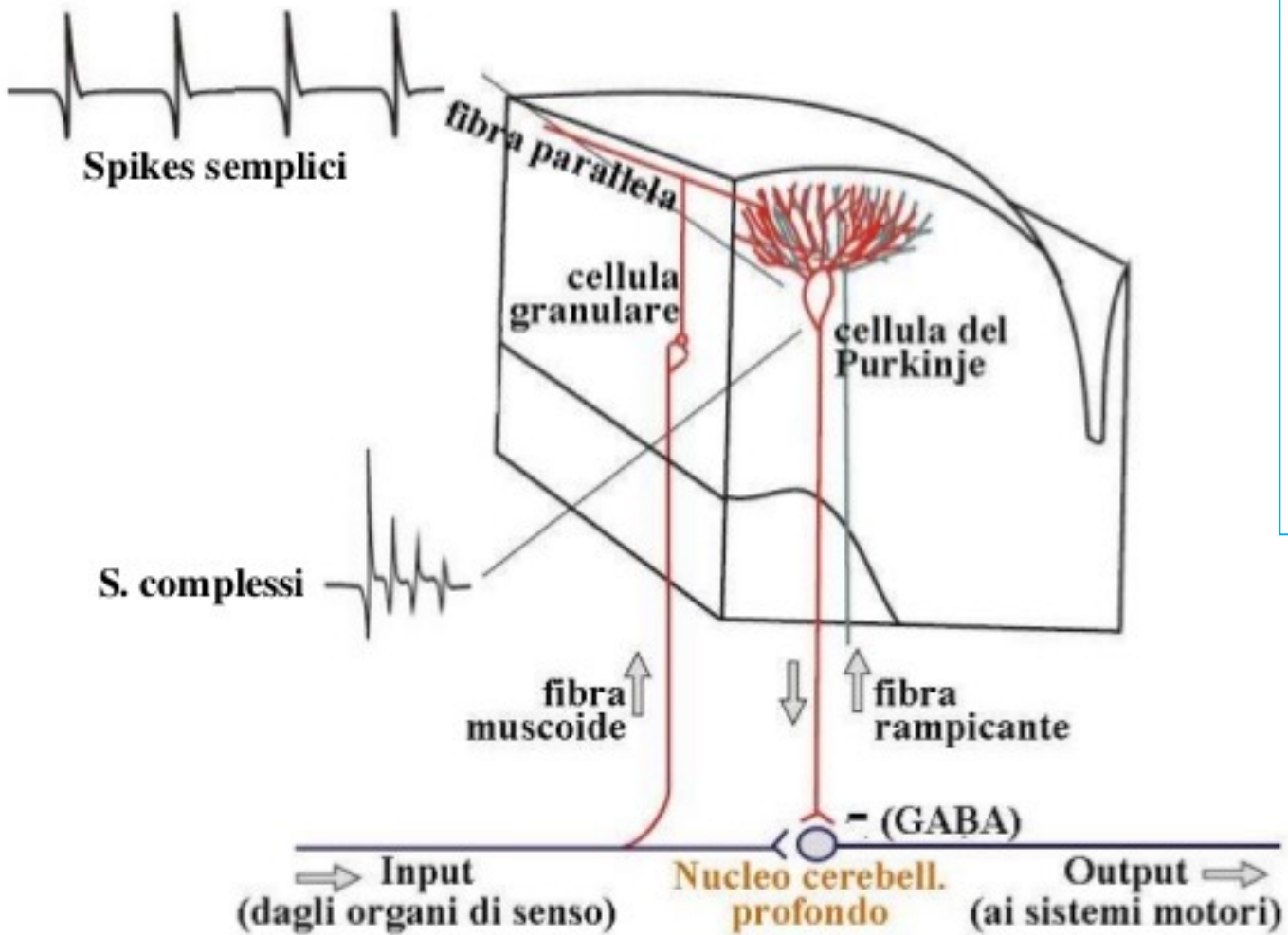
## Gli input delle fibre parallele e rampicanti hanno effetti molto diversi sulle cellule del Purkinje

Molte fibre parallele (~200,000) prendono contatto con una singola cellula del Purkinje (convergenza). Ciascuna sinapsi genera un debole PPSE e sono richiesti molti inputs (sommazione) per generare un potenziale d'azione. La scarica generata è duratura e ritardata rispetto a quella generata dalle fibre rampicanti (**spikes semplici**: azione tonica lenta)



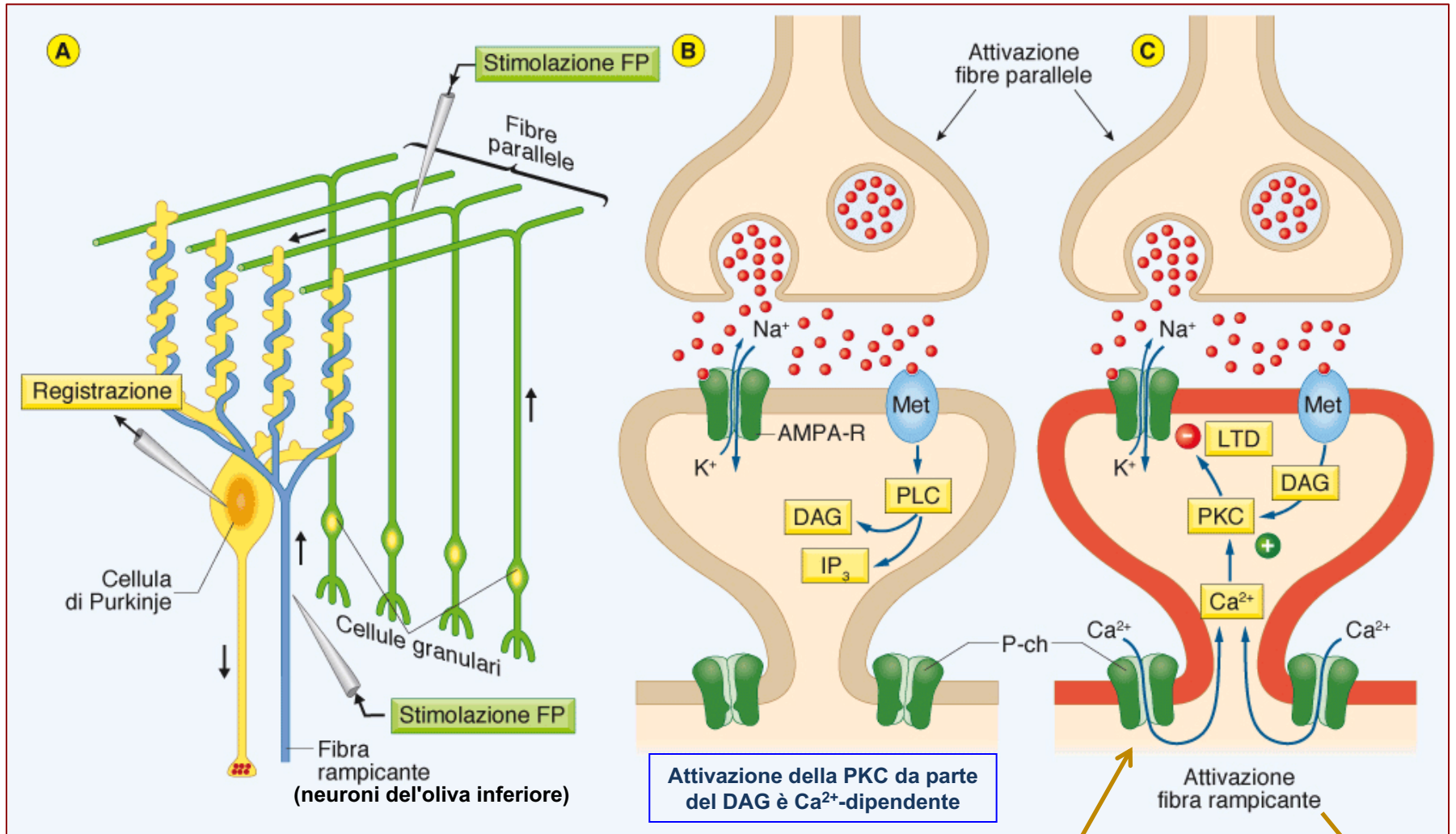
Un'unica fibra rampicante contatta ciascuna cellula del Purkinje formando molte sinapsi. Ciascun singolo input genera una rapida scarica di potenziali d'azione di latenza e durata brevi (**spikes complessi**: azione fasica rapida).

# Circuiti cerebellari di base





# LTD cerebellare: un esempio particolare di LTD associativo



Attivazione della PKC da parte del DAG è Ca<sup>2+</sup>-dipendente

Attivazione fibra rampicante

- Canali del Ca<sup>2+</sup> voltaggio dipendenti ad alta soglia (P)
- Si generano *burst* di potenziali d'azione

Complex spike