

Le Cellule Nervose

Comprendere la fisiologia della cellula e dell'organismo significa essere in grado di descrivere i meccanismi e le modalità della *regolazione* delle funzioni – siano esse biosintetiche, metaboliche, bioelettriche, di scambio, meccaniche o di elaborazione. Tale regolazione è essenziale perché il sistema biologico possa produrre le risposte adeguate alla presenza di sostanze chimiche, stimoli e segnali esterni, e si basa su sistemi – in genere proteici – in grado di modulare la loro attività funzionale grazie alla interazione con tali fattori esterni (*recettori*) e di regolare a loro volta processi biochimici e bioelettrici intracellulari.

Negli organismi multicellulari le risposte adeguate in genere richiedono l'intervento coordinato di vari sistemi cellulari, di tessuti e organi, collocati in regioni dell'organismo a distanza anche notevole dalla sede di ricezione dello stimolo esterno. Tali complesse reazioni a distanza sono rese possibili da due fondamentali sistemi dell'organismo: il sistema endocrino e il sistema nervoso. Il primo si basa sul rilascio di *ormoni*, liberati nel sangue circolante e pertanto in grado di raggiungere ogni organo e tessuto, che grazie alla presenza di specifici recettori metterà in atto la risposta richiesta. Il secondo è basato sulle proprietà della cellula nervosa (*neurone*), capace di tradurre l'attivazione di recettori in specifici fenomeni elettrici, riprodotti e "condotti" a distanza verso uno specifico bersaglio cellulare.



Figura 1. risposta cellulare, ormonale, nervosa

L'ORGANIZZAZIONE FUNZIONALE DEL NEURONE

I neuroni presentano organizzazione morfostrutturale generale e caratteristiche funzionali che li distinguono dagli altri tipi cellulari e permettono di svolgere la loro fondamentale funzione: raccogliere segnali, elaborarli e trasmettere ad altre cellule (neuroni o cellule effettrici) il risultato di tale elaborazione.

In questa prospettiva, nel neurone si possono generalmente riconoscere una regione di *input* di segnali, un insieme di meccanismi e processi di *elaborazione*, una regione di *conduzione* del segnale e una di *output* (Fig. 2).

La regione di input nella maggior parte dei casi comprende il corpo cellulare e una più o meno ricca ramificazione di prolungamenti (*dendriti*); la conduzione del segnale elettrico, anche a grande distanza, è svolta da un prolungamento con caratteristiche strutturali e funzionali specifiche, detto *assone*, che può ramificarsi e termina in strutture specializzate (*terminazioni* nervose) in grado di trasmettere il segnale ad altre cellule.

Nel seguito si discuteranno innanzitutto le proprietà elettriche della cellula nervosa, indispensabili per comprendere tutti gli altri aspetti funzionali. Si esamineranno quindi in generale le modalità e i meccanismi dei processi di input, elaborazione, conduzione, e output. Verranno infine passate in rassegna le principali classi di neuroni, sottolineandone le caratteristiche e proprietà specifiche.

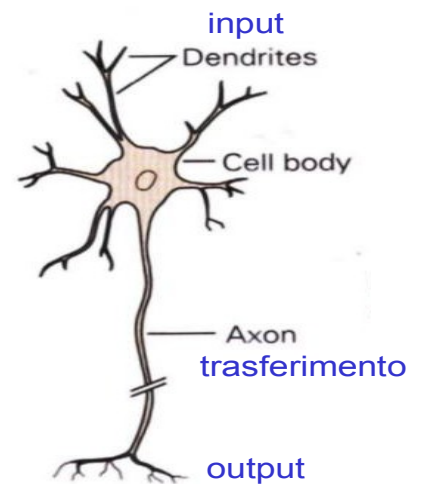


Figura 2. Le regioni funzionali del neurone. Input: i segnali vengono ricevuti sui dendriti e sul soma. Elaborazione: eseguita grazie alle caratteristiche elettrotoniche e conduttanze attive-passive del soma. Trasferimento: il segnale risultante (potenziali d'azione) condotti lungo l'assone. Output: il segnale è trasmesso ad un'altra cellula

LE PROPRIETÀ ELETTRICHE DEL NEURONE

Come ogni altra cellula, il neurone impiega buona parte dell'energia metabolica a sua disposizione per alimentare attività di *trasporto* da parte di proteine di membrana, che permettono così di stabilire e mantenere una diversa concentrazione di elettroliti ai due lati della membrana plasmatica. L'attività di trasporto fondamentale è la ATPasi Na/K dipen-

dente (*pompa Na/K*) che estrude tre ioni Na^+ scambiandoli con due K^+ , e determina così il più evidente squilibrio ionico: un rapporto di circa 10 per le concentrazioni di sodio, nel mammifero ($[\text{Na}^+]_o \approx 140 \text{ mM}$, $[\text{Na}^+]_i \approx 14 \text{ mM}$) e di circa 35 per il potassio ($[\text{K}^+]_o \approx 4 \text{ mM}$, $[\text{K}^+]_i \approx 140 \text{ mM}$).

Il potenziale di riposo

Il ciclo di trasporto della pompa comporta anche l'estrusione netta di una carica positiva, il che tende a creare una differenza di potenziale ai lati della membrana. Molto più rilevante, però, a questo riguardo, è la diversa concentrazione degli elettroliti in sé. La *differenza di potenziale* ai due lati della membrana, che consegue alla diversa distribuzione degli elettroliti tra le due soluzioni interna ed extracellulare, viene normalmente (anche se non del tutto propriamente) chiamata *potenziale di membrana*, ovvero potenziale interno riferito all'ambiente extracellulare considerato come zero.

Ogni specie ionica che si trovi a diversa concentrazione ai due lati di una membrana tende ad equilibrarsi, generando un flusso netto $F = P \cdot (C_i - C_o)$, dove P indica la permeabilità della membrana allo ione e C_i, C_o indicano rispettivamente la concentrazione interna ed esterna. A spingere lo ione è l'energia cinetica molecolare, nRT (dove n è il numero di moli, R la costante generale dei gas $- 8,3 \text{ joule per molare per grado Kelvin}$ - e T la temperatura assoluta); più in particolare in ogni punto del tragitto ($x = \text{distanza dalla soluzione esterna}$) il flusso netto è determinato dal gradiente di potenziale chimico, $RT \frac{dC(x)}{dx}$, che agisce su una concentrazione $C(x)$, esercitando così una forza $RT \frac{dC(x)}{C(x)dx} = RT \cdot \frac{d \log C(x)}{dx}$ per

mole. Lo spostamento di uno ione, non accompagnato da uno ione di carica opposta, da una soluzione all'altra, comporta uno squilibrio di cariche, che genera una differenza di potenziale elettrico: il flusso dello ione si arresterà ben presto, perché la differenza di potenziale elettrico così generata compenserà la differenza di concentrazione. Ciò succede quando la forza elettrica e quella chimica sono uguali e contrarie. Poiché una mole di elettrolita contiene zF cariche (z è la valenza, F , costante di Faraday, è la carica di una mole di ioni monovalenti), su ogni mole di elettrolita si esercita in ogni punto x una forza elettrica $\frac{dV}{dx} \cdot zF$, cosicché si ha equilibrio per $RT \cdot \frac{d \log C(x)}{dx} = -\frac{dV}{dx} \cdot zF$, ovvero per $\Delta V = -\frac{RT}{zF} \cdot \Delta \log C$.

Uno ione distribuito che abbia concentrazioni diverse ai due lati della membrana tende quindi a generare un

potenziale di equilibrio: $E = V_i - V_o = \frac{RT}{zF} \cdot \log C_o - \log C_i = \frac{RT}{zF} \cdot \log \frac{C_o}{C_i}$ (1)

Questa è nota come equazione di Nernst. Si noti che la costante RT/F vale circa 25 mV (26 mV a 37°C), il che comporta che ad un rapporto di concentrazione di 10 corrisponde un potenziale di equilibrio di circa 60 (=26 · log10) mV.

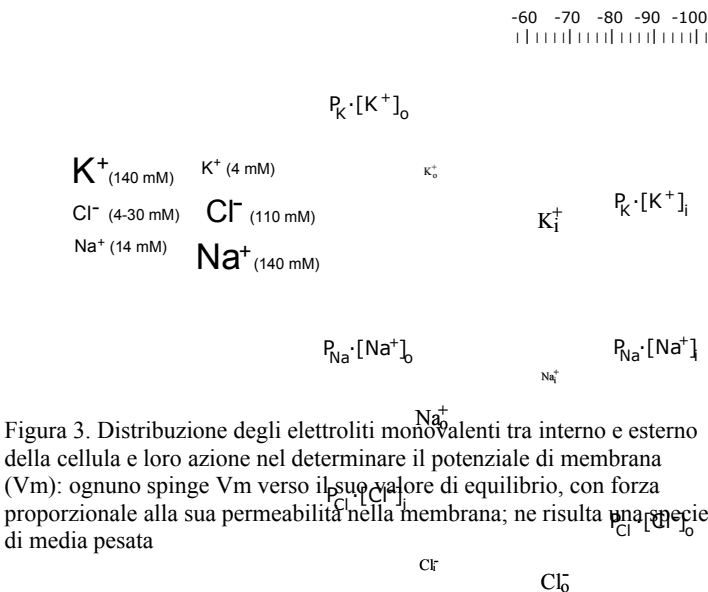


Figura 3. Distribuzione degli elettroliti monovalenti tra interno e esterno della cellula e loro azione nel determinare il potenziale di membrana (V_m): ognuno spinge V_m verso il suo valore di equilibrio, con forza proporzionale alla sua permeabilità nella membrana; ne risulta una specie di media pesata

Quando svariate specie ioniche hanno concentrazioni diverse, ognuna tende a generare ai lati della membrana un potenziale uguale al suo potenziale di equilibrio (eq. 1). La differenza di potenziale che si stabilisce tra l'interno della cellula e l'esterno - potenziale di membrana o di riposo - è il risultato di questa competizione, nella quale tendono a prevalere le specie ioniche alle quali la membrana è maggiormente permeabile (è ovvio, al limite, che se uno ione non può passare la membrana neppure può spostare cariche nette e generare potenziali d'equilibrio). Il risultato di queste interazioni è espresso dalla equazione di Goldman che, considerando solo le specie ioniche monovalenti, predice per il potenziale di riposo il valore:

$$V_m = \frac{RT}{zF} \cdot \log \left(\frac{[\text{Na}^+]_o \cdot P_{\text{Na}} + [\text{K}^+]_o \cdot P_{\text{K}} + [\text{Cl}^-]_i \cdot P_{\text{Cl}}}{[\text{Na}^+]_i \cdot P_{\text{Na}} + [\text{K}^+]_i \cdot P_{\text{K}} + [\text{Cl}^-]_o \cdot P_{\text{Cl}}} \right) \quad (2)$$

In quest'equazione le P rappresentano le permeabilità della membrana per le varie specie ioniche, e si deve osservare

che le concentrazioni compaiono scambiate per il Cl^- , che ha carica negativa.

Poiché la membrana a riposo è molto più permeabile a K^+ che ad altre specie ioniche, il *potenziale di membrana* tende a portarsi verso il potenziale di equilibrio del potassio: $E_K = \frac{RT}{F} \log \left(\frac{4}{140} \right) \approx -90 \text{ mV}$. Nella maggior parte delle cellule nervose, in realtà, il potenziale di membrana è un po' meno negativo, compreso tra -60 e -90 mV .

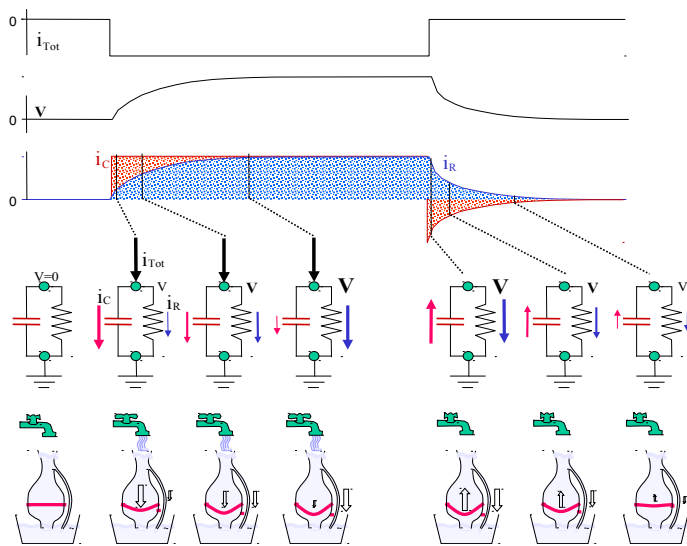
I “potenziali” del neurone

Poiché le cellule sono dotate di canali ionici, che determinano aumenti della permeabilità della membrana per una specie ionica in risposta a variazioni del potenziale di membrana, o alla presenza di *ligandi* specifici, il potenziale di membrana non è fisso, ma tende di volta in volta a spostarsi, avvicinandosi al potenziale di equilibrio della specie ionica per la quale si aprono canali.

E’ fondamentale riconoscere le diverse caratteristiche dinamiche delle risposte elettriche della cellula quando si aprano canali attivati da ligandi (recettori-canale) o dal potenziale: mentre i recettori-canali generano una corrente che tende a spostare il potenziale di membrana verso il potenziale d’equilibrio dello ione (ioni) permeante, e la loro azione persiste finché restano aperti (finché è presente il ligando e non si istaura inattivazione), i canali attivati dal potenziale danno risposte dinamiche complesse, perché la loro tendenza ad aprirsi/chiuersi cambia con il variare del potenziale, dovuto alla corrente da loro stessi generata. In particolare, i canali voltaggio-dipendenti possono determinare risposte rigenerative come il potenziale d’azione (vedi oltre).

Nei paragrafi che seguono si farà uso di una dizione assolutamente impropria, che però è entrata solidamente nell’uso comune. Si parlerà infatti di potenziali elettrotonici, potenziali d’azione e potenziali sinaptici e generatori. Nessuno di questi fenomeni è propriamente un potenziale: si tratta in realtà di *andamenti* (variazioni nel tempo) della differenza di potenziale ai lati della membrana.

Capacità della membrana – La membrana cellulare, essendo costituita da un foglietto lipidico che non permette il passaggio di corrente, si comporta come un condensatore. Il comportamento elettrico di un condensatore equivale al comportamento idraulico di una membrana elastica, che non permette il passaggio di liquido, ma può deformarsi se cambia la pressione sulle sue due facce (Figura 4): quando cambia il potenziale sui due lati della membrana, cariche elettriche si spostano da una soluzione e si accumulano sulla membrana, mentre lasciano l’altra faccia della membrana per spostarsi nell’altra soluzione; questo corrisponde a una corrente attraverso la membrana (corrente *capacitiva*) che è massima all’inizio e si spegne quando la carica sulla membrana compensa il potenziale. Il tempo necessario per caricare la capacità di membrana è dato dal prodotto della capacità della membrana (quantità di cariche che si devono accumulare per ogni Volt di variazione di potenziale, $C = Q/\Delta V$) per la resistenza che le cariche devono superare per caricare la membrana. Se viceversa produce una corrente attraverso la membrana, questo carica/scarica il condensatore e determina una variazione di potenziale. Questa è tanto più piccola quanto maggiore è la capacità di membrana, e si verifica tanto più lentamente quanto maggiore è il prodotto $R \times C$.



Resistenze elettriche e conduttanze – La membrana della cellula può essere attraversata da corrente elettrica, condotta dagli ioni che penetrano attraverso i canali di membrana aperti. Questo costituisce un percorso conduttivo, caratterizzato da un valore misurabile di resistenza elettrica (misurato in Ohm, simbolo Ω) o del suo inverso conduttanza (Siemens, $1/\Omega$). Anche nel citoplasma, però, si può misurare una resistenza elettrica, perché gli ioni si muovono con una velocità limitata.

Figura 4. Comportamento capacitivo della membrana. L’iniezione di corrente (I_{Tot}) carica inizialmente la capacità di membrana: i_C è proporzionale alla velocità di variazione del potenziale, come lo spostamento di liquido mentre si gonfia una membrana elastica; la corrente resistiva (i_R) cresce a mano a mano che aumenta il potenziale; interrompendo il passaggio di corrente il condensatore si scarica attraverso la resistenza e il potenziale decresce gradualmente.

Proprietà di cavo della fibra nervosa – Dal punto di vista elettrico, la fibra nervosa (assone o dendrite) è un lungo tubo di membrana, contenente citoplasma: la membrana è caratterizzata da capacità (C_m) e resistenza elettrica (R_m), e il citoplasma presenta una resistenza longitudinale (resistenza interna, R_i) tanto maggiore quanto più sottile è la fibra. Nei vari punti (x) lungo la fibra nervosa, pertanto, vi può essere diverso potenziale, $V(x)$, che dà luogo a una corrente longitudinale (calcolabile come $I_i = \frac{1}{R_i} \cdot \frac{dV(x)}{dx}$).

L'iniezione di una corrente costante attraverso la membrana produce inizialmente una rapida variazione di potenziale localizzata; a mano a mano che il potenziale sale nella regione in cui è stata iniettata la corrente, si crea una differenza di potenziale tra questa regione del citoplasma e le regioni vicine, e parte della corrente iniettata corre lungo la fibra. Per comprendere che cosa si verifica, nel tempo e nello spazio, è utile pensare a ciò che avviene quando si fa fluire acqua in una canna da irrigazione, elastica e con tanti piccoli fori. Il flusso d'acqua applicato dilata la canna (effetto capacitivo: la corrente carica la capacità di membrana) e vi fa aumentare la pressione. Con l'aumento della pressione (cambia il potenziale locale nella fibra nervosa), aumenta il flusso attraverso i fori (corrente di membrana) e il flusso che procede longitudinalmente: inizialmente la pressione varia rapidamente (il flusso va tutto a dilatare la canna) e poi varia sempre più lentamente (una quota sempre maggiore del flusso fuoriesce o procede longitudinalmente). L'andamento temporale è esponenziale ($e^{-t/\tau}$) e il tempo necessario per caricare la membrana è tanto maggiore quanto più alti sono i valori di capacità (più cariche necessarie per la stessa variazione di potenziale) e resistenza di membrana (si deve stabilire una maggiore differenza di potenziale per generare la stessa corrente di membrana): la *costante di tempo* della membrana è $\tau = R_m \cdot C_m$ e determina la "distorsione" della risposta elettrica illustrata nei particolari in blu di Figura 5.

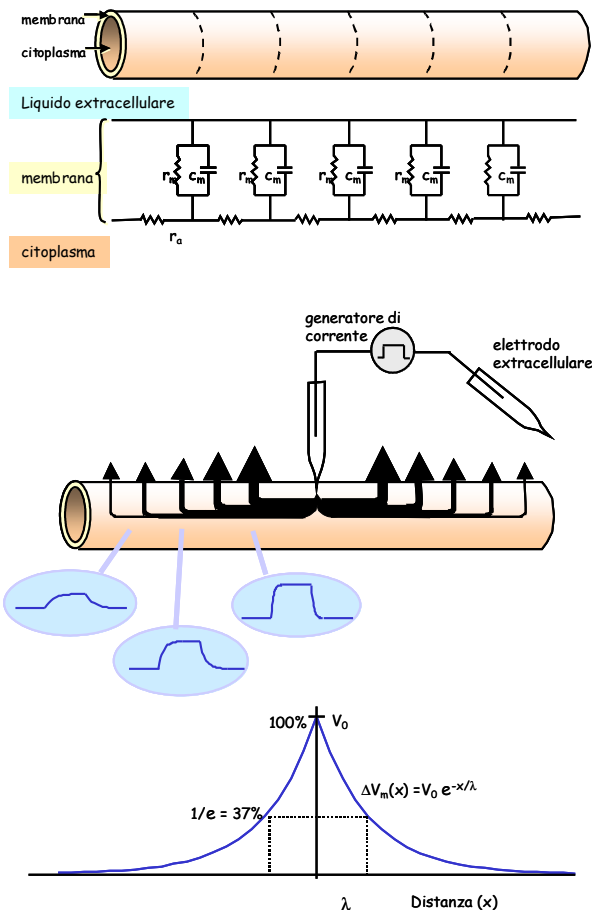


Figura 5. Proprietà elettrotoniche della cellula nervosa. La membrana si comporta come una batteria di condensatori e resistenze. La corrente iniettata in parte carica la membrana in parte sfugge all'esterno; si produce variazione graduale di potenziale, tanto più lenta e tanto meno marcata quanto più ci si allontana dal punto di iniezione.

Il flusso longitudinale in parte "carica" le regioni a valle (il tubo si dilata), in parte fuoriesce dai fori, in parte procede oltre. Quanti più fori presenta il tubo (bassa resistenza di membrana, R_m) e quanto più sottile è il tubo (alta resistenza interna, R_i), tanto maggiore è la quota di flusso che lascia il tubo, e tanto maggiore la caduta di pressione procedendo lungo il tubo. Allo stesso modo, la corrente longitudinale e il potenziale si riducono rapidamente a zero se è alto il rapporto R_i/R_m . La curva di pressione (o potenziale) rispetto alla distanza (x) dal punto di iniezione è ancora una volta un esponenziale ($e^{-x/\lambda}$), e la costante di spazio vale in particolare $\lambda = \sqrt{R_m/R_i}$.

L'iniezione di corrente in una fibra nervosa produce quindi una variazione locale di potenziale che si registra attenuata a mano a mano che ci si allontana dal punto di iniezione (parte bassa di Figura 5): tale risposta è detta risposta *passiva* o *elettrotonica*. La distanza raggiunta dalla variazione di potenziale è tanto maggiore quanto maggiore è il rapporto R_m/R_i . In una fibra di diametro maggiore la superficie di membrana è maggiore (proporzionale alla circonferenza e quindi al diametro) e R_m è minore. D'altra parte, l'area di sezione trasversale è proporzionale al quadrato del diametro, e R_i scende di più di R_m (es. diametro doppio, R_m la metà, R_i un quarto, R_m/R_i doppio). Dunque la costante di spazio aumenta con il diametro della fibra e le variazioni di potenziale si riscontrano a maggior distanza. Spesso le fibre nervose sono avvolte da una guaina costituita dalla membrana di cellule gliali, arrotolata ripetutamente (guaina mielinica). Questo accresce enormemente la resistenza di membrana e quindi la costante di spazio.

Potenziale d'azione – Da quanto detto appare evidente che la fibra nervosa non ha caratteristiche elettriche ottimali per permettere la propagazione di un impulso a distanza; presenta gli stessi difetti che presenterebbe una canna di irrigazione se impiegata come tubo del freno: la pressione applicata al pedale si disperderebbe tutta nel dilatare il tubo e disperdendosi attraverso i suoi fori, e sul meccanismo frenante non arriverebbe alcun comando.

La capacità della cellula nervosa di condurre e riprodurre a distanza un segnale elettrico è basata sulle sue *proprietà bioelettriche attive*. Con questo termine si intende la capacità della cellula, grazie alla presenza di *conduttanze attive* (canali ionici *regolati* da interazioni biochimiche e in particolare dal potenziale di membrana). Come accennato sopra, un canale ionico voltaggio-dipendente tende a determinare risposte complesse a variazioni del potenziale, in quanto la corrente che genera altera a sua volta il potenziale di membrana e regola quindi l'attività del canale stesso e eventualmente di altri canali.

I canali ionici voltaggio-dipendenti più importanti da questo punto di vista sono i canali per il sodio. Essi presentano due caratteristiche fondamentali: una rapidissima risposta di *attivazione* (apertura) in risposta alla *depolarizzazione* (riduzione della negatività del potenziale della cellula nervosa), e una quasi altrettanto rapida *inattivazione*. Quando la cellula viene depolarizzata da una corrente iniettata localmente si genera una risposta passiva (discussa più sopra), che tende ad essere limitata in ampiezza e ristretta ad una porzione della membrana della cellula. Qualora però la depolarizzazione sia sufficiente ad attivare canali Na^+ , la loro apertura determina una corrente di Na^+ verso l'interno, che depolarizza ulteriormente e attiva altri canali Na^+ . Il processo è rigenerativo ed esplosivo. O non si innesca, o si autoamplifica fino a coinvolgere tutti i canali Na^+ presenti.

Questo è un processo caratterizzato da feed-back (retroazione) positivo: il suo effetto si riverbera sul processo stesso attivandolo ulteriormente. Come ogni processo biologico a retroazione positiva, presenta: (1) un livello di attivazione massimale (saturazione) che impedisce una escalation senza limite; (2) un meccanismo di inattivazione, caratteristica essenziale perché altrimenti il processo non si spegnerebbe mai; una *soglia*, ovvero un valore di attivazione minimo che deve essere raggiunto perché scatti il feed-back positivo. L'insieme di queste caratteristiche obbliga il processo a verificarsi solo se viene attivato sopra il valore di soglia e a ripetersi identico quando si scatena. Questo comportamento è spesso descritto come "tutto-o-niente".

La rapidissima (<1ms) apertura di canali per il Na^+ sposta rapidamente il potenziale di equilibrio della membrana verso E_{Na} ($\approx +50$ mV). La membrana pertanto si depolarizza rapidamente. Quasi altrettanto rapidamente, però, la depolarizzazione produce inattivazione dei canali Na^+ , e la cellula tende a riprendere il suo potenziale di riposo. Tutte le cellule eccitabili presentano canali per il K^+ che si aprono anch'essi, sebbene più lentamente, in risposta alla depolarizzazione. Questo fa sì che, esaurita la corrente di Na^+ , una intensa corrente di potassio riporti rapidamente la cellula al potenziale di riposo, vicino a E_{K} .

Il potenziale d'azione si avvia se la cellula viene depolarizzata fino alla soglia per l'apertura dei canali dal Na^+ (circa -50 mV) e consiste in una rapida depolarizzazione che si esaurisce in pochi ms con il ritorno alle condizioni di partenza.

Questa sequenza di eventi è detta *potenziale d'azione* (Figura 7), o potenziale a punta (spike). La sua comprensione si deve agli studi di A.L. Hodgkin, A.F. Huxley e B. Katz, scienziati inglesi che negli anni '40 e '50 del secolo scorso posero le basi per lo studio della attività bioelettrica delle cellule eccitabili: per studiare e interpretare il potenziale essi sfruttarono in particolare, come preparato sperimentale, l'assone gigante di calamaro, che è tanto grosso da potervi infilare un filo metallico all'interno e misurare con precisione potenziale e correnti transmembrana. In questo modo la membrana può venire depolarizzata istantaneamente (portando il potenziale interno dal valore di riposo verso valori positivi) e si può esaminare l'insorgenza e il decorso delle correnti ioniche scatenate dalla depolarizzazione, come illustrato in fig. 7.

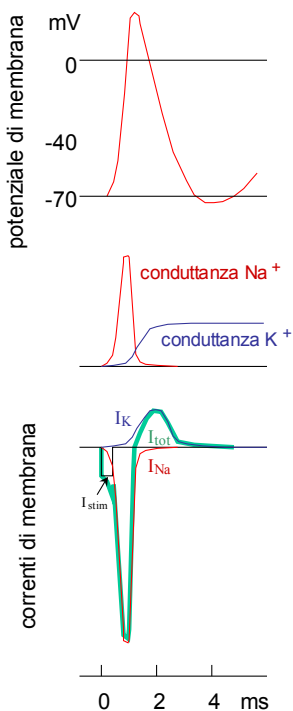


Figura 7. Il potenziale d'azione. La depolarizzazione produce apertura rapida dei canali sodio, inattivati entro pochi ms (la conduttanza si spegne). I canali K^+ sono attivati più lentamente e restano aperti. Ne risulta una rapida corrente depolarizzante seguita da corrente K^+ che ripolarizza, e si spegne quando la membrana si avvicina al potenziale di equilibrio di K^+ (non perché si chiudono i canali).

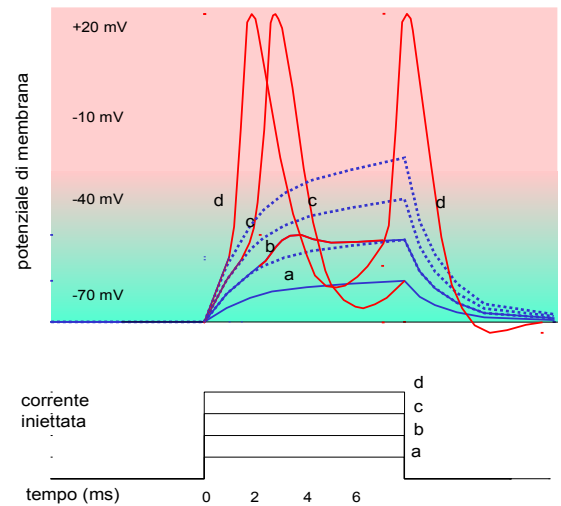
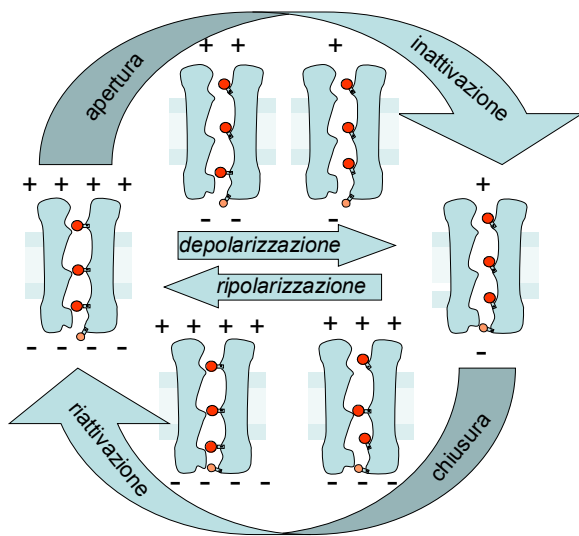


Figura 6. Risposte passive e attive. L'iniezione di corrente produce una depolarizzazione della cellula nervosa. Se si raggiunge il livello di soglia (b) insorge una risposta attiva (apertura dei canali sodio). Se la corrente è adeguata il processo diviene esplosivo e tutti i canali si attivano (c). Più è intensa la corrente, più rapidamente si raggiunge la soglia (d), ed esaurito il potenziale d'azione se ne può verificare un altro.

in modo che tutti i gruppi carichi tornino in posizione di riposo; solo allora una nuova depolarizzazione permetterà di riaprire il canale.



A seguito del potenziale d'azione occorrono alcuni ms prima che i canali del Na^+ , inattivati, tornino in condizioni di riposo, e di conseguenza dopo un potenziale d'azione la membrana non è in grado di generarne un altro immediatamente. Questa fase di inecitabilità viene definita *periodo refrattario*, e può avere durata variabile nelle diverse cellule eccitabili, da alcuni ms fino a qualche centinaio; il risultato è che il numero massimo di potenziali d'azione che una cellula può generare in un secondo (massima *frequenza di spike*) può variare da poche unità (per le cellule cardiache) fino a un massimo di 200 (forse 500) in alcuni neuroni.

Figura 8. Rappresentazione schematica del funzionamento del canale Na^+ . Depolarizzando, tre gruppi carichi (rosso) della proteina tendono a spostarsi verso l'esterno e liberano il poro interno (attivazione). Più lentamente un quarto gruppo carico (arancione) si sposta anch'esso "otturando" il poro (inattivazione). Il canale non può condurre più, per quanto la membrana si depolarizzi, finché non si è richiuso, ripolarizzando, e finalmente riattivato (riapertura del gruppo arancione).

Propagazione del potenziale d'azione – Come descritto trattando le proprietà di cavo della fibra nervosa, iniettando corrente in una cellula nervosa si può produrre una variazione *elettrotonica* (passiva) del potenziale solo in una piccola regione della membrana. Qualora però la membrana dia luogo ad una risposta attiva (potenziale d'azione) la situazione risulta sostanzialmente diversa: la forte corrente depolarizzante, che si verifica durante il potenziale d'azione nel punto della membrana in cui esso si genera, produce una depolarizzazione che agevolmente raggiunge la soglia per attivare i canali di Na^+ in tutta la regione circostante della membrana. Anche in tale regione circostante scatterà dunque il potenziale d'azione, che rigenererà così via via più lontano, sempre con la stessa ampiezza e forma. Contrariamente alle risposte elettrotoniche della membrana, dunque, il potenziale d'azione è una risposta che si propaga inalterata e *senza decremento* lungo la fibra nervosa.

La caratteristica del potenziale d'azione, di propagarsi grazie al suo rigenerarsi identico a se stesso nei diversi punti della membrana, comporta che pur essendo un fenomeno elettrico esso non si propaga con la velocità dell'elettricità in un conduttore. Il tempo necessario perché il potenziale d'azione si riproduca ad una certa distanza dipende dalla velocità del processo di rigenerazione dello spike. Le caratteristiche fondamentali della fibra nel determinare tale velocità sono due: l'intensità della corrente durante il potenziale d'azione e la costante di spazio della fibra (Figura 9):

- quanto più intensa è la corrente durante lo spike, tanto maggiore è l'area di membrana circostante che viene depolarizzata fino a raggiungere la soglia per innescare il potenziale d'azione;
- quanto maggiore è la costante di spazio della fibra, tanto meno viene attenuata, e più lontano si propaga, la depolarizzazione prodotta dallo spike.

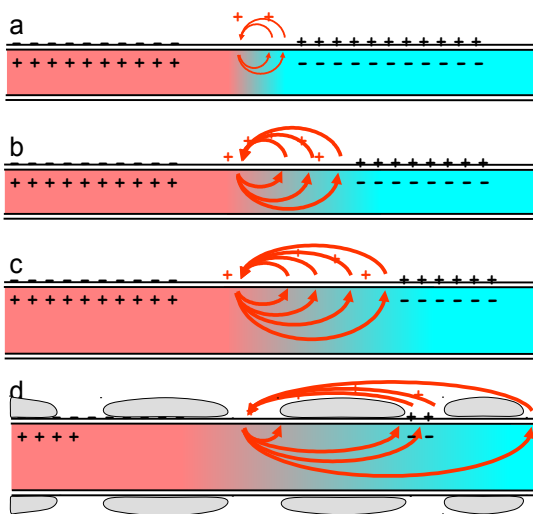


Figura 9. La corrente durante il potenziale d'azione depolarizza la membrana circostante (a). La porzione di membrana depolarizzata è maggiore se la corrente è più intensa (b), e ancor più se la costante di spazio è maggiore, perché il diametro della fibra è maggiore (c) o la resistenza di membrana è aumentata (es. da mielina, d).

In entrambi i casi, il potenziale d'azione è in grado di innescare una risposta rigenerativa a maggiore distanza, e il segnale si propagerà più rapidamente lungo la fibra nervosa. Poiché come abbiamo visto la costante di spazio dipende dal rapporto R_m/R_i e dal diametro della fibra, la *velocità di conduzione* dello spike è maggiore nelle fibre di diametro maggiore (può raggiungere i 5 m/s, contro i cm/s per le fibre nervose più piccole), e risulta enormemente aumentata in presenza di rivestimento mielinico, che dà luogo ad un grande aumento di R_m . La guaina mielinica presenta interruzioni che lasciano scoperto un breve tratto della membrana dell'assone. In queste porzioni dell'assone (*nodii di Ranvier*) sono concentrati i canali Na^+ e K^+ responsabili della generazione del potenziale d'azione; lo spike si genera solo al nodo e, grazie all'alta resistenza della guaina mielinica, produce una depolarizzazione del successivo nodo sufficiente a scatenarvi il potenziale d'azione, che si propaga quindi in modo discontinuo (*conduzione saltatoria*).

Direzionalità della propagazione – Quando si genera il potenziale d'azione in un punto della membrana della cellula eccitabile, esso

produce depolarizzazione di tutta la membrana circostante innescandovi la medesima sequenza di eventi (apertura dei canali Na^+ , depolarizzazione rapida e potenziale d'azione); pertanto il potenziale d'azione tende a invadere tutta la membrana propagandosi indifferentemente in tutte le direzioni. Questo succede, per esempio, nella fibra muscolare, nella quale il potenziale d'azione insorge alla giunzione neuromuscolare, grazie alla depolarizzazione prodotta dall'acetilcolina liberata dalla terminazione motrice (v. oltre), e si propaga a tutto il sarcolemma. Nei neuroni – come detto più sopra – il potenziale d'azione si genera al monticolo assonico quando la membrana del corpo cellulare raggiunge una adeguata depolarizzazione; non si propaga al corpo cellulare, che non presenta adeguata densità di canali Na^+ , ed invade invece l'assone. Di qui lungo tutto l'assone, il potenziale d'azione provoca depolarizzazione della porzione seguente (più lontana dal corpo cellulare) della membrana e vi si riproduce, avanzando lungo l'assone; non può viceversa propagarsi all'indietro perché la porzione precedente dalla membrana ha appena generato un potenziale d'azione e i suoi canali Na^+ si trovano in periodo refrattario. Ne risulta una *direzionalità* fissa della propagazione del potenziale d'azione, dal soma alla terminazione assonale. Va però compreso chiaramente che questo fenomeno è dovuto solamente a come è situato il punto di origine del potenziale d'azione (al monticolo assonico) e non costituisce una caratteristica intrinseca dell'assone. Se la porzione periferica dell'assone viene depolarizzata fino a scatenare la risposta attiva, il potenziale d'azione si propaga all'indietro (potenziale *antidromico*) esattamente con le stesse modalità con cui normalmente viaggia dal corpo cellulare verso la terminazione.

Potenziale generatore e potenziali sinaptici – Abbiamo fin qui esaminato le risposte elettrotoniche e attive della membrana del neurone immaginando di iniettarvi corrente. Come è ovvio, fisiologicamente queste risposte non si generano in risposta alla iniezione artificiale di corrente attraverso un elettrodo, ma a seguito della apertura di canali di membrana che determinano correnti ioniche. Il punto di partenza della attività bioelettrica del neurone non è dunque un fenomeno elettrico ma un fenomeno biochimico: il cambiamento di conformazione di una proteina-canale.

I canali che avviano risposte elettriche nei neuroni sono fondamentalmente di due tipi: (1) canali attivati dal legame di una molecola (ligando); in genere si tratta di una piccola molecola, detta *neurotrasmettitore*, liberata da un altro neurone (*trasmissione sinaptica*, vedi oltre); la risposta elettrica così avviata viene detta *potenziale sinaptico*; (2) canali attivati (o chiusi) in risposta a uno stimolo fisico (elettromagnetico, termico, meccanico) o chimico, attraverso processi di trasduzione che possono implicare sistemi biochimici più o meno complessi e secondi messaggeri intracellulari; la risposta elettrica così evocata viene definita “potenziale generatore” ed è tipica delle cellule recettrici sensoriali (che non necessariamente sono cellule neuronali).

I potenziali sinaptici, e il potenziale generatore, sono risposte elettrotoniche, e presentano tre caratteristiche fondamentali, in contrasto con il potenziale d'azione:

- non sono necessariamente depolarizzazioni: la direzione e l'ampiezza della variazione di potenziale dipendono dal potenziale di equilibrio dello ione (o ioni) cui il canale coinvolto è permeabile
- sono risposte *graduate*, che hanno ampiezza proporzionale allo stimolo che le avvia (la concentrazione di neurotrasmettitore o la intensità dello stimolo sensoriale)
- sono risposte *localizzate*, che non si propagano e risultano attenuate, lungo la membrana, quanto maggiore è la distanza dal punto in cui vengono generati.

Le caratteristiche specifiche del potenziale generatore nelle varie cellule recettrici sensoriali, e il modo in cui esso influenza l'attività elettrica, biochimica e secretiva della cellula recettrice, sono argomento specifico della fisiologia dei sistemi sensoriali.

I potenziali sinaptici e il loro ruolo verranno discussi in seguito, trattando di sinapsi e comunicazione tra neuroni.

Attività elettrica del neurone ed elaborazione dei segnali

La cellula nervosa condivide con ogni altra cellula i compiti fondamentali, approvvigionamento e trasformazione di energia, ricostituzione e ricambio dei propri elementi costitutivi; ha però un compito specifico, che ne assorbe buona parte dell'energia e dell'attività metabolica: l'elaborazione dell'informazione.

Grazie alla possibilità di generare potenziali d'azione propagati, la cellula nervosa permette il *trasferimento* dell'informazione (stimoli e segnali esterni e interni) da un punto all'altro dell'organismo. Questa attività, come si è visto, è basata sul mantenimento di uno squilibrio di concentrazione ionica tra interno ed esterno della cellula, che richiede un'intensa attività metabolica (considerando l'enorme estensione della membrana di un neurone, il consumo di ATP da parte della pompa sodio/potassio è imponente); essa, però, non esaurisce i compiti del neurone.

Le alterazioni elettriche (“potenziali”) prodotte nelle cellule recettrici da stimoli sensoriali (potenziali generatori) e nei neuroni dai neurotrasmettitori (potenziali sinaptici) sono il risultato di un processo di trasduzione, che converte questi

segnali in attività di canali ionici di membrana. In questo modo il livello di potenziale di membrana del neurone in ogni istante rappresenta il risultato complessivo della elaborazione di tutti i segnali che lo raggiungono. Altrettanto importante è osservare che l'insieme dei processi di regolazione dell'attività metabolica e di trascrizione genica, nel neurone, può modificare in ogni istante l'efficienza dei processi di trasduzione e l'espressione e attività dei canali ionici in membrana. Da questo risulta che esiste un notevole margine di malleabilità dei meccanismi di elaborazione dei segnali in arrivo.

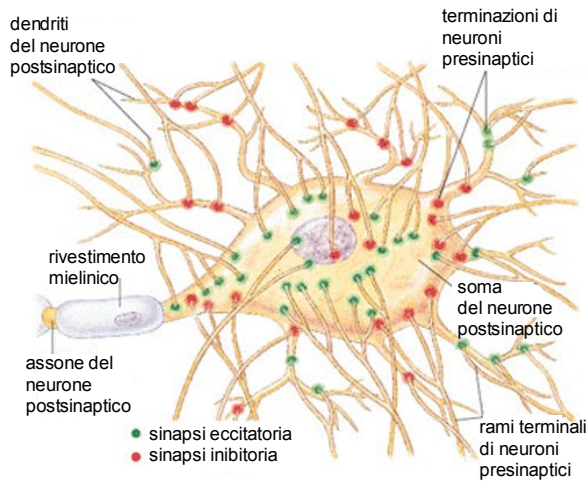


Figura 10 – Schema che rappresenta la struttura di un neurone con i numerosi contatti sinaptici che lo raggiungono. Si noti che in realtà le sinapsi sono molto più numerose (anche centinaia di migliaia per un neurone centrale)

Il neurone dunque non è un semplice “relais” che riconosce un segnale e lo riproduce a distanza, bensì un complesso sistema di elaborazione. In questa sua funzione si riconoscono una serie di cruciali proprietà, che occorre considerare con attenzione per comprenderne il funzionamento: convergenza su ogni neurone di numerosi input sinaptici (Figura 10), sommazione spaziale e sommazione temporale dei segnali elettrici, soglia di attivazione, codifica del segnale in frequenza, comportamento dinamico.

Sommazione spaziale dei segnali elettrici -

Date le caratteristiche elettrotoniche della membrana neuronale, l'apertura di canali di membrana produce correnti che alterano il potenziale solo localmente, e si attenuano a mano a mano che ci si allontana dal punto di iniezione della corrente. L'ampiezza della variazione di potenziale dipende dalla intensità della corrente che deve caricare la capacità di membrana. Il potenziale cambia con una pendenza proporzionale all'intensità della corrente, secondo l'equazione $\overset{o}{V} = \frac{dV}{dt} = \frac{i_C}{C_m}$, dove i_C rappresenta la corrente

capacitiva e C_m la capacità di membrana. Se la corrente persiste, la variazione di potenziale si stabilizza sul valore $\Delta V = i_R \cdot R_m$, dove analogamente i_R e R_m indicano corrente resistiva e resistenza di membrana. In prima approssimazione, inizialmente la corrente è tutta capacitiva – e cambia rapidamente il potenziale; se il potenziale si stabilizza la corrente diviene tutta resistiva. Se l'iniezione di corrente si interrompe, il potenziale torna al valore di riposo con andamento esponenziale e costante di tempo $\tau = R_m C_m$.

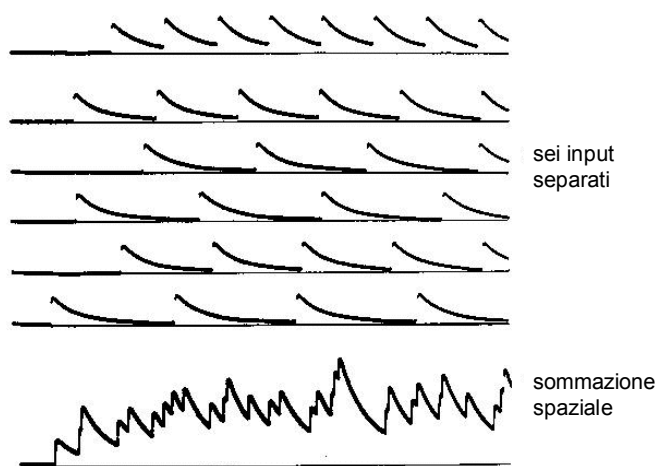


Figura 11. – Sommazione spaziale. Le alterazioni elettriche prodotte da sinapsi vicine si sommano: anche se ogni singolo input è di ampiezza, il potenziale postsinaptico oscilla e può raggiungere in alcuni momenti la soglia per il potenziale d'azione.

Se si aprono altri canali in regioni remote della membrana non vi è interferenza. Se però altri canali si aprono in regioni vicine, le correnti attraverso la membrana si sommano, e anche le variazioni di potenziale divengono additive. In pratica, perché due segnali elettrici (aperture di canali) si sommino sulla membrana del neurone essi devono verificarsi a distanza minore della costante di spazio elettrotonica della membrana ($\lambda = \sqrt{R_m/R_i}$). E' importante a questo proposito considerare la morfologia del neurone: nel corpo cellulare (*soma*), tendenzialmente sferico o oblungo, la resistenza intracellulare è irrilevante rispetto a quella di membrana, e i segnali elettrici si sommano con poca attenuazione; viceversa, l'albero dendritico presenta ramificazioni e prolungamenti lunghi e sottili, nei quali l'attenuazione elettrotonica può essere molto rilevante; pertanto, in ogni dendrite si verifica una sommazione di segnali elettrotonici locali che può o meno arrivare a produrre alterazioni del potenziale del corpo cellulare.

Sommazione temporale di segnali elettrotonici – I segnali elettrici localizzati possono sommarsi solo se avvengono contemporaneamente. Poiché ogni variazione di potenziale, per quanto transitoria, ha una durata definita (pochi millisecondi, tipicamente, per i segnali recettoriali e sinaptici), anche segnali non proprio sincroni possono sommarsi, ma il risultato di tale sommazione è tanto meno efficace quanto più i segnali si discostano nel tempo.

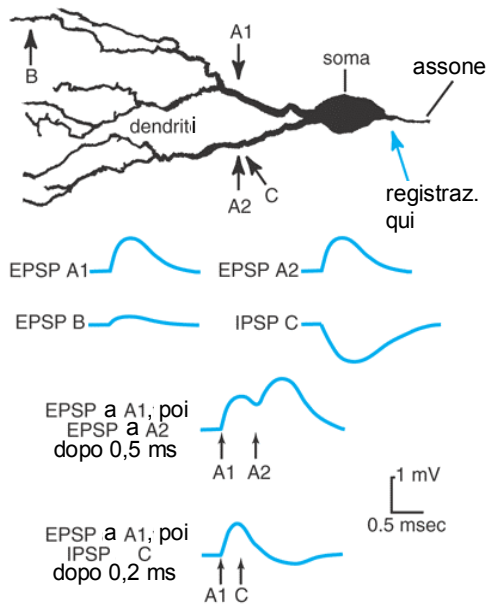


Figura 12. Sommazione temporale. Input eccitatori (EPSP) e inibitori (IPSP) si sommano nel tempo modulando la risposta elettrica del neurone postsinaptico

E' importante però ricordare che sia segnali sensoriali sia risposte recettoriali possono comportare attivazione di percorsi biochimici cellulari, che non necessariamente si esauriscono in tempi brevi; esiste pertanto la possibilità che segnali metabolici si sommino anche su tempi più lunghi, nel neurone (centinaia di ms, secondi e, come vedremo, anche periodi ben più lunghi); le risposte elettriche conseguenti alla attivazione di percorsi biochimici, o da essi modulate, possono quindi subire l'influenza di altri segnali che hanno raggiunto il neurone in tempi anche non particolarmente recenti.

Soglia di attivazione. Spike encoder – I dendriti e il corpo cellulare dei neuroni non sono dotati di canali sodio voltaggio-dipendenti, capaci di generare il potenziale d'azione. Pertanto, tutta l'elaborazione neuronale è basata sulla sommazione di correnti e potenziali elettrotonici nello spazio e nel tempo, modulata in vario modo da processi biochimici a loro volta avviati e regolati da segnali in arrivo.

I canali sodio sono espressi invece sulla membrana dell'assone, e sono particolarmente concentrati a livello della emergenza dell'assone dal corpo cellulare (*monticolo assonico*). Questa regione svolge così il compito di avviare il potenziale d'azione: questo si verifica ogni volta che i segnali elettrici sommati nell'albero dendritico e nel corpo cellulare portano il potenziale di membrana a superare nel monticolo la soglia di apertura dei canali sodio.

Appare in questo modo che gran parte della informazione generata dalla elaborazione del neurone vada persa: se l'integrazione spazio-temporale dei segnali elettrici è sotto soglia, non succede nulla; se supera la soglia, c'è potenziale d'azione. Nessuna via di mezzo, nessuna gradualità: un segnale graduato, analogico è ridotto a un codice binario, 0 o 1, sì o no.

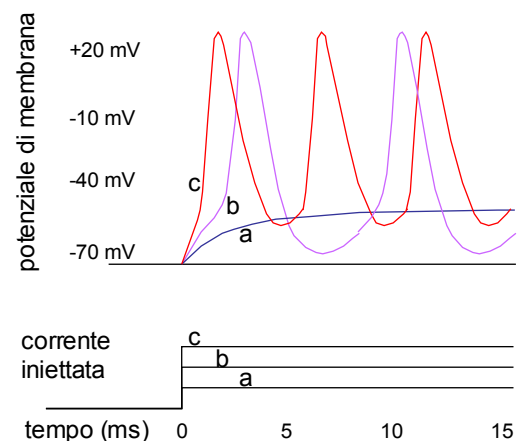
Comportamento dinamico – Per comprendere il funzionamento del sistema occorre però considerare il suo comportamento dinamico. Una piccola corrente depolarizzante sposta lentamente il potenziale di membrana (carica lentamente la capacità) che può assestarsi sotto soglia (la corrente sfugge attraverso la membrana e mantiene lo scostamento del potenziale, $\Delta V = i_R \cdot R_m$), oppure può raggiungere la soglia scatenando il potenziale d'azione. Una corrente più intensa scatena lo spike in un tempo più breve (Figura 14).



Figura 13. Integrazione neuronale. Il segnale generato in un dendrite o sul soma si propaga elettrotonicamente (distorto e attenuato a distanza). Il soma ha pochi canali sodio e poca tendenza a generare potenziali d'azione. Al monticolo assonico c'è alta concentrazione di canali sodio e l'eccitabilità aumenta (soglia più bassa): lo spike si genera se il potenziale supera la soglia in questo punto.

Ecco che dunque l'informazione che pareva persa risulta solo modificata: correnti più intense producono spikes più precoci, e se persistono producono una *frequenza* più elevata di spikes. L'ampiezza graduata (*analogica*) delle oscillazioni del potenziale al monticolo assonico è quindi tradotta e *codificata* in una *frequenza* di spikes che varia nel tempo riproducendo il segnale originale, che rappresenta il risultato della elaborazione neuronale. Per questo, al sistema di generazione degli spike si dà nome di *spike encoder*, ovvero "codificatore" del segnale elettrotonico in una frequenza di potenziali d'azione.

Figura 14. – Una corrente debole non evoca potenziali d'azione (a). Una corrente sufficiente a provocarlo, se persiste induce una scarica di spike. Più intensa è la corrente, maggiore è la frequenza degli spike.



Modulazione d'ampiezza, modulazione di frequenza e conversione analogico-digitale – Tutta la discussione svolta sulla attenuazione e distorsione dei segnali elettrotonici dovrebbe rendere apparente come un segnale graduato sia poco adatto a raggiungere punti lontani, e soggetto a marcate alterazioni e disturbi. Proprio per questo nelle trasmissioni radio da molti anni i segnali in modulazione di ampiezza – onde radio di ampiezza che varia per riflettere l'andamento del segnale da trasmettere – sono state in gran parte sostituite da trasmissioni in modulazione di frequenza – un segnale che ha frequenza variabile, compresa in una banda assegnata alla stazione radio: in ogni momento il segnale è rappresentato non dall'ampiezza ma dalla frequenza dell'onda radio. Per quanti disturbi elettromagnetici possano interferire con il segnale radio, la sua frequenza di oscillazione ne risentirà molto meno dell'ampiezza delle oscillazioni (Fig. 15).

Una rivoluzione analogica ha segnato tutto l'ambito delle registrazioni di segnali in tempi più recenti. Invece di registrare (su supporti fisici magnetici o ottici) un segnale riproducendone l'andamento in un microscolco o nel grado di magnetizzazione di un nastro, il segnale viene campionato e convertito in una serie di numeri che ne esprimono l'ampiezza negli istanti successivi (conversione analogico-digitale, *digit* = cifra in inglese), e tali numeri vengono registrati in formato binario: sequenze di soli uno e zero, magnetizzato o no, inciso otticamente o no, con molta meno possibilità di alterare i valori registrati (difficile scambiare un sì per un no).

Segnale
A.M.
F.M.
disturbo
A.M.
F.M.

Figura 15. – AM/FM. Il segnale (in alto) viene tradotto in una modulazione dell'ampiezza di un'onda radio, oppure nella modulazione della sua frequenza. Se si presenta un disturbo che attenua parte della trasmissione, la modulazione d'ampiezza risulta distorta, mentre la modulazione di frequenza è ancora correttamente interpretata, anche se alcune onde risultano di ampiezza alterata.

Un aspetto cruciale delle procedure di codifica in frequenza, e digitale, consiste nel fatto che il segnale risulta sì più *robusto* (meno soggetto a distorsione e errore) ma non può avere precisione illimitata: se un neurone può scaricare al massimo 200 (in alcuni casi 500) spikes per secondo, ciò significa che non sarà in grado di rappresentare in modo diverso e in tempi più brevi di 1 sec due segnali la cui intensità differisce solo di 1/200. Vi sono però strategie che permettono al sistema nervoso di aggirare questo limite. Le principali – che vengono approfondite nella fisiologia dei sistemi sensoriali, sono la *compressione di scala* e l'*adattamento*.

La compressione di scala si ottiene in un sistema che risponde in modo logaritmico al segnale: la variazione della intensità della risposta è la stessa ogni volta che il segnale varia della stessa frazione. Un sistema che riconosce variazioni del 5%, per esempio, distingue intensità 105 da 100 e 10.500 (ma non 10.005) da 10.000, e può in questo modo codificare segnali con intensità variabile su molti ordini di grandezza (da 1 a 1.000.000, nel nostro esempio) pur essendo la sua risposta limitata all'ambito 1-300 spike/s.

L'adattamento è un meccanismo grazie al quale una cellula riduce, più o meno rapidamente, la sua risposta ad un segnale persistente.

La combinazione di due cellule, una poco sensibile (A) e una molto sensibile ma a rapido adattamento (B), permette di riconoscere segnali stabili di intensità diversa, seppure con limitata sensibilità (cellula A); l'aspetto cruciale è però che una variazione anche piccolissima del segnale, nel tempo, darà luogo ad una risposta della cellula B. In termini di risposta dinamica, quindi, il sistema risulta estremamente sensibile e preciso.

a
b
intensità dello stimolo

Figura 16. – Adattamento neuronale. Uno stimolo prolungato genera una risposta sostenuta (a) in un neurone privo di adattamento; un neurone che si adatta (b), invece, mostra frequenza di spike che decresce durante lo stimolo, ma segnala una piccola variazione nell'intensità dello stimolo. Uno stimolo di ampiezza crescente che si stabilizza dà una risposta proporzionale all'intensità dello stimolo, in assenza di adattamento (c); in un neurone che mostra adattamento (d) si osserva invece una risposta di spike che persiste finché l'intensità dello stimolo cresce e si spegne quando l'intensità si stabilizza.

c
d
intensità dello stimolo

COMUNICAZIONE TRA NEURONI

La grande potenza di elaborazione dei segnali di ingresso da parte del neurone è moltiplicata e amplificata dalla possibilità che ogni neurone riceva segnali da altri neuroni, o da cellule recettrici, e a sua volta invii il risultato della sua elaborazione a molti neuroni, o cellule effettrici.

Ciò è reso possibile dalla connessione funzionale tra diversi neuroni. Fino all'inizio del Novecento, era opinione diffusa che le cellule nervose fossero strutturalmente connesse una all'altra, in un sincizio funzionale. Questa era anche l'opinione di Golgi, il grande anatomico che, grazie ad una particolare tecnica di colorazione microscopica da lui sviluppata (la reazione nera), produsse affascinanti immagini di neuroni del sistema nervoso centrale, con la loro ricca e complessa arborizzazione dendritica e il loro processo assonico, spesso anch'esso ramificato in modo complesso. Fu il

grande neuroanatomico Ramon y Cajal a mostrare che le cellule nervose sono entità distinte, e a suggerire che esse comunicano per *contiguità* e non per *continuità*.

Sinapsi e giunzioni – Il segnale elettrico che raggiunge la terminazione assonale di un neurone non si propaga direttamente, dunque, ma può venire *trasmesso* ad un'altra cellula nervosa – o una cellula effettrice, muscolare o secretiva. Nel primo caso, la struttura anatomica che permette la comunicazione tra le due cellule nervose è detta *sinapsi*. Nel secondo caso, quando una delle due cellule non è un neurone, si parla di *giunzione* (come ad esempio tra cellula recettrice e primo neurone afferente, o tra neurone e cellula muscolare). Si noti che per questo processo viene impiegato un termine – *trasmissione*, che implica due soggetti, uno che manda il messaggio e l'altro che lo riceve – che lo distingue dalla *propagazione* o *conduzione* del potenziale d'azione lungo l'assone.

Gli studi di Sherrington sugli archi riflessi, di Loewi sul nervo vago e di Dale sul sistema ortosimpatico nei primi decenni del secolo hanno chiaramente stabilito il ruolo di mediatori chimici in questo processo di comunicazione tra cellule nervose (*trasmissione sinaptica*). Ma la diatriba tra sostenitori della natura elettrica o chimica della trasmissione sinaptica venne definitivamente risolta solo negli anni '40-'50, grazie alla introduzione dei microelettrodi (capillari di vetro tirati a caldo fino ad avere una punta di dimensione inferiore a 1 μm), che permettono la registrazione elettrofisiologia diretta (*intracellulare*) da una cellula eccitabile: è apparso chiaro che esistono sia sinapsi elettriche – specialmente in organismi inferiori – sia sinapsi chimiche.

Sinapsi elettriche e chimiche

Il segnale che si propaga sulla membrana di una cellula neuronale può dunque trasmettersi ad un'altra cellula in due modi: stabilendo un contatto diretto tra la soluzione citoplasmatica delle due cellule oppure attraverso la secrezione in risposta al potenziale d'azione, di un mediatore (neurotrasmettitore) che viene riconosciuto da recettori presenti sulla membrana della cellula "ricevente".

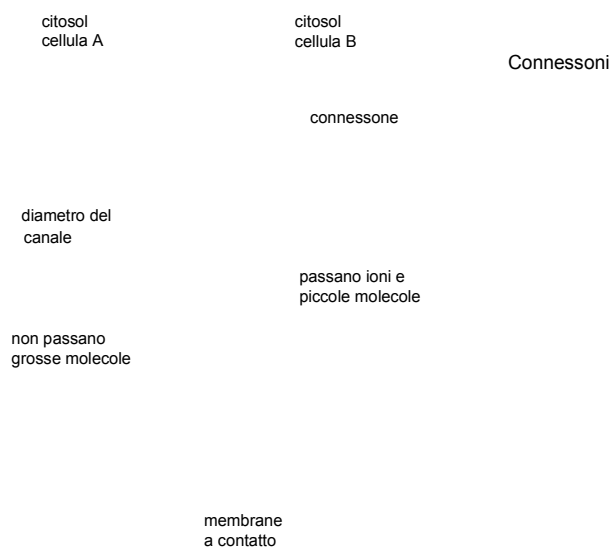


Figura 17 – Struttura della sinapsi elettrica

Nel primo caso, si parla di *sinapsi elettrica*. Il contatto diretto tra il citoplasma delle due cellule è mediato da *gap junction*, strutture multimeriche costituite dalle proteine *connesine* che, organizzate in un esamero su ognuna delle due membrane cellulari, formano un canale ionico piuttosto ampio e aspecifico che mette a contatto il citosol delle due cellule e permette il flusso di ioni da una all'altra; di conseguenza, la corrente del potenziale d'azione, che fluisce attraverso la membrana della terminazione della prima cellula, può passare alla seconda cellula e depolarizzarne la membrana (Fig.17), cosicché anch'essa viene invasa dal potenziale d'azione. Le sinapsi elettriche prevalgono nel sistema nervoso degli invertebrati ma alcune sono presenti anche in quello dei mammiferi.

Negli organismi superiori, la maggior parte dei contatti tra neuroni è organizzata diversamente.

La membrana della terminazione *presinaptica* e quella della cellula *postsinaptica* sono separate da una *fessura sinaptica*;

questa, per quanto sia poco ampia (poco più di un centinaio di nanometri), impedisce il contatto tra le due membrane, e si può facilmente dimostrare che il potenziale d'azione nella terminazione non è in grado di produrre alcun evento elettrico diretto nella membrana postsinaptica.

In questo caso la terminazione presinaptica presenta una complessa specializzazione strutturale e funzionale che permette la secrezione localizzata, rapida e regolata di una sostanza chimica (neurotrasmettitore) in risposta all'arrivo del potenziale d'azione, e la membrana postsinaptica, altrettanto finemente organizzata, presenta una densa aggregazione di recettori per il neurotrasmettitore in corrispondenza delle zone di rilascio presinaptiche. Queste strutture di contatto vengono pertanto definite *sinapsi chimiche* (Figura 18). Vi sono due differenze fondamentali tra sinapsi elettriche e chimiche: direzionalità e rapidità.

Direzionalità - Le sinapsi elettriche si comportano come regioni di conduzione del segnale elettrico, che in linea di principio può procedere in entrambe le direzioni; sono quindi tendenzialmente sinapsi *bidirezionali*, e non esiste una porzione pre e una post-sinaptica, in senso stretto. L'organizzazione anatomica può però far sì che, a causa del diverso diametro e delle diverse caratteristiche di conduttanza e capacità di membrana (*impedenza di ingresso*) delle due cellu-

terminale assonale
presinaptico

vescicole sinaptiche

vallo sinaptico

dendrite
postsinaptico

le, l'attenuazione del segnale risulti diversa nel passaggio dall'una all'altra o viceversa: così, il potenziale d'azione di una delle due cellule connesse (*presinaptica*) tende a propagarsi alla membrana dell'altra cellula (*postsinaptica*), mentre un potenziale d'azione della cellula postsinaptica non riesce a produrre che una parziale depolarizzazione della cellula presinaptica.

La sinapsi chimica, invece, è strutturalmente *unidirezionale*: un potenziale d'azione nella cellula post-sinaptica non ha modo di propagarsi a quella presinaptica, mancando la specializzazione secretiva e recettoriale adeguata. Va precisato, comunque, che esistono svariati meccanismi attraverso i quali la cellula postsinaptica può influenzare l'attività di quella presinaptica (comunicazione *retrograda*, v. oltre).

Rapidità - La sinapsi elettrica può costituire un punto di rallentamento nella progressione del potenziale d'azione, a causa della maggiore resistenza longitudinale (la continuità elettrica del citoplasma delle due cellule è limitata alle giunzioni) e della conseguente ridotta costante di spazio (vedi sopra). A parte tale rallentamento, però, nulla le distingue, in linea di principio, da una regione di conduzione, e il passaggio del potenziale d'azione dall'una all'altra cellula è un processo virtualmente istantaneo. La velocità di propagazione del segnale nelle sinapsi elettriche è un aspetto cruciale nella rapidità della risposta dell'animale al pericolo. Ad esempio il colpo di coda del pesce rosso in fuga è una risposta prodotta dalla attivazione di una cellula neuronale gigante (di Mauthner) sulla quale convergono attraverso sinapsi elettriche numerosi segnali sensoriali.

Figura 18 – Sinapsi chimica. Sopra, micrografia elettronica che mostra la terminazione, ricca di vescicole, e le specializzazioni presinaptica (zona attiva) e postsinaptica. Sotto, schema della successione di eventi durante la trasmissione sinaptica:
1) potenziale d'azione presinaptico; 2) ingresso di calcio;
3) fusione esocitotica; 4) attivazione del recettore; 5) corrente postsinaptica e EPSP; 6) potenziale d'azione postsinaptico.

Nella sinapsi chimica, invece, l'arrivo del potenziale d'azione alla terminazione avvia un processo di secrezione, al quale segue la diffusione del neurotrasmettitore attraverso la fessura sinaptica, il legame con il recettore, che porta ad alterarne la conformazione in modo da produrre l'effetto (elettrico o biochimico) nella cellula postsinaptica. Per quanto questa serie di processi sia rapida, essa introduce un ritardo, dell'ordine di 1 ms per le sinapsi più rapide, tra l'arrivo del potenziale alla terminazione e l'avvio della risposta nella cellula postsinaptica.

Gradualità della trasmissione sinaptica - Un aspetto importante nella trasmissione sinaptica è la possibilità che il potenziale d'azione presinaptico dia luogo ad una variazione limitata del potenziale di membrana della cellula postsinaptica. In una sinapsi elettrica, questo può derivare dal fatto che la connessione elettrica presenti una resistenza notevole (poche giunzioni), con il risultato che il segnale risulta molto attenuato quando la attraversa. In una sinapsi chimica, peraltro, la risposta prodotta dal trasmettitore nella cellula postsinaptica consiste, come già accennato, in una alterazione del potenziale con caratteristiche elettrotoniche, che può restare localizzata e/o sommarsi ad altre risposte sinaptiche.

L'attivazione di una sinapsi, pertanto, tipicamente produce una attivazione *graduata* della cellula postsinaptica. I fattori che determinano l'ampiezza della risposta sono, nel caso della sinapsi elettrica, il numero e la conduttanza delle gap-junction, mentre nella sinapsi chimica la risposta dipende dalla quantità di neurotrasmettitore rilasciato e da numero e responsività dei recettori della cellula postsinaptica. Questo costituisce una situazione ottimale perché il neurone postsinaptico possa integrare ed elaborare in modo più o meno complesso vari segnali che giungono nei diversi istanti nei diversi punti della sua membrana.

Non va dimenticato, però, che sia sinapsi elettriche sia sinapsi chimiche possono anche comportarsi come relais, attivando immancabilmente la cellula postsinaptica in risposta al potenziale d'azione presinaptico. Nei vertebrati, questo si verifica tipicamente alla giunzione neuro-muscolare (o placca motrice), dove il neurone motorio fa sinapsi sulla fibra muscolare, ed è in grado di produrre un potenziale d'azione muscolare (e la conseguente scossa contrattile) in risposta ad ogni potenziale d'azione che raggiunge la terminazione nervosa. Questo avviene perché la terminazione motrice è in grado di rilasciare una quantità molto massiccia di neurotrasmettitore in risposta ad ogni potenziale d'azione.

Modulazione delle risposte sinaptiche - La conduttanza delle gap-junction non è immutabile, e di conseguenza la trasmissione di segnali attraverso una sinapsi elettrica può risultare modificata da diversi fattori che influenzano il grado di apertura dei canali formati dalle connessine, quali il pH intracellulare, il livello citosolico di Ca^{2+} , nucleotidi ciclici e neurotrasmettitori.

Ancora più rilevante è la possibilità di modulare l'efficienza della trasmissione alla sinapsi chimica. Qui, tutto il macchinario secretivo può essere influenzato, sia in termini di capacità di secrezione sia in termini cinetici (attivazione, affaticamento, recupero). Analogamente, il numero e la responsività dei recettori e dei sistemi biochimici postsinaptici possono essere modificati, dando luogo a risposte di diversa ampiezza – in diversi momenti funzionali – a parità di rilascio di neurotrasmettitore.

Quest'ultimo aspetto verrà ripreso in particolare e approfondito nel seguito.

La trasmissione sinaptica

Liberazione del neurotrasmettitore - Lo studio dettagliato degli aspetti cellulari e molecolari della secrezione di neurotrasmettitore è iniziato nella seconda metà del '900, con gli esperimenti di Bernard Katz, a Londra. Egli applicò nuove tecniche *elettrofisiologiche* per registrare segnali elettrici da singole cellule, impiegando *microelettrodi* intracellulari o per registrazione extracellulare focale, ottenuti da capillari di vetro tirati a caldo fino ad avere una punta di diametro $< 1 \mu\text{m}$ e riempiti di soluzione salina concentrata (per ridurre la resistenza elettrica). In particolare, registrò e descrisse la attività elettrica nella cellula muscolare, in prossimità del contatto con la terminazione nervosa ("giunzione neuromuscolare" o "placca motrice", *endplate* in inglese; si noti che il termine sinapsi è riservato a contatti tra cellule *nervose*, mentre per i contatti tra cellule sensoriali e neuroni, o tra neuroni e cellule effettrici, si usa il termine "giunzione").

La fibra muscolare presenta un potenziale di membrana di $-70/-100 \text{ mV}$, sul quale si sovrappongono piccole depolarizzazioni transitorie, registrabili solo alla placca. La stimolazione elettrica del nervo motorio produce nella cellula muscolare una depolarizzazione – definita "potenziale di placca" (EPP, end-plate potential) – che avvia il potenziale d'azione e la conseguente contrazione della fibra (Figura 19). La generazione del potenziale di placca in risposta alla stimolazione del nervo motore richiede la presenza di Ca^{2+} extracellulare. Se il nervo viene stimolato in presenza di ridotte concentrazioni di Ca^{2+} , l'ampiezza dell'EPP si riduce finché non scatena più il potenziale d'azione. Si osserva così che l'EPP ha un andamento temporale sovrapponibile alle occasionali, piccole ($< 1 \text{ mV}$) e transitorie deflessioni del potenziale di membrana che si osservano a riposo, e che Katz definì "potenziali di placca miniaturizzati" (mEPP). A concentrazioni molto basse di Ca^{2+} extracellulare (0,1-0,2 mM), spesso non c'è alcuna risposta elettrica postsinaptica; se c'è, ha ampiezza simile a quella di un mEPP. Questo comportamento suggerisce che il trasmettitore possa essere rilasciato solo in quantità che sono multipli interi di una quantità elementare, "*quanto*", e viene definito rilascio *quantale* di neurotrasmettitore (Figura 19). Un mEPP corrisponde alla attivazione di 1000-2000 recettori, indicando che un *quanto* è costituito da qualche migliaio di molecole di neurotrasmettitore.

a

2 mV
5 ms

b

La terminazione nervosa è ricchissima di piccole vescicole (circa 40 nm di diametro), dette appunto *vescicole sinaptiche*, che ricircolano attivamente durante attiva secrezione di trasmettitore, sono dotate di sistemi di trasporto per accumulare il neurotrasmettitore ed in grado di contenere un numero di molecole di trasmettitore coerente con l'ampiezza del mEPP. Interferendo con il ricircolo delle vescicole, i quanti rilasciati e il numero di vescicole perse dalla terminazione sono in accordo, e durante intensa secrezione è possibile evidenziare sulla membrana presinaptica il segno della fusione esocitotica di vescicole sinaptiche.

Tutte queste osservazioni, accumulate nella seconda metà del Novecento, hanno portato alla concezione oggi concordemente accettata che il rilascio quantale di neurotrasmettitore è basato sul processo di esocitosi delle vescicole sinaptiche.

Figura 19. - Registrosioni elettrofisiologiche alla giunzione neuromuscolare a riposo (a). Si osservano piccole depolarizzazioni, i potenziali di placca miniaturizzati (MEPP, miniature end-plate potential), che avvengono spontaneamente. Se la terminazione nervosa è stimolata elettricamente in basso calcio e si sovrappongono registrosioni successive (b) si osservano dopo l'artefatto dello stimolo risposte evocate (EPP) che hanno la stessa forma dei MEPP e ampiezza che tende ad essere un multiplo intero dell'ampiezza del MEPP.

Il ricircolo delle vescicole sinaptiche - *Esocitosi* è definito il processo grazie al quale il contenuto di una vescicola, o granulo o vacuolo, viene liberato all'esterno attraverso la fusione della membrana dell'organulo con il plasmalemma. Questo è il meccanismo di base comune a tutti i processi di liberazione di prodotti di secrezione da parte delle cellule eucariotiche, che possono avvenire in modo spontaneo e continuo (costitutivo) o in modo regolato, in risposta a specifici eventi biochimici o bioelettrici.

Figura 20 – Immagini al microscopio elettronico della fusione (freccie) di vescicole sinaptiche alla giunzione neuromuscolare di rana, durante intensa secrezione di ACh. Nello spazio extracellulare è presente un tracciante elettrondenso, che penetra nella vescicola durante la fusione e può restarvi intrappolato quando la vescicola ricircola. Calibrazione: 0,25 μ m. (Da Ceccarelli e coll., J. Cell Biol. 54, 30-38, 1972).

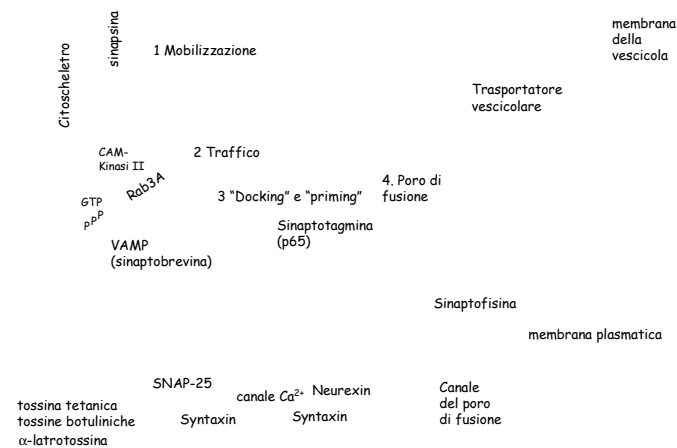


Figura 21 – Schema che illustra le varie proteine della membrana della vescicola e quelle della membrana presinaptica implicate nella fusione esocitotica.

creazione (1-10% del totale) si accumulano presso ispessimenti della membrana presinaptica, detti zone attive, dove le vescicole possono ancorarsi specificamente ed attraverso una complessa serie di interazioni proteiche prepararsi alla fusione, che potrà verificarsi spontaneamente (dando luogo ad un potenziale postsinaptico miniaturizzato) o a seguito dell'ingresso di Ca^{2+} prodotto dall'arrivo del potenziale d'azione. All'indirizzamento verso le zone attive contribuisce la proteina G monomerica *Rab3*, che è associata alla vescicola e quando riconosce una controparte specifica sulla membrana presinaptica (la proteina *Rim*) idrolizza il GTP e si dissocia dalla vescicola che va incontro ad esocitosi.

- *La membrana presinaptica presenta complesse specializzazioni localizzate dette zone attive*, dove sono concentrate numerose proteine specifiche: *Rim* che, riconoscendo *Rab*, media il "docking" alla membrana presinaptica, varie proteine *Munc* (così

Fig 22 – Il controllo del ciclo delle vescicole sinaptiche. Le vescicole di riserva sono legate al citoscheletro. La fosforilazione della sinapsina (S) determina la liberazione della vescicola (1) che, grazie a proteine come *Rab-3* (R) viene guidata alla membrana presinaptica. Il distacco di *Rab-3* permette la fusione della vescicola (2), che in seguito viene riciclata (3) e può nuovamente legarsi a sinapsina e *Rab-3* (4) ed eventualmente ritornare nel pool di riserva. (Da Giovedi e coll., J. Biol. Chem., 279:43769-79, 2004).

La secrezione di neurotrasmettitore da parte delle vescicole sinaptiche presenta alcune caratteristiche specifiche che la distinguono dalle altre forme di secrezione regolata: l'esocitosi è quasi istantanea (< 1 ms) e precisamente localizzata. Ciò è reso possibile da una sofisticata specializzazione biochimica e strutturale, che verrà brevemente discussa qui di seguito.

- *La membrana della vescicola sinaptica contiene numerose proteine specifiche*: proteine che ne regolano l'interazione con il citoscheletro del terminale (sinapsine); trasportatori di membrana come l'ATPasi protonica che crea un gradiente di pH e i neurotrasportatori vescicolari, incaricati di accumulare il neurotrasmettitore scambiandolo con i protoni; proteine come sinaptotagmina e la G-proteina monomerica *Rab3*, che guidano la vescicola nel suo percorso verso i siti di esocitosi (zone attive); proteine sensibili al Ca^{2+} (sinaptotagmina); proteine che partecipano al processo di fusione (sinaptobrevina) e alla formazione del poro di fusione (sinaptofisina); proteinchinasi come calcio-calmodulina chinasi II (CaM-K-II); e altre proteine specifiche che permettono il riconoscimento e la ricaptazione selettiva della porzione di membrana corrispondente alla vescicola sinaptica, dopo la fusione esocitotica.

Le interazioni di queste proteine vescicolari tra loro, con fattori citosolici e con specifici partner presenti sulla membrana presinaptica sono fondamentali per la sequenzialità, la precisione e l'efficienza del processo di rilascio di neurotrasmettitore.

- *Il traffico delle vescicole sinaptiche è finemente regolato*. Buona parte delle vescicole è legata al citoscheletro, che nella terminazione è formato principalmente da actina e spectrina, e costituisce un *pool* (popolazione di vescicole) di riserva; a trattenere queste vescicole è la sinapsina, fosfoproteina che si lega sia all'actina che alla membrana vescicolare, ed a seguito di fosforilazione (in particolare da parte di CaM-K-II cui è legata) libera la vescicola, rendendola disponibile per la secrezione. Guidate dal citoscheletro, le vescicole disponibili per la se-

dette perché omologhi umani [Man] di geni *Unc*, che se alterati producono scoordinazione motoria – *unc*ordinated – nel *C. elegans*). Oltre a queste proteine che permettono l'ancoraggio della vescicola e regolano la sua interazione con la membrana, sono presenti in gran numero canali per il Ca^{2+} voltaggio dipendenti; questo permette la rapidissima risposta secretiva quando il potenziale d'azione produce influsso localizzato di ioni Ca^{2+} .

- *L'interazione tra la vescicola e la membrana è guidata da un complesso macchinario biochimico* che prepara la vescicola alla fusione.

In aggiunta alle proteine di riconoscimento e ancoraggio, un gruppo di proteine, alcune di membrana ed altre solubili, porta le due membrane verso uno stato di *emifusione* semistabile, pronto a dar luogo istantaneamente alla apertura di un poro di fusione e all'esocitosi.

La maggior parte delle interazioni di membrana, nelle cellule eucariotiche, è regolata da sistemi proteici analoghi, spesso indicati con il termine "macchina di fusione". I componenti principali sono un fattore solubile con attività ATPasica (sensibile alla N-etil-maleimide, NEM, farmaco in grado di interferire pesantemente con il traffico intracellulare di membrane), detto *NSF* (NEM-Sensitive Factor), un gruppo di proteine solubili che legano NSF, indicate con l'acronimo *SNAP* (Soluble NSF Attachment Proteins) e proteine di membrana che agiscono come recettori per le SNAP (*SNAP-REceptors*, *SNARE*) sulle membrane delle vescicole (*v-SNARE*) o delle membrane bersaglio (target, *t-SNARE*).

Nelle terminazioni nervose, la principale *v-SNARE* è la sinaptobrevina (o *VAMP*) e le principali *t-SNARE*, sulla membrana presinaptica, sono *syntaxina* e *SNAP25* (l'acronimo indica *Synaptosome-Associated Protein*, e non ha a che fare con la famiglia delle SNAP citata più sopra); queste tre proteine sono substrati dell'azione proteolitica delle tossine clostridiche (tossina del tetano e tossine botuliniche), che per questo motivo sono potenti inibitori della trasmissione sinaptica.

In seguito all'ancoraggio delle vescicole alla membrana presinaptica, le proteine *SNARE* della vescicola e della membrana presinaptica interagiscono come una cerniera lampo (Figura) fino a portare la membrana presinaptica e vescicolare in strettissimo contatto, eliminando l'alone di idratazione delle membrane ed esponendone i nuclei idrofobici (emifusione). Il sistema è trattenuto in questo stato metastabile da varie interazioni proteiche. In questo senso, un ruolo importante è svolto da *sinaptotagmina*, la cui conformazione cambia rapidamente non appena viene esposta agli ioni Ca^{2+} che penetrano attraverso i canali voltaggio-dipendenti, attivati dall'arrivo del potenziale d'azione. Questo permette l'istante passaggio dall'emifusione alla fusione vera e propria, con conseguente liberazione di neurotrasmettitore. Il ruolo dell'*NSF*, reclutato dalle SNAP in questo complesso, appare essere quello di permettere, grazie all'idrolisi dell'ATP, la scissione del complesso delle *SNARE* – quando la fusione è avvenuta e tutti i suoi componenti sono in forma *cis*, ovvero sulla stessa membrana; questo permette di separare i componenti vescicolari e del plasmalemma, per riutilizzarli in futuri eventi di fusione.

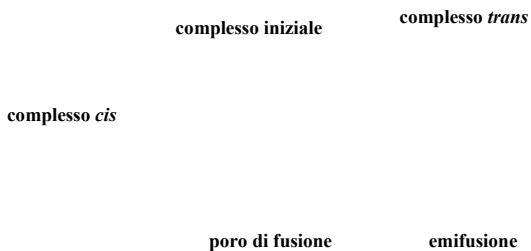


Fig. 23. – La macchina di fusione. Le *SNARE* della vescicola (*v-SNARE*) e della membrana (*t-SNARE*) interagiscono (il complesso tra le due proteine su due membrane distinte è detto *trans*) e come una cerniera lampo portano le due membrane a contatto (emifusione). L'ingresso di calcio-ioni permette la fusione e il rilascio di neurotrasmettitore. Il complesso *cis* risultante va ora disassemblato attivamente grazie all'azione ATPasica di *NSF* prima della separazione delle membrane nella ricostituzione endocitotica della vescicola.

- *l'ingresso di Ca^{2+} è estremamente localizzato*, in quanto i canali calcio sono concentrati alla zona attiva, e questo permette di ottenere concentrazioni locali effettive di calcio elevatissime, in corrispondenza del complesso di fusione, anche a seguito di un influsso complessivo di Ca^{2+} tale da non cambiare significativamente il livello citosolico medio.
- *il trasmettitore viene rilasciato non appena si forma il poro di fusione* il quale – come un canale ionico – si apre in tempi molto brevi – sulla scala dei microsecondi – e può analogamente richiudersi in tempi altrettanto brevi; in alternativa, può aver luogo una vera e propria fusione dei fosfolipidi delle due membrane con il conseguente collasso della vescicola nella membrana presinaptica ed il rimescolamento dei rispettivi componenti. Nel primo caso la vescicola ricostituisce rapidamente la sua integrità dopo la fusione: eso- ed endocitosi si susseguono come due tappe di un unico processo, cui ci si riferisce con il termine *kiss-and-run*. Nel secondo caso, in analogia con la maggior parte dei processi esocitotici, la vescicola, rilasciando il suo contenuto e collassando nel plasmalemma, richiede sofisticati meccanismi molecolari di endocitosi selettiva per isolare i componenti specifici della membrana vescicolare e quindi invaginare la porzione di membrana corrispondente fino a riformare una vescicola (le *adattine* selezionano i componenti specifici della membrana vescicolare e favoriscono la polimerizzazione di un rivestimento di *clatrina*, capace di creare la curvatura di membrana necessaria per l'endocitosi). Le due vie di eso-endocitosi appaiono operare en-

trambe nel terminale nervoso; in entrambi i casi l'endocitosi richiede l'intervento della proteina *dinamina*, che polimerizza a formare un anello intorno al collo della vescicola e ne determina il distacco. Ancora non è del tutto chiaro quali siano i fattori che determinano la scelta tra i due possibili destini della vescicola; è stato suggerito che il perfetto assemblaggio della macchina di fusione sia importante per permettere il rilascio di trasmettitore attraverso un poro di fusione transitorio, evitando così il costo energetico del collasso e successiva ricostituzione della vescicola.

Le vescicole sinaptiche che hanno liberato il proprio contenuto vengono riciclate e riutilizzate ripetutamente. Questo risulta particolarmente importante in terminazioni nelle quali il potenziale d'azione produce il rilascio di un alto numero di vescicole, come alla giunzione neuromuscolare: qui ciascun potenziale d'azione induce l'esocitosi di circa l'1 per mille del contenuto totale delle vescicole; in assenza di ricircolo, una stimolazione intensa, ma fisiologica, a 100-200 Hz, produrrebbe deplezione totale del terminale in pochi secondi e la trasmissione sinaptica risulterebbe bloccata. Il recupero della membrana della vescicola sinaptica è estremamente preciso, e anche a seguito di intensa stimolazione non si osservano antigeni specifici delle vescicole esposti sulla membrana plasmatica.

Il ciclo del neurotrasmettitore – La trasmissione intercellulare attraverso un meccanismo chimico richiede la sintesi del trasmettitore, il suo immagazzinamento all'interno di organelli specializzati, e la capacità di secernere rapidamente e di ricostituire efficientemente la riserva di trasmettitore e vescicole. Tutto ciò dovrebbe essere svolto per quanto possibile localmente – nella terminazione stessa – senza richiedere sintesi proteica e produzione di membrane, che possono avvenire solo nel corpo cellulare, talora lontano decine di centimetri dalla terminazione, e trasporto lungo l'assone. Queste esigenze sono particolarmente pressanti per le sinapsi coinvolte nella elaborazione in tempo reale della informazione, che devono permettere una trasmissione molto rapida dei segnali e poter far fronte a fasi di attività molto intensa; in questo tipo di sinapsi vengono impiegati come trasmettitori piccole molecole organiche (amminoacidi e ammine derivate da amminoacidi o dalla colina), dette *neurotrasmettitori classici*, che possono essere facilmente sintetizzate localmente, accumulate efficacemente da sistemi di trasporto proteici all'interno di vescicole sinaptiche e anche ricaptate dopo la secrezione attraverso trasportatori espressi sulla membrana della terminazione. Diversa è la situazione per i neuroni che impiegano come trasmettitori sostanze peptidiche, che tipicamente vengono sintetizzate a livello perinucleare e immagazzinate in granuli secretivi poi trasportati alla terminazione. In realtà, molti sistemi neuronali impiegano sia neurotrasmettitori classici sia neurotrasmettitori peptidici; in questo caso, la secrezione può essere regolata in modo differenziale, attraverso vescicole sinaptiche, che liberano trasmettitori classici in risposta all'aumento localizzato di Ca^{2+} prodotto alla zona attiva dal potenziale d'azione, e attraverso granuli secretivi, che liberano peptidi in risposta ad elevazioni più blande e diffuse del livello citosolico di Ca^{2+} .

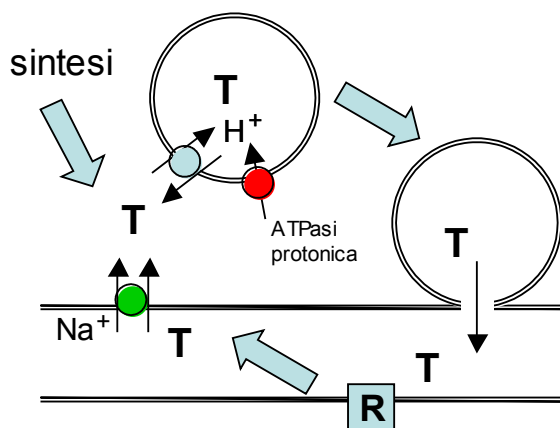


Figura 24. – le tappe del ciclo del trasmettitore: in genere il trasmettitore può essere sintetizzato localmente nella terminazione; viene caricato nella vescicola grazie a scambio con protoni; rilasciato all'arrivo del potenziale d'azione, interagisce con il recettore e viene ricaptato da cotrasportatori di membrana per essere riutilizzato.

essere efficacemente ricaptato dalle cellule gliali circostanti o dalla stessa terminazione nervosa. La ricaptazione viene operata da *neurotrasportatori di membrana*, che sfruttano essenzialmente il gradiente elettrochimico del Na^+ per spostare il trasmettitore contro un rapporto di concentrazione che può arrivare a 1:1000.

Questi trasportatori si distinguono in due famiglie fondamentali:

- trasportatori degli amminoacidi eccitatori (EAAT), Na^+ dipendenti, caratterizzati da 6-10 tratti di attraversamento della membrana; si riconoscono vari sottotipi, incaricati del trasporto del glutammato nei neuroni (EAAT3 e in alcune regioni EAAT4 e 5) ed in cellule gliali e non neuronali (EAAT1 e 2)

La sintesi dei vari trasmettitori classici segue strade diverse, partendo da aminoacidi o acidi organici molto abbondanti nell'organismo, e verrà brevemente discussa più avanti, nella parte dedicata ad ognuno di essi. Le modalità di immagazzinamento nella vescicola e di ricaptazione dopo il rilascio, peraltro, presentano molti tratti in comune. Le vescicole sinaptiche presentano tutte sulla membrana ATPasi protoniche che, accumulando idrogenioni nel lume vescicolare, determinano una differenza di pH e di potenziale elettrico, tra interno ed esterno della vescicola, che esercita una grande forza elettrochimica sui protoni, spingendoli dal lume verso il citosol. Questa spinta è sfruttata da scambiatori di membrana (*neurotrasportatori vescicolari*) che caricano il neurotrasmettitore nella vescicola in cambio di protoni. Una volta liberato nel vallo sinaptico, il neurotrasmettitore interagisce con il recettore, ma il segnale si spegne rapidamente per tre motivi: il trasmettitore può venire attivamente degradato (questo è il caso dell'acetilcolina, rapidamente idrolizzata, in meno di un msec, dall'acetilcolinesterasi, presente in grande concentrazione nella membrana basale che separa i versanti pre e postsinaptico); può diffondere via dallo spazio sinaptico; può

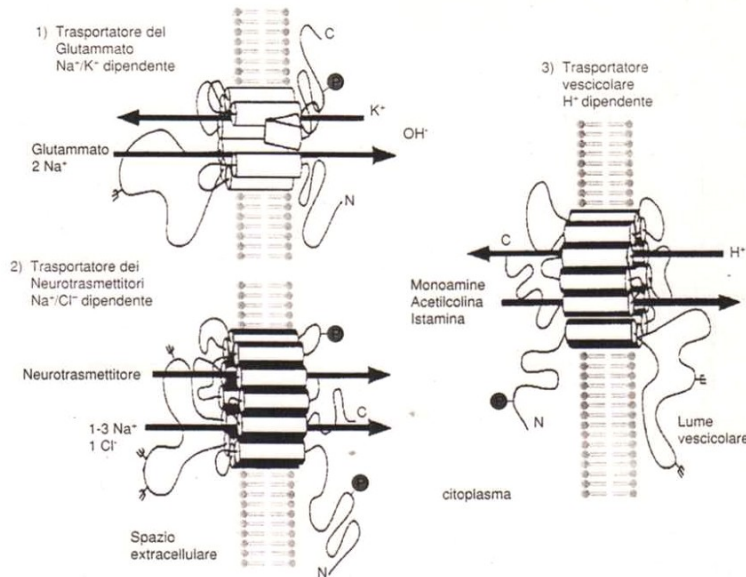


Figura 25 – I neurotrasportatori. I sistemi di ricaptazione dei trasmettitori sulla membrana plasmatica utilizzano principalmente il gradiente elettrochimico del Na⁺ come fonte di energia. Quelli vescicolari invece utilizzano il gradiente di protoni creato dalle pompe protoniche vescicolari attraverso la membrana delle vescicole sinaptiche.

- trasportatori Na⁺/Cl⁻ dipendenti, con 12 presumibili regioni di attraversamento della membrana e simili tra loro, ma specifici per i vari neurotrasmettitori: il trasportatore delle catecolamine (noradrenalina, adrenalina), NET, e della dopamina, DAT – bersagli di farmaci e droghe come cocaina e antidepressivi; il trasportatore della serotonina, SERT, bloccato dagli antidepressivi più recenti, del GABA, GAT, della colina (che non è un trasmettitore ma risulta dalla rapida idrolisi dell'acetilcolina nel vallo sinaptico, da parte della colinesterasi).

I neurotrasportatori sono presenti in grande quantità sulla terminazione nervosa e anche sulle cellule gliali circostanti, e legano rapidamente il neurotrasmettitore, cosicché la sua azione spesso viene terminata prima ancora che sia ricaptato. La cellula gliale può spesso degradare parzialmente il trasmettitore e restituirne un precursore (ad esempio glutammina per GABA e glutammato) al neurone, riducendo così il carico metabolico per la sintesi locale del neurotrasmettitore.

I NEUROTRASMETTITORI

Come abbiamo visto la sinapsi chimica funziona grazie alla secrezione, da parte della terminazione nervosa, di molecole in grado di legare specifici recettori sulla membrana postsinaptica. Tali molecole vengono genericamente definite neurotrasmettitori.

Il primo neurotrasmettitore ad essere individuato fu l'acetilcolina (Figura 27). Si tratta di una piccola ammina quaternaria, usata come trasmettitore nel sistema nervoso centrale (SNC), nel sistema nervoso vegetativo e alla giunzione neuromuscolare. Nel sistema vegetativo, i neuroni che proiettano sugli organi bersaglio sono fuori dal SNC, raccolti in gangli; la trasmissione sinaptica a livello del ganglio impiega acetilcolina, che è pure il mediatore della sezione *parasimpatica* del sistema vegetativo. Proprio il ruolo dell'acetilcolina nel sistema vegetativo è la caratteristica che ne ha portato al riconoscimento: infatti, essa è il mediatore liberato dal nervo vago, che produce sul cuore un importante effetto di rallentamento della frequenza. Stimolando il nervo vago in un cuore di rana isolato, nel 1921 Otto Loewi dimostrò che non solo il cuore rallentava il battito, ma se il liquido di perfusione veniva applicato al cuore di un'altra rana anch'esso veniva rallentato (Figura 26): questo indicava che il vago agisce sul cuore liberando una qualche sostanza chimica – Loewi la chiamò “vagus-stuff”, ora sappiamo che è l'acetilcolina.

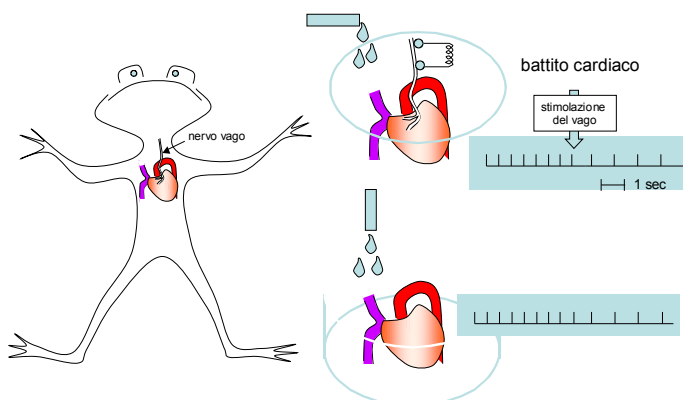


Figura 26. L'esperimento di Otto Loewi: la stimolazione del nervo vago rallenta il battito del cuore di rana isolato (in alto). Se il liquido che bagna il cuore così stimolato si usa per perfondere un altro cuore isolato, anche questo viene rallentato, dimostrando che il vago ha agito rilasciando una sostanza chimica: l'acetilcolina.

Gli studi di Dale negli stessi anni dimostrarono il ruolo delle catecolamine (adrenalina e noradrenalina) nella trasmissione sinaptica, specialmente nel sistema nervoso autonomo (ortosimpatico). Nei decenni successivi, si sono via via precisati i criteri di riconoscimento di un neurotrasmettitore, e per una serie di altre molecole è stato riconosciuto un ruolo in questo senso:

- un neurotrasmettitore deve essere sintetizzato nel neurone presinaptico, che deve possedere il corredo enzimatico necessario alla sua sintesi.
- il neurotrasmettitore deve essere liberato in risposta alla attività elettrica, produrre una risposta postsinaptica e poter essere isolato
- deve essere in grado di produrre una la stessa risposta postsinaptica quando applicato dall'esterno
- la sua azione deve essere bloccata da farmaci che ne bloccano il recettore o interferiscono con la sua sintesi

- si devono riconoscere proteine deputate alla degradazione e/o trasporto attivo del neurotrasmettitore, nelle cellule neuronali o gliali

I primi neurotrasmettitori identificati, acetilcolina e catecolamine, sono ammine relativamente piccole. Successivamente è stato riconosciuto il ruolo come neurotrasmettitori di altre ammine (istamina, serotonina) e amminoacidi come il GABA (acido gamma-aminobutirrico), la glicina e il glutammato. Tutte queste piccole molecole (ammine e amminoacidi) vengono indicate come neurotrasmettitori *classici*.

Nella seconda metà del Novecento è emerso con chiarezza che molte altre molecole, principalmente peptidi, ma anche molecole lipidiche, sono impiegate da neuroni per comunicare a livello sinaptico, anche se spesso il loro ruolo è un po' diverso da quello dei trasmettitori classici. Verranno pertanto discussi separatamente, come *neuropeptidi* e *neuromodulatori*.

Neurotrasmettitori classici

I neurotrasmettitori classici sono piccole ammine e amminoacidi, accumulati in piccole vescicole chiare (vescicole sinaptiche, circa 40 nm di diametro) nella terminazione nervosa, e liberati con grande prontezza (< 1ms) in risposta all'arrivo del potenziale d'azione.

L'acetilcolina (ACh) - è una ammina quaternaria, sintetizzata a partire da colina e acetilcoenzima A, grazie all'attività dell'enzima colinaacetiltransferasi (CAT), espresso da tutti i neuroni colinergici (Figura 26). L'ACh è il neurotrasmettitore impiegato dalle terminazioni motrici, alla giunzione neuromuscolare; è il principale trasmettitore nelle sinapsi gangliari del sistema nervoso autonomo (orto e parasimpatico) e nei neuroni postgangliari del sistema parasimpatico. E' inoltre il neurotrasmettitore di svariati circuiti del sistema nervoso centrale (SNC), molti dei quali implicati in attività cognitive superiori.

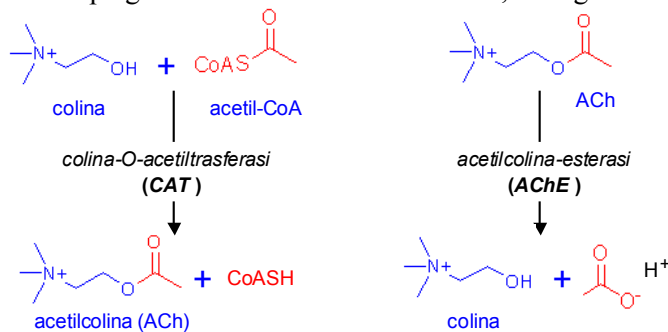


Figura 27. -Acetilcolina. La sintesi avviene nel citoplasma della terminazione: l'attività della CAT è usata per riconoscere i neuroni colinergici e le loro terminazioni. L'AChE è presente in grande concentrazione legata alla membrana basale nella fessura sinaptica e inattiva l'ACh in meno di un ms, idroizzandola ad acetato e colina. Quest'ultima viene ricaptata da cotrasportatori di membrana guidati dal Na⁺.

L'ACh viene immagazzinata nelle vescicole sinaptiche grazie alla attività di un trasportatore specifico (che la scambia con protoni); a seguito del rilascio nella fessura sinaptica viene rapidamente degradata in acetato e colina da parte dell'enzima acetilcolinesterasi (AChE), prodotto sia dai neuroni colinergici sia dalle cellule bersaglio, e particolarmente concentrato a livello della membrana basale sinaptica. L'azione dell'ACh viene così terminata in meno di un ms. La colina viene quindi ricaptata dal terminale grazie alla presenza di specifici sistemi di trasporto.

Le catecolamine - sono ammine aromatiche derivate dalla ossidazione della tirosina a di-idrossifenilalanina (DOPA), e dalla successiva decarbossilazione a *dopamina*. La successiva aggiunta di un ossidrile e di un gruppo metilico dà luogo alla produzione di *noradrenalina (NA)* e *adrenalina* (Figura 28). Le prime reazioni sono guidate da enzimi (tirosina-idrossilasi, DOPA-decarbossilasi) presenti in tutti i neuroni catecolaminergici. La dopamina viene attivamente concentrata in vescicole o granuli sinaptici; nei neuroni noradrenergici e adrenergici essa viene trasformata in noradrenalina dalla dopamina-β-idrossilasi (DBH) contenuta nelle vescicole; nei neuroni adrenergici, infine, la NA può lasciare

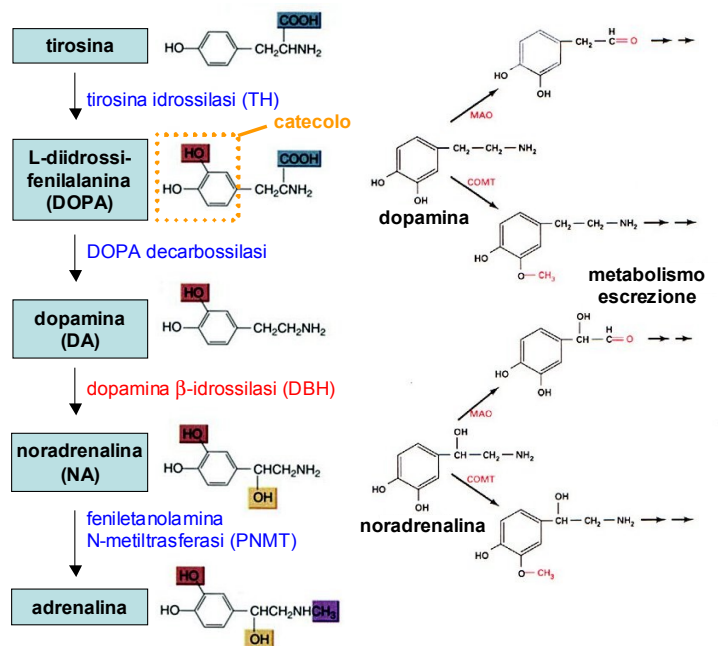


Figura 28 – sintesi e metabolismo delle catecolamine. Le reazioni che avvengono nel citoplasma sono indicate in blu, mentre la reazione in rosso, guidata dalla DBH, avviene nella vescicola. Il gruppo catecolo è evidenziato in arancio. Sulla destra sono mostrate le modificazioni prodotte dalla monoamino-ossidasi (MAO) e dalla catecolo-O-metiltransferasi COMT su dopamina e noradrenalina. Entrambe le reazioni inattivano le catecolamine.

la vescicola e nel citoplasma essere trasformata, dalla feniletanolamina-N-metiltransferasi, in adrenalina, che viene nuovamente accumulata in granuli e vescicole.

Le catecolamine sono degradate da due sistemi enzimatici (monoamino-ossidasi, MAO, e catecoloossimetiltransferasi, COMT; Figura) ma la loro azione a livello sinaptico è principalmente terminata dalla ricaptazione, da parte di sistemi di trasporto specifici per la dopamina (DAT) o per adrenalina e NA.

La NA è il neurotrasmettitore dei neuroni postgangliari del sistema ortosimpatico. L'adrenalina è prodotta e liberata dalla midollare del surrene in risposta alla attivazione diffusa del sistema ortosimpatico (le cellule della midollare surrenale sono per molti versi analoghe a neuroni postgangliari ortosimpatici).

Dopamina, noradrenalina e adrenalina sono inoltre importantissimi neurotrasmettitori nel sistema nervoso centrale: sono responsabili dello stato diffuso di attivazione della corteccia da parte dei neuroni adrenergici e noradrenergici del tronco encefalico (se viene a mancare questa attività, a seguito di un trauma o altre cause patologiche, si produce il coma); sono implicate nella regolazione centrale del sistema nervoso autonomo; la dopamina, inoltre, è il principale neurotrasmettitore dei gruppi neuronali del mesencefalo: la substantia nigra, che proietta ai gangli della base ed è implicata nella regolazione dei movimenti, e l'area ventro-tegmentale, che proietta alle regioni limbiche (implicate nella valutazione emotiva: l'attività di questo sistema dopaminergico è centrale nei meccanismi neuronali della gratificazione) e alla corteccia frontale (implicata nella motivazione e programmazione del comportamento). Squilibri tra questi due sistemi – mesolimbico e mesocorticale – appaiono essere alla base della schizofrenia.

La serotonina (5-HT) - è l'ammina, 5-idrossitriptamina, derivata dalla idrossilazione e decarbossilazione dell'amminoacido triptofano (Figura 29). E' presente nelle piastrine (non come neurotrasmettitore, ovviamente) ed ha una importante azione sul tono della muscolatura liscia vascolare (da cui il suo nome) e intestinale; svolge le sue principali funzioni di trasmettitore nel sistema nervoso centrale; i neuroni serotoninergici sono la popolazione principale nel rafe mediano nel midollo allungato e sono implicati nel controllo del ritmo sonno-veglia, del tono dell'umore, dell'aggressività. Le proiezioni serotonergiche alle regioni limbiche hanno azione ansiogena e depressogena; quelle alle aree associative sensoriali regolano l'elaborazione degli input sensoriali e il connesso giudizio di realtà; inoltre i neuroni serotoninergici sono controllati in modo autoinibitorio dalla 5-HT. Di conseguenza i livelli e le fluttuazioni della serotonina, e i farmaci attivi sui suoi recettori e trasportatori, possono interferire con il tono dell'umore (agonisti 5-HT_{1A} e bloccanti della ricaptazione, con azione antidepressiva), avere azioni allucinogene e psicotogene (es. acido lisergico, LSD, e ecstasi), o viceversa ansiolitiche o antipsicotiche.

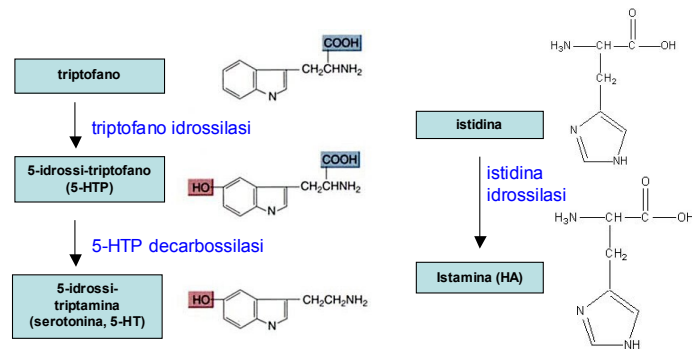


Figura 29. – Serotonina e Istamina.

L'istamina (HA) - è derivata dalla decarbossilazione dell'amminoacido istidina (Figura 29). Come la serotonina ha importanti ruoli fisiologici fuori dalle cellule nervose. Essa è infatti contenuta nei granulociti basofili circolanti e nei loro analoghi tissutali, i mastociti, ed è implicata nella reazione infiammatoria e allergica. E' però anche un importante neurotrasmettitore, principalmente nel SNC, dove svolge un ruolo di attivazione diffusa; i neuroni istaminergici del nucleo tuberomammillare dell'ipotalamo contribuiscono a mantenere i neuroni del talamo, che controllano gli input sensoriali alla corteccia, in condizioni di trasmissione, preservando lo stato di veglia. Il blocco di recettori dell'HA, di conseguenza, produce inevitabilmente sonnolenza.

Il glutammato - è il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel SNC. E' un amminoacido, sintetizzato a partire dall'α-chetoglutarato, un intermedio del metabolismo del glucosio nel ciclo di Krebs, attraverso transaminazione (Figura 30). Dopo la sua secrezione, la sua azione viene terminata dalla ricaptazione da parte di specifici sistemi di trasporto espressi sia dalla cellula neuronale che dalle cellule gliali circostanti; il glutammato ricaptato dalla glia viene convertito in glutamina, che, priva di azione sui recettori del glutammato, può venir restituita al neurone, il quale a sua volta la riconverte in glutammato. Il glutammato non solo produce depolarizzazione della cellula postsinaptica, ma in

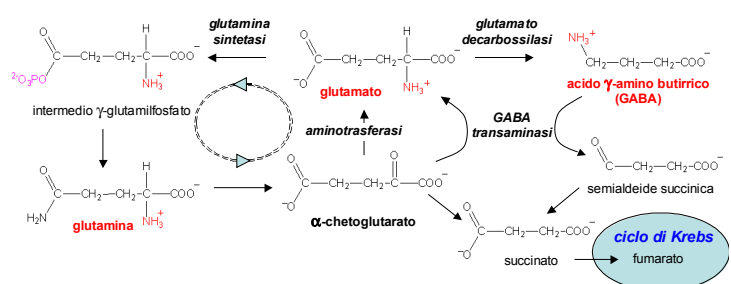


Figura 30. – Il ciclo biosintetico di glutammato (Glu) e GABA. Il Glu, sintetizzato dall'alfa-chetoglutarato, può essere degradato dalle cellule gliali che lo ricaptano e trasformato in glutamina; questa viene restituita al neurone che ne può ricostituire glutammato. Si noti che lo stesso enzima – la GABA transaminasi – permette la sintesi di Glu e di conseguenza di GABA, ed è responsabile della degradazione di quest'ultimo.

determinate condizioni – come verrà meglio illustrato nel seguito – può produrre marcate elevazioni del Ca^{2+} citosolico. Se persiste a lungo, tale condizione può avviare risposte cellulari che, attivando la cascata delle caspasi, innescano il processo di apoptosi e morte cellulare. Questo fenomeno è alla base della perdita di neuroni in seguito a ischemia cerebrale e in alcune patologie neurodegenerative, come la sclerosi laterale amiotrofica (SLA).

Il GABA - o acido gamma-aminobutirrico è il principale neurotrasmettitore inibitorio nel SNC. Esso deriva dal glutammato per decarbossilazione da parte della *acido glutammico decarbossilasi* (GAD). L'enzima α -chetoglutarato-transaminasi, che ne permette la sintesi attraverso il glutammato, è anche detto GABA-transaminasi perché riconosce il GABA stesso come substrato e ne determina la degradazione a semialdeide succinica (Figura 30). La maggior parte dei neuroni GABAergici sono interposti in circuiti locali (*interneuroni*) e possono dare sinapsi sui neuroni bersaglio a livello dendritico, dove agiscono come segnale inibitorio nella elaborazione sinaptica, oppure sul corpo cellulare, dove possono inibire la generazione di potenziali d'azione, o a livello delle terminazioni stesse (sinapsi assoniche), dove inibiscono il rilascio di neurotrasmettitore (inibizione presinaptica).

La glicina - è il principale neurotrasmettitore inibitorio a livello del midollo allungato e spinale. In molti neuroni appare coesistere con il GABA ed essere sintetizzata immagazzinata e secreta in modo coordinato con quest'ultimo.

L'ATP, adenosin-trifosfato - oltre a svolgere l'importante ruolo cellulare di riserva energetica, grazie al legame ad alta energia che lo caratterizza, questa molecola è immagazzinata e secreta da molti neuroni, spesso insieme ad altri neurotrasmettitori, e riconosce specifici recettori neuronali. È utilizzato come neurotrasmettitore eccitatorio rapido in alcune regioni del SNC e in particolare nelle lamine posteriori (regioni di elaborazione sensoriale) del midollo spinale; viene rapidamente degradato (ad ADP, AMP e adenosina) e i suoi metaboliti possono a loro volta attivare recettori specifici.

Neuropeptidi e neuromodulatori

Le caratteristiche metaboliche dei neurotrasmettitori classici (facilità di sintesi locale, rapida degradazione, efficiente ricaptazione e immagazzinamento in vescicole) li rendono particolarmente adatti per la trasmissione ed elaborazione sinaptica di segnali rapidi. Come discusso più avanti, essi possono anche essere usati per influenzare su scale temporali più lunghe il comportamento del neurone postsinaptico, o per modularne le risposte ai segnali rapidi.

Per produrre questo secondo tipo di azioni, i neuroni impiegano però anche svariate altre sostanze, di natura peptidica (*neuropeptidi*) ed in alcuni casi lipidica (*endocannabinoidi*).

I neuropeptidi possono essere sintetizzati solo a livello del corpo cellulare, in genere in forma di pro-ormoni da cui viene distaccato il peptide attivo, accumulato in granuli secretivi che vengono trasportati al terminale. La esocitosi dai granuli è regolata diversamente da quella delle vescicole – fondamentalmente dal livello diffuso di Ca^{2+} citosolico, non da elevazioni rapide localizzate – e non avviene necessariamente alla zona attiva; la loro azione risulta meno localizzata e può prolungarsi nel tempo, terminando solo grazie alla diffusione e ad una lenta degradazione enzimatica.

Sono ormai un centinaio le sostanze peptidiche cui è riconosciuto un ruolo di neurotrasmettitore, o più spesso e propriamente di neuromodulatore, nel sistema nervoso centrale e periferico. I più importanti e meglio studiati sono il gruppo dei peptidi ad attività morfina-simile, detti “oppiacei endogeni” (endorfine, dinorfine e enkefaline), la sostanza P, i neuropeptidi ipotalamici vasopressina e ossitocina, e il neuropeptide Y insieme ad una serie di altri peptidi coinvolti nel controllo dell'alimentazione.

Oppiacei endogeni - Gli oppiacei endogeni derivano da un precursore proteico (pro-opiomelanocortina, POMC) dal quale derivano anche la melatonina e l'ormone adreno-corticotropico (ACTH). Si distinguono peptidi a catena più lunga (31 AA), dette *endorfine*, peptidi di lunghezza intermedia (fino a 17 AA), o *dinorfine*, e due pentapeptidi, *enkefaline*. Sono detti oppiacei endogeni perché le loro azioni di inibizione sulle vie del dolore, e di sedazione e benessere sui centri superiori, sono riprodotte dai derivati dell'oppio (morfina).

Queste sostanze svolgono in generale azione inibitoria, per lo più presinaptica. In alcuni distretti, inibendo il rilascio di GABA da parte di interneuroni inibitori, gli oppiacei endogeni svolgono un ruolo di facilitazione, soprattutto su sistemi dopaminergici.

- Le *endorfine* (α , β e γ) sono prodotte a livello ipotalamico e ipofisario e svolgono una azione “ormonale” e non solo di trasmettitore locale; in condizioni di stress sono spesso rilasciate in modo coordinato all'ACTH. Hanno però un importante ruolo anche a livello sinaptico: la più diffusa e importante è la β -endorfina, che agisce principalmente a livello presinaptico come mediatore inibitorio su varie tappe delle vie del dolore, riducendo la secrezione di sostanza P da parte dei neuroni sensoriali sui neuroni del dolore nelle corna posteriori del midollo e modulando negativamente la trasmissione anche nelle stazioni successive delle vie del dolore (grigio periacquodottale, nucleo grande del rafe). I recettori delle endorfine sono detti recettori μ , benché esse possano attivare anche i recettori δ .

- Le dinorfine (A e B) sono gli oppiacei più potenti; sono particolarmente attivi sui recettori κ , e appaiono essere coinvolte nella modulazione del dolore, del comportamento alimentare e nel controllo cardiovascolare. Tra le dinorfine viene classificata anche la neo-endorfina, l'oppiaceo endogeno di più recente scoperta.
- Le enkefaline sono pentapeptidi di sequenza Tyr-Gly-Gly-Phe seguita da leucina (Leu-enkefalina) o metionina (met-enkefalina). Sono gli agonisti preferenziali dei recettori δ , pur attivando anche recettori μ . Sono gli oppiacei più ampiamente distribuiti nel SNC (ipotalamo, gangli della base, strutture limbiche, tronco encefalico, corna posteriori del midollo), oltre che nel sistema nervoso periferico, nella midollare surrenale e nei plessi nervosi del intestinali.

Gli oppiacei endogeni costituiscono il più importante sistema di modulazione del dolore, sia in termini di sensazione che di elaborazione cognitiva del dolore stesso. L'azione inibitoria sui recettori μ_1 presinaptici sulle terminazioni gabaergiche libera i sistemi dopaminergici dell'area ventro-tegmentale che alimentano il circuito della "ricompensa" (v. oltre); questo sta alla base dell'uso "ricreativo" e del potenziale d'abuso dei farmaci oppiacei (morfina, eroina). La pesante azione inibitoria sulla attività intestinale giustifica invece la marcata stipsi che si riscontra nei tossicodipendenti e le gravi coliche intestinali che caratterizzano l'astinenza da oppiacei.

La sostanza P - è il mediatore, con il glutammato, dei neuroni sensoriali dolorifici (nocicettori), il cui corpo cellulare è nei gangli della radice dorsale (DRG); questi attivano i neuroni delle corna posteriori del midollo spinale, i quali danno origine alle vie ascendenti della sensibilità dolorifica, ma attivano anche interneuroni inibitori che rilasciano enkefaline (v. sopra) sulle terminazioni dei neuroni del DRG, inibendone l'attività

- molti ormoni isolati dall'apparato gastroenterico – come colecistochinina, VIP (peptide vasoattivo intestinale) e neuropeptide Y – sono stati riscontrati in neuroni, presentano recettori neuronali specifici e rispondono in generale ai criteri che permettono di definirli neurotrasmettitori

Vasopressina e ossitocina - Questi due ormoni peptidici sono liberati in circolo da neuroni magnicellulari dell'ipotalamo, e hanno importanti azioni sulla funzione renale nel controllo dell'acqua corporea (vasopressina) e sul controllo della attività uterina durante il parto e la secrezione mammaria (ossitocina). Essi sono però presenti anche in altri sistemi neuronali e sono da considerare neurotrasmettitori a tutti gli effetti.

Altri neuropeptidi - Per comprendere la complessità dei sistemi modulati da neuropeptidi basti pensare che in un piccolo nucleo ipotalamico, il nucleo arcuato, una sotto-popolazione di circa 3000 neuroni esprime ed utilizza almeno tre peptidi con azione anoressizzante (α -MSH, un "peptide galanino-simile" e il "trascritto regolato da cocaina e amfetamina" o CART), mentre altri neuroni nello stesso nucleo esprimono neuropeptide Y e peptide di Agouti (AGRP), che stimolano l'assunzione di cibo; sempre nello stesso nucleo sono presenti β -endorfina, dinorfine, enkefaline, galanina, grelina, fattore di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH), neurotensina, neuromedina U e somatostatina.

Molti neuropeptidi, alcuni rilasciati anche come ormoni dal sistema gastroenterico, sono coinvolti nel controllo del comportamento alimentare da parte dell'ipotalamo; neuroni che secernono neuropeptide Y, AGRP e GABA (nel nucleo arcuato) stimolano l'assunzione di cibo, e sono inibiti dalla leptina – un ormone prodotto dalle cellule adipose – e stimolati dalla grelina; neuroni che producono vari peptidi (CART e derivati dalla POMC) inibiscono invece l'assunzione di cibo e sono regolati da leptina, grelina e neuropeptide Y. Tra i neuropeptidi che interbengono sui meccanismi di regolazione dell'alimentazione va ricordata infine la colecistochinina (CCK), ormone simile alla gastrina e liberato da cellule duodenali, che stimola la secrezione pancreatica di enzimi digestivi e il rilascio di bile dalla colecisti, e che a livello cerebrale produce percezione di sazietà (un'azione simile è esercitata dal peptide PYY prodotto a livello intestinale).

Colocalizzazione - I peptidi neuroattivi sono in genere co-localizzati con altri neurotrasmettitori. Possono modulare l'attività di questi ultimi o agire in modo retroattivo sulla terminazione, o su altre terminazioni, modulando il rilascio di trasmettitori; possono infine avere azione trofica o comunque di influenza sui processi biochimici della cellule postsinaptica. In genere la loro azione è meno circoscritta, nello spazio e nel tempo, rispetto ai trasmettitori classici, in quanto non vengono altrettanto rapidamente degradati o ricaptati.

Un esempio tipico di colocalizzazione è la presenza di VIP (*vasoactive intestinal peptide*) e CGRP (*calcitonin gene related peptide*) in neuroni colinergici; entrambi agiscono su recettori accoppiati a G_s , e aumentano il livello di AMP ciclico nella cellula postsinaptica; si riscontrano sia nei motoneuroni spinali, sia in vari sistemi neuronali centrali; la colecistochinina (CCK) è espressa in neuroni gabaergici e dopaminergici, il neuropeptide Y è presente in neuroni gabaergici, adrenergici e noradrenergici; la sostanza P si trova associata a ACh e serotonina, le enkefaline a noradrenalina e serotonina.

Molti neuroni contengono più di un neuropeptide: nel nucleo sopraottico sono coespressi vasopressina, dinorfina e galanina, mentre l'ossitocina coesiste con enkefalina, dinorfina, CART e CCK.

Endocannabinoidi - Le azioni dei derivati della cannabis sul sistema nervoso (interferenze con l'attività motoria, alterazioni percettive, della memoria, dell'attenzione, dello stato affettivo, analgesia e benessere) sono note da molto tempo. Solo negli ultimi trent'anni è però stato chiarito quali sono i recettori specifici su cui esercitano le loro azioni, e che esistono sostanze endogene in grado di attivare tali recettori e svolgere importanti azioni di modulazione di varie funzioni, non solo nel SNC. Per due composti in particolare è stato accertato questo ruolo di autacoide e neuromodulatore: essi sono l'anandamide (arachidonil-etanolamide, AEA) e il 2-arachidonil-glicerolo (2AG). Entrambi vengono prodotti a partire da fosfolipidi di membrana, e sono sostanze decisamente lipidiche. Un ruolo di regolazione ormonale è noto da tempo per sostanze lipidiche derivate dall'acido arachidonico: le prostaglandine sono mediatori dell'infiammazione, capaci di stimolare le terminazioni dolorifiche e di produrre febbre agendo sui centri ipotalamici di controllo della temperatura, oltre a regolare il tono vascolare, vari aspetti della funzione renale e il tono bronchiale; il leucotrieni, anch'essi mediatori dell'infiammazione, sono importanti fattori chemiotattici, implicati nella componente cellulare della risposta immunitaria. La scoperta di veri e propri neuromodulatori lipidici ha però creato una prospettiva nuova, nel campo della neurobiologia, che contraddice l'assioma che i composti utilizzati per la comunicazione neuronale debbano essere idrosolubili, per essere immagazzinati in vescicole e secreti a comando a seguito della attività elettrica neuronale.

I derivati cannabinici – esogeni e endogeni – agiscono su due tipi di recettori: il recettore CB1 è principalmente localizzato nel sistema nervoso (pur essendo presente anche in polmone fegato e rene) mentre il recettore CB2 (presente nei neuroni soprattutto a livello di terminazioni periferiche) è principalmente espresso dai linfociti T e implicato nella modulazione del sistema immunitario. I cannabinici hanno azioni cellulari simili a quelle degli oppiacei, essenzialmente inibitorie, sia a livello presinaptico (riduzione del rilascio di trasmettitori) sia a livello postsinaptico (iperpolarizzazione, riduzione delle risposte elettriche e di calcio). In molte regioni del SNC i recettori cannabinici sono coespressi con recettori per gli oppiacei, e gli agonisti cannabinici condividono molte delle azioni degli oppiacei: in particolare l'azione analgesica, e la attivazione delle vie della ricompensa, da cui deriva il potenziale d'abuso della cannabis. Coerentemente, alte concentrazioni di recettori cannabinici sono presenti nel sistema limbico. Le alterazioni dell'attività motoria e della memoria, prodotte dai derivati cannabinici, si possono ricondurre agli alti livelli di espressione di recettore nei nuclei della base, nel cervelletto, e nell'ippocampo.

Benché un trasportatore di membrana per gli endocannabinoidi non sia stato ancora clonato, molte evidenze sperimentali indicano che la loro azione venga terminata dalla ricaptazione attiva. Questa è un'osservazione piuttosto sorprendente, trattandosi di composti lipofili che non necessitano di trasporto proteico per attraversare le membrane; peraltro, questo confermerebbe il ruolo importante che i neurotrasportatori svolgono prima ancora di eseguire la traslocazione del substrato attraverso la membrana, come è stato dimostrato per i trasportatori del GABA e del glutammato: la loro affinità e il loro numero sono tali che la concentrazione libera del trasmettitore si riduce già per il semplice legame al trasportatore.

Ossido nitrico - A conclusione di questa panoramica sui neuromodulatori occorre menzionare una sostanza che è difficile inquadrare nella visione classica della neurotrasmissione, ma che esercita un ruolo di grande rilievo nella comunicazione sinaptica. L'ossido nitrico (NO) è un gas, che attiva la guanililciclasi e, aumentando i livelli di GMP ciclico regola varie funzioni cellulari, per lo più attraverso la proteinchinasi G (GMP-ciclico dipendente). La produzione di NO è dovuta all'enzima NO-sintetasi, che esiste in due forme fondamentali: una inducibile (espressa principalmente da cellule del sistema immunitario, quando ne viene attivata appunto la trascrizione) e una costitutiva, la cui attività dipende dal livello di Ca^{2+} citosolico. Questa seconda forma è espressa in particolare dalle cellule endoteliali e dai neuroni.

L'aspetto fondamentale della produzione di NO è che, trattandosi di un gas che diffonde rapidamente attraverso le membrane cellulari e viene rapidamente inattivato, per la sua stessa reattività, esso costituisce un segnale intercellulare e attiva i processi GMP-ciclico dipendenti nelle cellule vicine a quelle in cui viene prodotto. In questo modo NO prodotto da parte delle cellule endoteliali ha azione vasodilatatrice, poiché inibisce la contrattilità delle vicine cellule muscolari lisce della parete vascolare. Nel sistema nervoso opera un meccanismo analogo: neuroni nei quali si verifichi aumento del livello di Ca^{2+} possono produrre NO e attivare processi dipendenti dalla proteinchinasi G in cellule vicine. Questo fenomeno è particolarmente rilevante a livello delle sinapsi, soprattutto nelle spine sinaptiche dei dendriti dei neuroni centrali: aumenti di Ca^{2+} a livello postsinaptico si possono verificare in modo molto localizzato, a questo livello, interessando una sola o poche spine vicine, e si possono così produrre alterazioni metaboliche, funzionali e strutturali anche persistenti nelle corrispondenti terminazioni presinaptiche. Come accennato trattando del recettore NMDA, l'aumento di calcio può avviare alterazioni plastiche persistenti a livello postsinaptico; al tempo stesso, però, esso può determinare, grazie alla produzione di NO, che agisce così da "messaggero retrogrado", alterazioni plastiche anche nel versante presinaptico dello stesso contatto.

I RECETTORI DEI NEUROTRASMETTITORI

L'azione di un neurotrasmettitore sulla cellula bersaglio può determinare essenzialmente due tipi di effetti:

- una modulazione di conduttanze di membrana e di conseguenza una interferenza con le proprietà elettriche della cellula postsinaptica; tipicamente ciò avviene a seguito del legame del neurotrasmettitore ad un recettore-canale ionico, ma può anche conseguire ad una modulazione indiretta da parte di fattori intracellulari
- una interferenza con percorsi biochimico-metabolici intracellulari, ovvero percorsi di trasduzione recettoriale che si traducono in una modulazione su scala temporale breve, intermedia o anche molto lunga, delle risposte della cellula postsinaptica; tipicamente ciò avviene a seguito del legame del neurotrasmettitore con un recettore accoppiato a proteine G, ma può anche essere conseguenza di una modulazione delle concentrazioni ioniche (specialmente di Ca^{2+}) da parte di canali di membrana.

Tenendo presente queste osservazioni, e cioè che non necessariamente un recettore-canale (spesso indicato come recettore *ionotropico*) media solo risposte elettriche, rapide, implicate nell'elaborazione dei segnali in tempo reale, e non necessariamente un recettore accoppiato a G-proteine (spesso indicato come *metabotropico*) ha solo azioni di modulazione a medio-lungo termine, è utile considerare i vari recettori per i neurotrasmettitori considerando separatamente i recettori-canale rispetto a quelli accoppiati a proteine G.

Neurotrasmettitori attivi su canali

Tra i neurotrasmettitori classici, sono in grado di attivare recettori-canale l'acetilcolina, il glutammato, il GABA, la glicina, la serotonina e l'ATP (Tabella I). Acetilcolina (ACh), glutammato, serotonina e ATP aprono canali cationici, che producono depolarizzazione e attivazione cellulare, mentre GABA e glicina, aprendo conduttanze per il cloro, tendono a stabilizzare il potenziale di membrana e pertanto agiscono come neurotrasmettitori inibitori.

Recettori eccitatori - L'ACh agisce aprendo un canale cationico (soprattutto Na^+ e K^+ , ma anche Ca^{2+}); questo recettore è detto *nicotinico*, in quanto è possibile attivarlo (anche se solo momentaneamente) con l'alcaloide nicotina. Esso è presente principalmente sulle cellule muscolari scheletriche, nella placca motrice (recettori nicotinici muscolari, N_M) e su neuroni (N_N) nei gangli del sistema nervoso autonomo e nel SNC. La risposta del canale è rapida e breve. Se il recettore rimane esposto per un periodo prolungato a concentrazioni anche molto basse di ACh esso subisce una variazione conformazionale che lo porta nello stato inattivo (*desensitizzazione*). La porzione intracellulare del recettore presenta un sito di fosforilazione che influenza la cinetica della desensitizzazione.

A livello della giunzione neuromuscolare, la terminazione motrice libera grandi quantità di ACh in risposta all'arrivo del potenziale d'azione. Ne consegue l'attivazione di un gran numero di recettori nicotinici e di una corrente sinaptica molto intensa, che rapidamente sposta il potenziale di membrana verso 0 (potenziale di placca) e determina l'avvio del potenziale d'azione muscolare e la conseguente contrazione.

Nelle sinapsi colinergiche gangliari e del SNC la situazione è diversa: all'arrivo del potenziale d'azione solo poche vescicole si fondono alla membrana presinaptica, e la secrezione di ACh, l'attivazione recettoriale, la corrente sinaptica e l'ampiezza del potenziale eccitatorio postsinaptico (EPSP) sono più modeste. In questo modo le sinapsi colinergiche tra neuroni non si comportano come semplici relais – come alla giunzione neuromuscolare, dove si determina inevitabilmente il potenziale d'azione nella cellula postsinaptica – ma contribuiscono alla elaborazione dei segnali in tempo reale da parte del neurone postsinaptico, che somma e integra in ogni istante le correnti generate sui suoi dendriti e sul corpo cellulare da tutti i contatti sinaptici che riceve.

Il glutammato è il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel SNC. La maggior parte dei neuroni centrali esprime recettori per il glutammato, che è responsabile della trasmissione dei segnali rapidi, che permettono l'elaborazione dell'informazione in tempo reale da parte delle cellule nervose. I recettori-canale per il glutammato costituiscono famiglie diverse con proprietà e ruoli funzionali differenti.

La fondamentale differenza è tra recettori ad alta affinità per il glutammato (detti *recettori NMDA*, perché legano N-metil-D-aspartato) e a bassa affinità (non-NMDA), a loro volta suddivisi in recettori AMPA (che legano α -amino-3-idrossi-5-metil-4-isoazolo-propionato) e kainato. Il ligando fisiologico è comunque per tutti il glutammato.

I recettori AMPA sono canali permeabili a Na^+ e K^+ (in alcuni casi anche a Ca^{2+}) a rapida e breve apertura, che mediano la trasmissione rapida di impulsi eccitatori. I recettori kainato presentano una alta affinità per questa sostanza, usata dagli istologi, ben prima che se ne conoscesse il meccanismo d'azione, per produrre morte neuronale nel punto di iniezione e tracciare le vie nervose seguendo la degenerazione delle fibre in partenza; essi sono spesso localizzati a livello presinaptico, dove modulano il rilascio di trasmettitori, facilitando o inibendo a seconda del grado di depolarizzazione

prodotto e del tipo di terminale. I recettori kainato danno risposte più piccole e prolungate, rispetto ai recettori AMPA, che divengono rilevanti soprattutto in seguito ad attivazione ripetitiva e sommazione temporale. La compresenza di azione diretta postsinaptica e modulazione del rilascio di trasmettitore è presumibilmente responsabile della violenta azione eccitatoria che il kainato esogeno è in grado di produrre, fino a determinare squilibrio del controllo del Ca^{2+} intracellulare e morte cellulare (eccitotossicità).

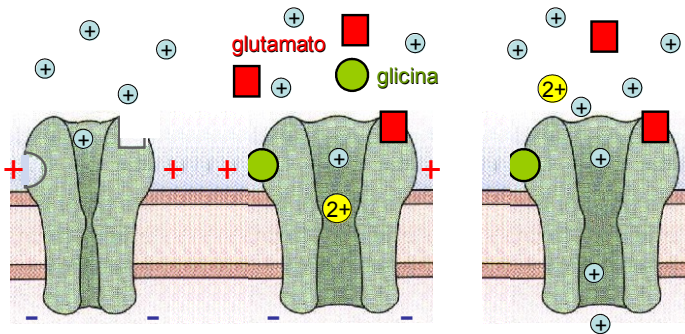


Figura 31. – Schema funzionale del recettore NMDA. L’apertura del canale richiede il legame di glutamato e glicina. Però al normale potenziale di membrana il poro è occluso da ioni Mg (giallo). Solo a seguito di depolarizzazione il canale, aperto dalle legame del glutamato, permette il passaggio di cationi (azzurro), ioni Ca^{2+} in particolare.

I recettori NMDA (Figura 31) sono i recettori che legano il glutammato con affinità massima (attivato da concentrazioni di glutammato fino a 1000 volte inferiori a quelle necessarie per attivare recettori AMPA). Essi hanno un comportamento del tutto particolare: vengono attivati dal legame del glutammato e di conseguenza aprono un poro permeabile a Na^+ , K^+ , e Ca^{2+} ; nel poro tende anche a penetrare, dall’esterno, lo ione magnesio, che però non permea e blocca il canale. Al potenziale di riposo normale, il canale risulta bloccato da Mg^{2+} , e pertanto il glutammato non può produrre corrente attraverso il recettore NMDA. Quando la membrana è depolarizzata, invece, Mg^{2+} ha minore tendenza a impegnarsi nel canale (o riesce a penetrarvi perdendo l’alone di idratazione) e quest’ultimo può condurre corrente grazie al passaggio degli altri cationi.

Il recettore NMDA presenta inoltre un sito di legame per la *glicina*, che deve essere legata per permettere l’apertura del canale e pertanto risulta agire come co-agonista con ruolo permissivo.

Poiché il recettore NMDA è permeabile al Ca^{2+} , la sua attivazione può determinare non solo effetti elettrici sul neurone post-sinaptico, ma anche l’avvio di reazioni biochimiche regolate dagli ioni calcio e dal loro legame con proteine come la calmodulina, attraverso la quale il Ca^{2+} attiva le calcio-calmodulina-chinasi (CaMKI e II), o la calcineurina, che attiva la protein-fosfatasi I (PPI). Questi processi possono determinare alterazioni a lungo termine – e anche effetti sulla trascrizione e modificazioni permanenti – nella regione postsinaptica (spina dendritica) o anche in tutto il neurone postsinaptico, producendo modificazioni dell’efficienza e/o della struttura della sinapsi, cui ci si riferisce con il termine generale di *plasticità sinaptica*.

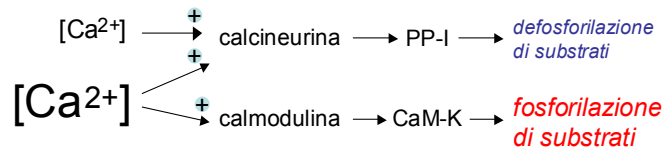


Figura 32 – Effetti del Ca^{2+} sui sistemi cellulari di fosforilazione proteica. Basse elevazioni di Ca^{2+} citosolico attivano la calcineurina che a sua volta attiva la protein-fosfatasi I (PPI). questo sbilancia il sistema verso la defosforilazione. Alte elevazioni di Ca^{2+} attivano anche la calmodulina (che ha minore affinità, e di conseguenza le chinasi calcio-calmodulino-dipendenti (CaM-K). Queste prevalgono sulle fosfatasi e sbilanciano il sistema verso la fosforilazione dei substrati proteici.

In alcuni casi, specie durante lo sviluppo, questo può comportare la stabilizzazione o eliminazione definitiva del contatto sinaptico.

L’ingresso massiccio di Ca^{2+} nel citoplasma attraverso canali voltaggio-dipendenti e recettore NMDA, in condizioni di eccessiva stimolazione glutamatergica – o a seguito dell’esposizione a kainato, che depolarizza e facilita rilascio di glutammato – produce attivazione di proteasi, formazione di radicali liberi e avvio del processo apoptotico neuronale. A questo fenomeno ci si riferisce con il termine *eccitotossicità*.

Il diverso comportamento del recettore NMDA in funzione del potenziale di membrana (blocco da magnesio a riposo, sblocco e ingresso di Ca^{2+} quando la cellula è depolarizzata) costituisce un aspetto critico nella funzionalità sinaptica, in quanto lo stesso segnale – il rilascio di glutammato – nella stessa sinapsi può produrre effetti diversi: solo se la sinapsi è attivata ripetitivamente in modo appropriato, oppure se altre sinapsi vicine sono attivate subito prima, il rilascio di glutammato produce l’avvio di processi biochimici che possono modificare anche stabilmente la efficienza della sinapsi. Non solo dunque il neurone somma ed elabora i diversi segnali che lo raggiungono, ma specifiche sequenze e associazioni di segnali possono produrre alterazioni locali che restano fissate nella connettività neuronale stessa. Questa *plasticità sinaptica*, pertanto, permette alla rete neuronale di “registrare” la storia della sua stessa attivazione e costituisce un meccanismo molecolare fondamentale per i processi di apprendimento e memoria.

Dal punto di vista cinetico, le correnti attraverso i recettori NMDA sono più ampie e lente di quelle prodotte dai recettori AMPA, con i quali sono generalmente coespressi nei neuroni centrali; come già illustrato, però, le correnti NMDA sono evidenziabili solo se il neurone è già depolarizzato, ovvero se recettori AMPA sono appena stati attivati, nella stessa sinapsi o in un’altra sinapsi molto vicina.

Gli altri recettori-canale eccitatori sono il recettore 5-HT₃ per la serotonina e il recettore P2-X per l’ATP.

- Il recettore 5-HT₃ è espresso da neuroni centrali e periferici (sensoriali), media risposte rapide e mostra notevole omologia con il recettore nicotinico neuronale. Quando attivato dalla serotonina apre un canale permeabile a Na⁺ e K⁺, e produce pertanto un potenziale sinaptico eccitatorio. In base all'azione dei farmaci bloccanti il recettore 5-HT₃, esso appare coinvolto nel riflesso del vomito e nel controllo di ansia e tono dell'umore.
- I recettori P2-X sono attivati dall'ATP – spesso liberato dalle terminazioni nervose in associazione con altri trasmettitori – e produce l'apertura di un canale per il Ca²⁺. Questo determina una corrente depolarizzante; nei recettori presinaptici, situati sulle terminazioni nervose, il conseguente ingresso di calcio facilita il rilascio di neurotrasmettitori. I diversi sottotipi di recettore hanno localizzazione e funzione diversa. Il recettore P2-X₃, in particolare, svolge un ruolo nelle vie del dolore.

Recettori inibitori - Il GABA - Il GABA attiva recettori-canale (detti recettori GABA_A) permeabili al Cl⁻ ed espressi da quasi tutti i neuroni, e di conseguenza è il più importante neurotrasmettitore inibitorio. Il Cl⁻ è generalmente vicino all'equilibrio nella cellula a riposo, e pertanto il suo potenziale di equilibrio è vicino al potenziale di riposo: l'apertura di canali per il Cl⁻ tende quindi a fissare (o riportare) il potenziale al valore di riposo, contrastando l'azione depolarizzante dei neurotrasmettitori eccitatori.

E' importante osservare che la distribuzione del cloro dipende dal grado di espressione di due diversi trasportatori ionici: KCC (K⁺-Cl⁻-carrier) che, guidato dal gradiente del K⁺, tende ad accumulare Cl⁻ fuori dalla cellula, e NKCC (Na⁺-K⁺-Cl⁻-carrier) che invece, guidato dal gradiente del Na⁺, accumula Cl⁻ nella cellula. Nel cervello embrionale i neuroni immaturi esprimono recettori GABA_A, prima di esprimere recettori-canale eccitatori, ed una predominanza di NKCC; l'attivazione di recettori GABA_A, aprendo il canale cloro, favorisce l'uscita di Cl⁻, che corrisponde ad una corrente positiva entrante e produce depolarizzazione.

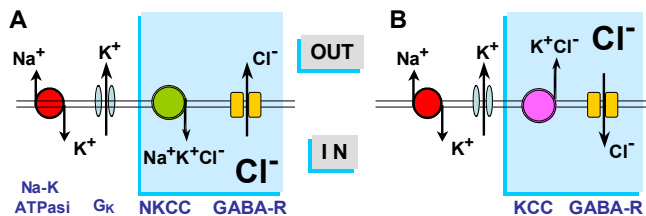


Figura 33 – Cambiamento dell'effetto del recettore GABA_A (GABA-R) durante lo sviluppo neuronale. Neurone immaturo (A) e maturo (B). Vedi testo per il ruolo del carrier sodio-potassio-2cloro (NKCC), del carrier potassio-cloro (KCC) e della conduttanza potassio (GK)

Questo presumibilmente permette di mantenere una attività elettrica, che ha importante funzione trofica e di sviluppo, nei neuroni immaturi, prima che si siano stabilite le corrette connessioni eccitatorie. Nei neuroni maturi, dove predomina KCC, il movimento di cloro è opposto e l'attivazione del recettore GABA_A produce iperpolarizzazione e inibizione.

L'affinità per il GABA, la conduttanza del canale e la cinetica di apertura-chiusura è modulata in questi recettori da molti fattori. Tra questi la fosforilazione della porzione intracellulare, il legame di ormoni steroidei e alcool etilico, e il legame di farmaci come gli ansiolitici benzodiazepine, che si legano su un sito diverso dal GABA, o i barbiturici, che sono invece in grado di produrre apertura del canale anche in assenza di GABA.

La glicina - I recettori per la glicina sono funzionalmente simili ai recettori GABA_A, e svolgono una azione analoga, predominando a livello del midollo spinale.

Trasmettitori attivi attraverso proteine G

Sia i neurotrasmettitori classici, sia i neuropeptidi e neuromodulatori, sono in grado di legarsi a recettori – spesso a più sottotipi di recettori – accoppiati a proteine G (Tabella 2). Si tratta di proteine transmembrana (attraversano tutti 7 volte la membrana e presentano notevoli omologie di sequenza) che sul lato extracellulare presentano un sito di legame per il neurotrasmettitore o ormone e nella porzione intracellulare presentano una regione che lega proteine G trimeriche. Il legame del mediatore produce una alterazione conformazionale che espone il sito di legame interno per la proteina G; questa, legandosi al recettore, si scinde in subunità α, che rilascia GDP, lega GTP e risulta attivata, e subunità βγ, che può svolgere altre funzioni cellulari. La subunità α attiva generalmente un enzima, che a sua volta avvia una cascata di reazioni biochimiche e metaboliche intracellulari (trasduzione del segnale); per questo motivo i recettori accoppiati a proteine G sono spesso indicati come recettori *metabotropici*. L'attivazione della subunità α è limitata nel tempo dalla sua stessa attività GTP-asi; scisso il GTP, essa rimane legata a GDP, perde attività e si riassocia alle subunità βγ.

I recettori accoppiati a proteine G, rilevanti a livello sinaptico, possono attivare una delle seguenti vie:

- G_s, che attraverso la subunità α_s attiva l'adenilato-ciclasi, produce un aumento di AMP-ciclico e di conseguenza attivazione della protein-chinasi A, con fosforilazione dei suoi substrati; questo in genere comporta un'azione di modulazione positiva su vari processi pre e postsinaptici
- G_{i/o}, che attraverso la subunità α_{i/o} inibisce l'adenilato-ciclasi, con effetti opposti ad α_s; in aggiunta, α_{i/o} modula negativamente i canali calcio (questo inibisce il rilascio di neurotrasmettitori, se il recettore è presinaptico) e attiva con-

duttanze potassio (in particolare il canale *GIRK*, G-protein-coupled Inward Rectifying K⁺-channel) che iperpolarizzano e inibiscono il neurone bersaglio

- G_q, che attraverso la subunità α_q attiva la fosfolipasi C, che trasforma i fosfoinositidi di membrana in diacilglicerolo (attivatore della proteinchinasi C) e inositolo trisfosfato, capace di indurre la liberazione di Ca²⁺ dai depositi intracellulari; in questo modo i recettori tendono ad attivare risposte secretive e/o contrattili della cellula bersaglio, e in generale a modulare in senso positivo vari processi pre e postsinaptici.

Azioni eccitatorie periferiche - Gli effettori periferici del sistema nervoso autonomo – muscoli lisci e ghiandole secretive – sono attivati da meccanismi recettoriali che producono elevazioni dei livelli di Ca²⁺ intracellulare. Questa azione è prodotta da recettori per l'ACh detti *muscarinici* (perché non sono sensibili all'alcaloide nicotina ma alla muscarina), di sottotipo M3 e M5, e da recettori per le catecolamine di tipo α₁, attivati sia dalla noradrenalina liberata dalle terminazioni nervose ortosimpatiche, sia dall'adrenalina liberata in circolo dalla ghiandola surrenale. Tutti questi recettori sono accoppiati a G_q.

Recettori metabotropici – muscarinici M1 – sono presenti anche a livello gangliare nel sistema nervoso autonomo, dove mediano risposte eccitatorie lente all'ACh.

Un caso particolare di azione eccitatoria periferica è l'azione delle catecolamine sul cuore. Essa si esercita attraverso recettori β₁, accoppiati a G_s; sulle cellule dei nodi, responsabili della attività pacemaker, producono aumento della frequenza cardiaca grazie all'elevazione dell'AMP ciclico, che attiva direttamente la corrente pacemaker; sulle cellule di conduzione e sui cardiomiociti (cellule muscolari) producono effetti positivi sulla velocità di conduzione, sulla eccitabilità e sulla forza di contrazione grazie alla fosforilazione PKA-dipendente dei canali al calcio, con il conseguente aumento delle correnti calcio e dei livelli di calcio durante la contrazione. Sono presenti in corrispondenza delle terminazioni dei nervi cardiaci e sono attivati sia dalla noradrenalina liberata localmente sia dalla adrenalina che perviene per via ematica.

Azioni inibitorie periferiche - La principale azione inibitoria sugli effettori periferici autonomi si esercita sui muscoli lisci. Poiché la contrazione dei muscoli lisci è regolata dalla fosforilazione delle catene leggere della miosina, il tono muscolare è determinato dal livello di attivazione della chinasi delle catene leggere della miosina (MLCK). Questa è attivata da fosforilazione calcio-dipendente e inibita dalla fosforilazione da parte di PKA e PKG (chinasi AMP-ciclico e GMP-ciclico dipendenti). Pertanto recettori che producano elevazione dei livelli di AMP ciclico producono rilassamento della muscolatura liscia. Questa azione è svolta dai recettori adrenergici β, in particolare β₂, espressi dalla muscolatura liscia vascolare e bronchiale (si noti che il recettore β₂ non è sensibile alla noradrenalina e si trova su tessuti non innervati dal sistema ortosimpatico, e pertanto l'effetto rilasciante è svolto solo dall'adrenalina circolante). Una azione analoga svolge l'istamina (attraverso recettori H₂), il che contribuisce alla vasodilatazione locale nella infiammazione e nell'allergia, e la serotonina, che ha un complesso ruolo di regolazione del tono vascolare locale (particolarmente importante a livello delle arterie meningehe, il che spiega la grande rilevanza di questa sostanza e dei farmaci attivi sui suoi recettori nella cefalea e nel suo controllo farmacologico).

Il tono vascolare è soggetto ad un'altra possibile azione inibitoria, quella svolta dall'elevazione del GMP ciclico. Nelle cellule muscolari lisce è presente una guanililciclasi che viene attivata dall'ossido nitrico (NO). Poiché l'endotelio vascolare esprime in modo significativo l'enzima NO-sintetasi, che è attivato dal Ca²⁺, recettori sulle cellule endoteliali che producano aumenti di Ca²⁺ si traducono in un effetto vasodilatatorio. Questo spiega l'osservazione piuttosto antica – ma solo recentemente compresa – che il vaso si contrae se viene lesa l'endotelio, come se questo liberasse una sostanza vasodilatatrice (altro non è che NO). Questo è un altro meccanismo attraverso cui istamina (agendo su recettori H₂) e serotonina possono produrre vasodilatazione locale.

Una azione inibitoria specifica a livello cardiaco viene svolta dall'ACh liberata dal nervo vago, che agisce su recettori muscarinici M2, accoppiati a G_{i/o}, e contrasta, riducendo i livelli di AMP ciclico, tutte le azioni descritte sopra per le catecolamine. Si noti però che il vago non innerva il miocardio (tessuto muscolare) ventricolare, per cui l'attivazione del vago riduce la frequenza, velocità di conduzione e eccitabilità cardiache, ma non la forza di contrazione ventricolare.

Va infine ricordato che una importante azione inibitoria periferica può essere svolta interferendo con il rilascio di neurotrasmettitori eccitatori. Questa azione si può svolgere in modo retroattivo (autoinibizione) o crociato (inibizione del rilascio di noradrenalina da parte dell'ACh o viceversa), ed è mediata da recettori presinaptici accoppiati a G_{i/o}, che riducono i livelli di AMP ciclico nella terminazione nervosa, ma soprattutto interferiscono con correnti calcio e potassio producendo iperpolarizzazione e riducendo l'attività secretiva. L'ACh può svolgere questa azione attraverso recettori presinaptici M2 e M4; la noradrenalina la esercita attraverso recettori α₂, che svolgono un'importante funzione di auto-

limitazione della scarica di catecolamine da parte del sistema ortosimpatico sui suoi effettori. Una azione simile è svolta, soprattutto sulla muscolatura gastroenterica, da peptidi che agiscono su recettori con analogo funzionamento. Tra questi è importante ricordare le encefaline e endorfine (oppiacei endogeni) la cui azione si svolge prevalentemente attraverso questo meccanismo cellulare, sia a livello periferico sia a livello centrale.

Azione eccitatoria nel SNC - Come si è visto, la elaborazione dell'informazione in tempo reale si giova di recettori eccitatori/inibitori che traducono rapidamente l'attivazione in una risposta elettrica cellulare aprendo canali ionici di membrana. Pur con cinetiche più lente, è però possibile interferire in modo eccitatorio – o meglio facilitatorio – con l'attività neuronale e sinaptica, anche attraverso attività biochimiche intracellulari, principalmente legate all'aumento dei livelli di Ca^{2+} .

I recettori accoppiati a proteine G che hanno attività facilitatoria nel SNC agiscono attraverso due modalità fondamentali: essi possono produrre depolarizzazioni lente e aumento dell'eccitabilità, a livello postsinaptico e facilitare il rilascio di neurotrasmettitori a livello presinaptico – fondamentalmente attraverso aumenti dei livelli di Ca^{2+} – ma possono anche determinare interferenze più complesse e a lungo termine sulla funzione e anche sulla struttura della sinapsi.

I neuroni esprimono molti recettori accoppiati a proteine G_q , la cui attivazione da parte dell'ACh (recettori muscarinici M1, M3, M5), del glutammato (recettori metabotropici, mGluR), delle catecolamine (α_1), dell'istamina (H_1), della serotonina (5-HT₂), dell'ATP (P2-Y) o dell'adenosina (A2b) determina tendenza alla depolarizzazione e aumento dell'eccitabilità postsinaptica.

In alcuni casi recettori di questo tipo sono i principali responsabili della trasmissione sinaptica, come nel caso dei recettori NK1, espressi dai neuroni delle colonne posteriori del midollo, attivati dalla sostanza P liberata dalla terminazione afferente dei neuroni sensoriali dolorifici; questi ultimi hanno il corpo cellulare nei gangli delle radici posteriori ed emettono un assone che si biforca a T: un ramo si porta in periferia, dove raccoglie gli stimoli nocicettivi (stimolazioni fisiche eccessive, citochine, prostaglandine e altri mediatori dell'infiammazione), mentre l'altro ramo penetra nel midollo portando la sensazione dolorifica nel SNC.

Un altro esempio importante sono i recettori H_1 , espressi in varie regioni del SNC; essi mediano due importanti effetti: oltre a intervenire nella generazione della nausea e nel riflesso del vomito – che spiega la utilità di farmaci antistaminici come anti-nausea, e specialmente anticinetopatici (contro il mal da movimento) – questi recettori sono espressi da cellule talamiche che controllano il ritmo sonno veglia; l'azione dell'istamina produce depolarizzazione, inattivando i canali calcio di tipo T. Se questi non sono inattivati, le cellule talamiche producono risposte sostenute e ripetitive bloccano le informazioni sensoriali. L'inattivazione dei canali T mantiene invece i relais talamici in “modalità di trasmissione”: le informazioni sensoriali raggiungono la corteccia e si mantiene lo stato di veglia

Recettori accoppiati a G_q possono essere presenti a livello presinaptico e modulare positivamente il rilascio di neurotrasmettitori. La stessa funzione può essere svolta da recettori accoppiati a G_s , che mediano così azioni facilitatorie della adrenalina (recettori β), della dopamina (recettori D_1 e D_5), dell'istamina (H_2), dell'adenosina (A2a).

Un ruolo molto importante a livello postsinaptico è svolto da tutti questi recettori metabotropici eccitatori, che attraverso aumenti di Ca^{2+} e/o di AMP ciclico interferiscono con le attività di chinasi (calcio-calmodulino-dipendenti, CaMKI e CaMKII, e AMP-ciclico-dipendente, PKA) e di fosfatasi (protein phosphatase I, PPI, regolata dalla calcineurina, una proteina ad alta affinità per il Ca^{2+}). Queste azioni sono lente, graduali, influenzate dalla contemporanea attività elettrica del neurone e da interazioni reciproche, e possono determinare alterazioni della funzione ed espressione di recettori, canali e proteine citoscheletriche e strutturali, avviando così modificazioni a lungo termine, talora permanenti, della efficienza sinaptica e della struttura stessa delle sinapsi (v. oltre, plasticità sinaptica).

Azione inibitoria nel SNC - Nel sistema nervoso centrale, l'azione inibitoria attraverso recettori metabotropici si esercita principalmente attraverso l'accoppiamento con $G_{i/o}$. Questo può dar luogo ad azioni inibitorie postsinaptiche: modulazione negativa delle conduttanze calcio e attivazione delle conduttanze potassio, con conseguente tendenza alla iperpolarizzazione e riduzione della eccitabilità. Un esempio di questa azione inibitoria riguarda il glutammato, che nella retina viene liberato dai recettori visivi (coni e bastoncelli). Ogni recettore fa sinapsi con un certo numero di interneuroni (cellule bipolari) la cellula bipolare esprime recettori AMPA – sinapsi eccitatoria – nella sinapsi con il recettore che le sta sopra, mentre esprime mGluR accoppiati a $G_{i/o}$ – sinapsi inibitoria – nelle sinapsi con i recettori circostanti (o viceversa). Come risultato la cellula bipolare “calcola” una differenza tra la luce che colpisce il recettore sovrastante e quelli circostanti.

Va però osservato che nella maggior parte dei casi le azioni inibitorie attraverso recettori metabotropici si esercitano a livello presinaptico, grazie alla interferenza con i livelli di AMP ciclico e Ca^{2+} , in aggiunta alla azione sulle conduttanze, con il risultato di inibire più o meno pesantemente il rilascio di neurotrasmettitori. Questa azione di per sé inibitoria risulta in azioni che diminuiscono ma in altri casi aumentano l'attività complessiva di sistemi e circuiti neuronali, a seconda che l'azione di inibizione del rilascio si eserciti su terminazioni eccitatorie (glutammatergiche, colinergiche, noradrenergiche, istaminergiche, sostanza P) o su terminazioni inibitorie (gabaergiche, glicinergiche).

Quasi tutti neurotrasmettitori e neuromodulatori possiedono recettori accoppiati a $G_{i/o}$ e sono in grado di svolgere una azione modulatoria sul rilascio di altri neurotrasmettitori. E' questo il caso dell'ACh (recettori M4), del glutammato (mGluR inibitori, come visto sopra), del GABA (recettori GABA_B), di noradrenalina e adrenalina (recettori α_2), della dopamina (D₂, D₃ e D₄), della serotonina (5-HT₁), dell'adenosina (A1).

La serotonina nel SNC agisce principalmente attraverso recettori di questo tipo; la più importante popolazione di neuroni serotoninergici risiede nel rafe mediano, nel midollo allungato. La porzione più craniale di questi sistemi neuronali proietta diffusamente alla corteccia e all'ippocampo, mentre la porzione caudale proietta al midollo spinale. L'azione della serotonina è inibitoria, prevalentemente presinaptica: l'inibizione del rilascio dei neurotrasmettitori si esercita in varie aree del SNC; il sottotipo recettoriale 5-HT_{1A} è presente sulle proiezioni al sistema limbico e gioca un ruolo importante nella regolazione del sonno, dell'umore, del comportamento e dell'appetito. Il sottotipo 5-HT_{1D} appare più importante nella regolazione vascolare cerebrale (farmaci attivi su questo recettore sono efficaci nell'emicrania).

Un'azione modulatoria sul rilascio di neurotrasmettitori, attraverso $G_{i/o}$, è il principale meccanismo d'azione anche di molti neuropeptidi, e di oppiacei endogeni e endocannabinoidi. L'azione metabolica esercitata dai recettori per gli oppiacei e i cannabinoidi, che interferiscono con i livelli di AMP ciclico e di calcio, sia a livello pre che postsinaptico, fa sì che l'esposizione prolungata ad oppiacei e agonisti cannabinici esogeni possa modificare stabilmente i livelli di trascrizione di chinasi e altri fattori cellulari, introducendo alterazioni stabili nelle modalità di risposta neuronale; queste alterazioni stanno alla base della tolleranza, della dipendenza e del comportamento di ricerca compulsiva del farmaco (addiction) che caratterizza i consumatori abituali di queste "droghe".

Neurochimica e neurofisiologia - Il quadro generale fin qui delineato dovrebbe aver chiarito come, data la presenza di recettori con modalità di trasduzione diversa, ogni trasmettitore o neuromodulatore possa interferire con aspetti sia elettrici che biochimici, postsinaptici ma anche presinaptici, possa essere coinvolto nella elaborazione in tempo reale delle informazioni, ma possa anche svolgere una modulazione in alcuni casi positiva, in altri negativa, della funzione sinaptica e negli sviluppi plastici delle connessioni della rete neuronale.

L'azione di un determinato trasmettitore, dunque, può essere diversa in regioni diverse del sistema nervoso, e per comprenderne correttamente la funzione occorre superare la visione ingenua e semplicistica, affacciata agli albori della neurochimica, che alla presenza e al livello di un trasmettitore nel cervello corrisponda una funzione ed un suo grado di attivazione. La sintesi, liberazione e presenza extracellulare di un trasmettitore possono essere esaminati e interpretati proficuamente per comprendere il funzionamento dei vari circuiti neuronali, a patto che si abbia ben presente che la funzione del neurotrasmettitore in quello specifico circuito dipende precisamente dal tipo di recettori espressi dalle cellule neuronali interessate e dalla loro localizzazione pre o postsinaptica.

Un esempio fondamentale che chiarisce l'importanza di queste osservazioni è costituito dall'azione della dopamina nei nuclei della base. La substantia nigra mesencefalica contiene neuroni dopaminergici che proiettano allo striato (una parte dei nuclei della base), dove si trova la grande maggioranza dei recettori dopaminergici del SNC, soprattutto D1 e D2; grazie alle azioni contrastanti dei due recettori sulle due vie nervose dei nuclei della base (diretta, che facilita i movimenti, e indiretta, che li inibisce), la dopamina svolge un ruolo di equilibrio nel controllo dei movimenti complessi, che richiedono attivazione e inibizione coordinata e sequenziale di diversi gruppi muscolari. La degenerazione delle cellule dopaminergiche della substantia nigra determina l'insorgenza di un quadro clinico caratterizzato da notevoli disturbi del movimento, noto come *malattia di Parkinson*.

Un altro esempio riguarda ancora la dopamina: dalla area ventrotegmentale del mesencefalo (VTA) i neuroni dopaminergici proiettano a strutture limbiche (porzioni del cervello che elaborano la vita affettiva) e alla corteccia prefrontale (incaricata della programmazione del comportamento e del pensiero): le due proiezioni sono dette via mesolimbica e via mesocorticale. Sulle strutture limbiche la dopamina è responsabile della produzione della sensazione piacevole che si associa ad un successo o una gratificazione (*vie del reward*), e tutte le sostanze che ne favoriscono il rilascio o l'effetto (nicotina, cocaina, oppiacei, alcool e quasi tutti i tipi di droga) producono sensazioni piacevoli e hanno potenziale d'abuso. L'azione della dopamina a livello frontale è invece importante in termini di programmazione del comportamento, regolazione motivazionale ed attività cognitive superiori. I recettori principali in questi sistemi sono D2 e D3; questi ultimi sono principalmente presinaptici, autoinibitori e particolarmente presenti a livello limbico. La compromissione dell'equilibrio tra l'attività dei due sistemi, mesolimbico e mesocorticale, appare essere alla base della *schizofrenia*, un grave disturbo del pensiero caratterizzato da una dissociazione tra sfera emotiva e sfera cognitiva; in questa situazione risultano efficaci farmaci bloccanti dei recettori D2 e in particolare D3 (capaci di spostare l'equilibrio tra azione dopaminergica limbica e prefrontale).

Modulazione della trasmissione sinaptica

Avendo descritto le varie tappe del ricircolo delle vescicole e del turnover del neurotrasmettitore, nonché i numerosi e diversi modi in cui il trasmettitore può esercitare la sua influenza sulla cellula postsinaptica, risulta evidente che vi sia un gran numero di aspetti e passaggi del processo di trasmissione sinaptica che sono soggetti a possibile modulazione (Figura 34):

- la sintesi del mediatore è in genere guidata da uno o più enzimi, la cui attività può essere modulabile
- il mediatore è caricato nella vescicola attraverso uno scambiatore di membrana alimentato da protoni, a loro volta caricati nella vescicola da una ATPasi protonica: entrambi i processi sono in linea di principio modulabili
- la vescicola può muoversi dal “pool” di riserva, legato al citoscheletro, alla popolazione disponibile per il rilascio, fino al piccolo numero di vescicole legate e pronte presso la zona attiva; questi passaggi sono regolati da interazioni con numerose proteine (ad esempio le sinapsine), a loro volta modulate da processi di fosforilazione, cAMP e soprattutto calcio-calmodulino dipendente
- quando la vescicola raggiunge il sito di rilascio vi si lega e organizza grazie a varie proteine: Rab, Rim, varie Munc e le proteine della macchina di fusione, che costituiscono tutte possibili bersagli di modulazione
- il rilascio richiede la fusione, la cui probabilità dipende dalla configurazione della macchina di fusione, dalla localizzazione e quantità dell’ingresso di Ca^{2+} , e dal livello di Ca^{2+} già presente
- il legame del trasmettitore al recettore dipende dal numero di recettori espressi in membrana (che può cambiare regolando la trascrizione o l’attività di eso-endocitosi regolata) e dalla conformazione del recettore
- la durata d’azione del trasmettitore sul recettore dipende dalla efficienza dei processi di degradazione enzimatica (AChEsterasi) o di rimozione dalla fessura sinaptica (trasportatori neuronali e gliali)
- questo influenza anche la disponibilità presinaptica del trasmettitore
- la trasduzione recettoriale è modulabile attraverso la fosforilazione del recettore, che può alterare le cinetiche di apertura (canali) o l’interazione con proteine G; possono anche essere modulate la disponibilità delle subunità α e/o $\beta\gamma$ delle proteine G, i livelli di secondi messaggeri, la fosforilazione/defosforilazione di proteine target

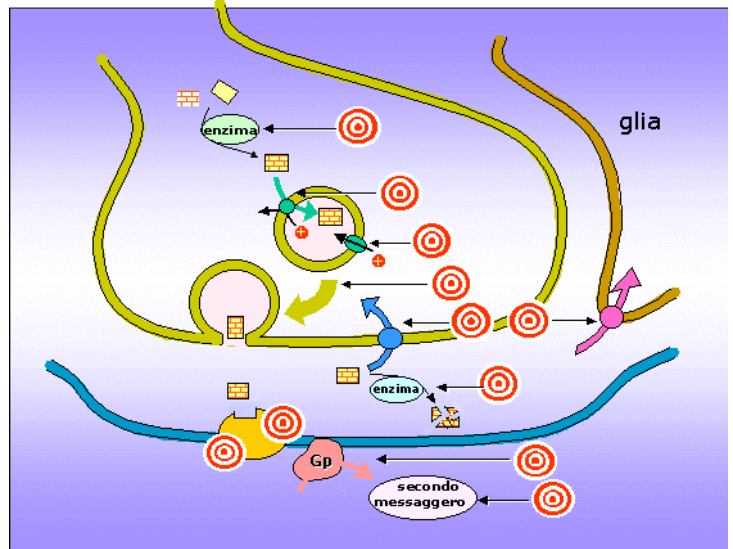


Figura 34. – I possibili punti di modulazione della trasmissione sinaptica. Ognuno di questi passaggi metabolici o funzionali può essere influenzato da farmaci, da altri mediatori, dal mediatore stesso implicato nella trasmissione sinaptica, e dalle modalità di attivazione della sinapsi e delle sinapsi vicine

Su ognuna delle tappe del processo di trasmissione sinaptica possono esercitare una azione modulatoria ormoni e farmaci specifici. E’ importante però comprendere che a modulare uno o più passaggi possa essere il mediatore stesso implicato nella trasmissione sinaptica, o altri neurotrasmettitori o modulatori, o ancora le modalità di attivazione della sinapsi stessa e delle sinapsi vicine.

La trasmissione sinaptica risulta quindi un processo con caratteristiche non fisse nel tempo, ma che possono variare in funzione di

- modalità temporali di attivazione (es. attivazione ripetuta ad alta frequenza) della stessa sinapsi
- modalità spaziali di interferenza (attivazione coordinata di bottoni sinaptici vicini)
- interferenze biochimiche (*cross-talk*) tra vie di trasduzione analoghe o diverse
- alterazioni dei livelli di espressione di recettori o apparati di trasduzione, e riorganizzazioni strutturali, conseguenti all’attività pregressa

Aspetti dinamici della trasmissione sinaptica

La possibilità di attivare ripetitivamente una sinapsi, e l’influenza che questo può determinare sull’efficienza dei vari passaggi del processo, danno luogo ad alcuni fenomeni importanti che caratterizzano la trasmissione sinaptica.

Tachifilassi - La capacità di liberare neurotrasmettitore può presentare rapido affaticamento quando il processo è stimolato intensamente: ad esempio, farmaci che producono la liberazione di catecolamine tendono a mostrare *tachifilassi*, ovvero rapida perdita di effetto dovuta a deplezione del trasmettitore.

Depressione sinaptica - Analogamente, l’intensa attività sinaptica tende a produrre fenomeni di *depressione* nelle terminazioni che secernono grandi quantità di trasmettitore, come la giunzione neuromuscolare; questa sinapsi è caratterizzata da un ampio margine di sicurezza (viene secreta molta più ACh del necessario a produrre il potenziale d’azione

muscolare), ma se il numero di recettori colinergici muscolari è ridotto, come nella patologia autoimmune *miastenia gravis*, la trasmissione neuromuscolare perde rapidamente efficacia durante attivazione ripetitiva.

Facilitazione e potenziamento - Nelle terminazioni che scaricano poche vescicole a seguito della attivazione, viceversa, durante attivazione ripetitiva prevalgono fenomeni di *facilitazione* e *potenziamento*. A tempi molto brevi (pochi ms) dopo ogni impulso, la secrezione risulta *facilitata* dalla temporanea persistenza di livelli di calcio più elevati nel terminale; l'aumento dei livelli di calcio durante stimolazione ripetitiva tende poi a *potenziare* la secrezione determinando la fosforilazione della sinapsina, che mobilita vescicole di riserva, e presumibilmente di altri substrati implicati nella attivazione del macchinario secretivo. La stimolazione ripetitiva tende quindi, nelle sinapsi che rilasciano ad ogni impulso una piccola frazione della propria riserva di vescicole e trasmettitore, a produrre un graduale aumento della efficacia sinaptica. In una forma di debolezza muscolare diversa dalla citata miastenia grave – la sindrome miastenica di Lambert-Eaton – un disturbo autoimmunitario riduce la presenza di canali calcio sulle terminazioni motrici: di conseguenza il rilascio di ACh è molto ridotto e l'esecuzione dei movimenti molto compromessa; al contrario del quadro della miastenia grave, però, l'attivazione ripetitiva non produce rapido affaticamento e anzi permette al paziente di ottenere il movimento desiderato, grazie al graduale potenziamento del rilascio di neurotrasmettitore.

L'importanza di questi processi di modulazione dinamica del rilascio di neurotrasmettitore è spesso sottovalutata. L'andamento nel tempo del rilascio di trasmettitori eccitatori e inibitori, durante attivazione ripetitiva, nel SNC, è presumibilmente uno degli aspetti centrali che determinano il diffondersi o meno ad ampie regioni del cervello di scariche ripetitive generate da focolai di sofferenza cellulare neuronale. Questo fenomeno, che dà luogo alle diverse forme di *epilessia*, riconosce le sue basi nei fenomeni di potenziamento, grazie ai quali un gruppo di neuroni che scarica ripetitivamente tende a *reclutare* un numero via via crescente di altri neuroni. In questo modo vengono però attivati anche interneuroni inibitori – gabaergici – che tendono a limitare e spegnere l'attività anomala. Contemporaneamente, insorgono fenomeni di affaticamento, e un importante meccanismo di sicurezza consiste nella minore affaticabilità dei neuroni inibitori (gabaergici) rispetto a quelli eccitatori (glutammatergici); se questo non si verifica, a causa di alterazioni della dinamica secretiva in una popolazione neuronale, un focolaio di scarica anomala viene meno facilmente spento e ha più probabilità di dar luogo a scariche diffuse e sintomi epilettici evidenti.

Plasticità neuronale

Come abbiamo visto, a fianco della attività bioelettrica neuronale – che costituisce il modo in cui il sistema nervoso elabora l'informazione in tempo reale – nelle cellule nervose si verificano una serie di processi biochimici, guidati in parte dagli stessi neurotrasmettitori implicati nella elaborazione dei segnali in tempo reale, in parte da altri trasmettitori e modulatori, il cui rilascio consegue comunque alla attività neuronale e sinaptica.

Il quadro della attività biochimica di ogni neurone, dunque, per certi versi riflette il suo stato momentaneo di attivazione, ma al tempo stesso presenta segni e caratteristiche che derivano dalle modalità con cui in passato è stato attivato ed esposto a trasmettitori e modulatori; rappresenta cioè per certi versi una traccia, una *memoria*, della sua storia.

Negli ultimi trent'anni la nostra prospettiva sulla problematica dell'apprendimento e della memoria è molto cambiata, grazie al lavoro pionieristico di Eric Kandel, sull'*aplisia* (un piccolo mollusco il cui sistema nervoso è costituito da poche centinaia di neuroni, le cui connessioni e funzioni sono note). L'osservazione fondamentale è che anche circuiti molto semplici, come quello responsabile del riflesso di svuotamento del sifone dell'*aplisia*, possono essere modulati e "addestrati" (Figura). Lo studio dei meccanismi cellulari di queste forme semplici di apprendimento ha permesso di riconoscere almeno due meccanismi fondamentali di modificazione stabile di circuiti, che rendono conto di forme elementari – e presumibilmente, in circuiti più complessi – anche di forme più sofisticate) di apprendimento e di memoria:

- neurotrasmettitori che avviano processi di fosforilazione a livello postsinaptico possono modificare la risposta funzionale di altri recettori, ma anche i livelli di espressione di recettori, proteine strutturali, elementi citoscheletrici, e in generale determinare alterazioni non solo funzionali ma anche strutturali e permanenti di una sinapsi (Figura)
- recettori e canali che permettono l'ingresso di Ca^{2+} in modo graduato e condizionato possono interferire con processi biochimici locali, e generare segnali retrogradi che raggiungono il terminale presinaptico, in modo tale da determinare alterazioni coordinate anche permanenti di entrambi gli elementi della sinapsi, terminazione nervosa e spina (post)sinaptica (Figura)

È importante considerare che in entrambi i casi la complessità dei sistemi di regolazione, e l'intersezione tra diverse vie di segnalazione cellulare e metaboliche, determina che una sinapsi possa imboccare destini diversi in funzione delle modalità con cui essa ed eventuali sinapsi vicine vengono attivate (Figura):

- due segnali sinaptici possono sommarsi, nello spazio e nel tempo, su una stessa cellula bersaglio

- in molti casi, se due segnali (dalla stessa sinapsi o da sinapsi vicine) arrivano in sequenza appropriata ne conseguono effetti cellulari che nessuno dei due segnali da solo avrebbe saputo evocare
- questo fenomeno è caratterizzato da *nonlinearità* (la somma di più segnali dà effetti diversi dalla somma degli effetti) e *associatività* (viene riconosciuta non solo la presenza di più segnali ma anche la relazione tra i diversi segnali)
- questo fenomeno comporta modificazioni della efficienza (potenziamento o depressione a lungo termine, LTP, LTD) e in alcuni casi della presenza stessa di sinapsi: la rete neuronale si modifica in funzione dell'informazione che elabora

Per comprendere la rilevanza di questi fenomeni, si consideri il potenziamento a lungo termine che risulta dalla presentazione *ripetuta* di appropriati segnali *associati* (per esempio un quadro sensoriale incontrato più volte): poiché i corrispondenti contatti sinaptici vengono potenziati, il neurone diviene in grado di produrre la stessa risposta anche a seguito della presentazione di una parte soltanto dei segnali che costituiscono il quadro completo di attivazione; diviene cioè capace di “riconoscere” un pattern complesso di attivazione anche quando si presenta incompleto. E' ovvio quanto un tale meccanismo contribuisca ai processi di riconoscimento, addestramento, apprendimento, e memoria.

NEURONI E GLIA

I neuroni derivano da cellule progenitrici della cresta neurale. Solo una minima parte di queste cellule, differenziandosi dopo aver proliferato, dà luogo a neuroni; tutte le altre divengono cellule non neuronali, circa 50 volte più numerose dei neuroni, e costituiscono la *neuroglia* (o *glia*, il termine significa “colla”). Le cellule gliali sono tradizionalmente considerate cellule di sostegno e supporto trofico ai neuroni; nell'ultimo ventennio, però, la concezione dominante su ruolo e funzioni della glia è cambiata molto: le cellule gliali non sono solo indispensabili per guidare e sostenere i neuroni, ma è ormai chiaro che esse svolgono un cruciale ruolo di regolazione della formazione ed evoluzione dei contatti sinaptici, oltre a un intenso “dialogo” con i neuroni.

Nel sistema nervoso vi sono anche piccole cellule dette microgliali, che derivano da macrofagi originati fuori dal sistema nervoso, e svolgono funzione fagocitica e di presentazione di antigeni nel sistema nervoso. Essi svolgono un ruolo importante in molte patologie autoimmuni e neurodegenerative del SNC.

La glia propriamente detta – o *macroglia* – è invece costituita da tre fondamentali tipi cellulari: oligodendrociti, cellule di Schwann e astrociti (Figura).

Gli oligodendrociti - sono cellule con relativamente pochi (oligo) prolungamenti, con i quali provvedono a rivestire gli assoni dei neuroni centrali; in molti casi il rivestimento si avvolge più volte, creando una vera e propria guaina mielinica, come fanno le *cellule di Schwann* attorno agli assoni periferici.

Gli astrociti - sono cellule a forma irregolare, stellata, con molti prolungamenti, buona parte dei quali termina in pedicelli. Questi possono fare contatto con i capillari ematici, di cui rivestono così la parete ostacolando e controllando la diffusione di sostanze dal vaso all'interstizio (*barriera ematoencefalica*), oppure con cellule nervose, specialmente nelle regioni delle sinapsi, che risultano avvolte e protette dai prolungamenti degli astrociti.

La glia svolge molte funzioni importanti per il sistema nervoso: funzione di supporto strutturale e di separazione e isolamento di gruppi di neuroni e contatti sinaptici; guida per la migrazione di neuroni durante lo sviluppo (*glia radiale*) e la crescita degli assoni; barriera ematoencefalica; formazione del rivestimento mielinico; azione fagocitica eliminando residui cellulari a seguito di danno o morte neuronale; azioni di supporto ai neuroni, ricaptando neurotrasmettitori liberati nelle sinapsi, fornendo precursori e regolando in alcuni casi le proprietà dei contatti sinaptici.

Le molte funzioni della glia

Nell'ultimo decennio il quadro delle modalità di interazione della glia con i neuroni è apparso sempre più variegato e complesso. I pedicelli astrocitari che attorniano le sinapsi non solo impediscono che i neurotrasmettitori diffondano verso altre sinapsi (*spillover*), ma contribuiscono a terminare l'azione del trasmettitore esprimendo alte quantità di neurotrasportatori, e presentano recettori per i neurotrasmettitori stessi (principalmente metabotropici ma in molti casi anche recettori-canale) che attivano specifiche risposte dell'astrocita alla attività delle sinapsi neuronali. Grazie alla elevata permeabilità di membrana al K^+ , gli astrociti contribuiscono a impedire che i livelli di questo elettrolita si elevino nell'interstizio a seguito di attività neuronale. Per lo stesso motivo, gli astrociti hanno potenziale di membrana molto negativo; tendono quindi a depolarizzare in risposta alla attivazione di canali sia cationici che anionici (cioè in risposta sia al glutammato che al GABA, se esprimono recettori per questi trasmettitori); tendenzialmente, comunque, la risposta gliale non è tanto rilevante in termini di attività elettrica, quanto piuttosto di flussi ionici; particolarmente ri-

levante è la possibilità degli astrociti di generare risposte di Ca^{2+} intracellulare, spesso coordinate grazie alla presenza di gap-junctions tra pedicelli vicini. Questi processi possono contribuire a sincronizzare la scarica di neuroni vicini.

Gli astrociti possono inoltre fornire ai neuroni precursori che agevolano la sintesi di neurotrasmettitori: ricaptano ad esempio glutammato (impedendo il suo accumulo e la conseguente desensitizzazione recettoriale e eccitotossicità), lo trasformano in glutamina che poi rilasciano in modo che il neurone la possa utilizzare per risintetizzare glutammato; questo permette al neurone di sostenere una intensa attività sinaptica.

Molti dati, infine, suggeriscono che la glia possa produrre e secernere fattori di crescita, ed in alcuni casi contribuire alla elaborazione stessa dei segnali sinaptici (Figura 35), grazie alla stretta interazione e comunicazione con i neuroni e al rilascio di neuromodulatori.

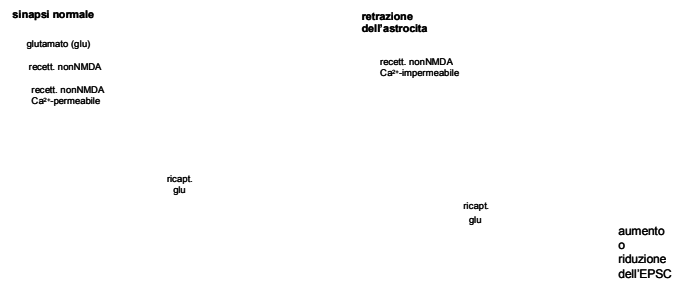


Figura 34. – I possibili punti di modulazione della trasmissione sinaptica. Ognuno di questi passaggi metabolici o funzionali può essere influenzato da farmaci, da altri mediatori, dal mediatore stesso implicato nella trasmissione sinaptica, e dalle modalità di attivazione della sinapsi e delle sinapsi vicine

<u>Le Cellule Nervose.....</u>	<u>1</u>
<u>L'organizzazione funzionale del neurone.....</u>	<u>1</u>
<u>Le proprietà elettriche del neurone.....</u>	<u>1</u>
<u>Il potenziale di riposo.....</u>	<u>2</u>
<u>I "potenziali" del neurone.....</u>	<u>3</u>
<u>Capacità della membrana -.....</u>	<u>3</u>
<u>Resistenze elettriche e conduttanze -.....</u>	<u>3</u>
<u>Proprietà di cavo della fibra nervosa. -.....</u>	<u>3</u>
<u>Potenziale d'azione. -.....</u>	<u>4</u>
<u>Propagazione del potenziale d'azione -.....</u>	<u>6</u>
<u>Direzionalità della propagazione -.....</u>	<u>6</u>
<u>Potenziale generatore e potenziali sinaptici -.....</u>	<u>7</u>
<u>Attività elettrica del neurone ed elaborazione dei segnali.....</u>	<u>7</u>
<u>Sommazione spaziale dei segnali elettrici -.....</u>	<u>8</u>
<u>Sommazione temporale di segnali elettrotonici -.....</u>	<u>8</u>
<u>Soglia di attivazione. Spike encoder -.....</u>	<u>9</u>
<u>Comportamento dinamico -.....</u>	<u>9</u>
<u>Modulazione d'ampiezza, modulazione di frequenza e conversione analogico-digitale -.....</u>	<u>10</u>
<u>Comunicazione tra neuroni.....</u>	<u>10</u>
<u>Sinapsi e giunzioni -.....</u>	<u>11</u>
<u>Sinapsi elettriche e chimiche.....</u>	<u>11</u>
<u>Direzionalità -.....</u>	<u>12</u>
<u>Rapidità -.....</u>	<u>12</u>
<u>Gradualità della trasmissione sinaptica -.....</u>	<u>12</u>
<u>Modulazione delle risposte sinaptiche -.....</u>	<u>12</u>
<u>La trasmissione sinaptica.....</u>	<u>13</u>
<u>Liberazione del neurotrasmettitore -.....</u>	<u>13</u>
<u>Il ricircolo delle vescicole sinaptiche -.....</u>	<u>14</u>
<u>Il ciclo del neurotrasmettitore -.....</u>	<u>16</u>
<u>I neurotrasmettitori.....</u>	<u>17</u>
<u>Neurotrasmettitori classici.....</u>	<u>18</u>
<u>L'acetilcolina (ACh) -.....</u>	<u>18</u>
<u>Le catecolamine -.....</u>	<u>18</u>
<u>La serotonina (5-HT) -.....</u>	<u>19</u>
<u>L'istamina (HA) -.....</u>	<u>19</u>
<u>Il glutammato -.....</u>	<u>19</u>
<u>Il GABA -.....</u>	<u>19</u>
<u>La glicina -.....</u>	<u>20</u>
<u>L'ATP, adenosin-trifosfato -.....</u>	<u>20</u>
<u>Neuropeptidi e neuromodulatori.....</u>	<u>20</u>
<u>Oppiacei endogeni -.....</u>	<u>20</u>
<u>La sostanza P -.....</u>	<u>21</u>
<u>Vasopressina e ossitocina -.....</u>	<u>21</u>
<u>Altri neuropeptidi -.....</u>	<u>21</u>
<u>Colocalizzazione -.....</u>	<u>21</u>
<u>Endocannabinoidi -.....</u>	<u>21</u>
<u>Ossido nitrico -.....</u>	<u>22</u>
<u>I recettori dei neurotrasmettitori.....</u>	<u>22</u>
<u>Neurotrasmettitori attivi su canali.....</u>	<u>23</u>
<u>Recettori eccitatori - L'ACh.....</u>	<u>23</u>
<u>Il glutammato.....</u>	<u>23</u>

<u>Gli altri recettori-canale eccitatori.....</u>	<u>24</u>
<u>Recettori inibitori - Il GABA -.....</u>	<u>24</u>
<u>La glicina -.....</u>	<u>25</u>
<u>Trasmittitori attivi attraverso proteine G.....</u>	<u>25</u>
<u>Azioni eccitatorie periferiche -.....</u>	<u>25</u>
<u>Azioni inibitorie periferiche -.....</u>	<u>25</u>
<u>Azione eccitatoria nel SNC -.....</u>	<u>26</u>
<u>Azione inibitoria nel SNC -.....</u>	<u>27</u>
<u>Neurochimica e neurofisiologia -.....</u>	<u>27</u>
<u>Modulazione della trasmissione sinaptica.....</u>	<u>28</u>
<u>Aspetti dinamici della trasmissione sinaptica.....</u>	<u>29</u>
<u>Tachifilassi -.....</u>	<u>29</u>
<u>Depressione sinaptica -.....</u>	<u>29</u>
<u>Facilitazione e potenziamento -.....</u>	<u>29</u>
<u>Plasticità neuronale.....</u>	<u>29</u>
<u>Neuroni e glia.....</u>	<u>30</u>
<u> Gli oligodendrociti -.....</u>	<u>30</u>
<u> Gli astrociti -.....</u>	<u>30</u>
<u>Le molte funzioni della glia.....</u>	<u>31</u>

riccardo fesce
docente di fisiologia - centro di neuroscienze
università dell'Insubria - varesse
via a. da giussano 10 - busto arsiizio (va)
tel. 0331-339451 - fax 0331-339459
[*riccardo.fesce@uninsubria.it*](mailto:riccardo.fesce@uninsubria.it)