

Plasticità sinaptica

- J. G. Nicholls, A. R. Martin, P. A. Fuchs, D.A. Brown, M.E. Diamond, D.A. Weisblat. *From neuron to brain*. Fifth Edition, Sinauer Associates, Inc.
- E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessell. *Principles of neural science*. McGraw-Hill Companies, Inc.
- D. J. Aidley. *The physiology of excitable cells*. Cambridge University Press.
- E. D'Angelo, A. Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi*. Edi-Ermes, Milano.
- D. Purves, G.J. Augustine, D. Fitzpatrick, W.C. Hall, A.S. LaMantia, L.E. White. *Neuroscienze*. Zanichelli (quarta edizione italiana condotta sulla quinta edizione americana)
- S.-H. Shi, Y. Hayashi, R. S. Petralia, S. H. Zaman, R. J. Wenthold, K. Svoboda, R. Malinow. Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science* **284**, 1811-1816, 1999.
- M. C. Ashby, S. A. De La Rue, G. S. Ralph, J. Uney, G. L Collingridge, J. M. Henley. Removal of AMPA receptors (AMPA receptors) from synapses is preceded by transient endocytosis of extrasynaptic AMPARs. *J. Neurosci.* **24**, 5172-5176, 2004.
- G. Bi, M. Poo. Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J. Neurosci.* **18**, 10464-10472, 1998.
- R. A. Nicoll. A brief history of long-term potentiation. *Neuron* **93**, 281-290, 2017.

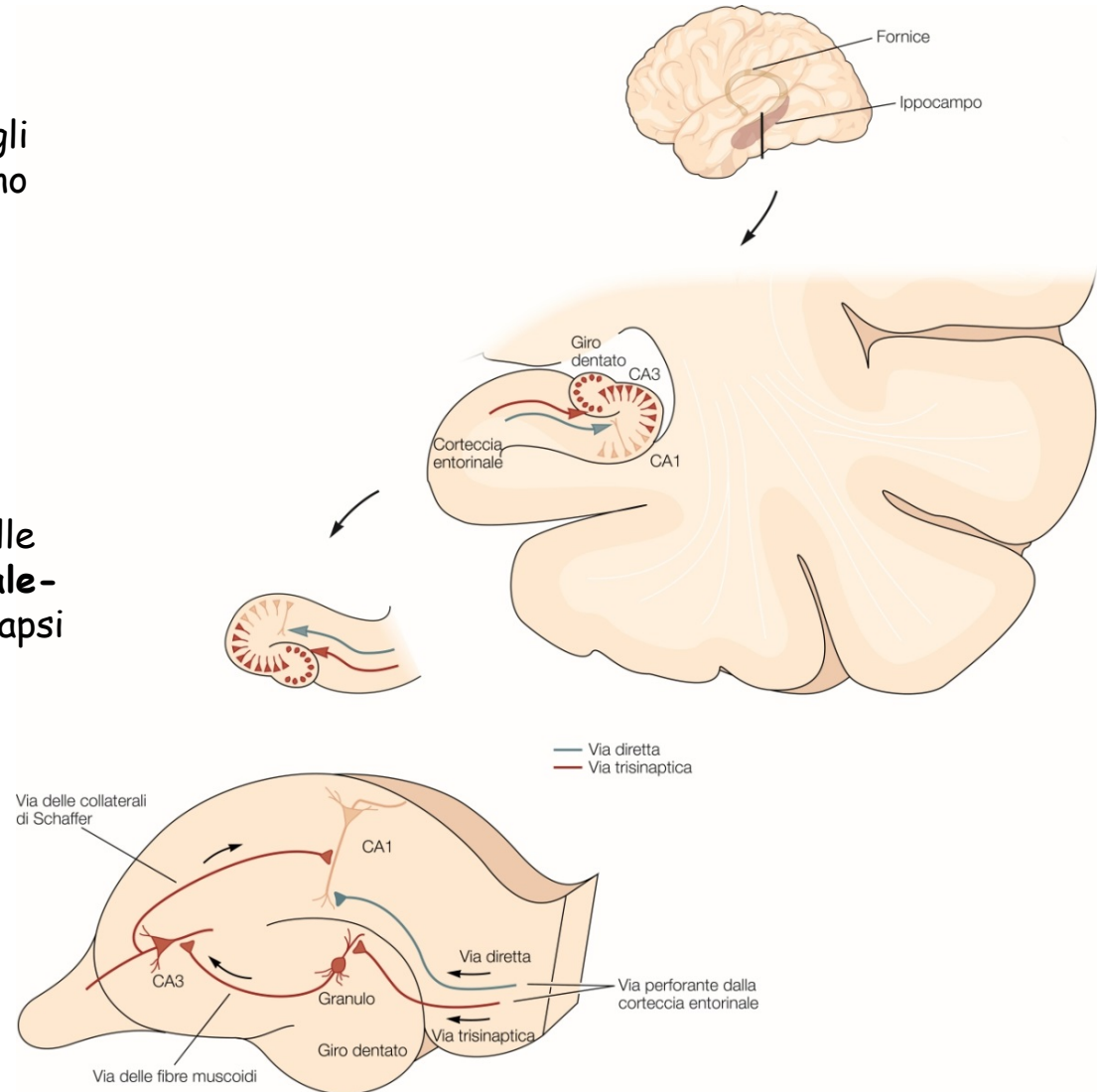
Cambiamenti di lunga durata

Potenziamento a lungo termine

Il potenziamento a lungo termine nell'ippocampo

Anatomia dell'ippocampo

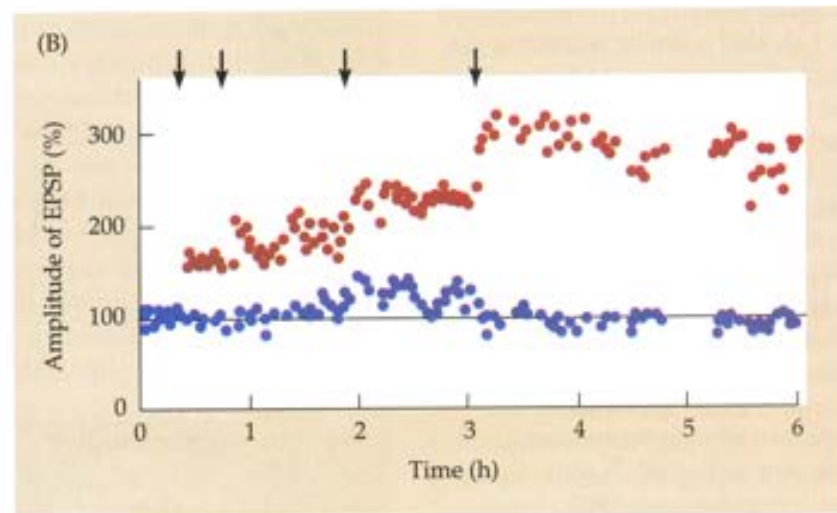
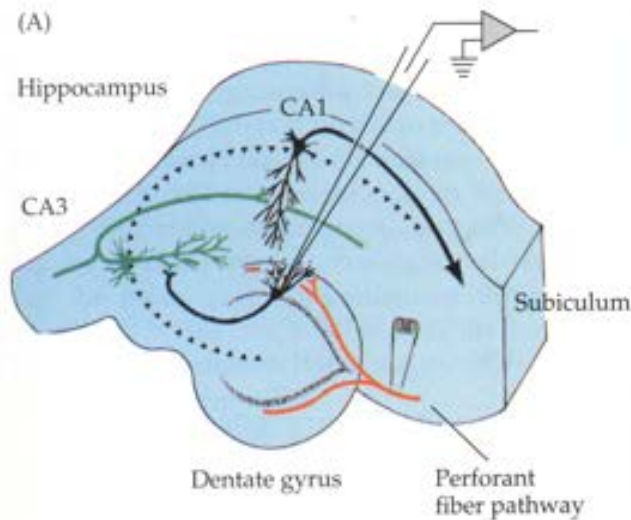
L'ippocampo riceve informazioni tramite gli assoni della **via perforante** che forniscono afferenze dirette e indirette ai **neuroni piramidali CA1**. Nella **via trisinaptica** indiretta gli assoni della via perforante formano sinapsi eccitatorie sulle **cellule granulari del giro dentato**, i cui assoni costituiscono la **via delle fibre muscoidi** che stabiliscono sinapsi eccitatorie con i **neuroni piramidali CA3**. Le efferenze delle cellule piramidali formano la **via collaterale-commissurale di Schaffer** che forma sinapsi eccitatorie con le cellule piramidali CA1 ipsilaterali e con quelle dell'ippocampo controlaterale.



Il potenziamento a lungo termine nell'ippocampo

LTP omosinaptico

L'aumento dell'attività nella via delle fibre perforanti potenzia la risposta delle cellule dei granuli nel giro dentato.



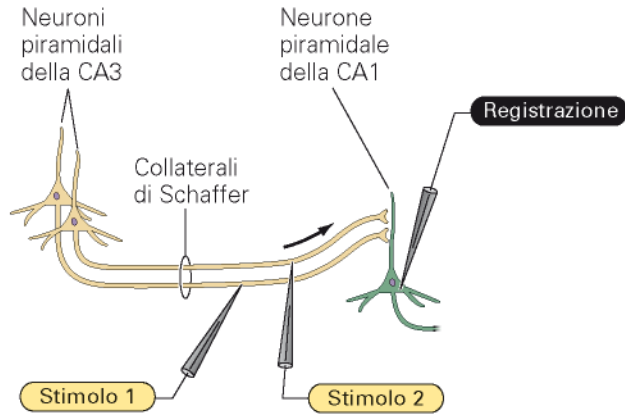
Nicholls et al. *From neuron to brain*

La via delle fibre perforanti viene stimolata per 10 s alla frequenza di 15 stimoli/s ai tempi indicati dalle frecce. La risposta viene registrata dalle cellule dei granuli con cui le fibre perforanti sinaptano (cerchi rossi). Ciascun tetano provoca l'aumento della risposta che permane per ore. I cerchi blu sono registrazioni della risposta di controllo da cellule dei granuli dell'ippocampo controlaterale in cui la via delle fibre perforanti non è sottoposta a stimolazione ripetitiva.

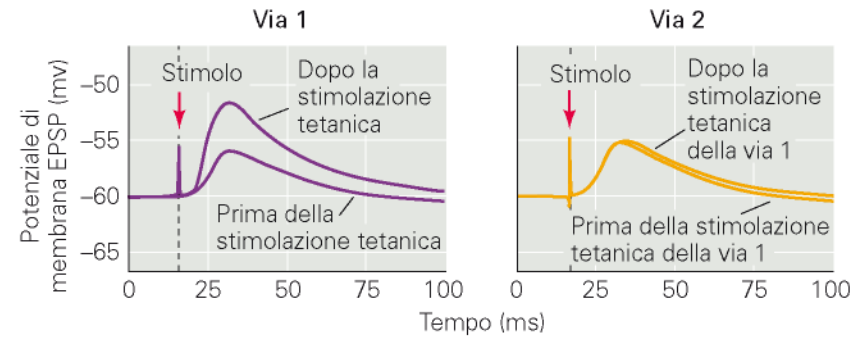
Il potenziamento a lungo termine nell'ippocampo

Specificità dell'LTP omosinaptico

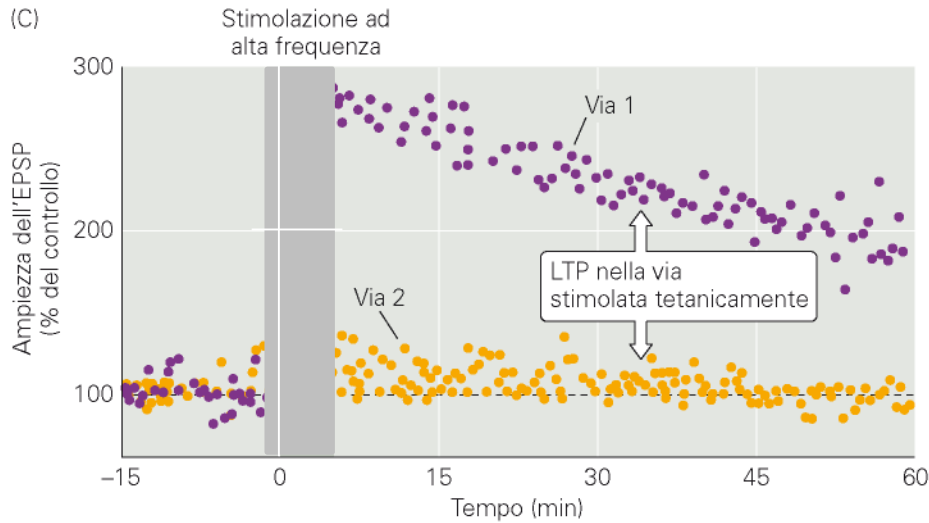
(A)



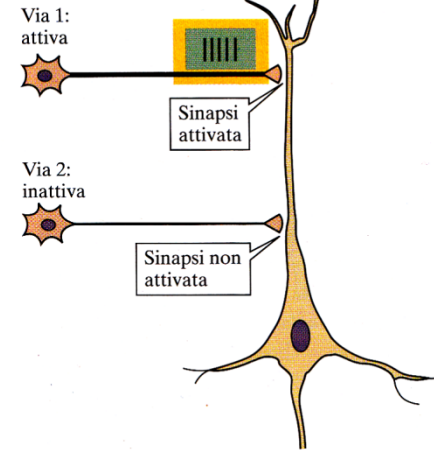
(B)



(C)



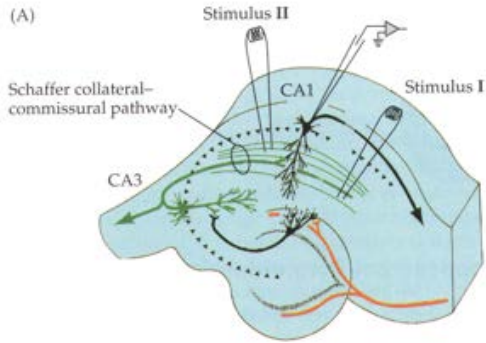
Specificità



Purves et al. *Neuroscienze*

Il potenziamento si osserva solo nella via 1 che è stata sottoposta a stimolazione ad alta frequenza. L'LTP è una risposta circoscritta alle sole sinapsi attivate e non estesa alle sinapsi circostanti non attive.

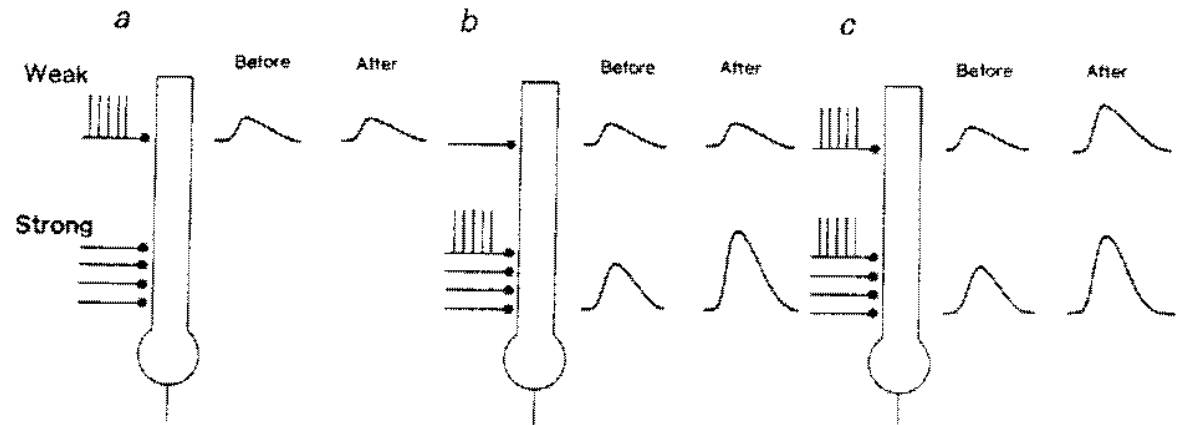
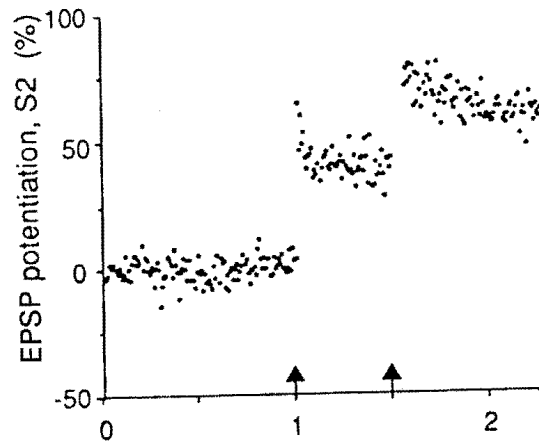
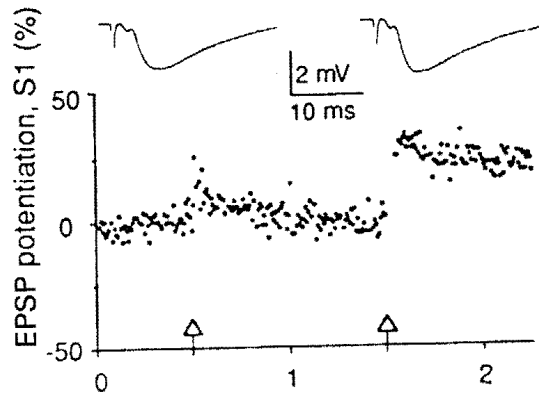
Il potenziamento a lungo termine nell'ippocampo



LTP associativo

L'attività ripetitiva di una via può aumentare l'efficacia di un'altra via per periodi di tempo prolungati.

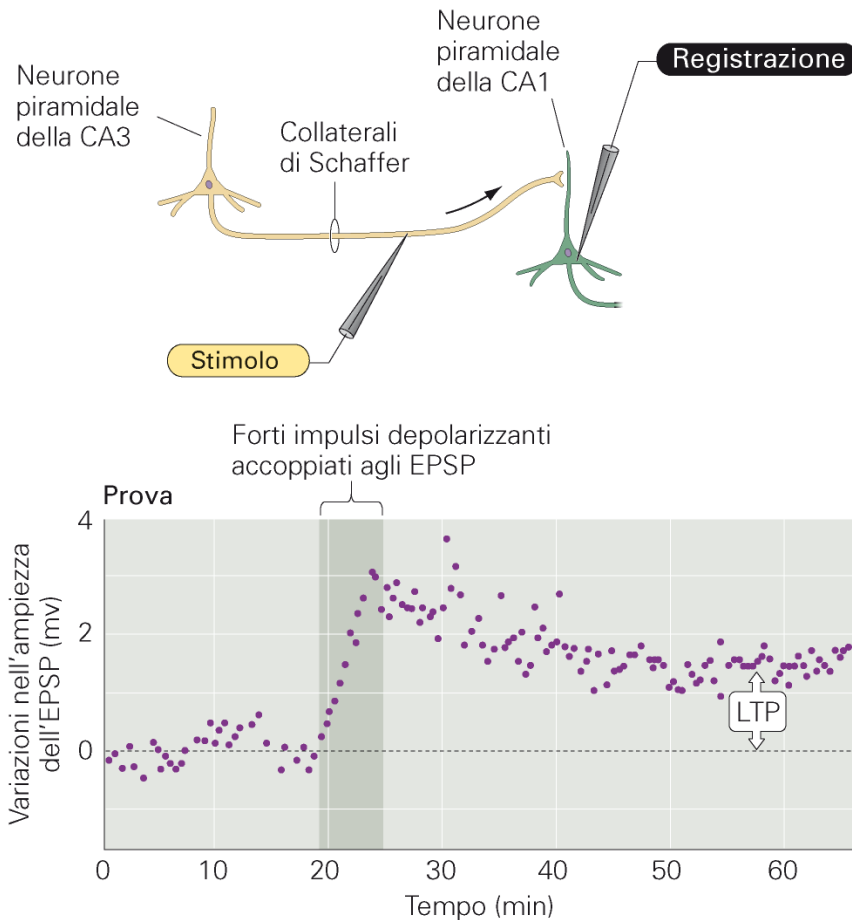
LTP alle sinapsi sulle cellule CA1 in una fetta di ippocampo. Gli stimoli sono dati su afferenze diverse. Gli stimoli SI sono più deboli di SII, eccitano cioè un minor numero di fibre presinaptiche. Le frecce indicano una stimolazione tetanica ad alta frequenza. I punti mostrano l'ampiezza della risposta postsinaptica ad un singolo stimolo espressa come incremento percentuale rispetto alla media delle risposte nei primi 30 min dell'esperimento. La stimolazione ad alta frequenza nella via SI produce solo un aumento temporaneo dell'EPSP e nessun LTP (freccia a 30 min, a). La stimolazione alla stessa frequenza nella via SII produce LTP in questa via, ma nessun effetto sulla via SI (freccia a 1 h, b, **cooperatività e specificità dell'input**). Quando le due vie sono stimolate contemporaneamente con tetani ad alta frequenza si ha LTP in entrambe (freccie a 1h 30min, c, **associatività**).



Una sinapsi è potenziata se, e solo se, è attiva quando la regione dendritica su cui termina è depolarizzata a sufficienza.

Il potenziamento a lungo termine nell'ippocampo

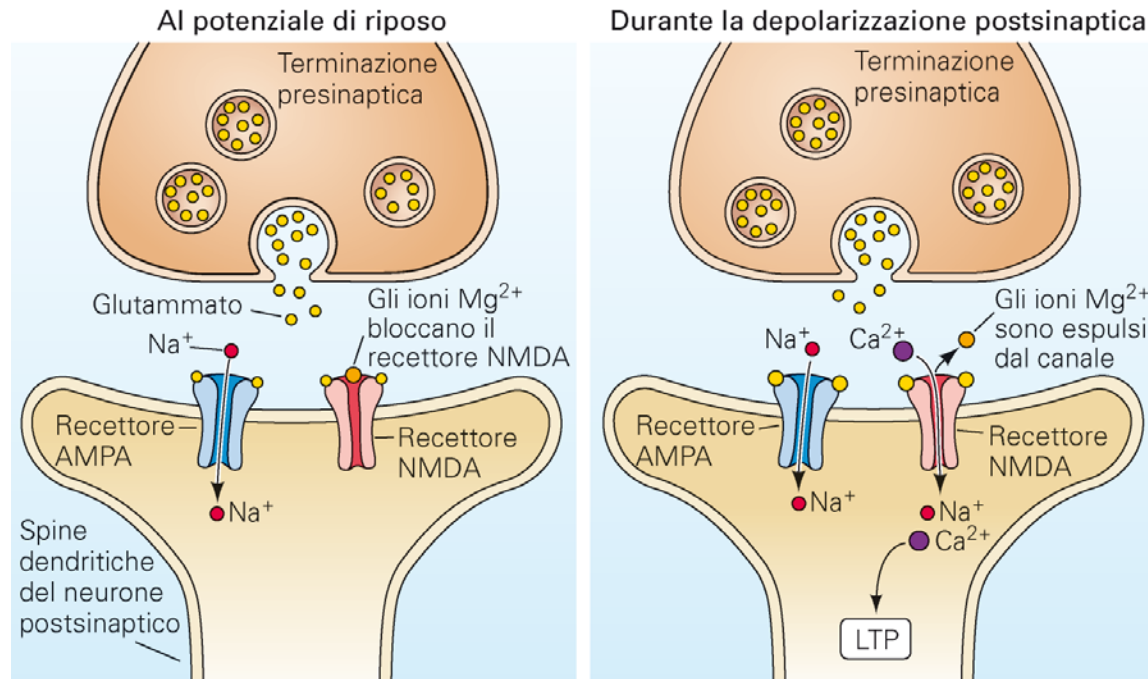
L'LTP si verifica quando la depolarizzazione postsinaptica è accoppiata alla stimolazione sinaptica



Stimoli singoli vengono applicati ad una collaterale di Schaffer che sinapta con una cellula piramidale CA1. Gli EPSP così evocati non mostrano segno di modifiche nell'efficacia sinaptica. Tuttavia, se durante la stimolazione presinaptica la membrana postsinaptica viene fortemente depolarizzata, gli EPSP vengono potenziati e il potenziamento permane a lungo anche dopo la cessazione dello stimolo depolarizzante. La necessità della **coincidenza** tra l'attivazione degli elementi pre- e postsinaptici è il requisito essenziale del postulato della teoria dell'apprendimento proposta da Hebb nel 1949: quando un assone della cellula A (la cellula presinaptica) prende parte ripetitivamente nel processo di eccitamento della cellula B (la cellula postsinaptica), qualche cambiamento strutturale o metabolico subentra in una o entrambe le cellule in modo che l'efficienza di A, come cellula eccitatrice di B, aumenti.

Induzione dell'LTP

Meccanismo molecolare nelle cellule CA1 dell'ippocampo



Sulla membrana postsinaptica sono presenti recettori AMPA e recettori NMDA. Al potenziale di riposo solo gli AMPA si aprono in risposta alla secrezione di Glu dalla cellula presinaptica perché i canali NMDA sono bloccati dal Mg²⁺. La depolarizzazione della membrana postsinaptica (ottenuta sperimentalmente con stimolazione ad alta frequenza che provoca sommazione degli EPSP o con iniezione di correnti depolarizzanti) rimuove il Mg²⁺ dal canale permettendo agli ioni Ca²⁺ di entrare attraverso il canale NMDA e innescare il meccanismo alla base dell'LTP. Nel caso dell'LTP associativo la stimolazione intensa di una sinapsi fa sì che la corrente depolarizzante si propaghi elettrotonicamente alle sinapsi vicine rimuovendo lo ione Mg²⁺ anche dai canali NMDA ivi presenti rendendo possibile l'LTP anche in tali sinapsi.

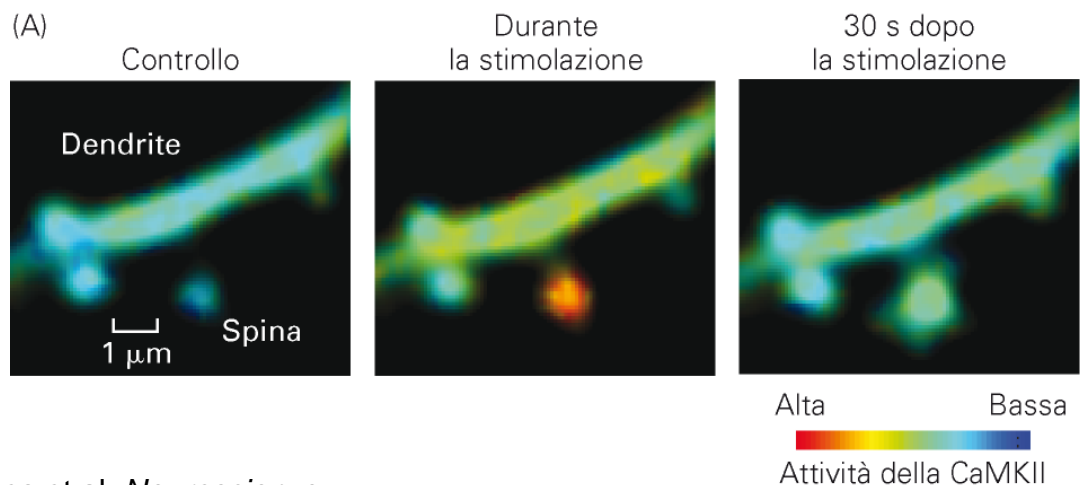
Induzione dell'LTP

Meccanismo molecolare nelle cellule CA1 dell'ippocampo

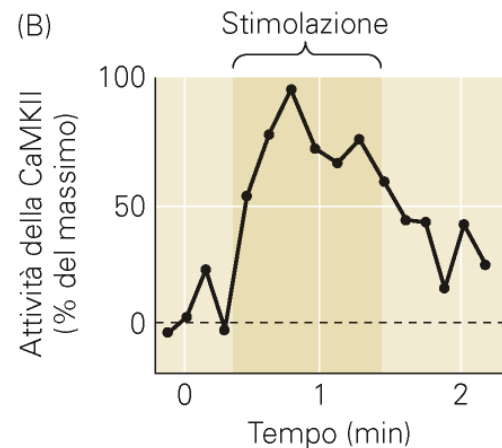
Aumento della $[Ca^{2+}]_i$ * causato da
influsso di Ca^{2+} attraverso i canali NMDA del glutammato (Glu)**

*L'aumento della $[Ca^{2+}]_i$ è stato misurato direttamente durante la stimolazione ripetitiva; quando tale aumento è bloccato con l'uso di tamponi intracellulari l'LTP è assente.

**Gli antagonisti dei recettori NMDA bloccano l'induzione di LTP.



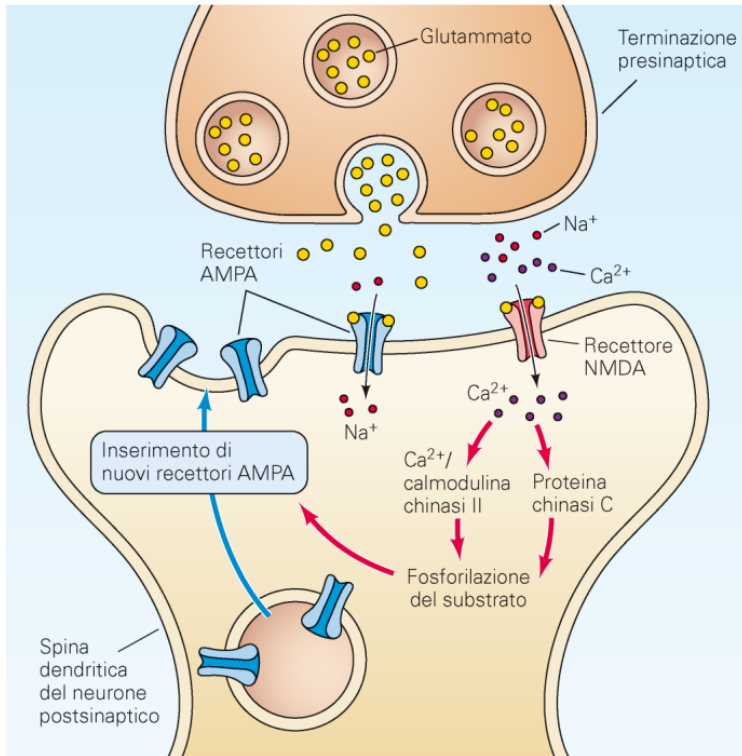
Purves et al. *Neuroscienze*



Il Ca^{2+} promuove l'attivazione di protein chinasi Ca-dipendenti quali la PKC e la CaMKII e aumenta i livelli intracellulari di cAMP mediante stimolazione dell'adenilciclastasi. L'aumento dell'attività della CaMKII durante la stimolazione dei recettori NMDA è stato monitorato a livello delle singole spine dendritiche.

Espressione dell'LTP

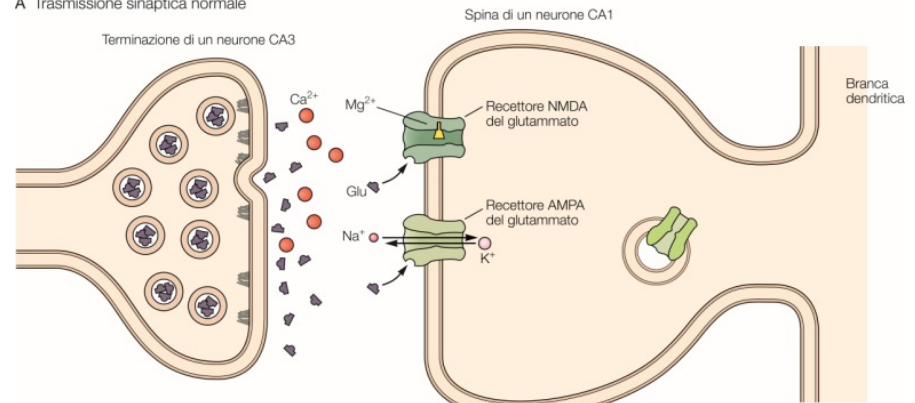
Purves et al. *Neuroscienze*



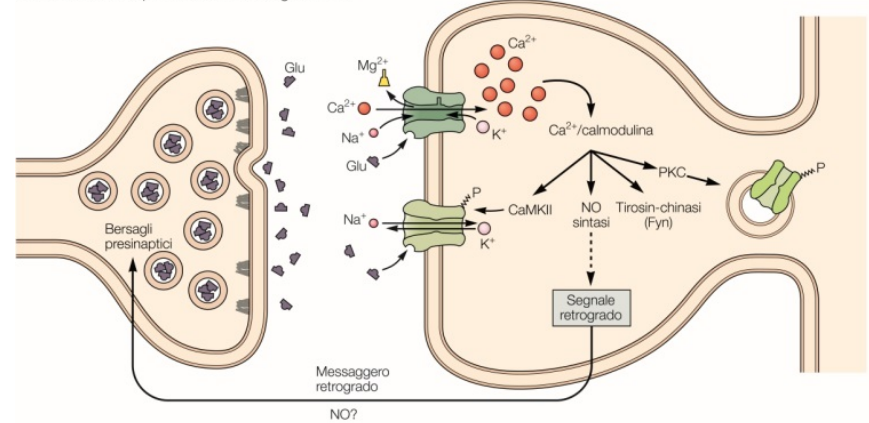
Attivazione di vie metaboliche intracellulari ($CaMKII$, PKC) che promuovono

- la fosforilazione di canali AMPA la cui conduttanza viene aumentata
- la mobilitazione di riserve citoplasmatiche di canali AMPA che vengono inseriti nella membrana post-sinaptica
- la sintesi di un messaggero retrogrado che agisce sul terminale presinaptico aumentando la liberazione di Glu.

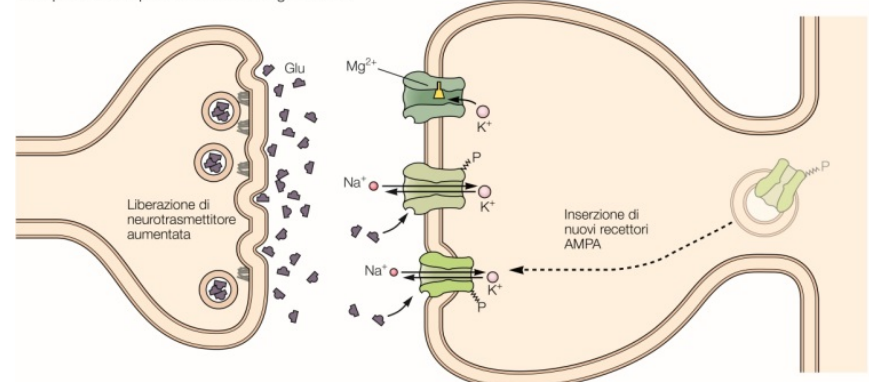
A Trasmissione sinaptica normale



B Induzione di un potenziamento a lungo termine

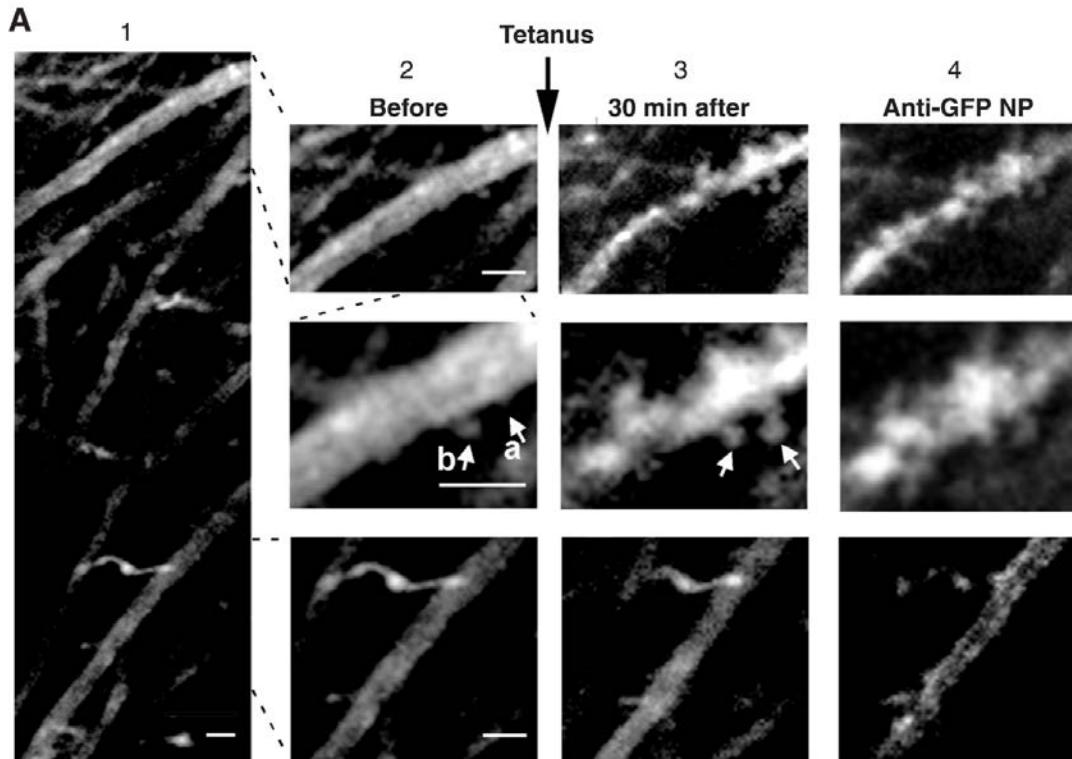


C Espressione di potenziamento a lungo termine

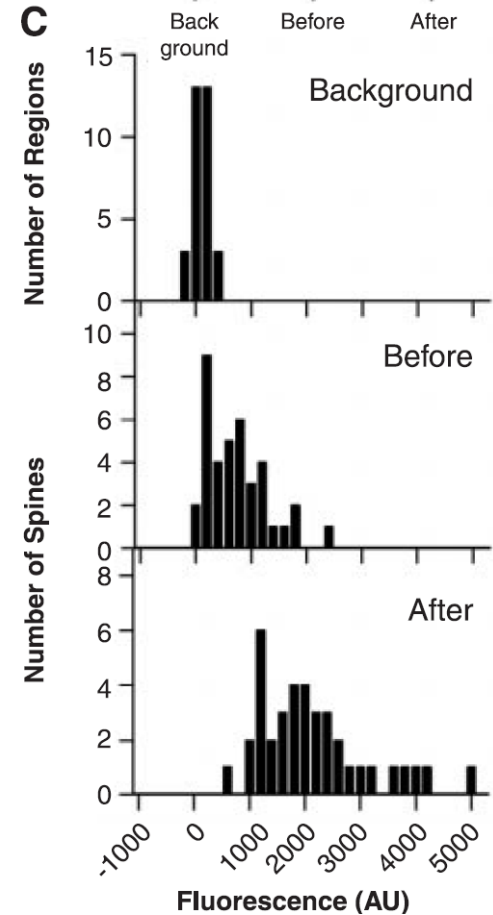
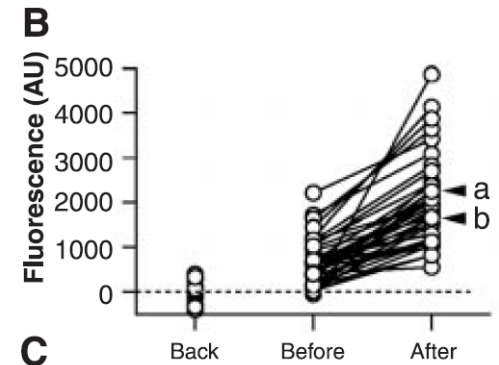


Espressione dell'LTP

La marcatura della subunità GluA1 del recettore AMPA permette di evidenziare un aumento di questi recettori sulle spine dendritiche in risposta alla stimolazione ripetitiva che induce LTP.



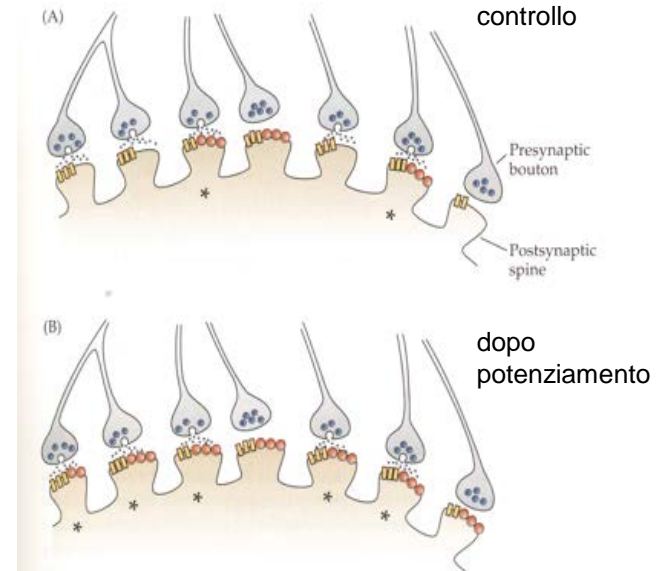
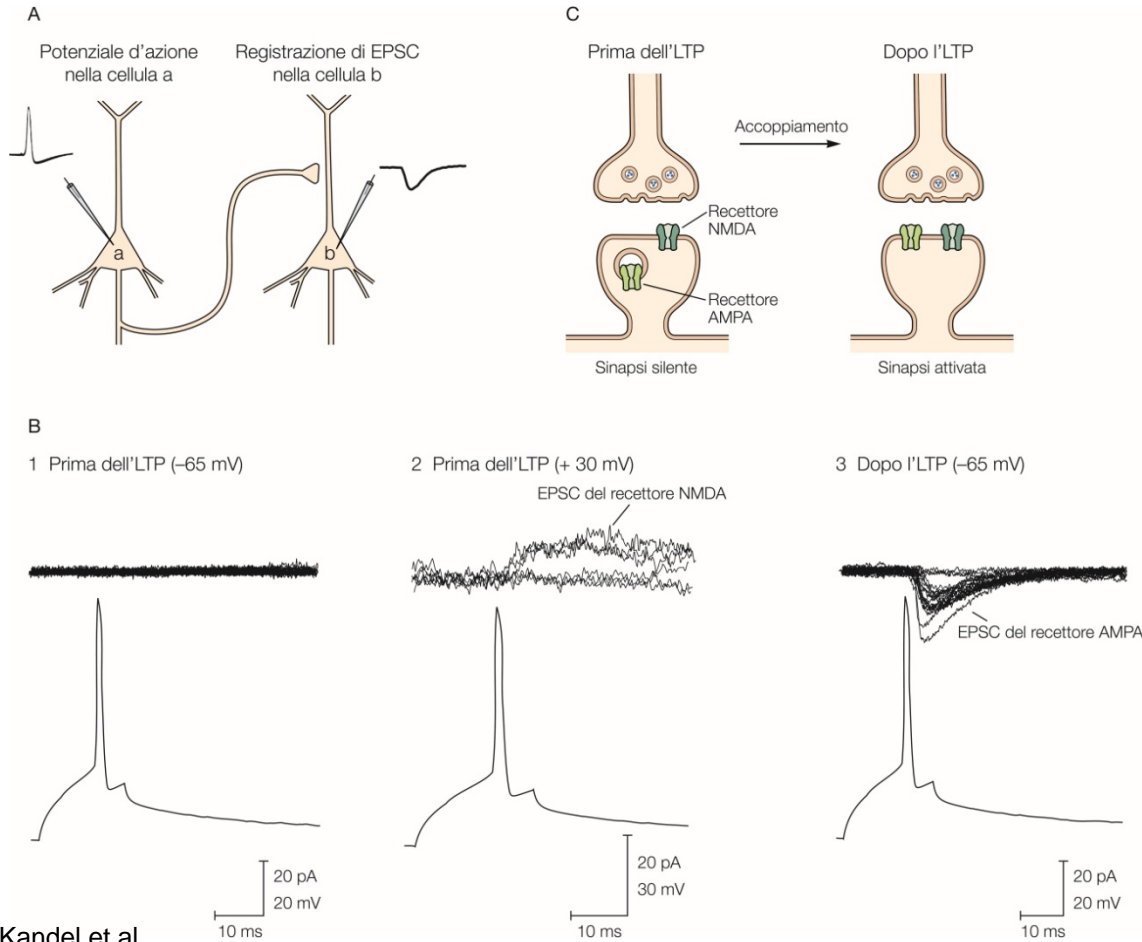
Barre di calibrazione: 2 μm



Espressione dell'LTP

La membrana post-sinaptica è una struttura dinamica

Sinapsi silenziose possono diventare attive per la comparsa di nuovi recettori AMPA



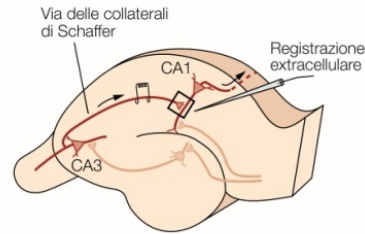
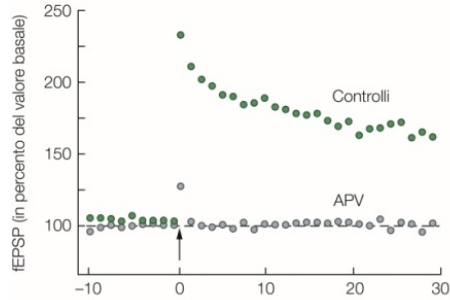
Nicholls et al.

Nel controllo 3 delle 5 sinapsi attivate (liberazione di Glu dalla terminazione) sono silenziose (sono presenti solo recettori NMDA). Dopo potenziamento, l'inserimento di recettori AMPA in queste spine tutte e 5 le sinapsi sono attive e la risposta alla stessa liberazione di Glu è potenziata.

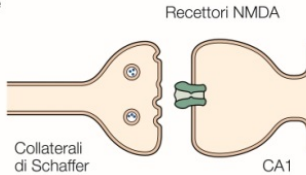
- Viene evocato un PdA nel neurone a e si registra la EPSC nel neurone b. Nelle sinapsi **silenziose (B)** la EPSC è = 0.
- Prima dell'LTP non si ha nessuna EPSC se V_m è bloccato a -65 mV. Se V_m è bloccato a +30 mV si registra una EPSC dovuta all'apertura dei canali NMDA. Dopo LTP compaiono EPSC rapide dovute all'apertura dei canali AMPA
- Meccanismo di attivazione di una sinapsi silente attraverso l'inserimento di canali AMPA nella spina dendritica

I meccanismi alla base dell'LTP sono diversi nelle tre sinapsi della via trisinaptica dell'ippocampo

A LTP della via delle collaterali di Schaffer

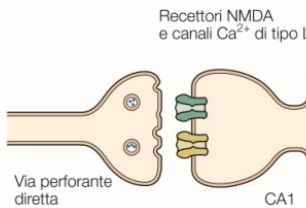
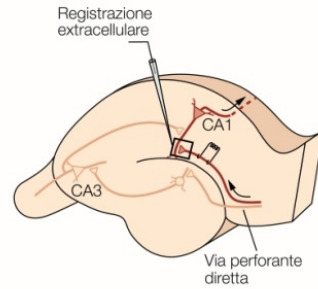
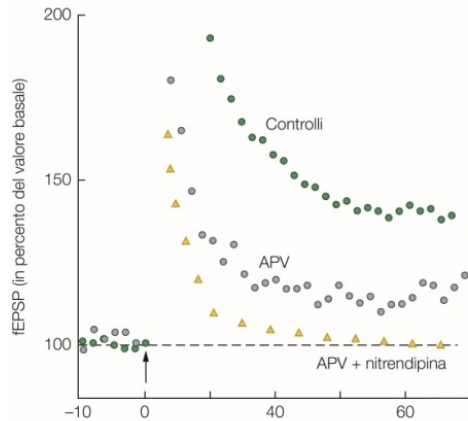


Fattori importanti nelle diverse forme di LTP



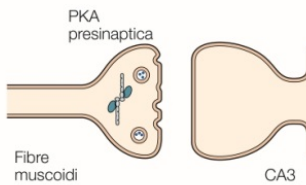
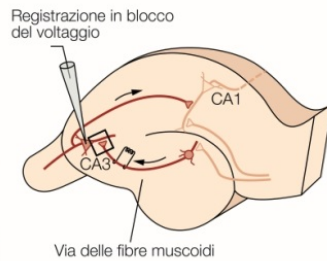
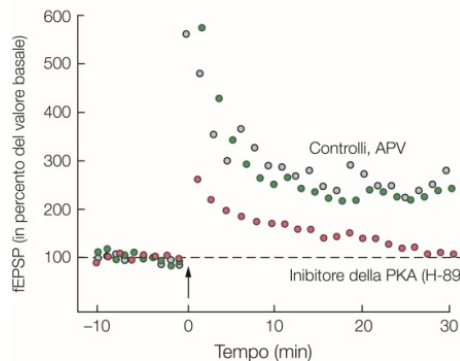
Nelle sinapsi tra **fibre di Schaffer** e **cellule CA1** l'LTP è un fenomeno **post-sinaptico** e avviene per attivazione dei canali NMDA.

B LTP della via perforante diretta



Nelle sinapsi tra **fibre perforanti** e **cellule CA1** l'LTP è un fenomeno **post-sinaptico** e dipende in parte dall'attivazione dei canali NMDA e in parte dall'apertura dei VOC del Ca^{2+}

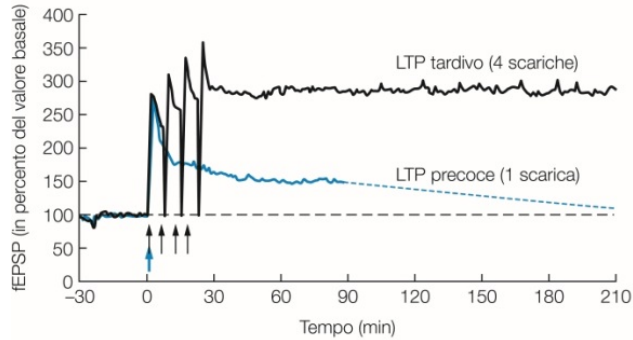
C LTP della via delle fibre muscolari



Nelle sinapsi tra **fibre muscolari** e **cellule CA3** l'LTP è un fenomeno **presinaptico** indipendente dai recettori NMDA, ma sempre legato all'aumento della $[Ca^{2+}]_i$; che attraverso l'attivazione di una AC Ca-Cam dipendente promuove la produzione di cAMP e l'attivazione della PKA. L'aumento del release di NT potrebbe essere legato alla fosforilazione di proteine implicate nel processo di esocitosi delle vescicole sinaptiche.

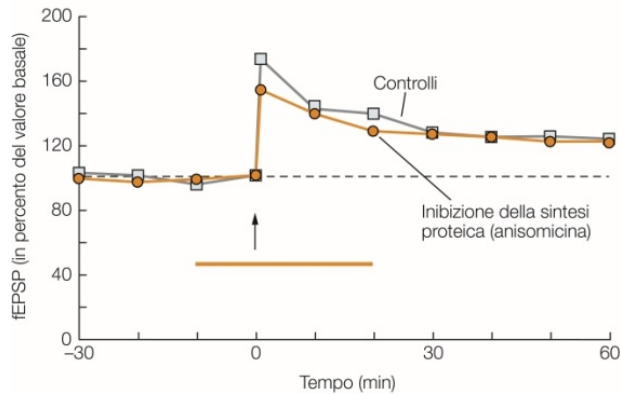
LTP precoce e LTP tardivo

A LTP precoce e tardivo



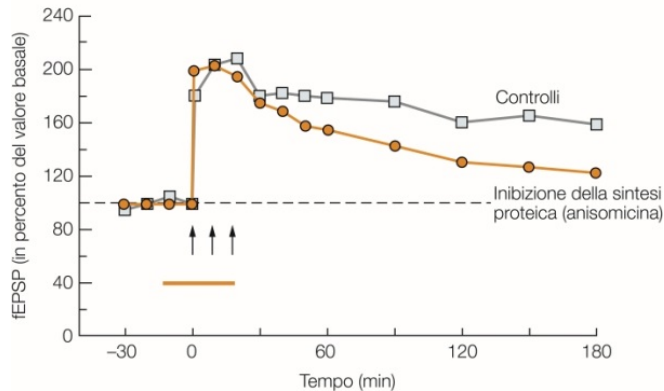
Una sola scarica di PdA provoca un LTP che dura da 1 a 3 ore (**LTP precoce**), più scariche ripetute ogni 10 min provocano anche un **LTP tardivo** che dura molte ore

B L'LTP precoce non richiede sintesi proteica



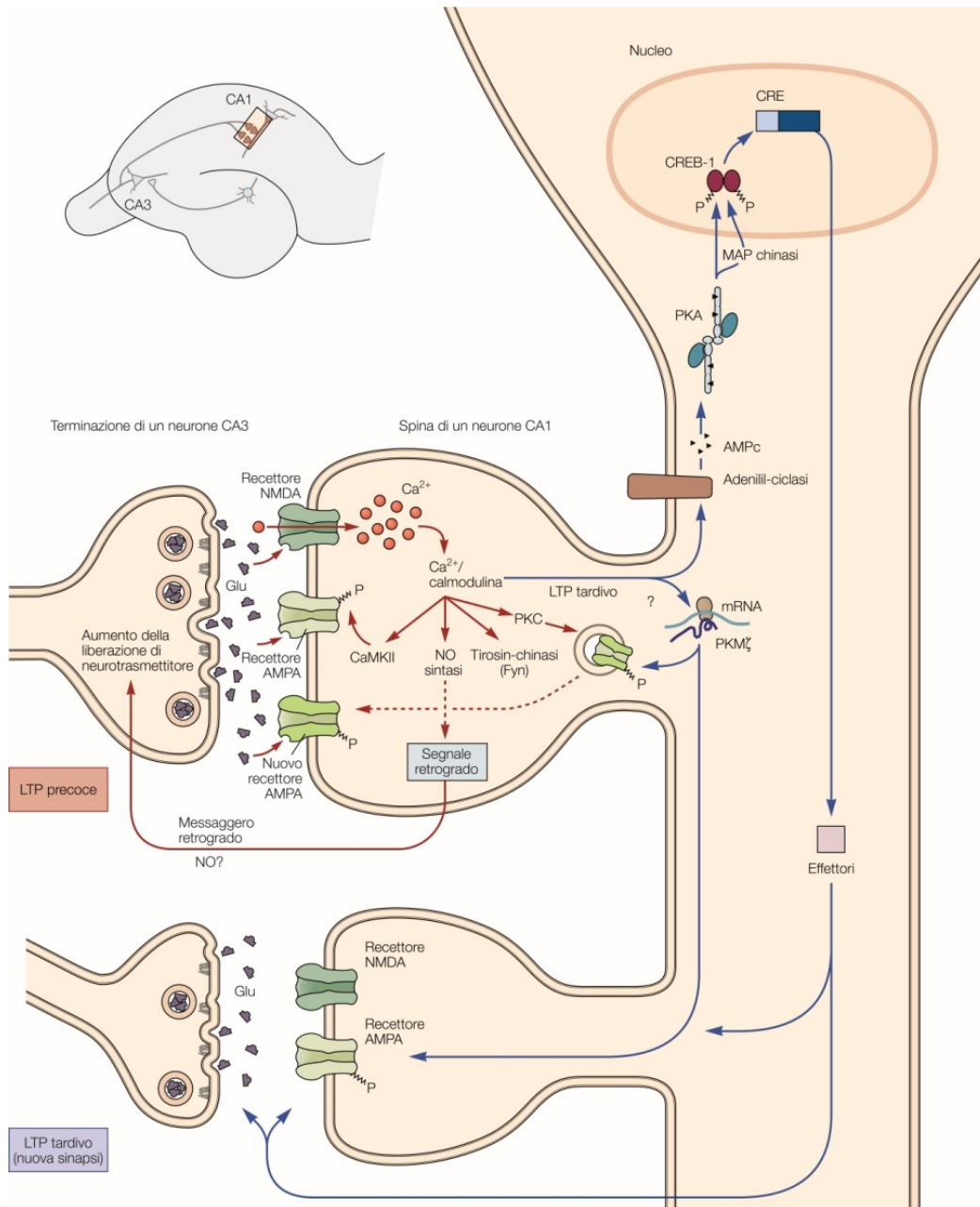
L'**LTP precoce** non è bloccato da inibitori della sintesi proteica. E' dovuto ai meccanismi descritti finora.

C Per l'LTP tardivo è necessaria la sintesi proteica



L'**LTP tardivo** è assente in presenza di inibitori della sintesi proteica suggerendo che il mantenimento dell'LTP per periodi molto lunghi, oltre la seconda ora dopo la sua induzione, è dovuto a **cambiamenti dell'espressione genica e alla sintesi di nuove proteine**.

Modello dei meccanismi molecolari delle fasi precoce e tardiva dell'LTP



Un unico tetano induce un LTP precoce attivando gli NMDAR, che determinano l'ingresso di Ca^{2+} nella cellula postsinaptica e l'attivazione di secondi messaggeri. Dopo tetani ripetuti l'ingresso di Ca^{2+} attiva anche una AC CaM dipendente con conseguente aumento dei livelli di cAMP e attivazione della PKA. Ciò determina l'attivazione della MAP chinasi che nel nucleo fosforila CREB1, portando all'attivazione della trascrizione di molecole che regolano la sintesi di altre proteine, tra cui altri fattori di trascrizione, recettori AMPA e proteine implicate nella formazione di nuove spine dendritiche e nuove connessioni sinaptiche. La stimolazione ripetuta attiva anche, nei dendriti, la traduzione di mRNA che codifica PKM ζ , una forma costituzionalmente attiva di PKC. Questo determina un aumento di lunga durata del numero degli AMPAR presenti sulla membrana postsinaptica.