introducere în NEUROBIOLOGIE



FLORENTINA PLUTEANU

Editura Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

FLORENTINA PLUTEANU

INTRODUCERE ÎN NEUROBIOLOGIE

I

EDITURA UNIVERSITĂȚII DIN BUCUREȘTI
–2005

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Referenți științifici: Prof. univ. dr. Maria Luiza FLONTA
Prof. univ. dr. Grigore STRUNGARU

IV 517832

197/05

© Editura Universității din București
Șos. Panduri, 90-92, București – 050663; Telefon/Fax: 410.23.84
E-mail: editura_unibuc@yahoo.com
Internet: www.editura.unibuc.ro

B.C.U. Bucuresti
C20050680

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
PLUTEANU, CORNELIA FLORENTINA

Introducere în neurobiologie / Florentina Pluteanu – București: Editura Universității din București, 2005

Vol.
Bibliografie
ISBN 973-575-982-9
Vol. 1 – 2005 – Bibliografie – ISBN 973-575-983-7

57:616.8

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CUPRINS

Capitolul 1. Introducere 1

Scurt istoric 2

Anatomic 2

Embriologic 5

Fiziologic 5

Farmacologic 5

Psihologic 5

Capitolul 2. Structura şi funcţiile celulelor ţesutului nervos 12

Neuronii 13

Biologia moleculară a neuronilor 14

Organizarea celulară 17

Membrana plasmatică 18

Proprietăţile bistratului lipidic. 19

Proteinele membranare 19

Citoplasma 20

Proteine citoplasmatice 20

Organitele celulare 20

Citoscheletul 23

Nucleul 25

Particularităţi structurale ale neuronilor 25

Clasificarea neuronilor 26

Neuronii senzitivi 28

Neuronii motori 30

Interneuronii 31

Celulele gliale 32

Microgliile. 33

Celulele ependimare 33

Astrocitele 33

Oligodendrogliile 35

Celulele Schwann 35

Celulele satelit 36

Capitolul 3. Excitabilitatea neuronală 37

Potenţialul de repaus 37

Cum a apărut distribuţia inegală a sarcinilor? 40

Cum a apărut potenţialul electric? 42

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Bazele ionice ale potenţialului de repaus 44

Generarea şi conducerea potenţialelor postsinaptice 47

Proprietăţile pasive ale membranei 49

Integrarea potenţialelor postsinaptice şi generarea potenţialelor de acţiune. 53

Potenţialul de acţiune 54

Bazele ionice ale potenţialului de acţiune 55

Rolul ionilor de calciu în excitaţie 59

Bazele ionice al perioadei refractare 61

Conducerea potenţialelor de acţiune 62

Curenţii locali (curenţii Hermann) 63

Conducerea saltatorie 64

Codificarea frecvenţei 67

Capitolul 4. Transmiterea sinaptică 71

Sinapsele 71

Sinapsele electrice 71

Sinapsele chimice 74

Etapele transmiterii sinaptice **76**

Sinteza neurotransmiţătorilor 76

Eliberarea neurotransmiţătorilor 77

Activarea receptorilor de către moleculele de neurotransmiţători 77

Îndepărtarea neurotransmiţătorului din fanta sinaptică 80

Sinapsele inhibitoare **80**

Sinapsele excitatoare **81**

Plasticitatea sinaptică 83

Neurotransmiţătorii 84

Neurotransmiţătorii mici 85

Acetilcolina 85

Localizarea neuronilor colinergici 87

Farmacologia transmiterii colinergice 88

Rolul sistemului colinergic 89

Experimente pentru identificarea structurii unui receptor 89

Catecolaminele: dopamina, noradrenalina, adrenalina 91

Dopamina 91

Localizarea neuronilor dopaminergici 91

Farmacologia transmiterii dopaminergice 92

Rolul semnalizării dopaminergice 93

Noradrenalina 94

Localizarea neuronilor noradrenergici 94

Farmacologia noradrenergică 94

Rolul semnalizării noradrenergice 95

Serotonina 95

Localizarea neuronilor serotoninergici 95

Rolul semnalizării serotoninergice 96

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Farmacologia serotoninergică 96
Histamina 97
Localizarea neuronilor histaminergici 97
Rolul semnalizării histaminergice 97
Glutamatul 98
GABA – acidul gamma-amino-butiric 100
Glicina 101
Adenozin trifosfatul (ATP) 102
Monoxidul de azot (NO) 102
Neurotransmițătorii peptidici 103
Substanța P 104
Peptidele opioide 105
Ocitocina şi vasopresina 105
Somatostatina 106
Neurotensinele 106
Dinorfina 106
Galanina 106
Colecistokinina (CCK) 106

Capitolul 5. Circuite neuronale 107
Circuite simple 107
Circuite în serie 107
Circuite divergente 109
Circuite convergente 110
Circuite complexe 110
Circuite neuronale locale 110
Generatori centrali de ritm 111
Circuitele reverberante 111
Circuitele paralele 114
Circuite neuronale ce stau la baza unor comportamente cunoscute 114
Învățarea motorie 114
Somnul 116
Dependența de droguri 117
Interacția dintre sistemul senzitiv, motor şi cel motivațional 118
Alte tipuri de circuite 119
Circuite neuroendocrine 119
Circuite neuroimune 121

Capitolul 6. Dezvoltarea embriologică a sistemului nervos 123
Dezvoltarea prenatală 123
Inducția plăcii neurale 127
Proliferarea neurală 128
Migrarea neuronilor 129
Agregarea neuronilor 132

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Diferenţierea celulară 132
Formarea circuitelor: axoni şi sinapse 133
Creşterea axonilor 133
Formarea sinapselor 137
Apoptoza şi rafinarea sinapselor 138
Dezvoltarea postnatală 140
Informaţiile senzitive 140
Informaţii cognitive 141
Dezvoltarea gândirii 142
Îmbătrânirea şi influenţa sa asupra creierului 143
Capitolul 7 Metode şi tehnici de studiu în Neurobiologie 145
Tehnici utilizate "in vivo" 146
Metode neinvazive 146
Tehnici de imagistică cerebrală 146
Razele –X – tehnica de contrast 147
Tomografia computerizată cu raze X 148
Imageria prin rezonanţă magnetică (RMI) 149
Tomografia cu emisie de pozitroni (PET) 149
Imageria prin rezonanţă magnetică funcţională (fMRI) 151
Tehnici de înregistrare a proceselor fiziologice 151
Electroencefalograma (EEG) 151
Elcctromiograma 153
Electrooculograma 153
Detectorul de minciuni 153
Electrocardiograma 154
Metode invazive 154
Stereotaxia 154
Lezionarea creierului 156
Stimularea experimentală 157
Înregistrarea experimentală 157
Metode de analiză chimică 158
Tehnici utilizate in vitro 158
Tehnici neuroanatomice 158
Tehnici de colorare 159
Autoradiografia 159
Hibridizare in situ 160
Tehnici imunocitochimice 160
Tehnici electrofiziologice 161
Înregistrări extracelulare 161
Înregistrări intracelulare 162
Tehnici genetice 163
Tehnica de suprimare a unei gene 163
Tehnologia şoarecilor transgenici 163

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 1. INTRODUCERE

Ce este neurobiologia? De ce studiem această disciplină?

Neurobiologia se ocupă cu studiul biologiei sistemului nervos sau a relației "body – mind" (corp – minte). Este o definiție foarte simplă, ce derivă din construcția cuvântului, dar complexitatea domeniului rezidă tocmai în *obiectul studiului*. Sistemul nervos central este organul cu cea mai complexă structură din organism, datorită proceselor biologice ce se desfășoară la nivelul său, procese ce stau la baza mecanismelor nervoase ale comportamentului - funcție superioară extrem de diversificată în evoluție, determinată de baza genetică și capacitatea individuală de adaptare a proceselor comportamentale.

De ce studiem sistemul nervos?

Shepherd, profesor de Neuroștiințe la Universitatea din Yale, SUA, enumera patru motive.

1. Încă de la începutul vieții, am învățat că tot ceea ce facem depinde de sistemul nervos. Pe măsură ce înaintăm în vârstă, exprimăm o gamă tot mai largă de comportamente, de la capacitatea de a gândi, de a memora, de a crea sau a iubi și ne întrebăm cum reușește sistemul nervos să coordoneze atât de multe informații. Cum se transformă comenzile sistemului nervos în comportamente?
2. Un al doilea motiv îl reprezintă creierul în sine: este cel mai complex dintre toate organele și, de aceea, a-i cunoaște mecanismele interne de comunicare reprezintă o adevărată provocare.
3. Creierul este organul cu care gândim și vrem să înțelegem cum este posibil ca tocmai creierul să ne permită să îi înțelegem propria funcționare.
4. Creierul este organul care ne face oameni și umani, și ne ajută să pătrundem în natura ființei umane. Din acest punct de vedere, creierul a devenit o sursă de interes și pentru cei care vor să domine lumea prin controlul capacității de a gândi.

Neurobiologia rămâne însă un domeniu important al biomedicinei. Tot ceea ce învățăm despre sistemul nervos, încă de la cei mai primitivi viermi și până la oameni, ne apropie tot mai mult de găsirea unor tratamente pentru boli ale sistemului nervos care au la bază alterări ***structurale*** cum ar fi: epilepsia, maladia Parkinson, demența, și pentru tulburări mentale ca: dependența de droguri, depresia, schizofrenia, care au la bază probleme psihice, generate ***funcțional*** și nu structural.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ipoteza centrală a ştiinţelor neuronale moderne presupune că tot ceea ce înseamnă comportament este o reflectare a funcţionării sistemului nervos central. Pornind de la această ipoteză, se poate defini *cunoaşterea* sau *raţiunea* ca un ansamblu de funcţii controlate de sistemul nervos central (SNC). Printre acţiunile creierului nu se numără numai controlul motor al comportamentelor de care suntem absolut conştienţi şi pe care le putem controla, cum ar fi mersul, râsul, sau respiraţia, dar şi comportamente afective şi cognitive, cum ar fi: sentimentele, învăţarea, memorarea, sau compoziţia. Prin urmare, maladiile afective sau emoţionale şi cognitive ce stau la baza bolilor nevrotice şi a psihozelor, pot fi privite ca dereglări ale funcţiilor SNC.

Structural, ţesutul nervos este alcătuit din neuroni şi celule gliale. Scopul neurobiologiei este explicarea modului în care SNC coordonează aceste unităţi de bază pentru a controla comportamentul şi modul în care mediul înconjurător reuşeşte să influenţeze funcţionarea celulei nervoase.

Tot ceea ce se ştie la ora actuală despre celulele nervoase este rezultatul a cinci tipuri de experimente: *anatomice*, *embriologice*, *fiziologice*, *farmacologice* şi *psihologice*.

SCURT ISTORIC

Încercarea de a explica comportamentul uman este foarte veche, încă din Grecia antică în jurul anilor 600-400 î.e.n., unde a fost formulată pentru prima dată noţiunea de fiinţă umană, definită prin minte şi suflet, considerându-se însă că inima este locul sufletului şi că gândirea vine din inimă.

ANATOMIC

- Prima descriere grosieră a anatomiei sistemului nervos uman s-a realizat în secolul XVI, în 1543, de către **Vesalius** Andreas, anatomist flamand, întemeietorul anatomiei moderne. A practicat disecţia corpului omenesc şi a combătut pricipiile medicinei galenice (Galen, medic grec, 130-200 e.n).
- În 1637, **Descartes** disociază funcţional creierul de suflet, dar nu neagă legătura dintre ele. Filozof si savant francez, Renée Descartes este întemeietorul *raţionalismului modern*, proclamă dreptul raţiunii, "de a nu accepta drept adevărat decât ceea ce poate fi demonstrat". Este autorul teoriei "Cuget, deci exist", a fost un materialist mecanicist care a explicat toate fenomenele prin mişcarea materiei.
- Complexitatea anatomică a sistemului nervos nu a fost cunoscută până în secolul XVIII când s-a descoperit microscopul. Ţesutul nervos a fost considerat glandular, nervii fiind canale ce transferă fluidul secretat de creier şi măduva spinării către periferie (principiul lui Galen),

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- În 1798, Luigi **Galvani** demonstrează natura electrică a excitabilității, arătând că celulele musculare produc curent electric (Fig. 1.1). A publicat un tratat despre forțele electrice implicate în mișcarea mușchilor.

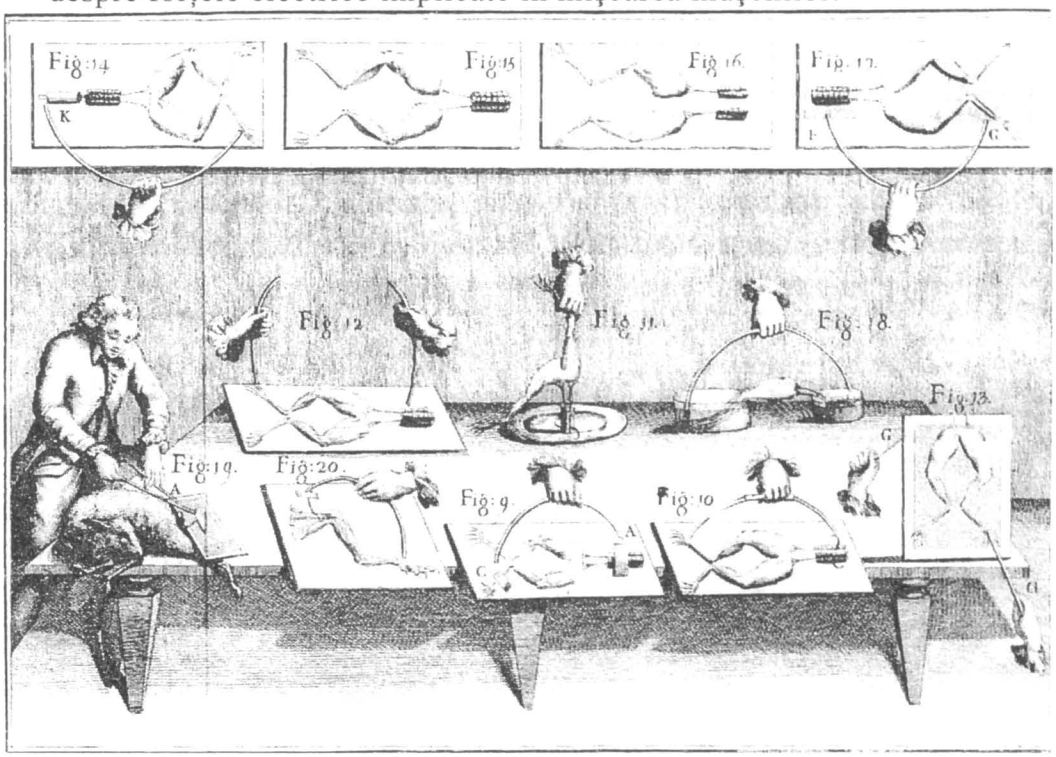


Figura 1.1 Echipamentul de producere a electricității, al lui Luigi Galvani, s-a descărcat accidental într-o zi, pe un picior de broască proaspăt disociat. Aceasta a condus la observația că stimulii electrici pot induce contracția musculară, ce stă la baza teoriei naturii electrice a impulsului nervos (după Bloom, 2001)

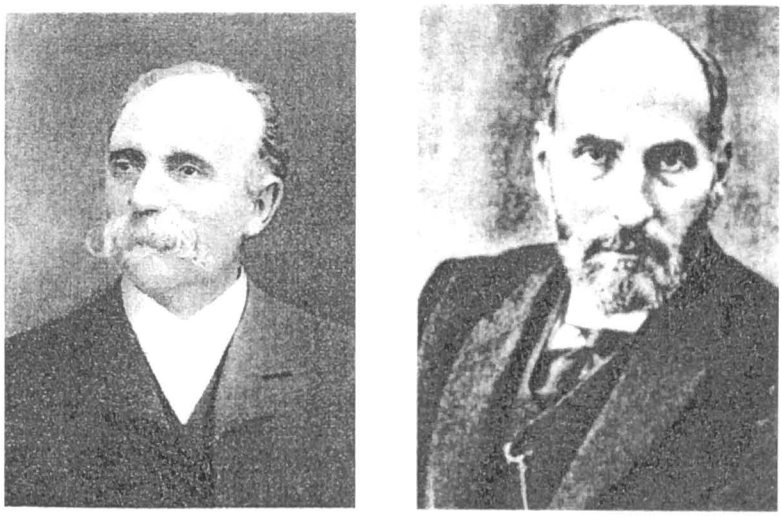


Figura 1.2 Camillo Golgi și Ramon y Cajal (după Bloom, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- La sfârşitul secolului XIX, doi anatomişti Camillo **Golgi** şi Ramon Y **Cajal** (Fig. 1.2) au dezvoltat independent unul de celălalt tehnica histologică a impregnării cu Ag (Fig. 1.3), care a permis vizualizarea microscopică a întregului neuron: soma şi cele două tipuri de procese: dendritele şi axonii. Ramon Y Cajal a afirmat că celulele sistemului nervos sunt individuale, şi că ţesutul nervos nu este un *sinciţium* (masă continuă de celule fuzionate ce împart aceeaşi citoplasmă), aşa cum a presupus Golgi, ci o reţea complicată de celule discrete. S-au dezvoltat astfel noi concepte şi anume cel al ***semnalizării*** între unităţile funcţionale individuale din neuroni care interacţionează unul cu celălalt în regiuni specializate.

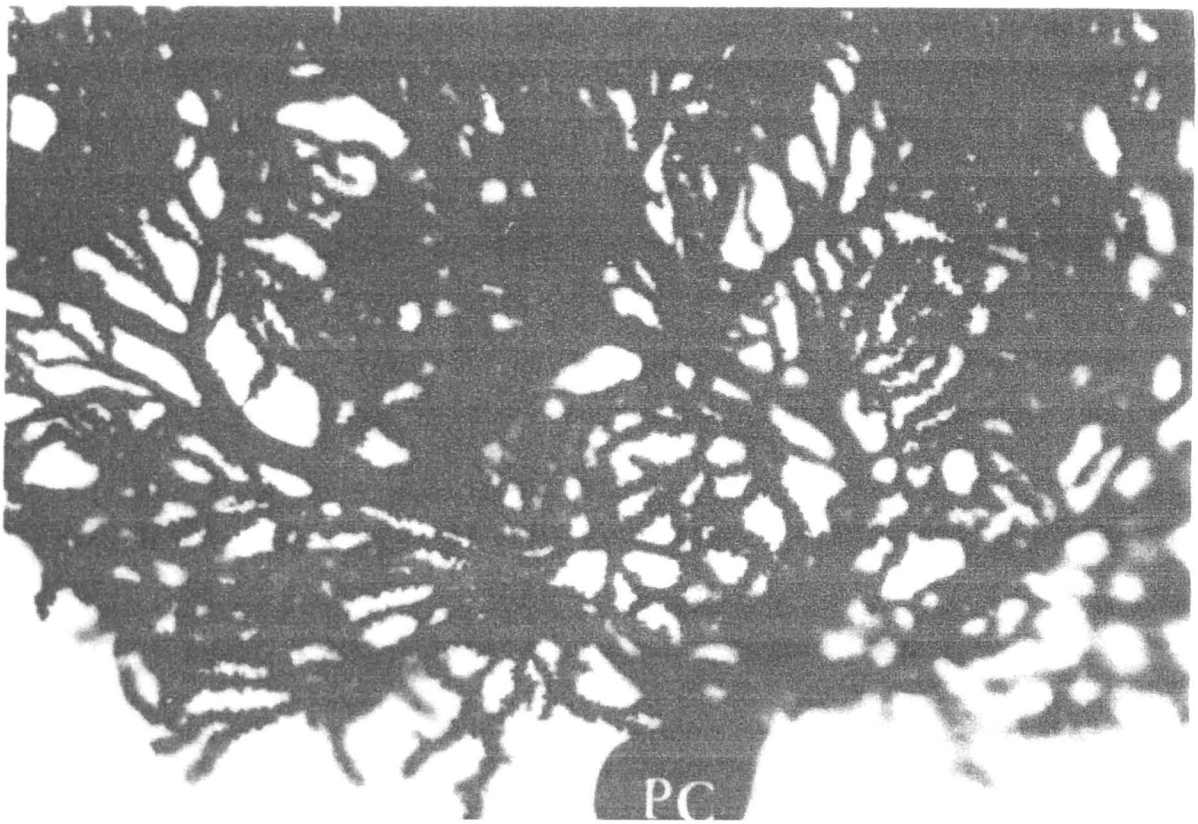


Figura 1.3 Tehnica de coloraţie Golgi prin impregnare cu argint. Imaginea reprezintă arborizaţia dendritică a unui singur neuron din cerebel, denumit celulă Purkinje (după Kandel *et al.*, 2000)

- În 1987, **Sherington** propune termenul de ***sinapse***, ca fiind locul la nivelul căruia neuronii comunică între ei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

EMBRIOLOGIC

Din punct de vedere embriologic, Ross **Harisson** a susţinut doctrina neuronilor, emisă de Ramon Y Cajal. El a pus la punct metoda culturilor tisulare, prin care a arătat direct că procesele majore ale neuronilor: dendritele şi axonii sunt în continuitate cu corpul celular şi că se formează din acesta. Mai târziu, Harisson a demonstrat ceea ce Cajal sugerase, că "vârful axonal" al somei dă naştere conului de creştere, ceea ce permite axonului creşterea direcţionată spre ţintă.

FIZIOLOGIC

- La sfârşitul secolului XIX şi continuând în secolul XX fiziologii germani au pus bazele experimentelor electrofiziologice;
- Johannes **Müller** a cercetat fiziologia sistemului nervos şi a elaborat concepţia energiei specifice a organelor de simţ;
- Herman **von Helmholtz** a adus contribuţii în acustică: senzaţii auditive, şi electricitate. A studiat fiziologia vederii şi a auzului, a măsurat viteza de propagare a impulsului nervos. A arătat că activitatea electrică a celulei nervoase stă la baza codificării informaţiei şi a transmiterii semnalului de la un capăt la altul al celulei şi de la un neuron la altul.

FARMACOLOGIC

- Sfârşitul secolului XIX a însemnat şi începutul experimentelor farmacologice, când Claude **Bernard**, unul dintre fondatorii endocrinologiei, a studiat fenomenele electrice din neuroni şi nervi, rolul sistemului nervos în apariţia diabetului, reglarea vasomotricităţii şi acţiunea paralizantă a curarei.
- Paul **Ehrlich** a studiat imunitatea, vaccinarea, sero- şi chimioterapia, a inventat *Salvarsanul* pentru tratamentul sifilisului, a demonstrat că medicamentele interacţionează cu receptori specifici ai celulelor. Această descoperire a stat la baza studiilor transmiterii sinaptice la nivelul sinapselor chimice.

PSIHOLOGIC

- Studiile de la sfârşitul secolului XIX au adus contribuţii importante prin experimentele psihologice realizate. Charles Darwin a pus bazele ***psihologiei experimentale*** - studiul comportamentului animalelor în laborator - şi ale ***etologiei*** – studiul comportamentului animal în natură.

Un alt punct important în dezvoltarea neuroştiinţelor l-a reprezentat combinarea studiilor de anatomie, biologia dezvoltării, fiziologie şi comportament de către medicul austriac Franz Josef **Gall,** care în secolul XIX a pus bazele **frenologiei**. Frenologii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

asociază funcţiile superioare ale creierului cu neregularităţile de pe suprafaţa craniului uman (Fig. 1.4). Gall a considerat că funcţiile creierului au o bază biologică şi sunt executate de anumite regiuni ale creierului. Creierul nu este unitar, ci subdivizat în 35 de centri, fiecare centru corespunzând unei funcţii mentale specifice. A considerat că şi cele mai abstracte funcţii mentale cum ar fi: generozitatea, iubirea maternă, discreţia sunt controlate de arii bine localizate ale cortexului cerebral. Aceşti centri specifici se pot dezvolta şi creşte în mărime, ca rezultat al folosirii lor, aşa cum muşchii pot fi dezvoltaţi prin exerciţiu. Pe măsură ce aceşti centri cresc, determină înmugurirea suprafeţei corticale, de aceea umflăturile indică regiunile cele mai dezvoltate ale creierului.

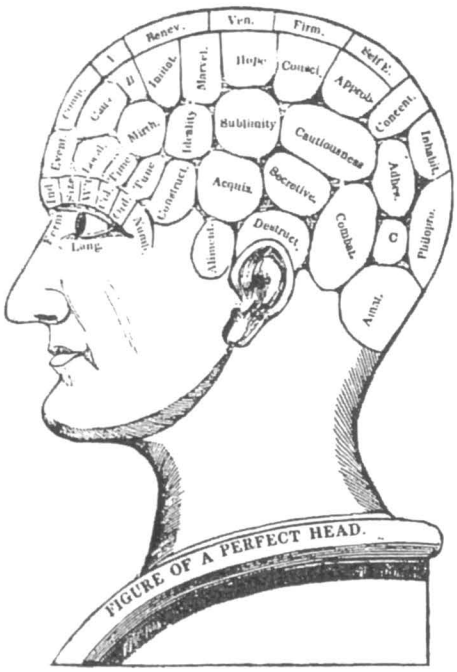


Figura 1.4 Frenologia. Reprezentarea funcţiilor superioare ale creierului pe suprafaţa craniului (după Bloom, 2001)

Pe baza acestor considerente, Gall a pus bazele ***personologiei anatomice***, prin care se înţelege descrierea caracterului uman pe baza anatomiei creierului (personalitatea individului corelată cu umflăturile craniului).

Pierre **Flourens** a iniţiat ***neurochirurgia*** pe animalele de laborator, prin studii de îndepărtare a unor segmente anatomice ale creierului, şi observarea contribuţiei acestora asupra comportamentului. Concluzia lui a fost că funcţiile mentale nu sunt localizate, ci că toate regiunile creierului, în special emisferele cerebrale, participă la toate funcţiile mentale. Lezarea unei arii a emisferelor cerebrale va afecta, în egală măsură, toate funcţiile superioare. Teoria lui Flourens a fost contestată la jumătatea

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

secolului XIX când neurologul britanic J. **Hughlins Jackson,** prin studiile sale asupra *epilepsiei focale* (maladie caracterizată prin convulsii ce debutează într-o parte a corpului), a arătat că diferitele acţiuni motoare şi senzitive sunt localizate în regiuni diferite ale cortexului cerebral. Aceste studii au dus mai târziu la elaborarea conceptului de *conecţionism celular*, alături de studiile lui Raymond Y Cajal şi ale lui Carl Wernicke (neurolog german). Conform acestui concept, neuronii sunt unităţi de semnalizare ale creierului, situaţi în grupuri funcţionale şi conectaţi între ei, într-o manieră precisă. Carl Wernicke a arătat că diferitele comportamente sunt controlate de arii cerebrale diferite, interconectate prin căi neuronale discrete.

Începând cu secolul XX cercetările au fost mult mai specifice. Astfel:

- în 1920, se identifică substanţele chimice ce funcţionează ca mesageri şi acţionează la nivelul receptorilor postsinaptici, denumite ***neurotransmiţători***;
- în 1940, s-au introdus conceptele de procesare a informaţiei şi sisteme de control (cibernetică);
- în 1950, Hodgkin şi Huxley au realizat primele înregistrări de semnale electrice, cu ajutorul microelectrozilor;
- în aceeaşi perioadă, dezvoltarea microscopiei electronice a permis evidenţierea sinapselor şi a structurii fine a neuronilor;
- de asemenea, s-a realizat analiza circuitelor neuronale la nivelul unei singure celule.

Altfel spus, în ultimii 100 de ani s-a arătat că celulele compun creierul şi că sunt conectate în circuite. Cele mai mari descoperiri s-au realizat, totuşi, în ultimii 40 de ani, când au apărut metodele de studiu ale mecanismelor moleculare ce controlează diferenţierea celulelor nervoase şi exprimarea proprietăţilor lor funcţionale.

- În 1960, s-a demonstrat rolul integrator al dendritelor: au fost identificate circuitele sinaptice şi interacţiile sinaptice în absenţa impulsurilor.
- În 1970, s-a observat că substanţele neuromodulatoare şi mesagerii secundari sporesc durata şi complexitatea interacţiilor neuronale.
  - Au apărut tehnicile imagistice asistate de calculator, cu ajutorul cărora s-a vizualizat activitatea creierului, în relaţie cu senzaţiile şi cunoaşterea.
  - Sunt introduse metode moleculare de analiză a mecanismelor genetice (tehnologia ADN recombinat) şi a proteinelor membranare (patch-clamp).
- În 1980, încep să apară noi modele de simulare a funcţiilor sistemului nervos: văz, auz, limbaj, memorie, logică.

Toate aceste date arată că neurobiologia este o ştiinţă tânără, care achiziţionează noi informaţii cu o viteză uluitoare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Pentru a înţelege cum funcţionează creierul, nu este suficient să ne bazăm pe fapte evidente. Toate acestea trebuie corelate şi analizate, astfel încât să capete un sens, în contextul generării lor. De aceea, scopul principal al neurobiologiei este: *identificarea principiilor ce stau la baza mecanismelor prin care sistemul nervos mediază comportamentul.*

Pentru a explica neurobiologia, pornim de la definirea unităţii de bază a sistemului nervos, şi anume ***celula nervoasă***. Acesta este însă un mod simplist de prezentare, care se potriveşte fizicii (descrisă prin atomi şi forţe), fiziologiei inimii (caracterizată de acţiunea coordonată a celulelor cardiace), dar nu neurobiologiei. În celulele nervoase există numeroase mecanisme de procesare a informaţiei, foarte diferite de la o celulă la alta, există o acţiune coordonată a neuronilor, dar nu se poate explica de ce, şi câte funcţii are sistemul nervos pentru a genera un anumit comportament.

Până în prezent s-au definit totuşi anumite elemente de bază ale sistemului nervos, care reflectă diferite niveluri de organizare, ce variază de la o singură moleculă sau ion, până la exprimarea unui comportament ca hrănirea sau gândirea.

Din toate aceste consideraţii se poate concluziona că funcţia sistemului nervos se bazează pe elemente fundamentale de organizare ale acestor diferite niveluri şi înţelegerea relaţiei dintre ele.

Definiţie: *neurobiologia reprezintă domeniul care se ocupă cu studiul organizării moleculare a celulelor nervoase şi a modului în care acestea sunt conectate prin sinapse, în circuite funcţionale ce procesează informaţia şi mediază comportamentul.*

Cum identificăm nivelurile organizării neuronale?!

Se poate porni de la un comportament simplu: citirea unei pagini.

Din analiza acestui comportament, se identifică următoarele etape:

- percepţia senzitivă a paginii şi a simbolurilor tipărite;
- înţelegerea, care constă în atribuirea de înţelesuri simbolurilor percepute;
- mişcarea ochilor pentru a scana imaginea.

***CUM** apare acest comportament?* Privind în profunzimea creierului din punct de vedere structural şi funcţional, s-a constatat că există *tractusuri nervoase*, ce stau la baza căilor de comunicare între structurile implicate în citirea paginii:

- căi senzitive, ce pornesc de la nivelul ochiului şi se termină în cortexul vizual primar (CVP);
- conexiunile centrale din CVP spre lobul frontal, ce asigură înţelegerea;
- căile motoare descendente, ce controlează mişcarea ochilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Simplist, rezultă că există **sisteme**: senzitiv, central şi motor, ce stau la baza comportamentului, care reprezintă cel mai înalt nivel de funcţionare a creierului.

Ca nivel de organizare inferior sistemelor se constituie **centrii nervoşi,** definiţi ca populaţii de celule nervoase şi celule satelit (celule gliale). În mod normal, la nivelul centrilor nervoşi există câteva tipuri de neuroni. Neuronii unui centru nervos se conectează cu celule ale aceluiaşi centru, prin intermediul dendritelor (mai scurte) şi axonilor (mai lungi), stabilind contacte specifice, ce vor forma **circuitele locale**.

Prin aceste circuite locale, centrii nervoşi primesc informaţii din partea altor celule nervoase, procesează informaţia în mod specific şi trimit rezultatul altor centri nervoşi.

În circuitele locale, se găsesc nişte tipologii conective stereotipe şi distincte, care se numesc **microcircuite,** ce mediază operaţii specifice.

Circuitele locale sunt alcătuite din **NEURONI** = un important nivel de organizare. Principala funcţie a neuronului este aceea de a genera o activitate caracteristică, integrată în ansamblul de comenzi primite de la alte celule şi de la alte nivele de organizare. O trăsătură caracteristică a organizării neuronului este folosirea dendritelor ca zonă de primire a informaţiei (input), şi a axonilor ca zonă de ieşire a informaţiei (output). Ieşirea este de tip descărcare de potenţiale de acţiune, modificări electrice sau impulsuri, ce pot străbate distanţe lungi de-a lungul membranei externe, fără diminuarea amplitudinii.

Pentru ca neuronii să comunice unii cu alţii şi să formeze circuite, trebuie să existe puncte de contact denumite **sinapse**. Un singur neuron poate să formeze cu ajutorul prelungirilor sute de sinapse şi poate primi impulsuri prin sute sau mii de sinapse realizate de alţi neuroni. Fiecare sinapsă poate fi considerată ca o unitate semi-independentă de tip input-output. De aceea, sinapsele sunt elemente de construcţie esenţiale ale microcircuitelor şi circuitelor locale.

La nivel molecular, sinapsa este o unitate structurală şi funcţională complicată. Tipul de sinapsă chimică implică eliberarea unui neurotransmiţător de la nivelul elementului presinaptic, ceea ce va determina creşterea sau descreşterea fluxului ionic prin proteinele canal transmembranare de la nivelul elementului postsinaptic. Mediatorul ar putea să acţioneze *direct,* la nivelul proteinei canal, sau *indirect,* prin mesageri secundari. Structura moleculară a diferitelor canale ionice şi căile ce determină exprimarea lor genetică sunt studiate folosind metode biochimice şi tehnologia ADN-ului recombinat.

Metodele ce permit evidenţierea şi studiul activităţii canalelor ionice în medierea fluxului ionic prin membrană sunt cele electrofiziologice, una dintre ele este *patch-clamp*. Această metodă permite investigarae canalelor ionice de la nivelul unei singure celule, şi caracterizarea biofizică a unui singur canal ionic. Unicitatea ei este dată de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

corelarea- corelarea fluxului ionic cu modificările conformaţionale ale proteinei canal într-un interval de ordinul fracţiunilor de secundă.

Toate acestea arată cum putem explica un comportament pe baza **ierarhiei unităţilor funcţionale** (Fig. 1.5) şi, reciproc, cum unităţile funcţionale sunt cel mai bine înţelese în contextul comportamentului mediat. De aceea, oricât de complicat ar fi, un circuit neuronal este astfel construit încât să deservească o funcţie specifică ce se va concretiza într-un comportament natural.

Ca o primă concluzie, există patru trăsături generale ale sistemului nervos:

- semnalul este stereotip: **potenţialul de acţiune;**
- toţi neuronii sunt conectaţi prin **sinapse**;
- la baza comportamentului stau **circuitele neuronale**;
- plasticitatea neuronală sub influenţa experienţei.

Structurarea acestui manual s-a realizat pornind de la nivel molecular, progresiv până la nivelul comportamental, şi cuprinde:

- organizarea moleculară, celulară şi funcţională a neuronului;
- organizarea circuitelor sinaptice, concept cheie care ne ajută să înţelegem organizarea neuronilor pentru procesarea informaţiei şi medierea comportamentului;
- dezvoltarea embriologică şi postnatală a sistemului nervos precum şi prezentarea tehnicilor de investigare ale sistemului nervos central;
- organizarea diferitelor sisteme: *motor* (ne permite să acţionăm asupra mediului), *senzitiv* (senzaţii şi percepţia mediului), *vegetativ*;

dezvoltarea funcţiilor cognitive superioare: memoria, limbajul, gândirea, emoţiile.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

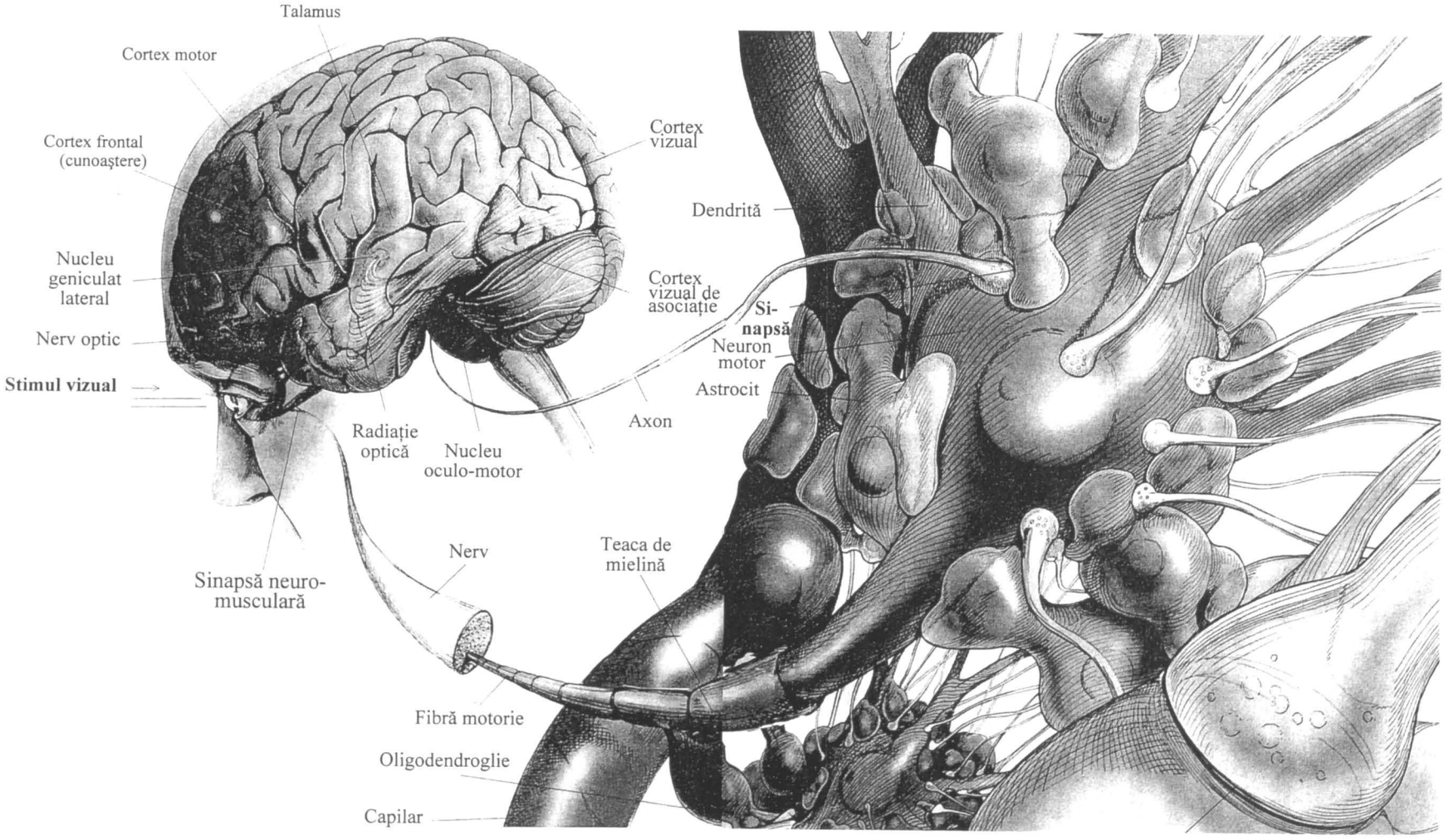


Figura 1.5 Structura sistemului nervos de la cel mai înalt nivel de organizare: sistemul, până la elementele de bază ale organizării structurale (celuele) şi funcţionale (sinapsele) (după Bloom, 2001

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 2. STRUCTURA ŞI FUNCŢIILE CELULELOR ŢESUTULUI NERVOS

Celulele sistemului nervos central au o variabilitate mai mare decât alte celule ale organismului, având trăsături specifice cum ar fi:

- polarizarea membranară;
- compartimentarea funcţiilor celulare, aranjament care contribuie semnificativ la procesarea semnalelor electrice

Cele mai importante compartimente funcţionale ale neuronilor sunt:

- *corpul celular*: este regiunea la nivelul căreia se află nucleul şi organitele necesare sintezei de ARN şi proteine, ce ocupă mai puţin de 10% din volumul total al celulei;
- *dendritele:* sunt procese subţiri, ramificate, cu o structură specializată pentru recepţionarea impulsurilor transmise sinaptic de către ceilalţi neuroni;
- *axonii*: este proces unic distinct anatomic de dendrite, subţire ce propagă impulsurile electrice pe distanţe mari, către terminaţiile sinaptice formate pe alţi neuroni sau pe organul ţintă.
- *terminaţiunile nervoase*: sunt ramificări terminale ale axonului cu care se formează sinapse pe celula ţintă.

Toate aceste compartimente sunt separate de distanţe considerabile, trăsătură care explică **polarizarea funcţională** a neuronului.

Polarizarea şi excitabilitatea celulară nu sunt trăsături unice neuronilor. Celulele epiteliale şi alte celule secretoare nonneuronale sunt de asemenea polarizate, având o suprafaţă apicală şi una bazolaterală, în timp ce celulele musculare sunt excitabile. Cu toate acestea, excitabilitatea este mult mai dezvoltată în neuroni, permiţând: *recepţionarea, procesarea şi conducerea semnalelor* pe distanţe mari.

Până în prezent, s-au descris cel puţin 50 de tipuri de neuroni. Diversitatea citologică, ca rezultat al diferenţierii celulare, este prezentă şi la nivel molecular. Fiecare neuron exprimă o combinaţie de molecule generale şi specifice. Tipurile de proteine sintetizate de o celulă depind de genele exprimate de aceasta, ce pot codifica: enzime, proteine structurale, constituenţi membranari, substanţele secretate. O parte dintre aceste molecule sunt comune tuturor celulelor organismului, o parte sunt specifice tuturor neuronilor, în timp ce restul sunt specifice numai unor grupuri de neuroni.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

NEURONII

Neuronii derivă din celule epiteliale, prin urmare păstrează câteva trăsături fundamentale:

- prezintă *2 poli* distincţi: membrana "bazolaterală epitelială" corespunde regiunii de formare a dendritelor din corpul celular, în timp ce membrana apicală corespunde regiunii de formare a axonului;
- membrana celulară nervoasă este un bistrat lipidic, asimetric, ce funcţionează ca o bariera hidrofobă, impermeabilă pentru substanţele hidrosolubile;
- citoplasma este formată din citosol (inclusiv citoschelet) şi organitele membranare.

În 1836 Jan Purkinje (Fig. 2.1A) a descris anatomia celulelor de la nivelul cerebelului, care prezintă structuri diferite ale nucleului şi citoplasmei. Următoarea descriere datează din 1865, şi se referă la un motoneuron (Fig. 2.1B) de la nivelul măduvei spinării, în care s-a subliniat existenţa a două tipuri de fibre ce pornesc de la nivelul corpului celular: una ramificată, denumită şi *prelungire protoplasmatică*, şi o prelungire unică, neramificată ce părăseşte măduva spinării şi intră în structura nervilor periferici ajungând până la muşchi.

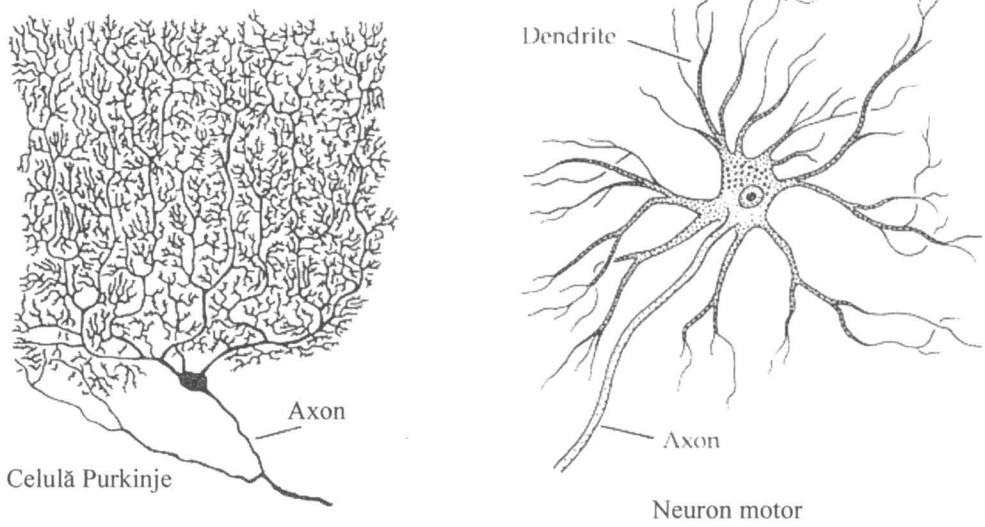


Figura 2.1 Neuron motor şi neuron Purkinje (după Nicholls, 2001)

În 1950, George Palade a afirmat că membrana celulei nervoase este similară oricărei membrane celulare şi este o structură continuă dipusă în jurul neuronului. Pentru studiile sale de microscopie electronică, a primit în 1974, împreună cu Albert Claude şi Christian de Duve, Premiul Nobel pentru medicină, pentru organizarea structurală şi funcţională a celulei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIOLOGIA MOLECULARĂ A NEURONILOR

În organism există patru tipuri de biomolecule: acizii graşi, zaharurile, aminoacizii şi nucleotidele. Tabelul 2.1 ilustrează cel mai bine repartizarea lor funcţională, după mărimea moleculelor formate. Neuronii au un metabolism extrem de intens şi necesită o sursă continuă şi bogată de oxigen şi glucoză. Neuronii nu pot supravieţui decât câteva minute în absenţa oxigenului.

Tabelul 2.1 Funcţiile îndeplinite de biomoleculele mici şi mari

	MOLECULE MICI	MOLECULE MARI
Lipide	Acizi graşi Transfer de energie (Ac-CoA) Hormoni	Membrane Depozit de grăsimi (triacilgliceroli)
Zaharuri	Energie (glucoză)	Stocare de energie (glicogen) Recunoaştere moleculară (glicolipide şi glicoproteine)
Aminoacizi	Metabolism Neurotransmiţători Hormoni	Structura celulei Enzime Receptori Anticorpi
Nucleotide	Transfer energetic (ATP) Mesager secundar (cAMP)	Coenzime ARN, ADN

Prezentarea organismului ca un ansamblu a 4 biomolecule este cel mai simplu principiu pe care se bazează explicarea lumii vii.

Ca definiţie, biomoleculele sunt alcătuite din lanţuri de atomi de carbon, legaţi covalent.

Acizii graşi (Fig. 2.2) sunt lanţuri lungi de atomi de carbon, cu sau fără duble legături (saturate sau nesaturate), ce se termină cu o grupare funcţională carboxil (COOH).

Zaharurile sau glucidele se mai numesc carbohidraţi sau combinaţii ale carbonului cu apa $(CH_2O)_n$. Gruparea lor repetitivă este –CH-OH-, pot fi liniare sau ciclizate şi se pot termina în alcool sau cetonă.

Aminoacizii sunt lanţuri de carbon cu două grupări funcţionale: amino (NH_2) şi carboxil (COOH) legate la acelaşi atom de carbon, împreună cu un radical organic ce va conferi variabilitate aminoacizilor.

Nucleotidele au molecule mai complexe, fiind formate dintr-o bază azotată şi o pentoză şi cel puţin un radical fosfat. Baza azotată poate fi *purinică* sau *pirimidinică*, în funcţie de structura nucleului aromatic, deosebirea structurală fiind cauza numărului de legături de hidrogen formate, 2 respectiv 3. Pentozele sunt de două categorii,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

deoxiriboză care intră în compoziţia acidului deoxiribonucleic sau ADN şi *riboză*, care intră în compoziţia acidului ribonucleic ARN.

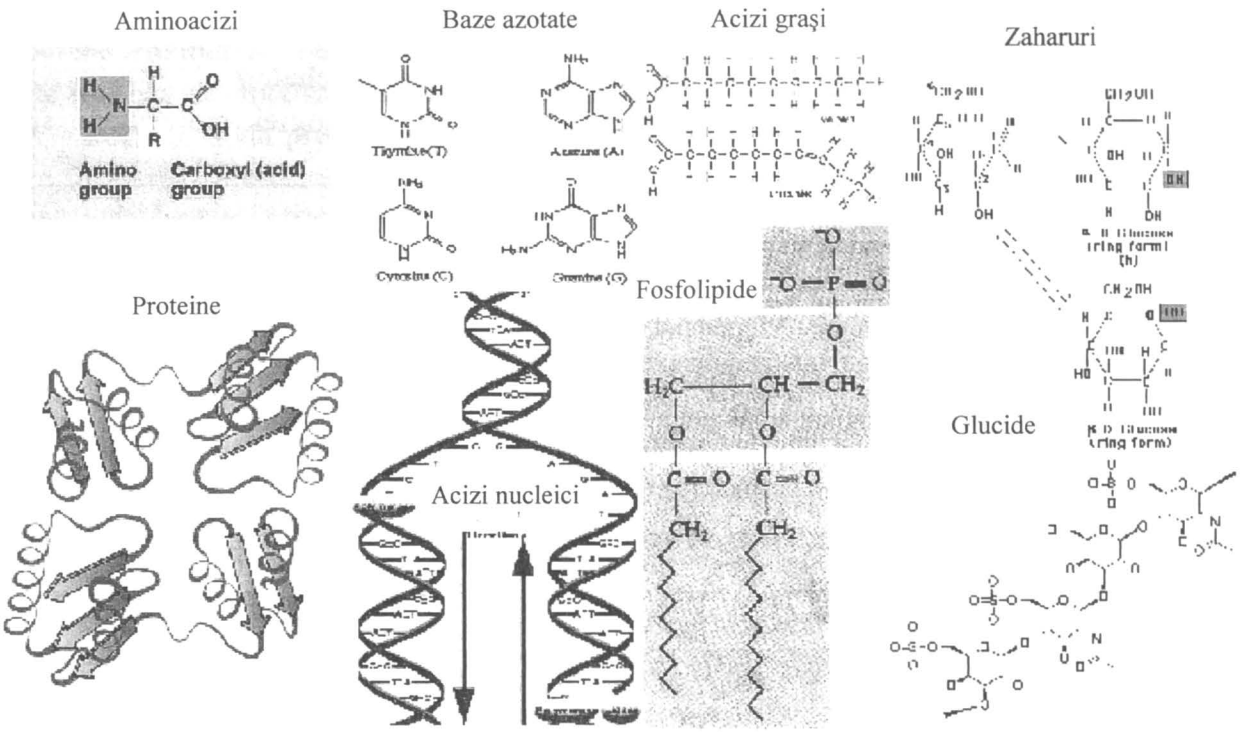


Figura 2.2 Tipuri de biomolecule mici şi mari

Prin combinarea acestor biomolecule sau molecule mici, se obţin macromolecule sau polimeri. Astfel, acizii graşi formează lipide, monozaharidele formează polizaharide, aminoacizii formează proteine şi nucleotidele formează acizi nucleici.

Fiecare macromoleculă are un rol foarte bine stabilit în orice tip de celulă. Cu toate acestea, în neuroni nu se regăsesc următoarele funcţii:

- stocarea lipidelor sub formă de triacilgliceroli;
- producerea de anticorpi, deci nu au răspuns imun;
- diviziunea mitotică, cu mici excepţii: neuronii bipolari din bulbii olfactivi, neuroni din lobul prefrontal şi cei hipocampici.

Acizii nucleici sunt responsabili de transmiterea informaţiei moleculare. Aşa cum se cunoaşte au rolul de a stoca informaţia privind secvenţa de aminoacizi a unei proteine, dar şi informaţia necesară asamblării ei pentru îndeplinirea unei funcţii specifice. Pe măsură ce au apărut enzimele, procesele de replicare, transcripţie şi translaţie au devenit mai rapide, permiţând evoluţia organismelor vii. Astfel replicarea a stat la baza diviziunii celulare prin procesul de *transcripţie* (transferul informaţiei din ADN în ARN) ce urmează a fi continuat cu *translaţia* într-o secvenţă de aminoacizi. Acizii nucleici controlează replicarea genică, nivelul de exprimare al proteinei în celula corespunzătoare, procesele de control al expresiei genice la nivel de transcripţie

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

translaţie, control realizat de către familii multigenice. Complexitatea creierului este reflectată de numărul mare de gene exprimate în celule: mai mult de 50000 de specii diferite de ARNm, dintre care 30000 sunt specifice sistemului nervos. O parte dintre proteine îndeplinesc funcţii simple, structurale, dar sunt diferite de cele cu funcţie similară din alte tipuri celulare. Spre exemplu: filamentele citoscheletice.

Metodele care au contribuit la dezvoltarea neurobiologiei moleculare sunt: tehnologia ADN-ului recombinat şi tehnologia hibridomei.

Tehnologia ADN-ului recombinat

A început o dată cu descoperirea enzimelor de restricţie care au permis manipularea genetică a acizilor nucleici, şi anume fragmentarea lor la situsuri specifice. Separarea fragmentelor este posibilă prin electroforeză pe gel de agaroză (migrare în câmp electric în funcţie de sarcină şi mărime). Fragmentele permit crearea hărţii de restricţie dar şi reunirea a două fragmente diferite cu obţinerea unui nou ADN, recombinat. Acest nou ADN poate fi inserat într-un vector şi multiplicat în bacterii pentru o analiză ulterioară (Fig. 2.3).

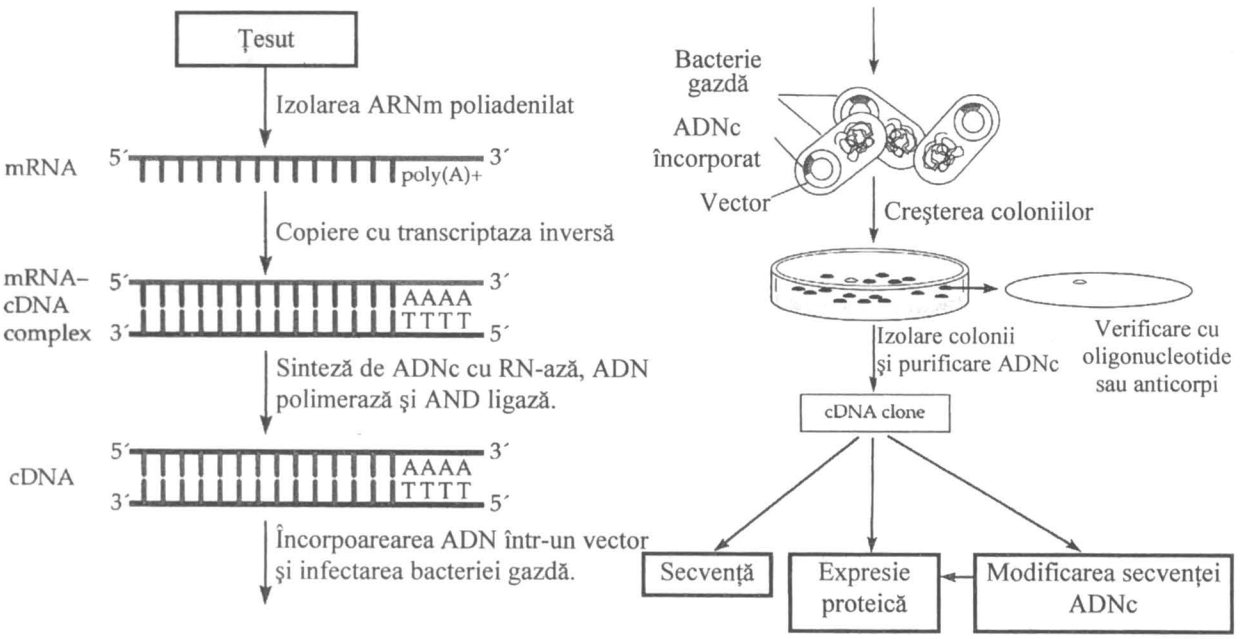


Figura 2.3 Ilustrarea tehnicilor de biologie moleculară. Clonarea unei molecule de ADNcomplementar (ADNc) prin metodele clasice de separarea materialului genetic, încorporarea sa în vectori plasmidiali care vor fi amplificaţi în bacterii. Prin liza bacteriilor se separă matrialul plasmidial, respectiv ADNc de interes, care va fi injectat în sisteme de exprimare (linii celulare) şi secvenţializat. Studiile de tip structură funcţie se realizează prin modificarea secvenţei de ADNc, prin inducerea mutaţiilor (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Enzima care a marcat dezvoltarea biologiei moleculare se numeşte **revers transcriptază,** şi are capacitatea de a transforma, pe bază de complementaritate, ARN mesager în ADN, mult mai stabil pentru experimente. Avatanjul este major, deoarece enzima ne permite identificarea proteinelor exprimate de fiecare celulă în parte (ARNm se sintetizează numai pentru proteinele exprimate de celulă).

Pornind de la proprietăţile acizilor nucleici, a apărut o nouă tehnologie, ce are la bază formarea de hibrizi moleculari, dublu catenari între structuri complementare de tip ADN-ADN, ADN-ARN, ARN-ARN la temperaturi mari. Această tehnică se numeşte ***hibridizare in situ***.

Tehnologia hibridomei

Hibridoma se obţine prin fuziunea a două celule sub influenţa unui virus. O celulă este un limfocit tumoral (mieloma) şi va conferi celulei hibride capacitate nelimitată de diviziune. Astfel de celule hibridoma secretă imunoglobuline şi sunt folosite pentru sinteza de anticorpi monoclonali, specifici faţă de anumiţi epitopi sau antigene.

Utilizarea acestor anticorpi permit identificarea tipurilor de neuroni în care există antigenul, analiza expresiei diferite a produşilor genici în timpul dezvoltării şi în relaţie cu diferite stări de activitate.

Toate aceste tehnici ajută la identificarea genelor şi a produşilor genici. Pe lângă acestea, alte metode sunt necesare pentru a caracteriza tridimensional şi funcţional sistemul, prin studii:

- anatomice, de microscopie electronică şi colorare negativă,
- electrofiziologice, prin tehnica de patch-clamp,
- neurochimice, prin metode histochimice ce permit identificarea enzimelor specifice, a transmiţătorilor şi a mesagerilor secundari,
- tehnologie computerizată prin cartarea creierului în activitate Cum ar fi tomografia computerizată.

Toate aceste tehnici au rolul de a arăta care este legătura dintre structura moleculară şi o anumită funcţie a celulei, şi mai departe corelaţia cu un anumit comportament.

Exemplul clasic îl reprezintă identificarea structurii receptorului nicotinic de acetilcolină (vezi capitolul 4).

ORGANIZAREA CELULARĂ

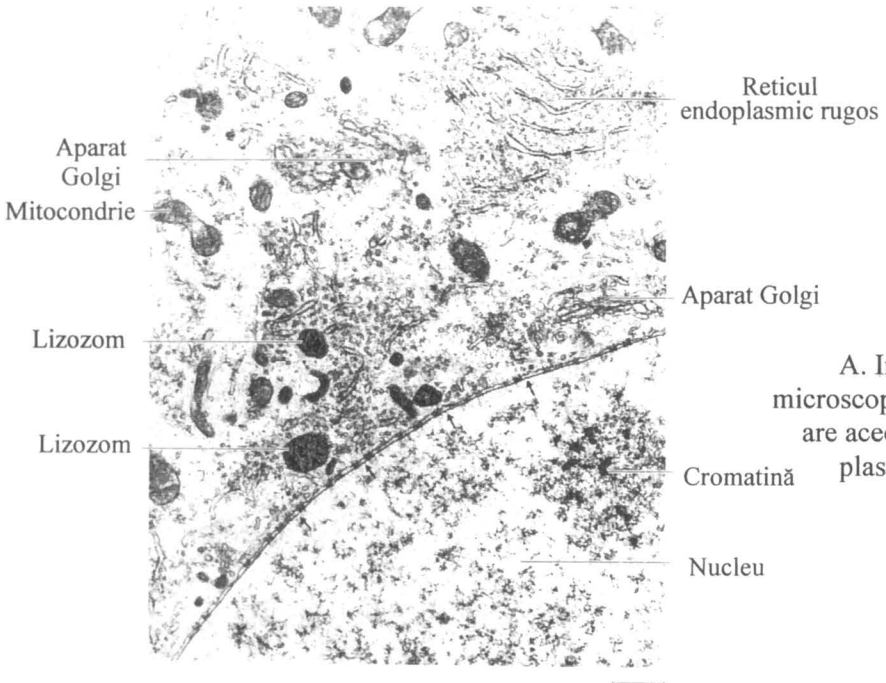
Neuronul păstrează structura tipică a unei celule cu membrană, citoplasmă şi nucleu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

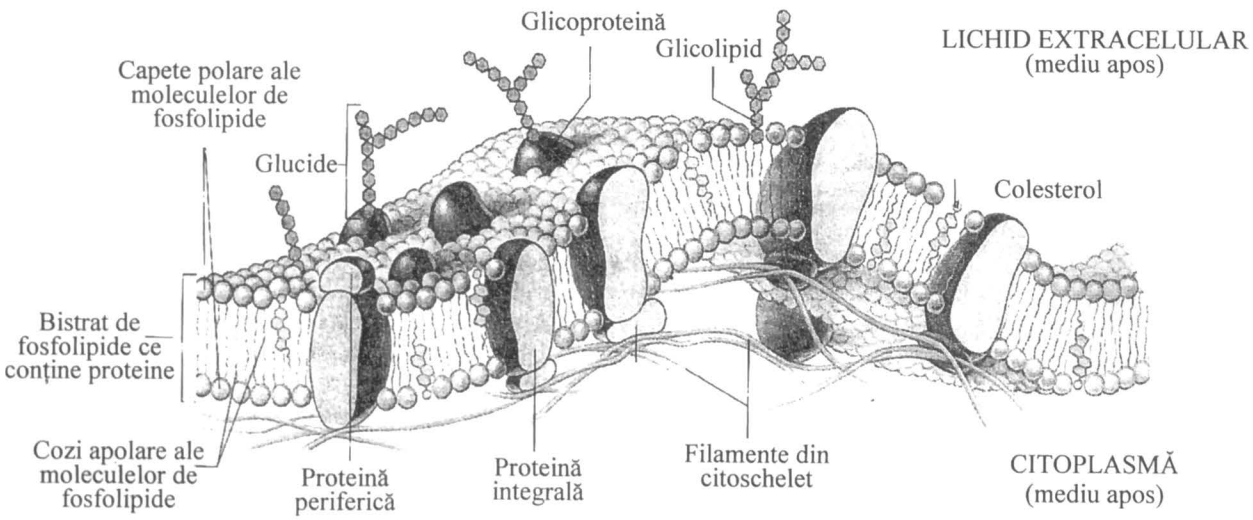
MEMBRANA PLASMATICĂ

La microscopul electronic, membrana plasmatică apare ca două linii întunecate separate de un spaţiu luminos, ce formează o barieră naturală în jurul citoplasmei. Are rol protector, împiedică difuzia componentelor citoplasmatice, dar, în acelaşi timp, prin proteinele inserate în membrană, asigură schimbul transmembranar al moleculelor hidrofile şi semnalizarea celulară.

Membrana celulară este alcătuită dintr-un bistrat lipidic şi proteine inserate în bistrat.



A. Imaginea bistratului lipidic la microscopul electronic. Membrana nucleară are aceeaşi compoziţie ca şi membrana plasmatică (după Kandel, 2000).



B. Proteinele membranare dispuse în bistratul lipidic (după Marieb, 1998)

Figura 2.4. Structura membranei

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Proprietăţile bistratului lipidic.

Bistratul lipidic are o structură asimetrică, dată de compoziţia chimică diferită a celor două straturi. În stratul extern, se găsesc fosfatidil-colina şi, în cantităţi mari, glicolipidele cu rol în recunoaşterea celulară. Stratul intern este format din combinaţii de fosfolipide esterificate cu aminoacizi, cum ar fi fosfatidilserina, fosfatidil glicina, grupări implicate în interacţia cu proteinele membranare şi/sau citoplasmatice, esenţială pentru funcţionarea corectă a proteinelor. O altă componentă a feţei interne este fosfatidilinozitolul, sursă importantă de mesageri secundari.

Proteinele membranare

Sunt foarte diversificate. În funcţie de dispunerea lor, se pot clasifica în:

- **proteine de suprafaţă** (Fig. 2.4B) care sunt glicozilate. În acestă categorie intră glicoproteine ce conţin acid sialic. Exemplu:
  - *fibronectina*, prezentă în regiunea de migrare celulară din timpul dezvoltării;
  - *N-CAM*, proteina de adezivitate a celulelor neuronale, în care regiunea glicozilată reprezintă o treime din greutatea totală a proteinei. Această proteină este importantă în timpul dezvoltării, pentru stabilirea contactelor între neuroni şi pentru asocierea neuronală;
  - *Glicozaminoglicanii,* sunt proteine membranare cu lanţuri lungi carbohidrat, ce ocupă 95% din structura proteinei. Lanţurile carbohidrat sunt dispuse în spaţiul celular şi au rol în menţinerea hidratării mediului extracelular, prin atragerea şi fixarea moleculelor de apă în jurul lor. În plus, au rol în recunoaşterea celulară în timpul dezvoltării. Carbohidraţii extracelulari formează glicocalixul, care are rol structural, în aderarea şi recunoaşterea celulară şi reglarea difuziei moleculelor în spaţiul extracelular.
- **Proteine intrinseci** se găsesc localizate în interiorul membranelor sau traversează membrana (Fig. 2.4B). În această categorie intră proteinele funcţionale, care au rol de:
  - *proteine receptoare,* cu rol în legarea neurotransmiţătorilor şi a altor molecule neuroactive;
  - *proteine de transport*, în care intră canalele ionice, transportorii (pentru aminoacizi, glucoză) şi pompele ionice;
  - *proteine cu rol structural*, care se comportă ca o ancoră a celulei: spectrina, ankirina, actina, sinapsina.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Proteinele implicate în semnalizarea celulară sunt dispuse diferit la nivelul membranei neuronale: la nivelul *dendritelor* şi *somei* predomină receptorii, fiind zonele în care se formează cele mai multe sinapse, în timp ce la nivelul *conului axonal* şi al axonului predomină canalele ionice activate electric, implicate în generarea şi conducerea potenţialului de acţiune.

Neuronul, ca multe alte celule, are membrana plasmatică întreruptă de sinapsele electrice = ***joncţiuni gap,*** care permit difuzia liberă a moleculelor, arătând astfel că: "se constituie într-un compartiment funcţional pentru moleculele citoplasmatice mai mici".

CITOPLASMA

Este formată din citosol (inclusiv citocheletul) şi organite celulare.

Proteine citoplasmatice

Sunt proteinele scheletului membranar, care interacţionează între ele şi formează o reţea de suţinere a membranei celulare:

- *actina* este o proteină mică ce formează noduri sau puncte fixe sub membrana celulară;
- *ankirina* se leagă de proteinele transmembranare şi asigură semnalizarea intracelulară prin modificări la nivelul citoscheletului;
- *fodrina* este proteina de legătură între actină şi ankirină. Face parte din aceeaşi familie cu spectrina (din eritrocit). În neuron există o formă specifică, prezentă atât în timpul dezvoltării embrionare cât şi la maturitatea neuronilor. Este transportată în axoni şi dendrite având rol în formarea prelungirilor neuronale. Spectrina este şi ea prezentă în neuroni, dar numai în cei complet diferenţiaţi şi numai în corpul celular.

Interacţiile dintre proteinele citoplasmatice şi canalele ionice stau la baza organizării domeniilor subsinaptice ale membranei, asigură specializarea locală a neuronului sau stau la baza mecanismelor memoriei.

Organitele celulare

Organitele celulare sunt distribuite selectiv în neuron:

- ***Mitocondria***: este locul fosforilării oxidative şi al degradării aerobe a glucozei în urma căreia generează adenozin-trifosfat (ATP), molecula majoră prin care energia celulară este transferată sau cheltuită. Glucoza este singurul zaharid preluat de neuron (la nevertebrate este folosită trehaloza). Neuronii nu au capacitatea de a stoca glucoza sub formă de glicogen, prin urmare, pentru procurarea energiei depind de glucoza circulantă şi de o bună oxigenare a sângelui. Mitocondriile au rolul de a stoca şi ioni de calciu, implicaţi în reglarea mecanismelor dependente de calciu de la nivelul terminaţiilor nervoase. Sunt distribuite la nivelul întregului neuron.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- ***Ribozomii şi reticulul endoplasmic***. Reticulul endoplasmic este un ansamblu de vezicule şi cisterne dispus în interiorul citoplasmei, cu rol în depozitarea ionilor de calciu. Este locul de desfăşurare a reacţiilor enzimatice implicate în mecanismul lipidic, formarea anvelopei nucleare şi sinteza proteică în regiunile rugoase. Ribozomii ataşaţi de reticulul endoplasmic formează împreună reticulul endoplasmic rugos (REG). Proteinele sintetizate la nivelul REG urmează a fi inserate în membrana celulară. În neuroni REG se acumulează în jurul nucleului, în formaţiuni denumite **corpusculi Nissl**, care indică o regiune de sinteză proteică intensă. În neuronii mari, corpusculii Nissl sunt dispuşi ca o masă densă şi extinsă, în timp ce în neuronii mici au aspectul unor particule împrăştiate. Ulterior, s-a observat că aceşti corpusculi Nissl sunt ciorchini de ribozomi (poliribozomi, care nu sunt ataşaţi de reticulul endoplasmic) dispuşi între membranele reticulului. Ei sunt implicaţi în sinteza complexelor proteice specifice neuronilor şi subtipurilor de neuroni, cum ar fi: proteine secretate ca neurotransmiţători, proteine folosite pentru menţinerea proceselor neuronale.
- ***Aparatul Golgi*** este reprezentat de acumulări de cisterne ce tind să se disperseze în citoplasmă, chiar până la nivelul dendritelor. Au rol în glicozilarea proteinelor şi secreţia acestora prin vezicule, către membrana celulară. Are dimensiuni mai mici la nivelul neuronilor.
- ***Peroxizomii*** sunt implicaţi în detoxifiere, prin reacţia de peroxidare şi previn acumularea radicalilor liberi de oxigen, agenţi oxidanţi puternici. Atât mitocondriile cât şi peroxizomii sunt organite ce utilizează oxigenul molecular, provin din organisme simbionte şi nu au continuitate funcţională cu aparatul vacuolar.
- ***Lizozomii*** sunt sisteme de digestie internă. În neuron, din cauza distanţelor mari dintre corpul celular şi terminaţiile nervoase, compartimentele au autonomie funcţională: la nivelul lor apar fenomene de endo şi exocitoză, cuplate cu transport retrograd spre corpul neuronal.

Membrana aparatului vacuolar este rezultatul invaginărilor membranei externe. Lumenul organitelor corespunde topologic exteriorului membranar: stratul extern al membranei organitelor corespunde stratului intern al membranei celulare (polarizare inversă). Cu toate acestea, deşi subcompartimentele aparatului vacuolar sunt discontinue, transportul între compartimente se face eficient cu ajutorul veziculelor de transport.

Citoplasma corpului celular se extinde şi în dendrite, dar concentraţia de organite ca aparat Golgi, reticul endoplasmic rugos şi lizozomi scade progresiv cu distanţa faţă de corpul celular:

- la nivelul conului axonal citoplasma (Fig. 2.5) este bogată în ribozomi, reticul endoplasmic neted, aparat Golgi, organite implicate în sinteza proteică;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

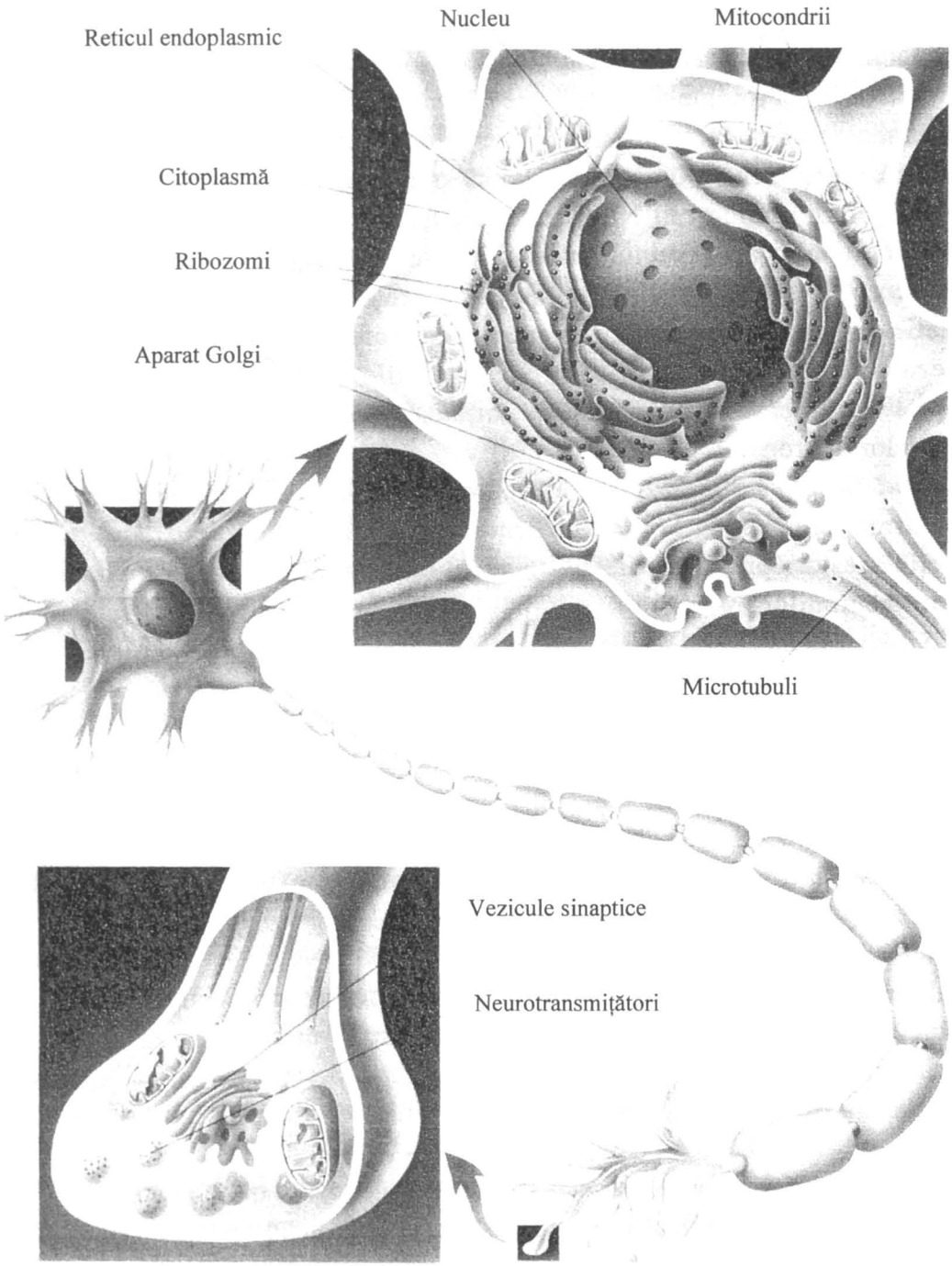


Figura 2.5 Distribuţia organitelor celulare la nivelul compartimentelor neuronale (după Pinel, 2003)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- butonii terminali sunt bogaţi doar în: vezicule sinaptice, membrane precursoare veziculelor sinaptice, intermediari endocitotici implicaţi în traficul veziculelor, mitocondrii şi reticul endoplasmic;
- dendritele au o distribuţie a organitelor similară corpului celular.

Citoscheletul

Determină forma neuronilor şi este responsabil pentru mobilitatea axonală în timpul dezvoltării, ramificarea membranei, transportul veziculelor şi distribuţia asimetrică a organitelor în citoplasmă. Este format din 3 structuri filamentoase: microtubuli, neurofilamente şi microfilamente (Fig. 2.6).

Microtubulii: sunt structuri ce se întind pe toată lungimea neuronilor, având un rol important în dezvoltarea şi menţinerea proceselor neuronale. Un singur microtubul poate fi lung de 0.1 mm şi este alcătuit din 13 protofilamente dispuse tubular, cu un diametru extern de 25 – 28 mm. Fiecare protofilament este alcătuit din câteva perechi de α, β-tubulină, subunităţi dispuse liniar. Structura dimerului de tubulină este polară, având un capăt pozitiv şi unul negativ. Tubulina are activitate GTP-azică (hidrolizează GTP-ul cu eliberarea energiei legăturii fosfat) ce stă la baza polimerizării microtubulilor prin adăugarea unui complex dimer-GTP, la capătul pozitiv. GTP-ul este hidrolizat la GDP şi fosfat. Ulterior, pentru stabilizarea structurii tubulinei, GDP-ul trebuie să se lege de alte proteine: MAP = proteine asociate de microtubuli. Aceste proteine, deşi sunt prezente şi în dendrite şi axoni, sunt diferite structural. În axoni, microtubulii sunt aranjaţi în paralel, cu capătul pozitiv orientat centrifug, iar cel negativ spre corpul celular, orientare care îi permite deplasarea anumitor organite de-a lungul axonului. La nivelul dendritelor, microtubulii cu polarităţi diferite sunt amestecaţi, aceasta explicând de ce organitele celulare de la nivelul corpului şi dendritelor sunt similare. *Colchicina* este folosită pentru destabilizarea citoscheletului, deoarece depolimerizează microtubulii şi inhibă transportul substanţelor în axoni. Transportul intracelular se realizează atât retrograd, cât şi anterograd, cu consum minim de energie, ceea ce presupune prezenţa unei ***kinezinei***, proteină capabilă să interacţioneze atât cu veziculele cât şi cu mictorubulii. Kinezina deplasează veziculele spre capătul pozitiv al microtubulului.

Neurofilamentele sunt filamente mai scurte cu aspect globular, cu un diametru de 10 nm, care formează citoscheletul. Neurofilamentele sau filamentele intermediare aparţin familiei de proteine *citokeratine*. Spre deosebire de microtubuli sunt structuri foarte stabile şi complet polimerizate. Neurofilamentele sunt construite din fibre răsucite una în jurul celeilalte, cu formare de heterodimeri; doi dimeri de asemenea se asamblează prin răsucire într-o structură tetramerică denumită *protofilament*. Două protofilamente formează un *protofibril* şi trei protofilamente răsucite în helix formează

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

un *neurofilament* cu diametru de 10 nm (Fig. 2.6). Sunt prezente mai ales în neuronii mari, unde depăşesc numărul microtubulilor. În axonii şi dendritele mici raportul însă se inversează. Cu vârsta, echilibrul dintre microtubuli şi neurofilamente se modifică, iar în cazurile extreme se formează *plăci senile* în neuronii cortexului cerebral, întâlnite în maladia Alzheimer sau senilitate progresivă.

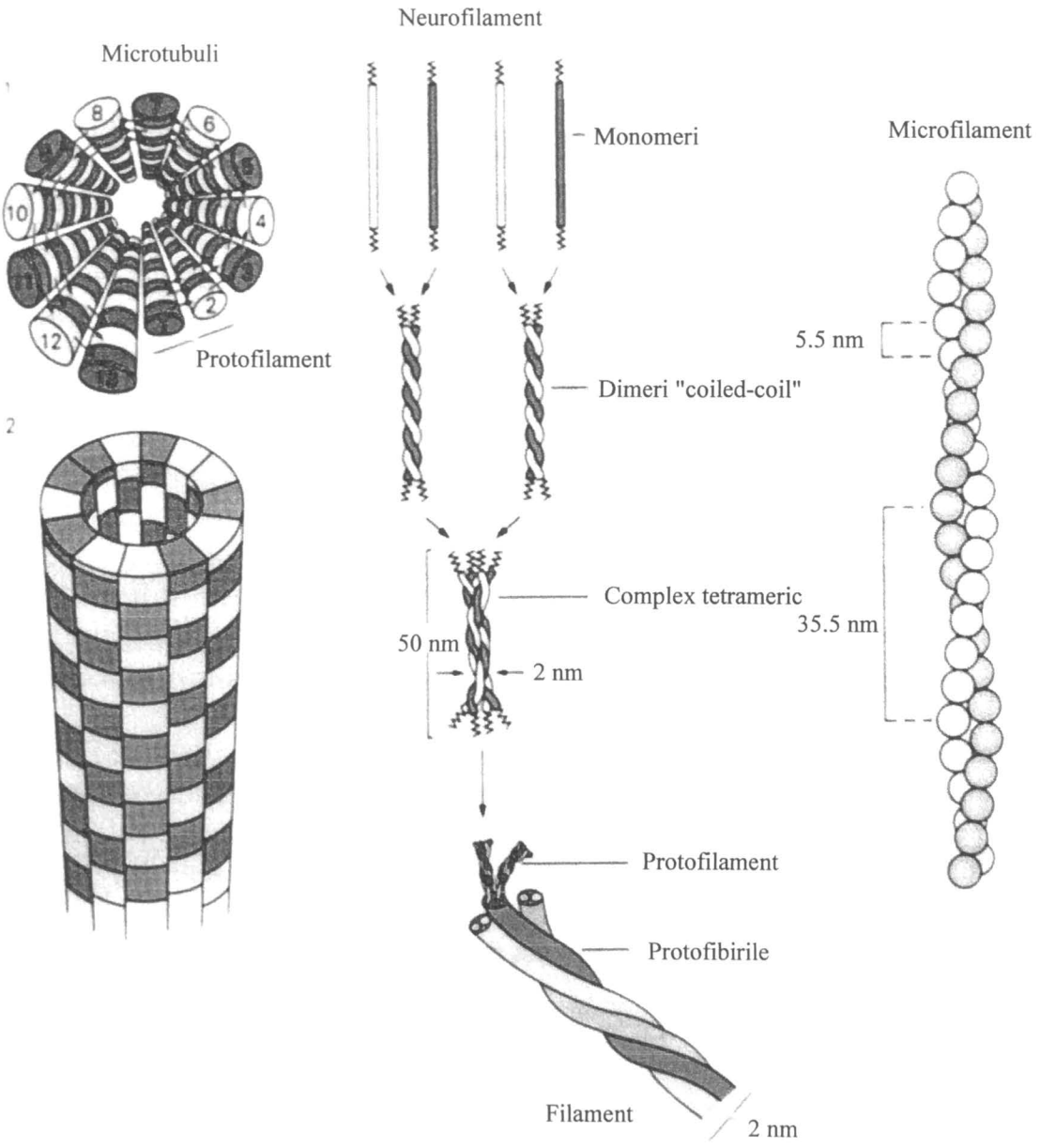


Figura 2.6 Structura filamentelor (după Kandel, 2000)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Microfilamentele au un diametru de 3-5 nm, sunt cele mai mici şi subţiri filamente. Asemănător filamentelor subţiri musculare, microfilamentele sunt polimeri polari ai actinei globulare, dar formează polimeri scurţi, concentraţi la periferia celulei, în apropierea plasmalemei unde, împreună cu un mare număr de proteine ce leagă actina, formează o reţea densă ce poate fi distrusă cu *citochalasina B*. Această matrice are rol în funcţia dinamică a periferiei celulei:

- mobilitatea conului de creştere în timpul dezvoltării embrionare;
- generarea de microdomenii specializate pe suprafaţa celulară;
- controlul fluidităţii membranare;
- formarea membranei pre şi post-sinaptice.

Ca şi microtubulii, microfilamentele, sunt într-o stare dinamică, parcurgând cicluri de polimerizare şi depolimerizare care permit neuronului matur să îşi retragă vechile procese şi să îşi extindă prelungiri noi.

NUCLEUL

Este unic, e format din ADN şi proteinele asociate acestuia. Rolul ADN-ului este major în diviziunea celulară, funcţie pierdută de neuroni odată cu maturarea. În neuronul matur, nucleul este lipsit de centrioli, dovadă a pierderii funcţiei de diviziune celulară. A doua funcţie a nucleului este aceea de matriţă pentru sinteza proteinelor.

În neuroni, în cazul sintezei proteice unele molecule de ARN mesager (ARNm) sunt lipsite de coada poliadenilată, molecule ce apar după perioada embrionară până la maturitate şi se presupune că au rol în dezvoltarea neuronilor.

Nucleul se află în corpul celular, iar dimensiunea poate varia în funcţie de specializarea funcţională a celulei.

Anvelopa nucleară sau membrana nucleară este formată de o regiune înalt specializată a reticulului endoplasmic rugos, ce înconjoară ADN-ul cromosomal şi proteinele asociate. Anvelopa este întreruptă de pori permeabili pentru proteine şi ARN.

PARTICULARITĂŢI STRUCTURALE ALE NEURONILOR

Structural, neuronii prezintă 4 regiuni anatomice bine definite (Fig. 2.5):

Dendritele sunt prelungiri subţiri, ramificate, cu o structură specializată pentru recepţionarea impulsurilor transmise sinaptic de către ceilalţi neuroni. Dendritele au o mare variabilitate structurală. Pentru neuronii motori sunt scurte şi organizate în jurul corpului celular. Pentru neuronii Purkinje din cerebel sunt foarte arborizate şi se întind pe distanţe mari (Fig. 2.1). Majoritatea organitelor prezente în corpul celular se regăsesc şi la nivelul dendritelor. Cele mai subţiri dendrite sunt şi cele mai specializate pentru colectarea informaţiei. Ramificările dendritice sub formă de butoni se numesc ***spine dendritice***, care reprezintă puncte de contact apropiat cu alţi neuroni. Acestea sunt de asemenea, specializate funcţional, şi pot să apară sau să dispară în funcţie de activitatea neuronului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Soma este centrul metabolic al neuronilor din care pornesc procesele neuronale. La nivelul somei sau corpului neuronal se află nucleul şi organitele necesare sintezei de ARN şi a proteinelor. Deşi au dimensiuni cuprinse între 10 – 140 μM, ocupă mai puţin de 10 % din volumul total al celulei. Conţine toate organitele celulare obişnuite, cu excepţia centriolilor.

Axonul este procesul unic, foarte lung, care poate ajunge până la 1 m, cu un diametru cuprins între 0.2-20 μM. Axonul porneşte de la nivelul conului axonal şi se poate ramifica la o anumită distanţă de corpul neuronal. La nivelul conului axonal se generează potenţialul de acţiune, care este apoi condus de-a lungul axonului unidirecţional, până la butonii terminali de pe organele ţintă. Axonul şi conul axonal sunt regiuni lipsite de ribozomi şi, prin urmare, nu pot sintetiza proteine. Acestea sunt coasamblate în somă şi transportate către terminaţii, de-a lungul axonilor. Ca o consecinţă, în absenţa somei, axonul degenerează şi moare.

Diferenţa de diametru a axonilor vine din prezenţa stratului de mielină, esenţială pentru conducerea rapidă a potenţialului de acţiune. Teaca de mielină este formată de celulele Schwan (în periferie) sau de oligodendroglii (central) şi este o structură fragmentată care măreşte viteza de conducere a impulsului nervos (80 m/s) prin conducere saltatorie. Teaca de mielină este întreruptă din loc în loc la intervale regulate de zone nemielinizate denumite noduri Ranvier, unde membrana este expusă mediului extracelular pe o lungime de 0.5 μm. La acest nivel are loc regenerarea potenţialului de acţiune. Mielinizarea este foarte importantă pentru viteza de conducere şi fibrele sunt de mai multe tipuri: Aα, Aβ, Aδ şi C. Astfel, mielina asigură o conducere eficientă şi fără pierderea informaţiei pe distanţe mari, Pierderea acestei precizii ar putea fi nocivă funcţionării creierului, ca în cazul degenerării mielinei în *scleroza multiplă*. Despre clasificarea neuronilor în funcţie de teaca de mielină, vom discuta mai tarziu, la potenţialul de acţiune.

Terminaţiile axonale sunt ramificaţii ale axonilor, sub forma unor butoni, de aceea se numesc şi *butoni terminali* sau terminaţii presinaptice, prin care neuronii trimit informaţii despre activitatea lor către alţi neuroni la nivelul sinapselor. La acest nivel sunt sintetizaţi neurotransmiţătorii mici şi împachetaţi în vezicule secretoare.

CLASIFICAREA NEURONILOR

Până în prezent, s-au descris cel puţin 50 de tipuri de neuroni. Diversitatea citologică este prezentă şi la nivel molecularfiind rezultatul diferenţierii celulare. Fiecare neuron exprimă o combinaţie de molecule generale şi specifice.

Din punct de vedere al **polarităţii**, neuronii au fost împărţiţi în 3 categorii (Fig. 2.7):

- neuroni **unipolari**: au un singur proces, cu mai multe ramificări, una dintre ele fiind dendrita. Sunt prezenţi la nevertebrate şi în ganglionii sistemului nervos autonom;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

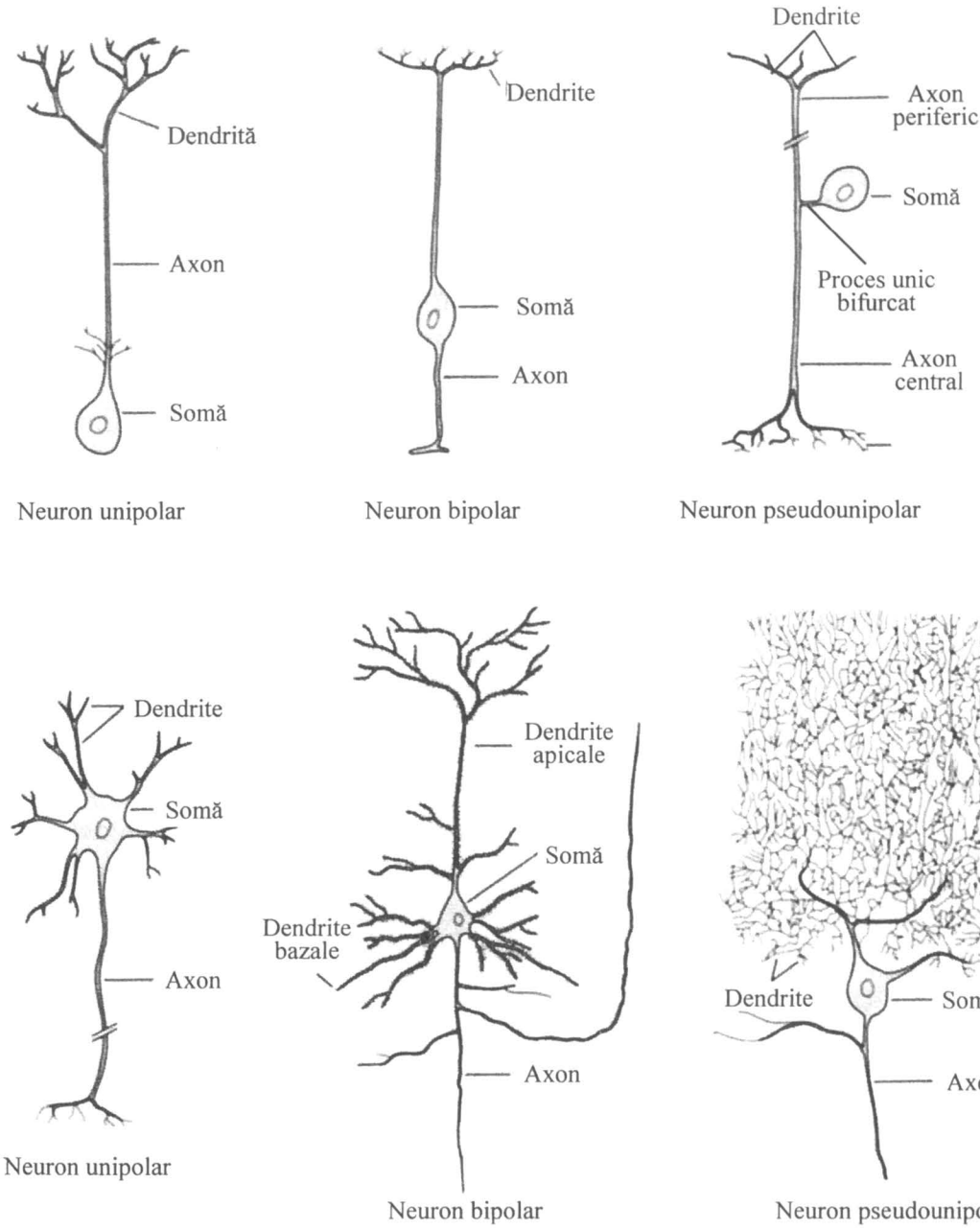


Figura 2.7 Clasificarea neuronilor în funcţie de numărul prelungirilor (după Marieb, 1998)

- neuroni **bipolari:** sunt caracterizaţi printr-un corp ovoidal din care pornesc 2 procese ce se ramifică: un proces periferic, ce funcţionează ca dendrite şi unul central ce funcţionează ca axon. Sunt neuroni senzitivi, întâlniţi în retină şi epiteliul olfactiv. Un caz particular al neuronilor bipolari îl constituie neuronii ***pseudounipolari*** – de exemplu, neuronii senzitivi din ganglionii spinali. Această subcategorie s-a format în stare embrionară prin fuzionarea celor două procese într-unul singur, care se ramifică, formând o ramură periferică ce aduce informaţii despre atingere, presiune, căldură, durere, şi o ramură centrală ce transmite

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

informaţia către sistemul nervos central. Sunt denumite dendrite, numai terminaţiile procesului periferic.

- neuroni **multipolari**: predomină în sistemul nervos al vertebratelor. Au un singur axon şi numeroase dendrite ce pornesc din toate părţile corpului celular. Exemple: neuronii motori spinali, neuronii piramidali din hipocamp şi cortexul cerebral, neuronii Purkinje din cerebel. Forma este asociată funcţiei: cu cât numărul de sinapse este mai mare, cu atât arborizaţia este mai mare.

Din punct de vedere funcţional, există 3 tipuri de neuroni:

- neuroni senzitivi
- neuroni motori
- interneuroni sau de asociaţie.

Cel mai bine descrişi sunt neuronii senzitivi şi motori ce participă în arcul reflex (Fig. 2.8), de la nivelul măduvei spinării.

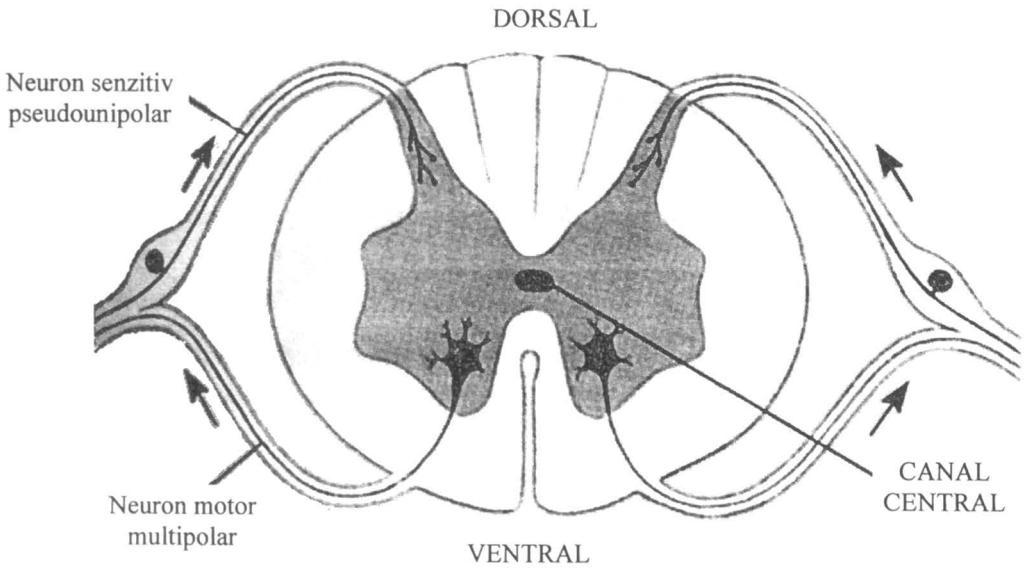


Figura 2.8 Neuronii senzitivi şi motori din măduva spinării. Deşi nu sunt reprezentaţi, între neuronii snezitivi şi cei motori, legătura se face prin interneuroni (după Pinel, 2003)

NEURONII SENZITIVI

Neuronii senzitivi au rol în conducerea informaţiei de la periferie către sistemul nervos central. Ei sunt denumiţi neuroni ***senzitivi*** dacă aduc informaţia de la tegument şi neuroni ***senzoriali*** dacă informaţia provine de la organele de simţ.

Neuronii senzitivi ai arcului reflex conduc informaţia despre starea de contracţie a muşchiului. Corpul celular este mare, 60 – 120 μm, localizat în ganglionii spinali. Nu au dendrite, fiind neuroni pseudounipolari. La maturitate, aceşti neuroni au un singur

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

axon, ce se bifurcă în două ramuri, la scurtă distanţă de corpul celular: ramura periferică se proiectează pe muşchi, în timp ce ramura centrală spre măduva spinării, unde formează sinapse cu corpul celular şi dendritele neuronilor motori.

Ramura periferică se răsuceşte în jurul fusului muscular (receptor sensibil la întindere). Ea este învelită de o teacă de mielină, întreruptă de-a lungul axonului de noduri Ranvier. Braţul central al axonului senzitiv intră în coarnele dorsale, unde se bifurcă ramuri care urcă şi coboară în măduva spinării. Fibrele colaterale ale axonului formează sinapse cu neuronii motori din coarnele ventrale. Prin activare, neuronii senzitivi eliberează ***L-glutamat***, neurotransmiţător excitator care depolarizează neuronul motor.

Neuronii senzitivi din ganglionii spinali pot fi clasificaţi morfologic şi fiziologic în mai multe clase.

Din punct de vedere **morfologic**, există două clase principale de neuroni. Este cea mai simplă clasificare, bazată pe aspectul neuronilor la microscop: **luminoşi** şi **întunecaţi**. Citoplasma neuronilor luminoşi este caracterizată de o colorare neuniformă, datorată distribuţiei corpusculilor Nissl sub formă de agregate. Substanţa Nissl separată de regiuni luminoase, reprezentate de nicrotubuli şi mari cantităţi de neurofilamente. Citoplasma neuronilor întunecaţi prezintă o citoplasmă uniformă ca aspect, în care organitele celulare sunt mai omogen distribuite şi mai compactate, cantitatea de neurofilamente este mai mică, în schimb numărul de corpi Golgi este mai mare. Toate aceste trăsături dau neuronilor aspectul întunecat. Aceleaşi subpopulaţii morfologice au fost denumite în trecut neuroni ***dorsomediani*** (similari neuronilor întunecaţi) şi neuroni ***ventrolaterali*** (neuronii luminoşi) puşi în evidenţă în stadiile incipiente ale dezvoltarii neuronale. Cantitatea de neurofilamente este proporţională cu gradul de mielinizare al axonului.

Din punct de vedere **fiziologic**, fibrele axonale ale neuronilor senzitivi sunt de tip Aα/β, Aδ şi C, diferenţă dată de gradul de mielinizare şi viteza de conducere. Durata potenţialului de acţiune în neuronii senzitivi este cu mult mai mare decât în neuronii motori, fiind cuprinsă între 2-7 ms. Pentru clasificarea neuronilor senzitivi se pot folosi mai multe criterii:

- ***natura stimulului activator***, în: mecanoreceptori, termoreceptori, polimodali.
- ***intensitatea stimulului*** aplicat sunt neuroni cu prag mic de activare, neuroni cu prag mare de activare (nociceptori) şi neuroni care nu răspund la stimulare (*"silent"*)
- modalitatea de ***adaptare***, sunt neuroni cu adaptare lentă şi neuroni cu adaptare rapidă.

Nociceptorii sunt neuronii implicaţi în transmiterea senzaţiei dureroase. Sunt în general neuroni de tip C sau Aδ, au prag mare de activare şi pot fi clasificaţi în: mecanoreceptori, mecano-termoreceptori şi polimodali (răspund la stimuli mecanici, termici şi chimici).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

NEURONII MOTORI

Neuronii motori au rol în conducerea comenzii motorii de la nivel central spre fibrele musculare. Axonul fiecărui neuron senzitiv sinapsează direct cu 2 neuroni motori: unul care inervează muşchiul ce stimulează neuronul senzitiv şi unul care inervează muşchiul ce cooperează în arcul reflex (muşchiul sinergistic) de întindere a articulaţiei genunchiului. Ambele tipuri de neuroni sunt localizaţi în coarnele ventrale. Corpul celular este mare, cu un nucleu cu nucleol bine diferenţiat.

Dendritele sunt arborizate direct din corpul celular. Numărul total de ramificări dendritice per celulă este mai mare de 100. Ramurile dendritice sunt proiectate radiar, astfel încât se pot extinde pe o suprafaţă cu un diametru de 2-3 mm. Aceste structuri dendritice extensive sunt caracteristice neuronilor, a căror activitate este reglată prin semnale provenite de la numeroşi alţi neuroni.

Extensii scurte şi specializate ale dendritelor, denumite spine, extind suprafaţa de contact a neuronului şi reprezintă compartimente biochimice şi electrice, la nivelul cărora semnalele sunt recepţionate şi procesate.

ARN-ul mesager este trimis de-a lungul dendritelor şi este concentrat la baza spinelor dendritice, prin urmare, la nivelul dendritelor se desfăşoară sinteza proteică, cu rol important în plasticitatea sinaptică.

Există un singur axon, cu un diametru de 20 μm ce porneşte de la o regiune specializată, denumită con axonal. Lungimea conului axonal şi a primului segment axonal nemielinizat atinge diametrul corpului celular. Aproape jumătate din suprafaţa conului axonal, corpul celular şi 3/4 din membrana dendritică sunt acoperite de butoni sinaptici, reprezentaţi de terminaţiile axonilor presinaptici.

Conul axonal şi segmentul nemielinizat al axonului funcţionează ca zonă de generare a PA, prin integrarea semnalelor venite de la neuronii presinaptici.

În apropierea corpului celular, axonul prezintă câteva ramificaţii colaterale recurente, deoarece se proiectează pe neuronul motor, modificând activitatea celulei. Cel mai des, sinapsa recurentă se realizează cu un tip special de interneuron: celulele Renshaw (Fig. 2.9), care au rolul de a hiperpolariza neuronii motori prin eliberarea de glicină. Acest neurotransmiţător inhibă generarea de potenţiale de acţiune în neuronul motor al muşchiului antagonist, care se va relaxa.

O diferenţă importantă între neuronii senzitivi şi cei motori este locul de primire a semnalelor. Neuronii senzitivi au foarte puţini butoni la nivelul corpului celular sau de-a lungul ramurii periferice a axonului. Principalul semnal de intrare soseşte la nivelul axonului periferic de la receptorii senzitivi. Neuronii motori primesc influxuri primare şi modificate la nivelul tuturor dendritelor sale şi la nivelul corpului celular.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Sinapsele pe neuronul motor sunt distribuite funcţional. Majoritatea sinapselor inhibitoare se realizează pe corpul celular, în timp ce sinapsele excitatoare sunt localizate cât mai departe pe dendrite. Prin urmare, influxurile inhibitoare sunt dispuse strategic cât mai aproape de zona de generare a potenţialului de acţiune, astfel încât influenţa lor este maximă.

Când neuronii motori intră în musculatură, se ramifică în numeroase fibre amielinizate, care se distribuie pe toată suprafaţa muşchiului, formând numeroase contacte sinaptice denumite joncţiuni neuromusculare. Un singur axon poate inerva mai multe fibre musculare, în timp ce o fibră musculară este inervată de un singur axon. Axonul, împreună cu fibrele musculare inervate, alcătuieşte o **unitate motorie**. Numărul de fibre musculare inervate de un singur axon diferă în funcţie de rolul fiziologic şi localizarea în organism. Cu cât numărul fibrelor musculare este mai mic, cu atât mişcarea este mai fină.

Dacă neuronii motori sunt proiecţiile excitatoare ale măduvei spinării, neuronii piramidali sunt neuronii excitatori ai cortexului cerebral. Celulele piramidale de la nivelul cortexului cerebral sunt în general similare morfologic şi folosesc L-glutamatul ca neurotransmiţător. Au mai multe ramificaţii dendritice decât neuronii motori.

Cele două tipuri de neuroni diferă foarte mult, prin forma potenţialului de acţiune, prin viteza de conducere, prin proteinele exprimate în membrană, prin metabolismul intracelular. Cea mai evidentă diferenţă biochimică este considerată tipul de neurotransmiţător pe care îl utilizează: neuronul motor foloseşte acetilcolina, în timp ce neuronul senzitiv foloseşte glutamatul şi neurotransmiţători peptidici (substanţă P, calcitonin gene related peptide, CGRP).

INTERNEURONII

Reprezintă cea mai diversificată clasă. Procesează informaţia local sau o transmit în interiorul sistemului nervos, de la un situs la altul. Axonul interneuronilor variază ca lungime, de aceea se întâlnesc două tipuri de interneuroni:

- Celule Golgi de tip I, cu axon lung. Se mai numesc interneuroni de proiecţie, care transmit informaţia pe distanţe mari;
- Celule Golgi de tip II, cu axon scurt. Sunt interneuronii locali (Fig. 2.9), care procesează informaţia într-o regiune specifică a sistemului nervos. Un astfel de exemplu îl oferă neuronii Renshaw, neuroni inhibitori din măduva spinării, ce îşi exercită efectul hiperpolarizant asupra neuronului motor al muşchiului antagonist în reflexul contracţiei musculare, prin eliberare de glicină.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

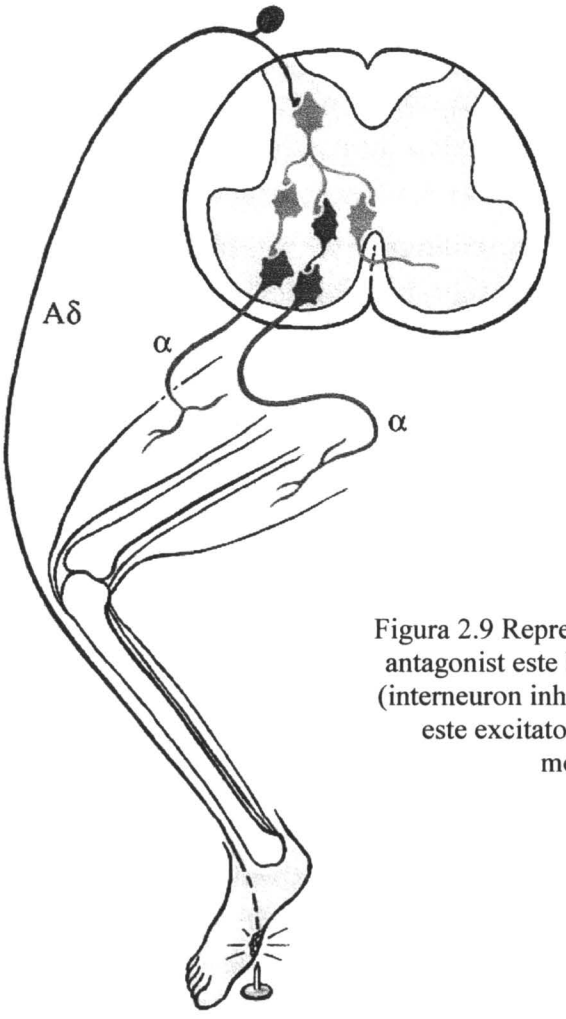


Figura 2.9 Reprezentarea arcului reflex. Contracţia muşchiului antagonist este blocată prin intermediul neuronului Renshaw (interneuron inhibitor, reprezentat în negru). Interneuronul gri este excitator şi face legătura între neuronul senzitiv şi motoneuronul α al muşchiului său
(după Nicholls, 2001)

CELULELE GLIALE

Denumirea lor vine din greacă *glia* = lipici, deoarece au rolul de a conecta neuronii între ei. Au aspectul unei mase amorfe de substanţă ce înconjoară neuronul.

Au rol în:

- controlul mediului din jurul neuronilor;
- tamponarea ionilor de potasiu din spaţiul extracelular şi îndepărtarea neurotransmiţătorilor eliberaţi de neuroni în timpul transmiterii sinaptice;
- susţinerea şi conservarea structurii sistemului nervos. Uneori, au rolul de a separa grupuri funcţionale de neuroni;
- producerea de mielină;
- îndepărtarea resturilor de celule moarte sau lezarea celulelor străine;
- direcţionarea şi migrarea neuronilor în timpul dezvoltării embrionare;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- induc formarea joncţiunilor gap în celulele endoteliale ce delimitează capilarele şi venulele sistemului nervos central, deci creează astfel bariera hematoencefalică;
- funcţii nutritive pentru neuroni;
- semnalizare la distanţă a activităţii neuronale, prin variaţia concentraţiei de calciu intracelular.

Există 6 tipuri de celule gliale: microglii, oligodendroglii, astrocite, celule Schwann, celule satelit, celule ependimare.

Microgliile.

Sunt celule mici (Fig. 2.10), dispersate în sistemul nervos central, care în stare de repaus stabilesc contacte cu neuronii, înregistrând starea de sănătate a acestuia. De îndată ce apare o leziune, sunt mobilizate prin rotunjire, se deplasează şi proliferează la situsul leziunii, unde se transformă în macrofage şi elimină resturile produse de leziuni, infecţii, boli. Nu sunt de natură nervoasă.

Celulele ependimare

Sunt un alt tip de celule gliale ce tapetează cavitatea centrală a creierului şi măduvei spinării (Fig. 2.10). Formează bariera hematoencefalică. Multe sunt celule ciliate. Prin mişcarea cililor antrenează deplasarea lichidului cefalorahidian în interiorul cavităţilor. Au forma tipică a celulelor endoteliale: de la scvamoase până la columnare.

Macrogliile

Din această categorie fac parte oligodendrogliile, celulele Schwann şi astrocitele.

Astrocitele

Astrocitele sunt celule cu formă de stea, dată de procesele dispuse radiar în jurul corpului celular, uneori terminându-se pe suprafaţa vaselor de sânge. Sunt cele mai abundente celule gliale de la nivelul sistemului nervos central, cu numeroase ramificaţii ce stabilesc contacte în egală măsură cu neuronii şi cu vasele de sânge.

La nivelul lor există numeroase neurofilamente, depozite de glicogen, şi sunt legate între ele prin joncţiuni gap. Funcţiile îndeplinite de acestea sunt:

- suport structural al neuronilor,
- proliferează în urma leziunilor şi repară nervul;
- izolează şi grupează fibrele nervoase;
- modulează concentraţia de ioni, neurotransmiţători şi metaboliţi de la nivelul sinapselor;
- hrănesc neuronii prin procurarea de glucoză şi oxigen din vasele sanguine.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

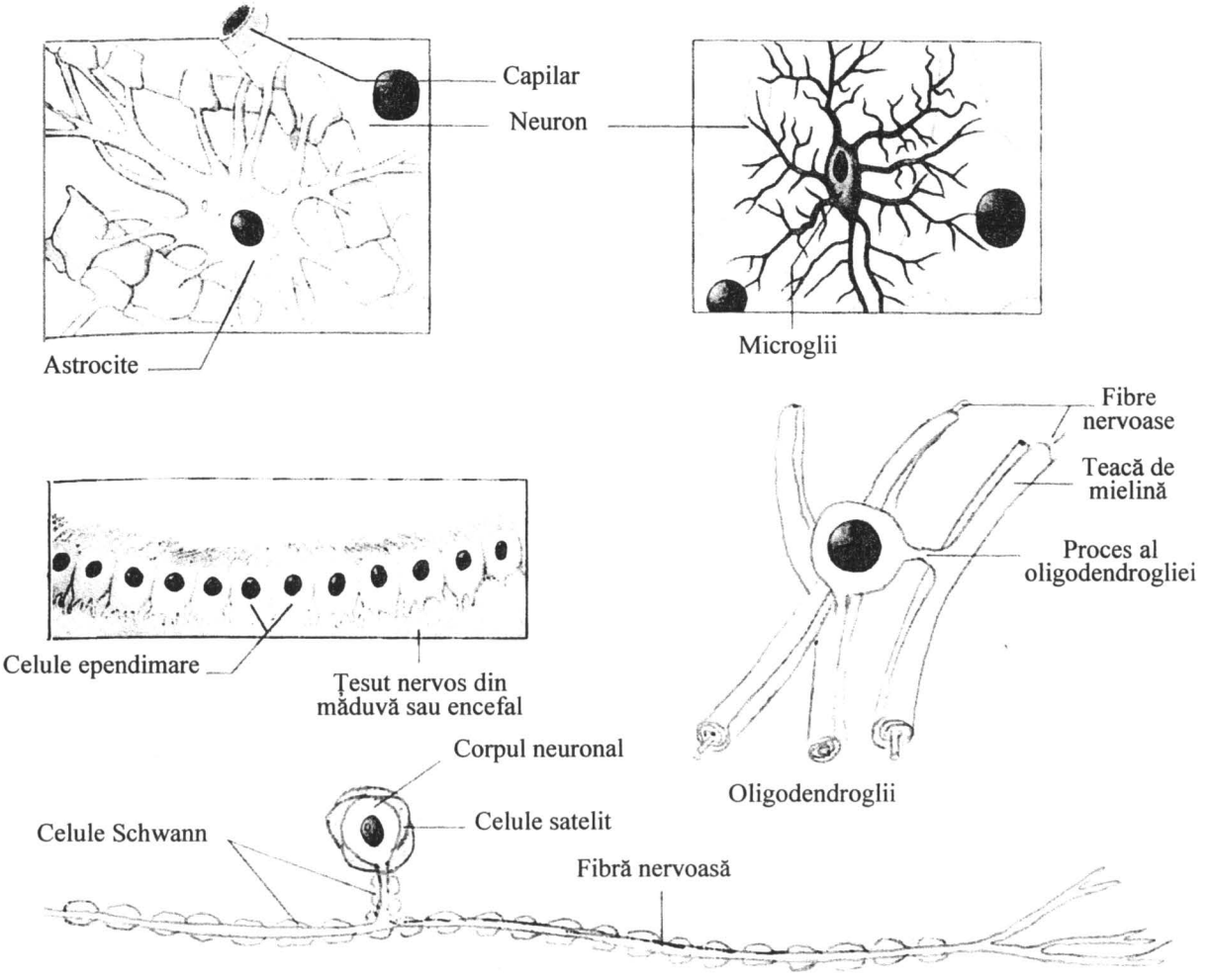


Figura 2.10 Celulele gliale (după Marieb, 1998)

Tamponarea concentraţiei de potasiu din spaţiul extracelular, prin permeabilitatea membranară foarte mare pentru potasiu, este o funcţie foarte importantă îndeplinită de astrocite, protejând astfel neuronii învecinaţi de depolarizarea rezultată din acumularea ionilor de potasiu în exteriorul celulei. Între astrocite se stabilesc numeroase joncţiuni gap, de aceea citoplasma lor este un foarte bun mediu de tamponare a ionilor de potasiu absorbiţi. Permeabilitatea pentru ionii de potasiu nu este uniformă, ci este mai mare la nivelul contactului cu vasele de sânge, asigurând astfel eliminarea potasiului în circulaţia sanguină.

Concentraţia de potasiu în mediul extracelular variază în funcţie de activitatea neuronală între 3 şi 10 mM, concentraţie critică pentru diametrul arterelor şi arteriolelor ce asigură vascularizaţia cerebrală. Când activitatea neuronilor este intensă şi concentraţia de potasiu depăşeşte 10 mM, diametrul vaselor de sânge creşte cu 50 %.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Prin urmare există un mecanism de autoreglare homeostatic a vascularizaţiei: fluxul sanguin şi consumul de oxigen trebuie să fie proporţional cu activitatea neuronală.

Oligodendrogliile

Au ramificaţii mai puţine şi mai subţiri decât astrocitele (Fig. 2.10). Se disting printr-un număr mare de microtubuli. Nu participă la formarea sinapselor, dar ***formează teaca de mielină*** în sistemul nervos central. O singură celulă îmbracă mai multe procese axonale, mai mulţi neuroni (Fig. 2.12).

Celulele Schwann

Celulele Schwann sunt celule gliale modificate din sistemul nervos periferic, care formează teaca de mielină a axonilor periferici. O singură celulă Schwann mielinizează 1 mm de axon. Între două celule vecine se află o zonă unde membrana axonală este doar învelită denumită nod Ranvier.

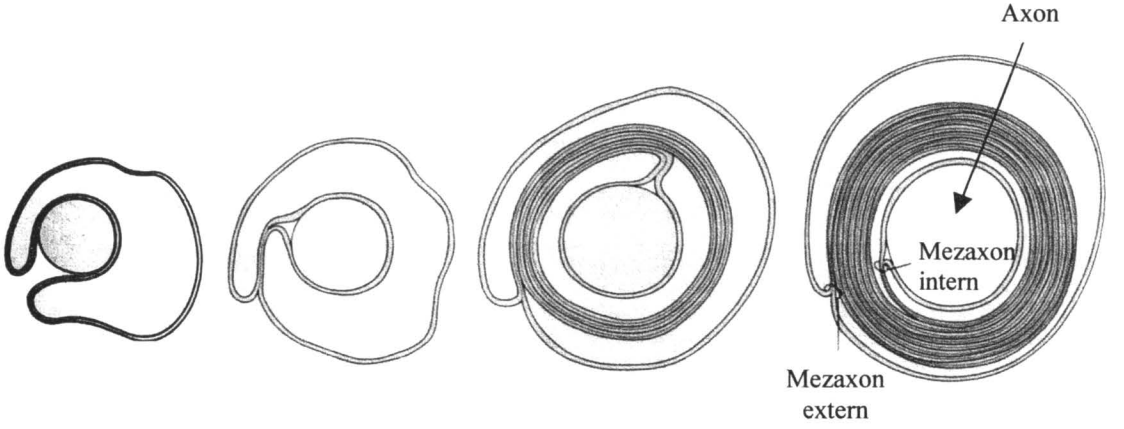


Figura 2.11 Dezvoltarea tecii de mielină în sistemul nervos periferic (după Kandel, 2000)

În timpul dezvoltării sistemului nervos periferic, înainte de mielinizare, axonii senzitivi sunt dispuşi într-un şanţ format din celule Schwann. Membrana celulară a fiecărei celule Schwann înconjoară un singur axon, formând o structură membranară dublă, denumită ***mezaxon*** care se alungeşte şi se încolăceşte în jurul axonului în straturi concentrice. Citoplasma celulelor Schwann este presată, membrana se compactează şi formează structura lamelară a mielinei mature (Fig. 2.11). Teaca de mielină are 80% lipide (cerebrozide, fosfolipide, şi majoritar este colesterolul) şi 20% proteine. Nucleul celulei Schwann este întotdeauna în stratul superficial al mielinei. Fiecare segment internodal este format de o singură celulă Schwann, astfel încât pentru mielinizarea unui singur axon cu 500 de spaţii internodale sunt necesare 500 de celule gliale (Fig. 2.12).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Factorii declanşatori ai procesului de mielinizare la nivel central şi periferic sunt diferiţi biochimic: exprimarea genelor pentru mielină în celulele Schwann este declanşată de contactul între axoni şi celulele gliale, în timp ce exprimarea genelor pentru mielină în sistemul nervos central este declanşată de prezenţa astrocitelor.

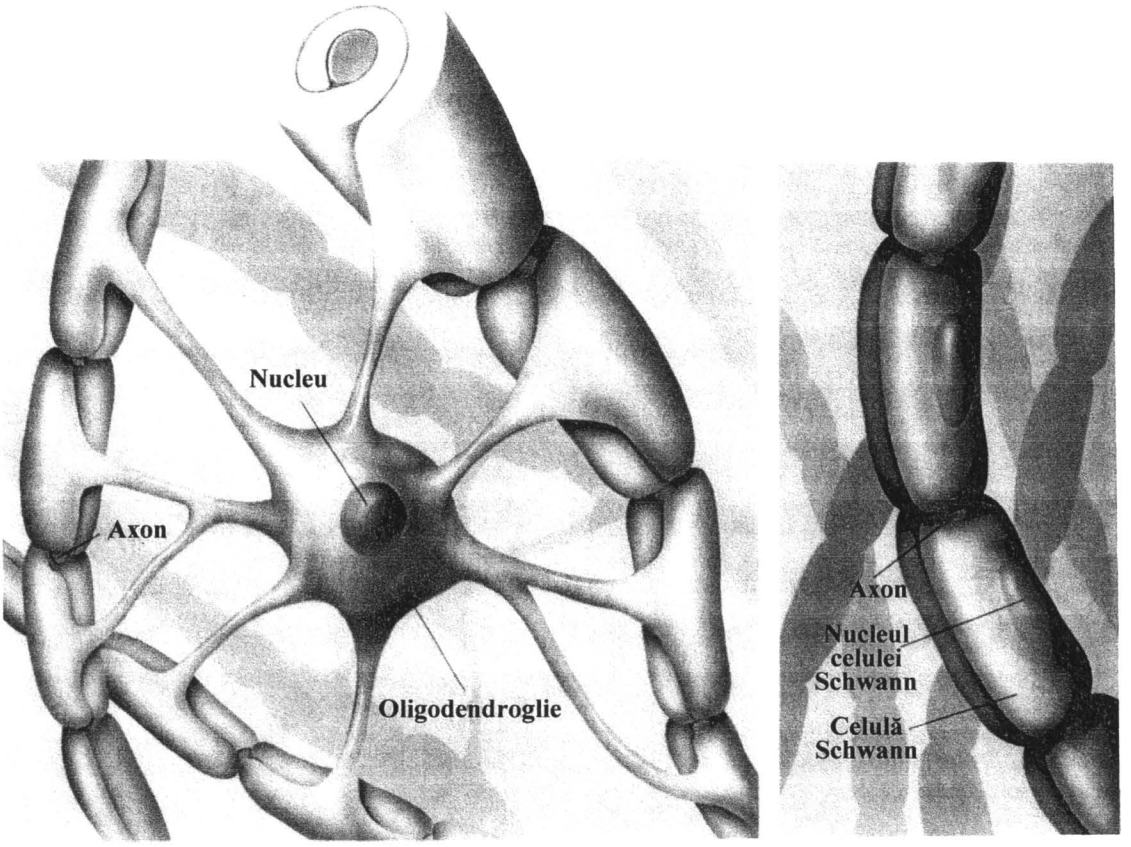


Figura 2.12 Mielinizarea diferită la nivel central şi periferic. Central, oligodendrogliile mielinizează mai mulţi axoni, în timp ce periferic un axon este mielinizat de mai multe celule Schwann (după Pinel, 2003)

Mielina acţionează ca un izolator, al cărui rol este de a accelera transmiterea informaţiei: cu cât stratul de mielină este mai gros, cu atât va creşte viteza de conducere. O mielinizare necorespunzătoare a axonului produce alterări ale funcţiilor senzitive şi motorii. Înţelegerea formării mielinei stă la baza înţelegerii maladiilor neurologice.

Celulele satelit

Celulele satelit aparţin tot sistemului nervos periferic, şi sunt dispuse în jurul corpului neuronal al neuronilor periferici (Fig. 2.10). Au rol în controlul mediului chimic din jurul neuronilor cu care sunt asociate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 3. EXCITABILITATEA NEURONALĂ

Până acum, am accentuat importanţa structurii neuronilor prin numeroasele prelungiri ce pornesc de la nivelul corpului neuronal şi rolul pe care îl îndeplineşte fiecare compartiment în parte. Această structură complexă permite îndeplinirea funcţiilor specifice ale neuronilor, realizate pe baza **proprietăţilor electrice**.

Excitabilitatea este definită ca proprietatea celulei de a răspunde la aplicarea unui stimul.

POTENŢIALUL DE REPAUS

Pentru a înţelege funcţiile neuronale, trebuie bine înţeleasă noţiunea de *potenţial membranar*, diferenţa dintre încărcarea electrică a interiorului şi exteriorului celulei, ce stă la baza excitabilităţii şi a capacităţii de comunicare a neuronilor.

Prin definiţie, ***potenţialul de repaus*** este potenţialul membranar al neuronului aflat la repaus. Prin repaus înţelegem absenţa oricărui stimul extern.

Pentru a înregistra potenţialul membranar al unui neuron, trebuie să poziţionăm un electrod în interiorul celulei şi un alt electrod în fluidul extracelular al neuronului. Electrodul poate fi o sârmă de argint (Ag/AgCl) sau un electrod de sticlă cu un vârf foarte subţire, umplut cu o soluţie salină bună conductoare.

Dacă cei doi electrozi sunt poziţionaţi în mediul extracelular, diferenţa de potenţial dintre cei doi este de 0 mV (Fig. 3.1). Dacă unul dintre electrozi se introduce în neuron, apare o diferenţă de potenţial (diferită în funcţie de neuron), cuprinsă între -40 şi –90 mV, cu o valoare medie acceptată ca fiind de –70 mV. Acesta este potenţialul de repaus şi arată că interiorul celulei este cu 70 mV mai negativ decât exteriorul. Deoarece, în starea de repaus, există o diferenţă de potenţial de o parte şi de alta a membranei, spunem că neuronul este **polarizat electric**. Când potenţialul membranar este mai puţin negativ decât potenţialul de repaus, spunem că neuronul este ***depolarizat***, în timp ce un potenţial membranar mai negativ decât potenţialul de repaus indică un neuron ***hiperpolarizat***.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

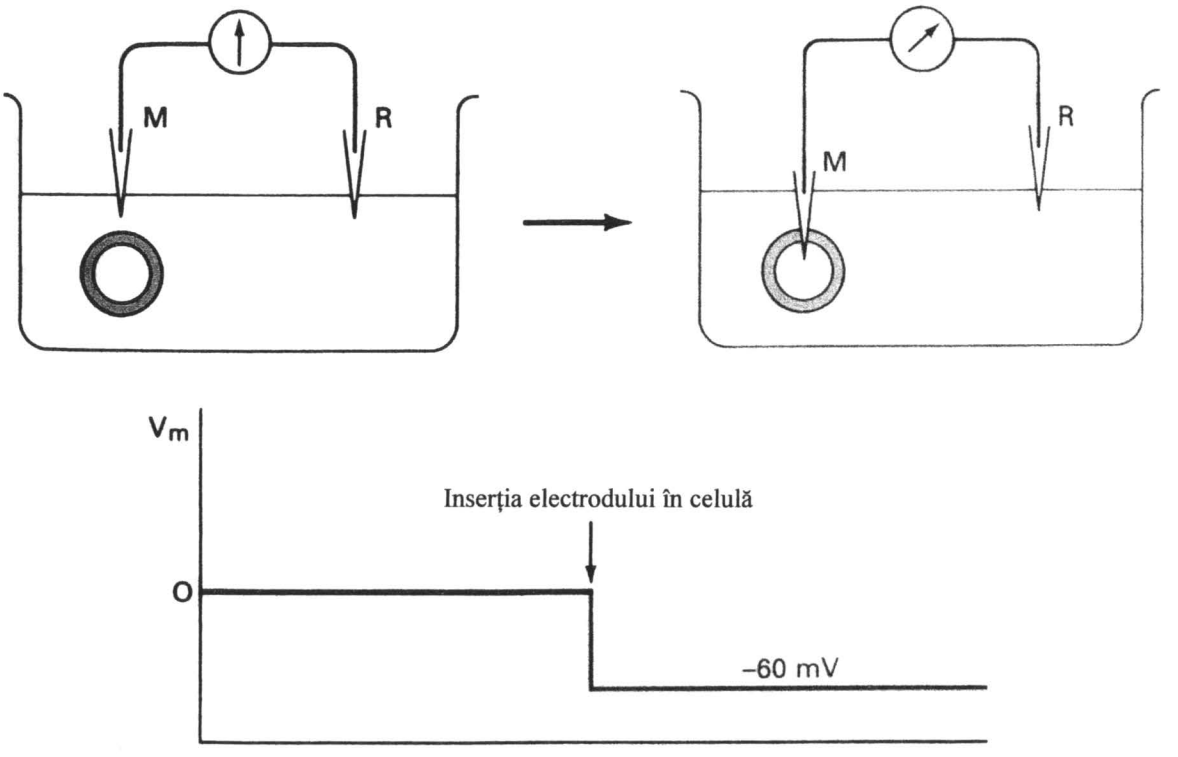


Figura 3.1 Măsurarea potențialului membranar. Diferența de potențial transmembranar (Vm) este dată de diferența potențialelor electrozilor de: măsurare (M) din interiorul celulei şi de referință (R) din lichidul extracelular (după Levitan, 1991)

Această diferență de potențial, existentă la repausul membranar, este rezultatul distribuției diferite a ionilor de o parte şi de alta a membranei celulare (Fig. 3.2A): sodiul (Na^+) este principalul cation extracelular, în concentrație de cca 140 mM față de 10 mM intracelular, potasiul (K^+) este principalul cation intracelular, la o concentrație de 120 mM intern față de 4 mM extern. Din punct de vedere al anionilor, clorul (Cl^-) este anionul principal al mediului extracelular, în timp ce, în mediul intracelular, sarcina negativă este asigurată majoritar de anionii organici, molecule şi macromolecule mari ce nu pot ieşi din celulă prin canalele ionice. Ce este foarte important de reținut: per total, atât mediul intracelular, cât şi cel extracelular sunt neutre din punct de vedere electric (Fig. 3.2B). Distribuția de sarcini pozitive şi negative este localizată doar la nivelul membranei celulare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

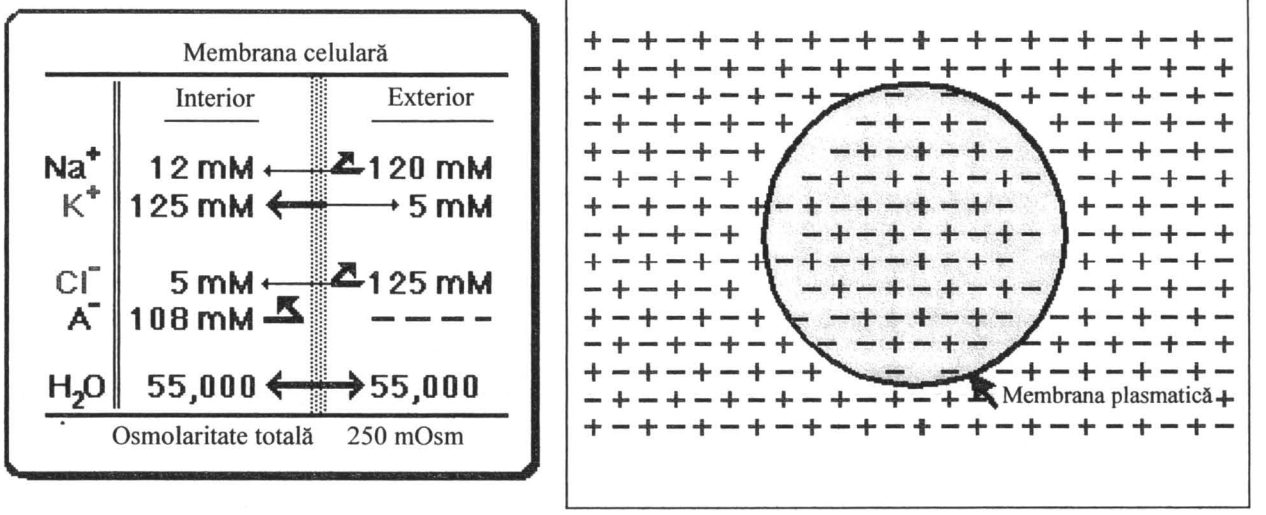


Figura 3.2 **A** Distribuţia ionilor şi a sarcinilor de o parte şi de alta a membranei celulare, pentru o celulă de mamifer. Osmolaritatea totală este de 250 mOsm.
B Reprezentarea distribuţiei sarcinilor în cele două compartimente: segregarea sarcinilor este numai la nivelul suprafeţei membranei celulare.

Ca urmare a segregării sarcinilor şi a compoziţiei ionice, asupra fiecărui ion acţionează astfel două forţe: una chimică, dată de *gradientul de concentraţie* şi una electrică, dată de *gradientul electric*. Deplasarea fiecărui ion va fi astfel controlată de suma algebrică a celor două forţe. Când ionii de K (spre exemplu) sunt în echilibru, spunem că cele două forţe se egalează şi că nu există deplasare netă de sarcină electrică purtată de acest ion. Potenţialul membranar la care un ion este în echilibru se numeşte **potenţial de echilibru** şi este calculat cu ajutorul ecuaţiei lui Nernst:

$$W_{ch} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[ion]_{ext}}{[ion]_{int}}$$

$$W_{el} = zE$$

la echilibru: $$W_{ch} = W_{el}$$

$$E_{ion} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[ion]_{ext}}{[ion]_{int}}$$ ***ecuaţia lui Nernst***

unde W_{ch} este lucrul mecanic al deplasării conform gradientului chimic,
W_{el} este lucrul mecanic al deplasării conform gradientului electric,
R este constanta gazelor rare 2 cal/mol*°K,
T este temperatura exprimată în grade Kelvin,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

F este numărul lui Faraday 96500 C,

z este sarcina ionului.

Pentru că RT/F este un raport de constante egal cu 25 mV la 25 °C, ecuația lui Nernst se mai scrie:

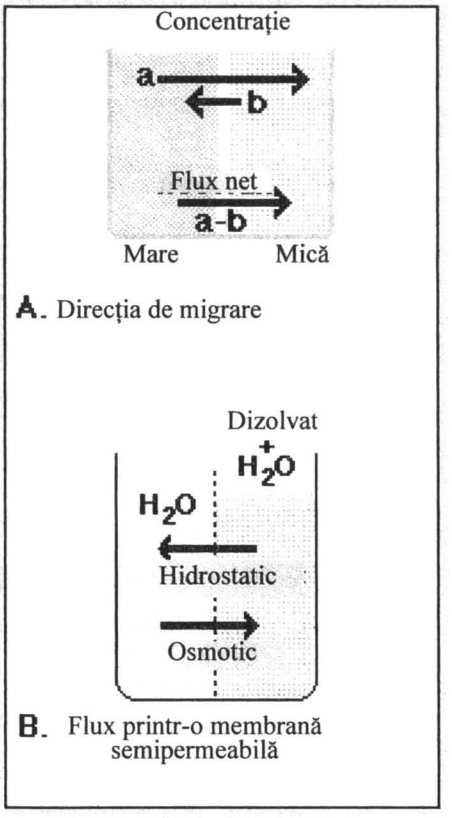
$$E_{ion} = \frac{58}{z} \lg \frac{[ion]_{ext}}{[ion]_{int}} mV$$

Astfel, potențialele de echilibru calculate pentru fiecare ion în parte sunt: E_{Na}= + 58 mV, E_K= - 81 mV și E_{Cl}= - 81 mV.

Două întrebări se ridică:

- *Cum a apărut distribuția inegală a sarcinilor?*
- *Cum a apărut potențialul electric?*

CUM A APĂRUT DISTRIBUȚIA INEGALĂ A SARCINILOR?



Echilibrul Donnan poate răspunde la prima întrebare. La baza acestei teorii stau 2 proprietăți ale ionilor în soluție:

- disocierea ionilor în soluție;
- difuzia pasivă de la concentrații mai mari la concentrații mai mici.

Figura 3.3 Schema experimentului lui Donnan.

A. Dacă între cele două compartimente nu există nici o barieră, concentrațiile celor două săruri a și b se egalează.
B. Prin adăugarea unei bariere permeabile doar pentru un ion, apare și un gradient osmotic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Experimentul realizat de Donnan (Fig. 3.3):

- avem două compartimente umplute cu soluţii diferite, separate de o membrană, difuzia ionilor dintr-un compartiment în altul este controlată de permeabilitatea membranei faţă de ionii componenţi;
- Donnan a demonstrat că prezenţa unui ion organic într-un singur compartiment, pentru care membrana e impermeabilă, va induce distribuirea inegală a ionilor permeabili de o parte şi de alta a membranei.

CUM? Considerând cazul unei membrane biologice, permeabilă la repaus pentru K^+ şi Cl^-. Adăugăm soluţii de concentraţii diferite de clorură de potasiu (KCl) de o parte şi de alta a membranei. Pentru că sarea disociază în ionii componenţi şi pentru că membrana este permeabilă pentru cei doi ioni, aceştia vor difuza în timp, de la concentraţia cea mai mare la cea mai mică, până când concentraţiile se vor egala şi vom avea neutralitate electrică pe cele două feţe.

Dacă adăugăm un anion organic, pentru care membrana e impermeabilă, şi ioni de K^+ pentru a neutraliza sarcinile negative ale acestuia, deşi din punct de vedere electric anionii sunt neutralizaţi, echilibrul chimic al ionilor de potasiu este perturbat. Potasiul va avea tendinţa să se deplaseze conform gradientului de concentraţie, împreună cu ioni de clor, pentru a se atinge echilibrul electrochimic. La echilibru, potenţialul de echilibru al ionului de potasiu trebuie să îl egaleze pe cel al ionului de clor (ecuaţia lui Nernst pentru fiecare ion în parte).

$$E_K = +58 \lg \frac{[K]_{ext}}{[K]_{int}}$$

$$E_{Cl} = -58 \lg \frac{[Cl]_{ext}}{[Cl]_{int}}$$

la echilibru $E_K = E_{Cl}$,

şi din egalarea ecuaţiilor se obţine legea lui Donnan:

$$[K_{ext}]/[K_{int}] = [Cl_{int}]/[Cl_{ext}] \quad \text{sau}$$

$$[K_{ext}] * [Cl_{ext}] = [K_{int}] * [Cl_{int}]$$

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Deşi sistemul este în echilibru electrochimic, nu este în **echilibru osmotic**, deoarece electrolitul intern are o concentraţie ionică mai mare şi va tinde să atragă apa, presiunea internă creşte şi apare presiunea osmotică. La animale, echilibrul osmotic se atinge prin adăugarea de electrolit în mediul extracelular, şi anume NaCl. Membrana nu este permeabilă pentru Na^+ prin urmare aceştia nu vor difuza spre celălalt compartiment. Ionii de sodiu au fost folosiţi drept cationi majoritar în exterior, deoarece apariţia celulelor s-a realizat în mediu salin, în care sodiul este o componentă permanentă pe care celula nu trebuie să o stocheze.

CUM A APĂRUT POTENŢIALUL ELECTRIC?

Difuzia unei substanţe este controlată de *gradientul chimic*. În cazul ionilor, deplasarea conform gradientului chimic va produce o dislocare de sarcină, deci un *gradient electric*. La echilibru, cele două forţe sunt egale şi se poate calcula un potenţial de echilibru al fiecărui ion în parte (Fig. 3.4).

Potenţialul de repaus este potenţialul de echilibru spre care tinde o membrană permeabilă pentru mai multe categorii de ioni, şi indică un flux net de sarcină electrică nul.

Dacă membrana ar fi permeabilă doar pentru potasiu, potenţialul de repaus ar fi potenţialul de echilibru al ionilor de potasiu. Deoarece membrana are o permeabilitate mică pentru ionii de sodiu, şi gradientul electrochimic al sodiului este foarte mare, ionii de sodiu depolarizează membrana de la valoarea potenţialului de echilibru al potasiului, până la valoare de echilibru electrochimic al celor doi ioni. În cele mai multe celule, de la –90 mV până la –70 mV.

Ţinând cont de permeabilităţile membranei pentru ionii de Na, K şi Cl şi de concentraţiile acestor ioni, potenţialul membranar se poate calcula din ecuaţia:

$$V_m = 58 \lg\left(\frac{P_K * [K]_{ext} + P_{Na} * [Na]_{ext} + P_{CL} * [Cl]_{int}}{P_K * [K]_{int} + P_{Na} * [Na]_{int} + P_{Cl} * [Cl]_{ext}}\right)$$

denumită **ecuaţia lui Goldmann**, unde *P* reprezintă permeabilitatea membranei pentru fiecare ion în parte, iar în paranteze drepte sunt reprezentate concentraţiile ionilor în cele două compartimente intern şi extern. Se observă că ionii de clor, având sarcină negativă, intervin inversat în formula potenţialului de membrană faţă de ionii de Na şi K, şi anume, la numărător concentraţia internă iar la numitor concentraţia externă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

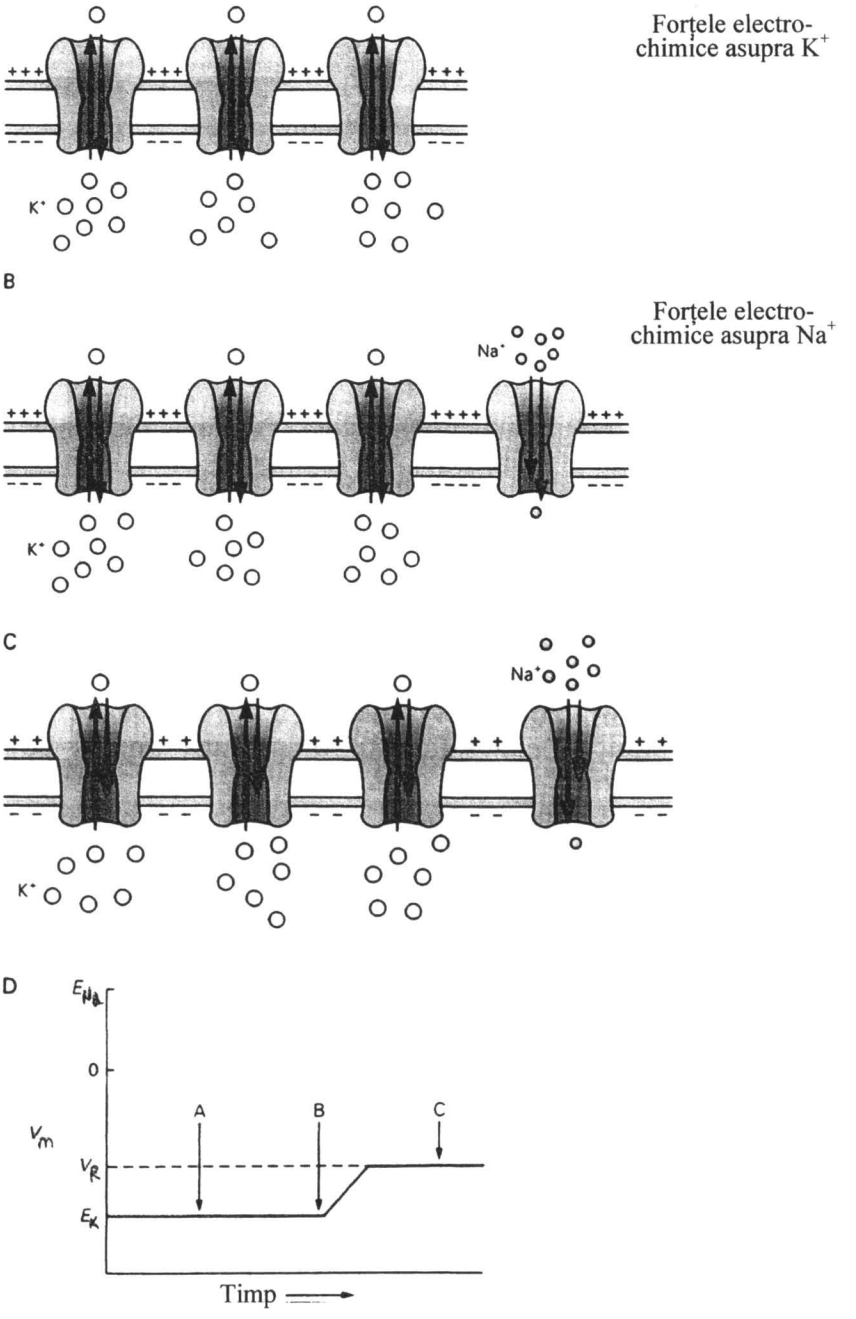


Figura 3.4 Reprezentarea canalelor ce intervin în menținerea potențialului de repaus. **A:** Prezintă forțele exercitate asupra ionilor de K. **B:** Prezintă forțele exercitate asupra ionilor de sodiu. **C:** Prezintă acțiunea combinată a celor două fluxuri ionice. **D**: prezintă variația potențialului membranar de la potențialul de echilibru al ionului de potasiu (E_K) până la valoarea de repaus sub influența influxului de sodiu (după Kandel, 2000)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În realitate, numai ionii de K^+ şi Na^+ sunt cei care influenţează potenţialul membranar, fiind ionii pentru care membrana este permeabilă la repaus. Permeabilitatea membranei pentru clor este de asemenea diferită de zero, dar deoarece ionul este în echilibru electrochimic, ionii de clor nu contribuie la valoare potenţialului de repaus.

BAZELE IONICE ALE POTENŢIALULUI DE REPAUS

Proprietatea sărurilor de a disocia în particule încărcate negativ şi pozitiv, denumite ***ioni***, se păstrează şi la nivelul sistemului nervos. Potenţialul de repaus apare deoarece raportul între sarcinile negative şi cele pozitive la suprafaţa membranei este mai mare în interiorul celulei decât în exterior.

Există 4 tipuri de ioni care contribuie semnificativ la potenţialul de repaus: Na, K, Cl şi diferite proteine încărcate negativ. Na şi Cl sunt distribuiţi în exteriorul celulei, în timp ce K şi proteinele se află în interiorul celulei. Deoarece proteinele încărcate negativ sunt sintetizate în corpul neuronilor, ele rămân în interior şi constituie sarcina negativă fixă a mediului intern.

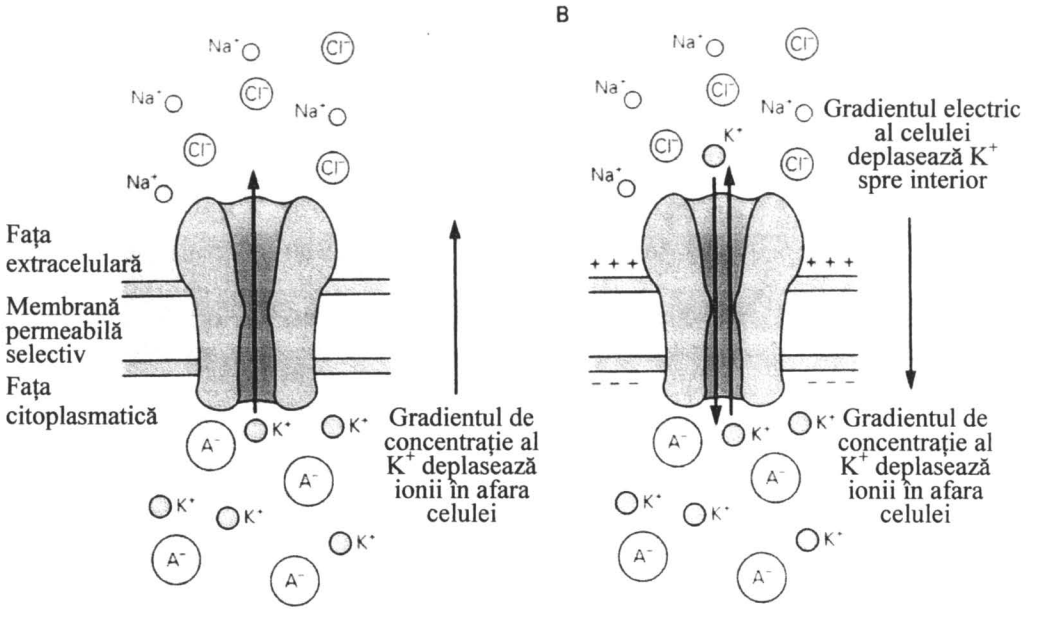


Figura 3.5 Gradientul electrochimic al ionului de potasiu compus din gradientul electric şi cel chimic, care la repaus sunt orientate în sensuri opuse (după Kandel, 2000)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Această distribuţie inegală a ionilor şi influenţa ei asupa potenţialului de repaus, poate fi înţeleasă cu ajutorul a 4 parametri:

- 2 forţe ce acţionează pentru o distribuţie ionică egală între cele 2 compartimente:
  - mişcarea aleatoare, browniană a ionilor în soluţie, care este generată de **gradientul de concentraţie**, prin urmare ionii tind să se deplaseze spre concentraţii mai mici de la concentraţii mai mari (Fig. 3.5);
  - **gradientul electric**: sarcinile pozitive sau negative acumulate la un loc tind să fie dispersate prin forţe de respingere sau de atracţie generate de sarcinile înconjurătoare (Fig. 3.5);
- 2 trăsături ale membranei neuronale care se opun forţelor anterioare:
  - **proprietate pasivă**, care nu implică un consum de energie şi se referă la *permeabilitatea diferită* a membranei celulare pentru cele 4 clase de ioni. Astfel la repaus, numai K^+ şi Cl^- pot trece pasiv membrana neuronală, în timp ce permeabilitatea pentru Na^+ este foarte mică, iar proteinele nu traversează deloc membrana celulară. Ionii trec prin structuri proteice specializate, denumite **canale ionice,** diferite prin selectivitatea ionică;
  - **proprietate activă**, care implică un consum de energie: pompa Na^+/K^+ ATP-aza.

În 1950, Hodgkin şi Huxley au calculat pentru fiecare ion în parte potenţialul de echilibru şi permeabilitatea membranară. Astfel, ei au propus un model în care au presupus că:

- datorită rezistenţei membranare mari faţă de Na, puţini ioni de Na intră în celulă la repaus, prin urmare, depolarizarea membranară este imposibilă;
- deşi permeabilitatea membranei pentru ionii de K este mare, aceştia ies datorită unei diferenţe de potenţial de 20 mV, ceea ce reprezintă diferenţa dintre potenţialul de echilibru al ionilor de potasiu şi potenţialul de repaus;
- concentraţia Na şi K de o parte şi de alta a membranei este menţinută cu ajutorul unei pompe care conduce Na spre exterior şi K spre interior;
- ionii de Cl nu contribuie la PR.

Ionii de K au un potenţial de echilibru de –90 mV, prin urmare au tendinţa de a se deplasa spre exterior conform gradientului de concentraţie, dar ieşirea ionilor K negativează şi mai mult interiorul celulei şi ionii de K vor fi atraşi spre interior. Prin urmare gradientul chimic şi potenţialul de repaus acţionează în sens invers pentru ionii de potasiu. Migrarea lor spre exterior se va produce astfel la potenţiale pozitive.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ionii de Na au un potențial de echilibru de +50 mV. În repaus, tendința Na de a intra în celulă este foarte mare, fiind facilitată şi de PR: interiorul încărcat negativ va atrage puternic ionii de sodiu, prin urmare gradientul electric şi cel chimic acționează în acelaşi sens.

Ulterior s-a identificat pompa Na/K ATP-aza care pentru fiecare 3 ioni de Na scoşi din celulă readuce 2 ioni de K, prin hidroliza unei molecule de ATP (Fig. 3.6). Pompa se activează la creşterea concentrației intracelulare de sodiu. După legarea ionilor de sodiu, pompa este fosforilată prin hidrolizaunei molecule de ATP, şi îşi schimbă conformația cu expulzarea ionilor de sodiu pe fața extracelulară. În stare fosforilată pompa are însă afinitate pentru ionii de K, pe care îi leagă şi suferă o nouă modificare conformațională prin defosforilare, cu expulzarea ionilor de potasiu în interiorul celulei. Ciclul se repetă până cînd ionii de sodiu sunt readuşi la concentrația de repaus.

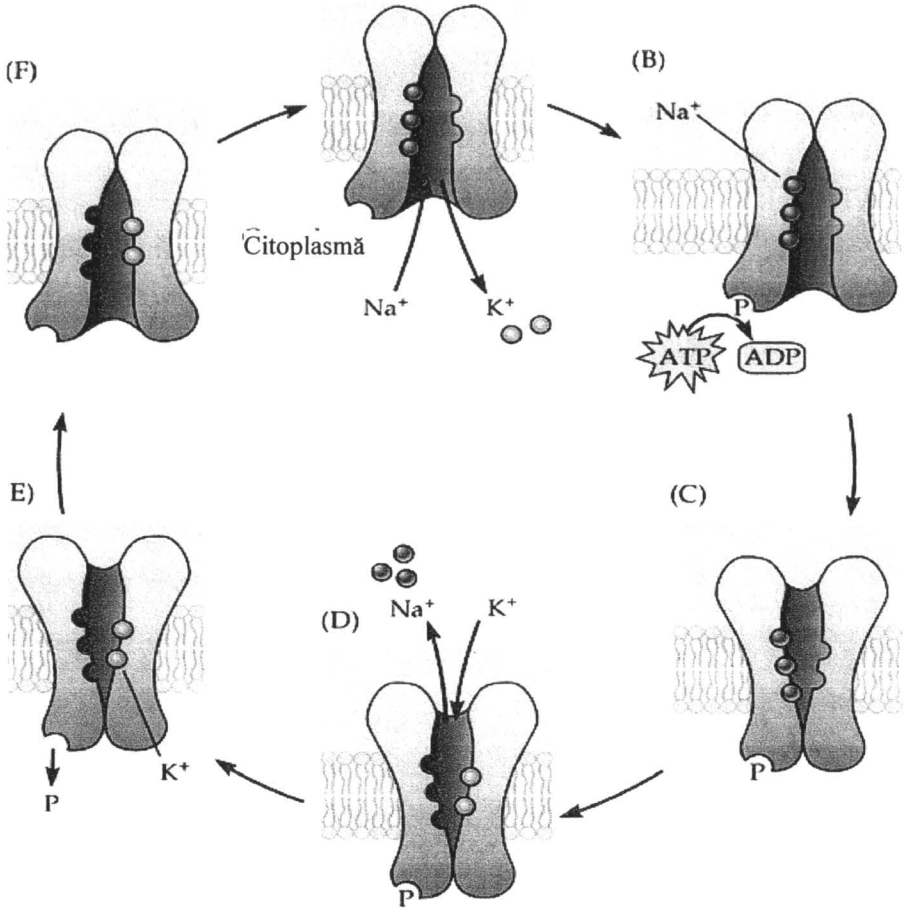


Figura 3.6 Pompa de Na/K ATP-aza (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

GENERAREA ŞI CONDUCEREA POTENȚIALELOR POSTSINAPTICE

Răspunsul unei celule la acțiunea unui stimul (Fig. 3.7) se realizează prin modificarea potențialului de repaus. Modificările potențialului de repaus sunt propagate la nivelul membranei şi, în funcție de mărimea lor, pot să ajungă la nivelul diferitelor segmente neuronale. De exemplu, pot ajunge de la nivelul dendritelor până la nivelul corpului neuronal, al axonului sau al butonilor terminali.

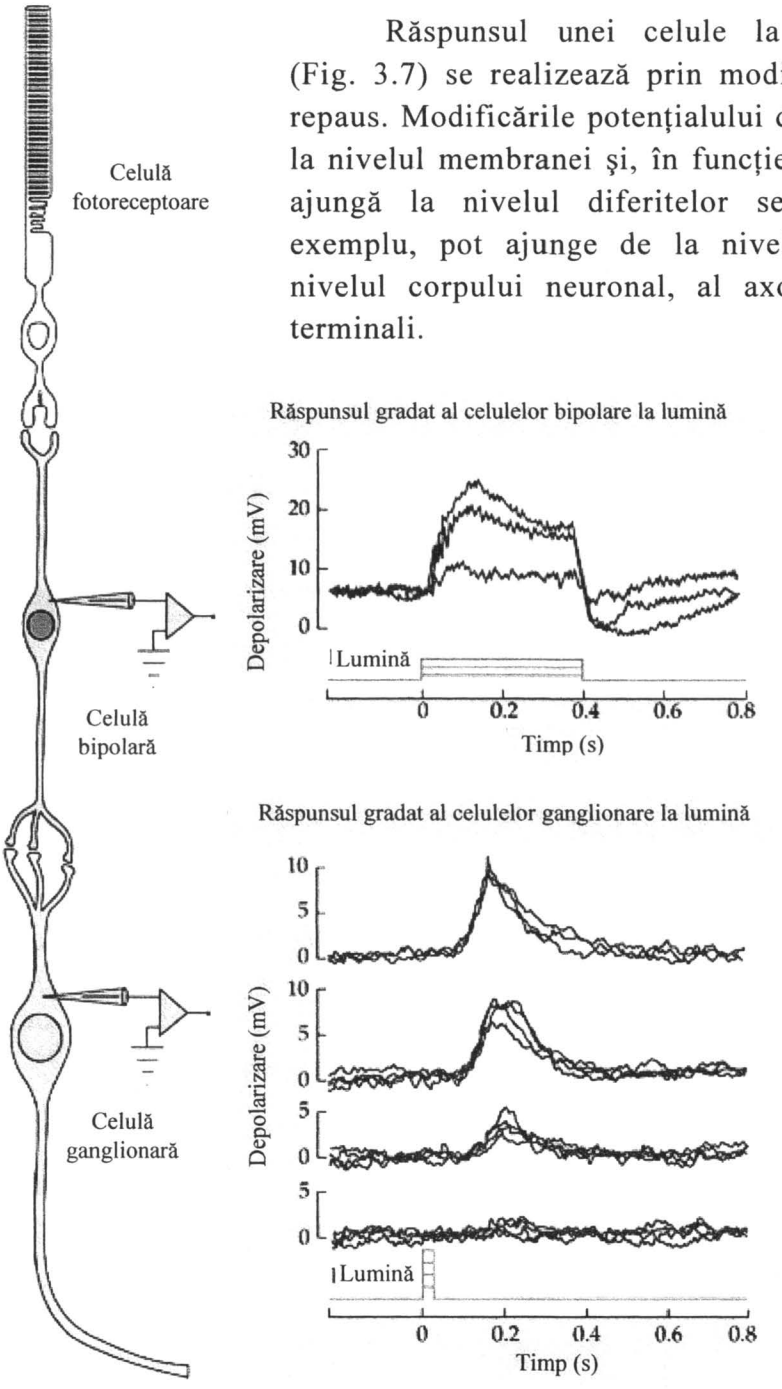


Figura 3.7 Înregistrarea intracelulară a potențialelor gradate de la nivelul celulelor bipolare şi ganglionare. Răspunsul gradat se observă foarte bine la nivelul celulei bipolare, proporțional cu stimulul luminos. (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Modificările PR apar prin stimularea neuronului, de cele mai multe ori la nivelul sinapselor. În funcție de intensitatea stimulării, modificarea potențialului poate fi de tip local sau de tip potențial de acțiune, dacă stimulul depăşeşte o anumită valoare prag.

Dacă un neuron presinaptic generează un potențial de acțiune (PA), se eliberează la nivelul butonilor terminali substanțe chimice denumite neurotransmițători, care difuzează prin fanta sinaptică şi interacționează cu molecule receptoare specializate ale următorului circuit neuronal. Ca urmare a legării neurotransmițătorilor de receptorii specializați ai membranei postsinaptice, ei pot avea 1 sau 2 efecte, în funcție de structura neurotransmițătorului şi a receptorului:

- pot depolariza membrana postsinaptică,
- pot hiperpolariza membrana postsinaptică.

Depolarizarea postsinaptică se numeşte **potențial postsinaptic excitator** (PPSE), deoarece creşte probabilitatea ca neuronul să genereze PA, în timp ce hiperpolarizarea postsinaptică se numeşte **potențial postsinaptic inhibitor** (PPSI), deoarece scade excitabilitatea neuronală (Fig. 3.8). Atât PPSE cât şi PPSI sunt ***potențiale gradate,*** deoarece amplitudinea lor este proporțională cu intensitatea stimulilor care le generează: stimuli slabi dau PPS mici.

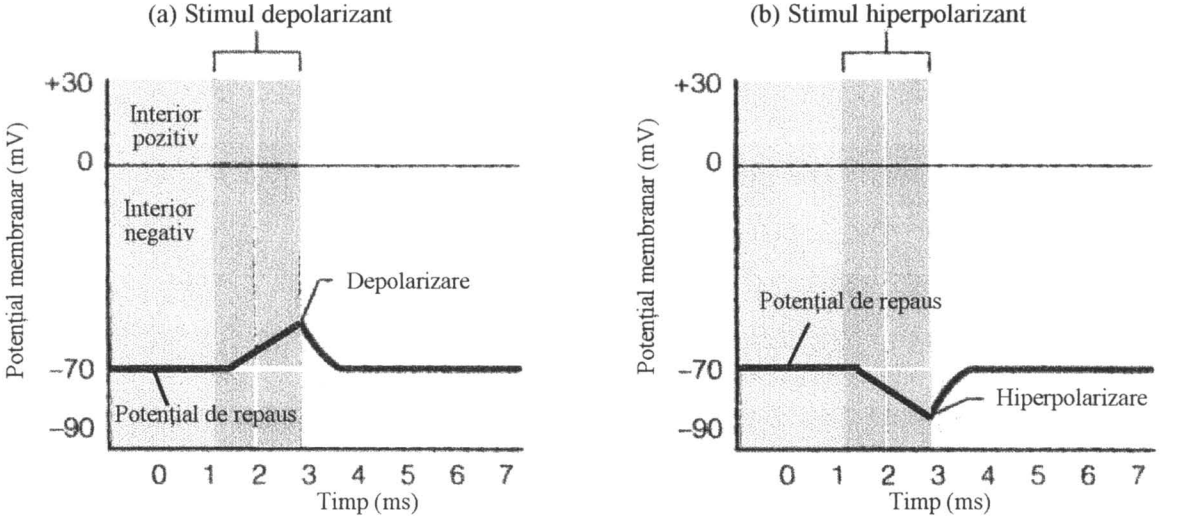


Figura 3.8 Potențiale postsinaptice induse prin aplicarea unui stimul depolarizant (a) sau hiperpolarizant (b). După îndepărtarea stimulului PPS se disipă pînă la valoarea potențialului de repaus (după Marieb, 1988)

Proprietăți ale potențialelor postsinaptice:

- se propagă pasiv de la situsul de generare, de obicei dendritele sau corpul celular, asemănător transmiterii semnalului electric pe un cablu;
- este o transmitere rapidă, în unele cazuri este instantanee. Durata transmiterii nu trebuie confundată cu durata PPS. Durata PPS depinde de durata stimulării

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

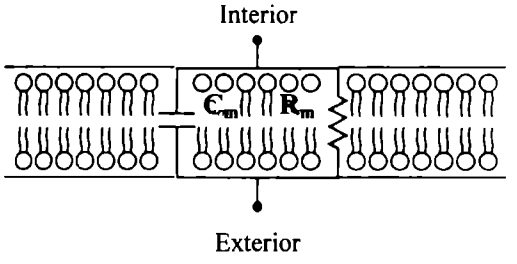
şi de constanta de timp a membranei (variaţia locală a potenţialului). Durata propagării depinde de constanta de spaţiu a membranei;
- transmiterea PPS se face cu decrement: amplitudinea PPS scade cu distanţa faţă de locul generării;
- nu au perioadă refractară;
- se propagă bidirecţional;
- permite sumaţia temporală şi spaţială.

Proprietăţile pasive ale membranei

Pentru înţelegerea fenomenelor de propagare a variaţiilor de potenţial membranar trebuie mai întâi înţelese **proprietăţile pasive ale membranei**.

Stările de depolarizare sau hiperpolarizare sunt stări fiziologice ce asigură transferul informaţiei, dar pot fi induse şi experimental, cu ajutorul unui echipament electronic prevăzut cu electrozi conectaţi la un echipament electronic aferent. Prin electrod se poate injecta un curent negativ – induce depolarizarea – sau pozitiv – induce hiperpolarizarea. Aceste modificări ale voltajului, induse experimental, pun în evidenţă proprietăţile pasive ale membranei: constanta de timp şi constanta de spaţiu. Răspunsurile se observă cel mai bine la potenţiale de hiperpolarizare şi la potenţiale mici de depolarizare, alese astfel încât să nu activeze canalele dependente de voltaj.

Proprietăţile pasive ale membranei se pot înţelege şi explica prin analogia membranei celulare cu un circuit RC în paralel (Fig. 3.9): un ***rezistor (R)***, deoarece membrana opune rezistenţă trecerii ionilor prin închiderea canalelor şi un ***condensator (C)***, deoarece bistratul lipidic separă două medii conductive, ceea ce permite membranei să separe şi să stocheze sarcini.



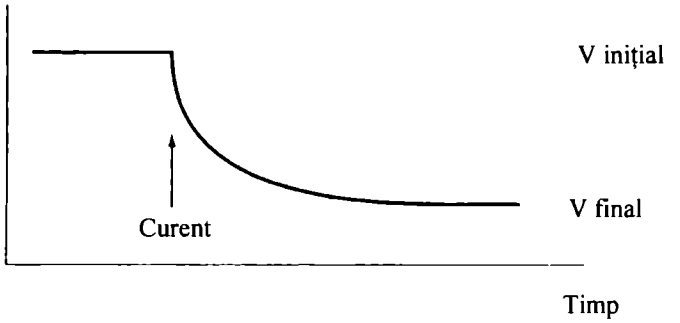


Figura 3.9 Circuitul electric echivalent membranei: RC în paralel. Proprietăţile pasive se pun în evidenţă prin injectarea unui curent pozitiv care hiperpolarizează membrana. Potenţialul membranar nu se modifică brusc, ci variază exponenţial în timp. (după Levitan, 1991)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ce înseamnă aceasta pentru modificările de potențial ale membranei? Aplicarea unui puls rectangular de curent atrage după sine o încărcare și o descărcare a condensatorului, care va impune modificarea potențialului membranar cu o ***constantă de timp*** τ = RC, dependentă de proprietățile electrice membranare: R = rezistența și C = capacitatea membranei.

Formula de modificare a potențialului în timp este:

$$V(t) = V_0 \, e^{-t/\tau}$$

ecuația 1

unde: V_0 este potențialul membranar la locul stimulării,

t este timpul la care se măsoară potențialul, în același loc de stimulare,

τ este constanta de timp.

Ținând cont de faptul că membrana are o capacitate specifică de 1 $\mu F/cm^2$, diferitele constante de timp sunt date de diferențe mari în rezistența membranară, nu numai de la o celulă la alta, ci și în interiorul celulei, de la o regiune la alta. Spre exemplu: între dendrite și axoni diferă numărul canalelor ionice deschise la repaus și, prin urmare membrana va avea rezistență diferită (cu cât crește numărul canalelor deschise, cu atât scade rezistența).

Neuronii manifestă caracteristici endogene foarte complexe și specifice ale activității electrice, manifestate în absența unei stimulări externe. Constanta de timp a membranei are un rol important în activitatea electrică endogenă și starea de excitabilitate a neuronului. Cu cât constanta de timp este mai mare, cu atât depolarizarea membranară va fi mai lungă și excitabilitatea neuronului va fi mai mare.

A doua proprietate pasivă a membranei, constanta de spațiu, se poate evidenția cu un experiment simplu realizat cu ajutorul unor electrozi implantați în neuron la distanțe diferite (Fig. 3.10). Astfel, exprimentul pune în evidență propagarea potențialelor pe distanțe mari. La nivelul primului electrod se injectează un curent. Curentul de hiperpolarizare, ca și cel de depolarizare, de valori mai mici decât pragul, generează potențiale locale, pasive ce se comportă similar.

Prin injectarea unui curent de hiperpolarizare, toți electrozii vor înregistra o modificare de potențial care are valoarea maximă la nivelul electrodului de stimulare. Cu cât distanța față de electrodul de stimulare crește potențialul local scade în amplitudine. Această variație a potențialului cu spațiul are o formă exponențială, dată de ecuația 2:

$$V(d) = V_0 \, e^{-d/\lambda}$$

ecuația 2

unde: V_0 este potențialul membranar la locul stimulării,

d este distanța față de locul stimulării unde se măsoară noul potențial,

λ este constanta de spațiu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

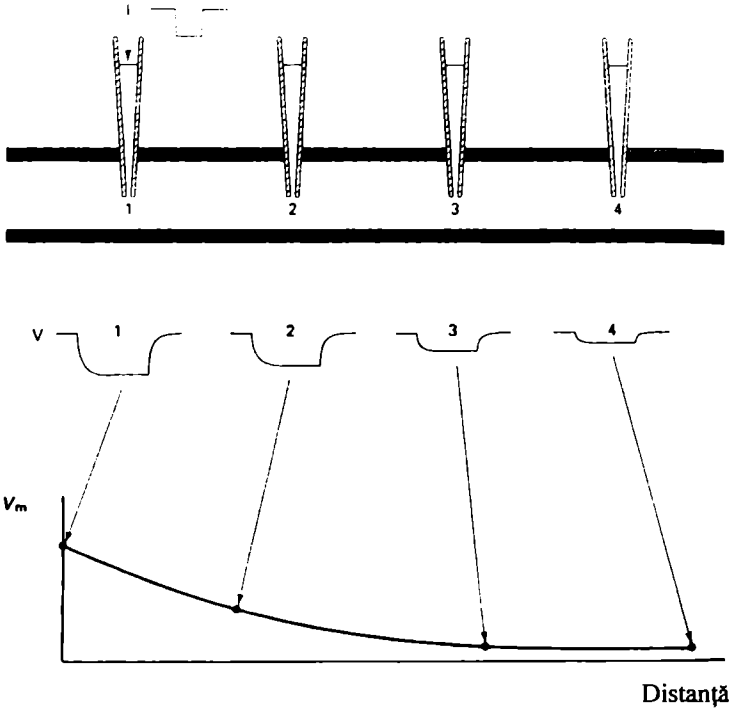


Figura 3.10 Propagarea pasivă a potenţialelor postsinaptice duce la pierderea amplitudinii (decrement) cu distanţa (după Levitan, 1991)

Altfel spus, potenţialul se distribuie de la un punct la altul, dar se atenuează cu distanţa, până când devine nedetectabil. Acest fenomen se numeşte distribuţie pasivă, deoarece este prezent şi într-un axon mort şi într-un cablu electric cu proprietăţi similare.

Constanta de spaţiu λ este cea care decide gradul de atenuare a potenţialului, definită ca acea distanţă la care potenţialul scade cu 1/e din valoarea iniţială.

Constanta de spaţiu este un parametru care depinde de diametrul axonal şi de caracteristicile membranei şi explică cel mai bine propagarea potenţialului de acţiune la nivelul axonului.

$$\lambda = \sqrt{\frac{R_m}{R_a}}$$

ecuaţia 3

unde R_m este rezistenţa membranară şi R_a este rezistenţa axială.

Această formulă arată că rezistenţa axială sau rezistenţa mediului intracelular variază invers proporţional cu constanta de spaţiu. Cu cât rezistenţa axială este mai mică, deci cu cât diametrul axonal este mai mare, constanta de spaţiu este mai mare şi potenţialele se vor propaga mai uşor la distanţe mai mari. Este cazul dendritelor, somei

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

şi, în particular, al axonilor de nevertebrate. Rezistenţa membranară influenţează direct proporţional constanta de spaţiu, cu cât gradul de mielinizare este mai mare, cu atât propagarea se va face la distanţe mai mari.

O altă consecinţă a acestei proprietăţi este uşurinţa cu care celule de diferite dimensiuni ating pragul la aplicarea aceluiaşi stimul. În acest caz, parametrul luat în calcul este rezistenţa de intrare, care depinde, ca şi constanta de spaţiu, de cele două rezistenţe: a membranei şi cea axială.

$$R_{intrare} = \frac{1}{2}\sqrt{R_m * R_a} \qquad \text{sau} \qquad \lambda = 2\frac{R_{intrare}}{R_a}$$

ecuaţiile 4 şi5

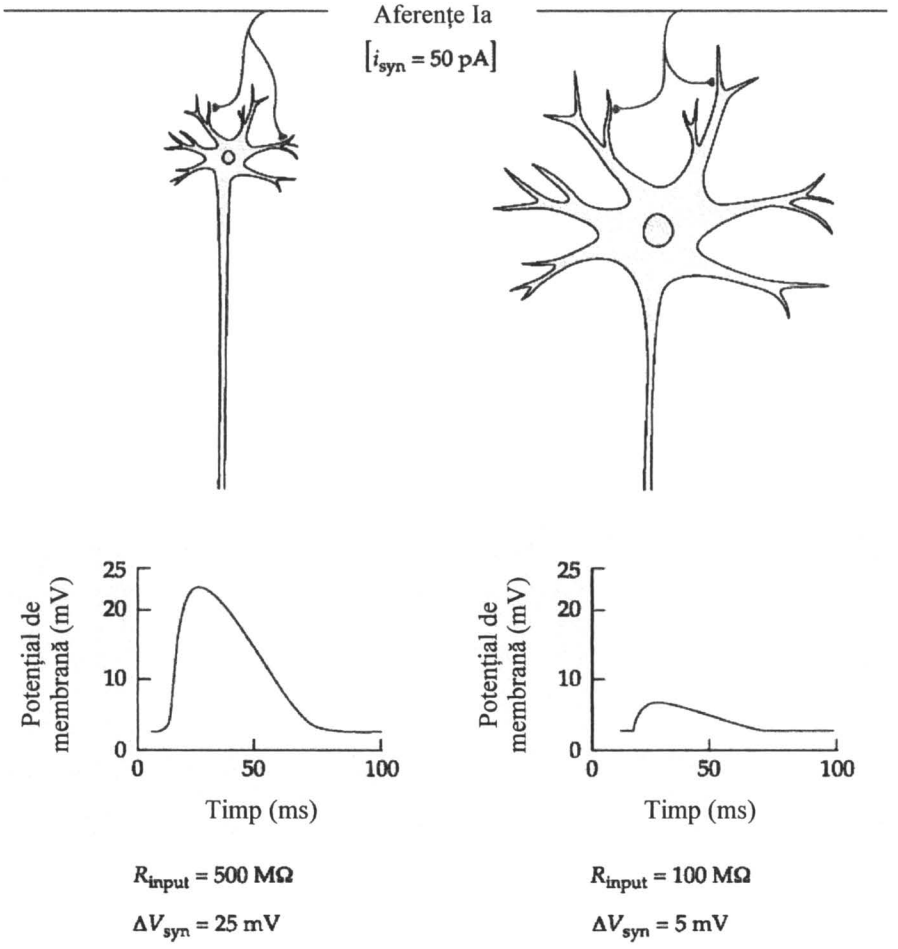


Figura 3.11 Variaţia depolarizării cu mărimea neuronului. La fiecare sinapsă se descarcă 50 pA, dar depolarizarea indusă este foarte diferită: de 25 mV în neuronul mic şi de 5 mV în neuronul mare, conform legii lui Ohm (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Rezistența de intrare este cu atât mai mare cu cât celula e mai mică (Fig. 3.11), astfel că, pe o rezistență mai mare, același stimul va determina o cădere de potențial mai mare (legea lui Ohm), și celula va atinge pragul mai ușor. O celulă cu diametru mare va avea rezistență de intrare mică și căderea de potențial va fi mai mică, deci celula va atinge mai greu pragul.

INTEGRAREA POTENȚIALELOR POSTSINAPTICE ȘI GENERAREA POTENȚIALELOR DE ACȚIUNE

Potențialele postsinaptice de la nivelul unei singure sinapse au un efect scăzut asupra activării neuronului postsinaptic, deoarece induc modificări mici ale potențialului membranar, de cca 3 mV. Aria receptoare a unui neuron este însă foarte mare. Neuronul primește mii de sinapse și răspunsul total este determinat de efectul net al tuturor. Prin urmare, activarea neuronului depinde de echilibrul dintre semnalele inhibitoare și excitatoare care sosesc la nivelul *conului axonal.*

Dacă suma potențialelor gradate, generate sinaptic, atinge o valoare limită de aproximativ 10 – 20 mV depolarizare, la nivelul conului axonal se inițiază un potențial de acțiune (PA). Această valoare se numește ***prag de excitabilitate*** și are valori diferite, în funcție de adaptarea funcțională a neuronilor. Există neuroni cu prag mai mic, ușor excitabili, care răspund la stimuli de intensitate mică, și neuroni cu prag mare de activare, mai greu excitabili, care răspund la stimuli puternici.

Potențialul de acțiune (PA) este o stare tranzientă de depolarizare, cu inversarea potențialului membranar, de la –70 mV la +30 mV, care durează 1 – 7 ms ce are următoarele proprietăți: amplitudinea nu este dependentă de intensitatea stimulului (legea "tot sau nimic") și se transmite fără pierderi.

Decizia neuronului de a genera un PA se bazează pe integrarea semnalelor primite sinaptic, care se poate realiza în 2 moduri: în spatiu și în timp.

Sumația temporală (Fig. 3.12A) se aplică potențialelor postsinaptice generate în același loc la diferite intervale de timp. Astfel, dacă un al doilea stimul, de aceeași intensitate, apare după ce primul PPS s-a disipat, efectul este același. Dacă primul PPS nu e disipat, efec-tul celui de al doilea stimul va fi mult mai mare. Prin urmare, un stimul depolarizant subliminal poate genera un PA, dacă se administrează într-o succesiune rapidă.

Sumația spațială (Fig. 3.12B) se aplică potențialelor postsinaptice generate în același timp la cel puțin două sinapse diferite ale neuronului. Sumația tuturor PPSE și PPSI va da o valoare care va aduce sau nu neuronul la pragul de excitabilitate. Sumația spațială este realizată la nivelul conului axonal și este dependentă de constanta de spațiu a membranei neuronale, care influențează procentul de potențial postsinaptic ajuns la zona de integrare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

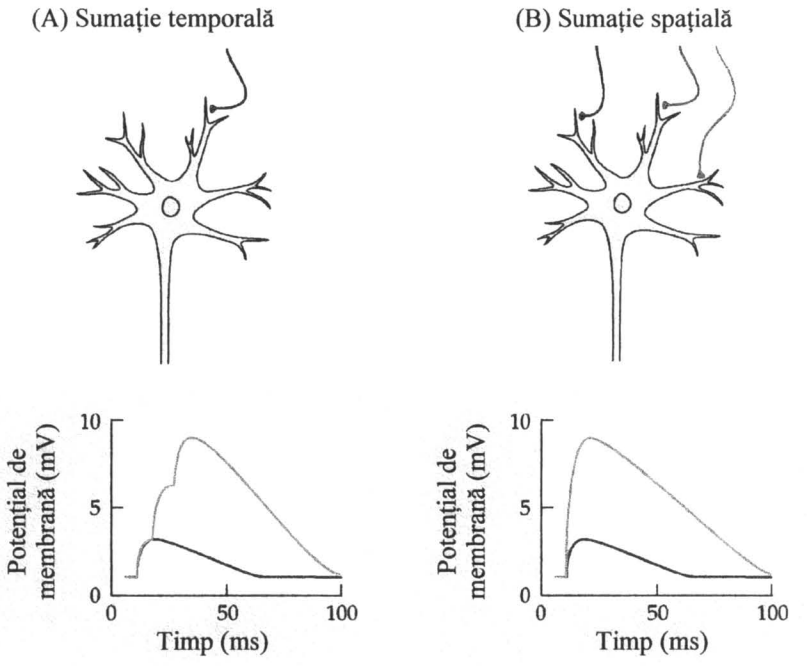


Figura 3.12 Sumaţia temporală şi spaţială (după Nicholls, 2001)

Ca urmare a însumării potenţialelor postsinaptice, neuronul stimulat decide dacă şi cum generează potenţialele de acţiune.

POTENŢIALUL DE ACŢIUNE

Potenţialul de acţiune (PA) este răspunsul activ al membranei când depolarizarea depăşeşte o anumită valoare denumită prag de excitabilitate. Este un eveniment responsabil pentru transferul informaţiei de la un capăt al neuronului la celălalt. Importanţa pragului este foarte mare, deoarece nu permite depolarizărilor aleatorii să genereze potenţiale de acţiune. Numai informaţia importantă, dată de stimuli de o anumită amplitudine, va fi transportată prin neuron. Stimulul de intensitate suficient de mare pentru a atinge valoarea prag se numeşte stimul ***liminal***.

A doua caracteristică a PA este că sunt evenimente de tip **tot sau nimic**, esenţiale pentru transmiterea diferitelor semnale şi a diferenţelor între semnale. Aceasta se reflectă în proprietatea neuronului de a genera un potenţial de acţiune de aceeaşi amplitudine, indiferent de tăria stimulului, de îndată ce a depăşit pragul de excitabilitate. *Aceasta înseamnă că amplitudinea PA nu reflectă amplitudinea stimulului, ci calitatea stimulului faţă de valoarea prag.*

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BAZELE IONICE ALE POTENȚIALULUI DE ACȚIUNE

Cum se generează PA şi cum este condus de-a lungul axonului?

Cele două evenimente se bazează pe proprietăţile active ale membranei şi anume pe prezenţa canalelor ionice dependente de voltaj = canale ionice care se deschid sau se închid ca răspuns la modficările potenţialului de repaus (Fig. 3.13).

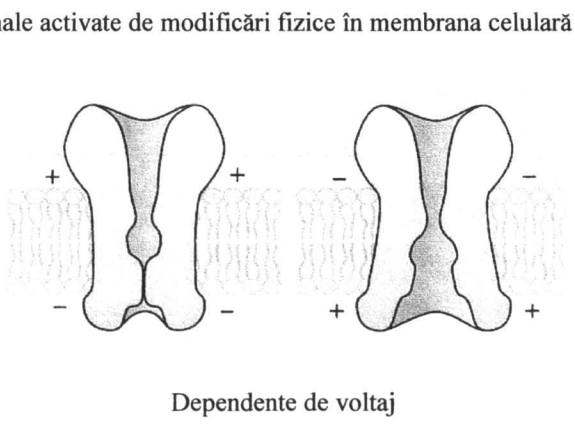


Figura 3.13 Canale ionice dependente de voltaj se deschid la modificarea polarităţii membranare (după Nicholls, 2001)

Etapele potenţialului de acţiune au fost stabilite pentru prima dată prin experimentele de înregistrare intracelulară ale grupurilor Hodgkin - Huxley şi Curtis - Cole. Preparatul lor biologic a fost axonul gigant de calmar.

Potenţialul de acţiune este format din două evenimente: depolarizare şi repolarizare. Etapa de depolarizare are la rândul ei două faze, una lentă denumită *latenţă* şi una rapidă cu inversarea polarităţii membranare care se instalează de îndată ce a depăşit valoarea prag.

Depolarizarea membranei conului axonal până la valoarea pragului activează ***canalele de Na dependente de voltaj***, astfel că acestea se deschid în cascadă şi ionii de Na intră rapid în celulă, modificând potenţialul membranar (PM) până la valori pozitive.

Repolarizarea membranei este posibilă prin deschiderea întârziată a canalelor de potasiu dependente de voltaj. Ionii de potasiu vor ieşi din celulă conform gradientului electrochimic foarte puternic, până când membrana se repolarizează şi canalele revin în conformaţia închisă. Deoarece fluxul ionilor de potasiu est emai mare decât al ionilor de sodiu, în etapa de repolarizare se instalează o perioadă de **hiperpolarizare postpotenţial** (Fig. 3.14).

Pentru revenirea din starea de hiperpolarizare până la valoarea de repaus este responsabilă pompa de Na/K ATP-aza care va reface distribuţia ionică şi electrică a membranei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

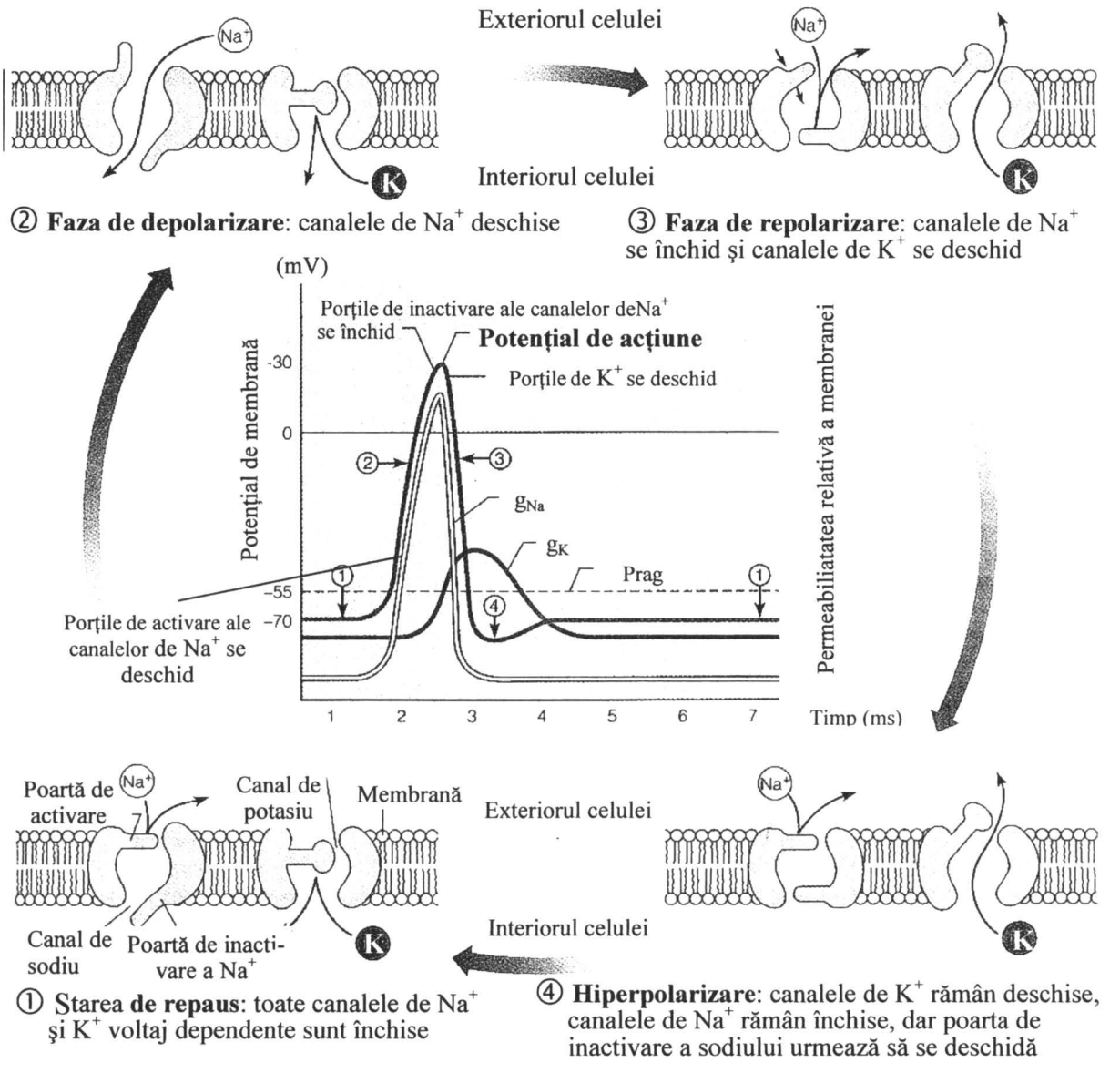


Figura 3.14 Reprezentarea etapelor potenţialului de acţiune şi a activităţii canalelor ionice în funcţie de starea de polarizare a membranei. Permeabilitatea membranei pentru Na respectiv K este reprezentată prin g_{Na} şi g_K (după Marieb, 1998)

Deoarece rezistenţa membranară este foarte mare, o depolarizare de 100 mV în timpul PA este realizată de transportul unui număr mic de ioni, astfel încât un singur PA nu modifică semnificativ distribuţia ionilor. Pompa de Na/K ATP-aza nu are un efect majoritar în refacerea PR, ci în refacerea distribuţiei ionice: Na la exterior şi K la interior.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În cazul *axonului mielinizat*, la nivelul nodului Ranvier sunt concentrate canalelele de sodiu dependente de voltaj şi canale de potasiu dependente de voltaj cu cinetică lentă. Aceste canalele de potasiu sunt deschise la repaus, contribuind la menţinerea potenţialului de repaus şi a curentului de scurgere. Prin depolarizare ele rămân în stare deschisă. Aceasta înseamnă că repolarizarea este o etapă explicabilă prin fluxul ionilor de potasiu prin canalele de scurgere, şi nu prin deschiderea canalelor de potasiu cu cinetică rapidă.

Implicarea ionilor de sodiu în faza de depolarizare a potenţialului de acţiune poate fi pusă în evidenţă şi experimental prin modificarea concentraţiei de sodiu în mediul extracelular (Fig. 3.15).

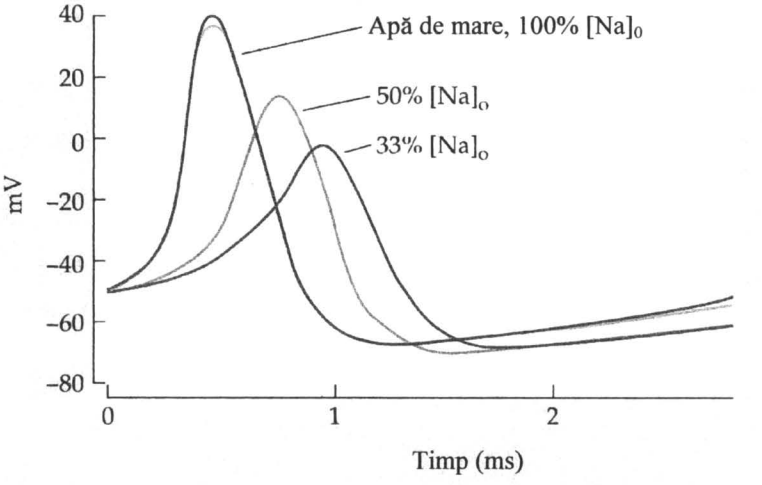


Figura 3.15 Prin modificarea conţinutului de sodiu în mediul extracelular, amplitudinea potenţialului de acţiune scade şi latenţa creşte (după Nicholls, 2001)

Hodgkin şi Huxley au marele merit de a fi modelat potenţialul de acţiune numai pe baza cineticii canalelor de sodiu, de potasiu şi curentului de scurgere. Experimentele lor au decurs pe axon de calmar, nemielinizat, unde în faza de repolarizare intervin canale de potasiu dependente de voltaj, activate cu întârziere de depolarizare. O deosebire există însă în axonii mielinizaţi, deoarece distribuţia canelelor dependente de voltaj este diferită.

Canalele de sodiu se activează prin depolarizare, în jurul valorii – 50 mV, pentru o perioadă foarte scurtă de timp, după care trec rapid într-o conformaţie inactivă, caracteristică denumită *activare tranzientă*. Tranziţia este cu atât mai rapidă cu cât membrana este mai depolarizată. Experimentele lui Hodgkin şi Huxley s-au realizat prin tehnica de voltage clamp. Prin aplicarea unor protocoale de voltaj bine stabilite, au arătat că activarea rapidă a curentului de sodiu, se poate modela prin existenţa a două

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

porţi de control al deschiderii canalului de sodiu: o poartă de activare şi una de inactivare (Fig. 3.16). Activitatea celor două porţi poate fi disociată prin controlul diferit al potenţialului membranar prin tehnica de voltage-clamp. Ambele porţi sunt dependente de potenţialul membranar, cu o cinetică ce a putut fi calculată experimental.

Cinetica de activare a acestor canale a respectat în modelul Hodgkin-Huxley cooperarea a trei componente pentru activare (m) şi o componenta pentru inactivare (h), astfel că probabilitatea de deschidere a canalelor de sodiu este m^3h.

Tranziţia canalului de sodiu prin cele trei stări conformaţionale: închis – deschis - inactiv este dependentă de voltaj şi se produce într-un singur sens, ireversibil. Poarta de inactivare este situată intracelular şi poate fi îndepărtată prin tratament enzimatic cu proteaze.

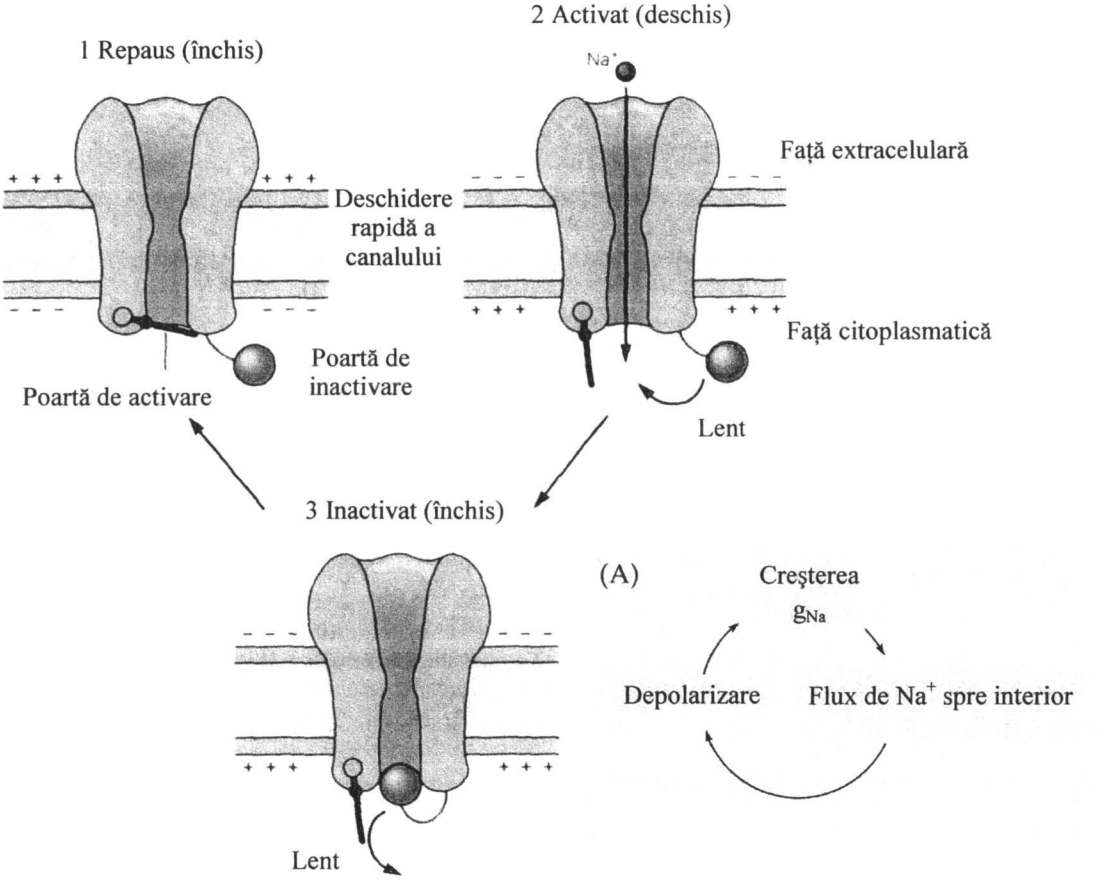


Figura 3.16 Conformaţiile canalului de sodiu dependent de voltaj. La repaus poarta de activare este închisă şi cea de inactivare este deschisă, canalul nu este în starea conductoare. În conformaţie deschisă ambele porţi sunt deschise, şi se poate înregistra fluxul ionilor de sodiu. În conformaţie inactivă, poarta de activare este deschisă, poarta de inactivare este închisă, canalul este în starea neconducătoare. Imaginea în miniatură arată tranziţia ireversibilă a celor trei confromaţii (după Kandel, 2000)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Canalele de sodiu pot fi blocate cu o toxină izolată din peştele balon (*Tetraodon sp*) denumită *tetrodotoxină*. Cu ajutorul acesteia au fost descoperite două tipuri de canale de sodiu: sensibile la TTX şi rezistente la TTX, ce diferă prin cinetica dependenţei de voltaj. Canalele de sodiu rezistente la TTX au cinetică mai lentă şi au fost puse în evidenţă în neuronii senzitivi implicaţi în transmiterea durerii, al căror potenţial de acţiune are o durată mai mare.

O altă aplicaţie a tetrodotoxinei a fost studierea canalelor de potasiu, în absenţa activităţii canalelor de sodiu. Astfel, s-a descoperit că variabilitatea canalelor de sodiu implicate în potenţialul de acţiune este mult mai mică decât a canalelor de potasiu.

Canalele depotasiu se împart în două categorii:

- canale deschise la repaus implicate în menţinerea potenţialului de repaus care contribuie la curentul de scurgere;
- canale activate de voltaj, care se deschid prin depolarizare. Canalele de potasiu de la nivelul axonului sunt de 3 tipuri, clasificate în funcţie de cinetică în canale de tip F (cinetică foarte rapidă), canale de tip I (intermediare) şi canale de tip S (lente). În fibrele mielinizate, distribuţia lor este regională, astfel că la nivelul nodului se află numai canale de tip S, iar cele de tip F şi I se regăsesc în regiunea internodală.

În modelul Hodgkin Huxley, curentul de potasiu trece printr-un canal ce prezintă două stări conformaţionale închis şi deschis, ce se activează întârziat, cu o cinetică de activare este rezultatul cooperării a patru componente identice (n). Probabilitatea de deschidere a acestor canale de potasiu este n^4.

În afară de aceste canale de potasiu, alte canale prezente în neuroni, posibil implicate în potenţialul de acţiune sunt: canalele de potasiu activate de ionii de calciu intraţi în timpul depolarizării, care contribuie la perioada de **hiperpolarizare postpotenţial**, canalele de potasiu activate de sodiu, canalul de tip M (inactivat de muscarină) etc. Ele influenţează durata potenţialului de acţiune, durata hiperpolarizării, dând naştere unui număr considerabil de forme potenţialului de acţiune.

Rolul ionilor de calciu în excitaţie

La nivelul membranei celulare a fibrelor nervoase şi musculare există o varietate mare de canale de calciu dependente de voltaj. În timpul potenţialului de acţiune, ionii de calciu pătrund în celulă prin aceste canale şi activează reacţii intracelulare (prin mesageri secundari): fosforilare / defosforilare, secreţie de neurotransmiţători.

Un curent suficient de mare de calciu poate deveni singur responsabil de faza de depolarizare a potenţialului de acţiune, fenomen pus în evidenţă în fibrele musculare şi în neuronii nevertebratelor, neuronii sistemului nervos central şi autonom al vertebratelor, în musculatura cardiacă şi celulele endocrine. Curentul de calciu poate fi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

blocat prin concentraţii milimolare de cobalt, mangan sau cadmiu, adăugate în mediul extracelular.

Un exemplu foarte sugestiv al coexistenţei potenţialelor de acţiune pe bază de sodiu, dar şi de calciu, este dat de celulele Purkinje de la nivelul cerebelului, la mamifere, unde potenţialul de acţiune al corpului celular este un potenţial al sodiului, iar la nivelul dendritelor potenţialul de acţiune este un potenţial al calciului.

Un alt rol al ionilor de calciu este exercitat asupra excitabilităţii celulare: reducerea concentraţiei extracelulare de calciu creşte excitabilitatea celulelor nervoase şi musculare, şi invers. Aceasta s-a explicat prin efectul ionilor de calciu asupra cineticii de activare a ionilor de sodiu, şi anume, deplasarea activării spre valori mai negative de voltaj (canalele de sodiu se deschid la potenţiale mai apropiate de potenţialul de repaus şi scad astfel pragul de excitabilitate). Cum induce calciul un astfel de efect, poate fi explicat prin interacţiile electrostatice cu sarcinile de pe pe faţa extracelulară a membranei .

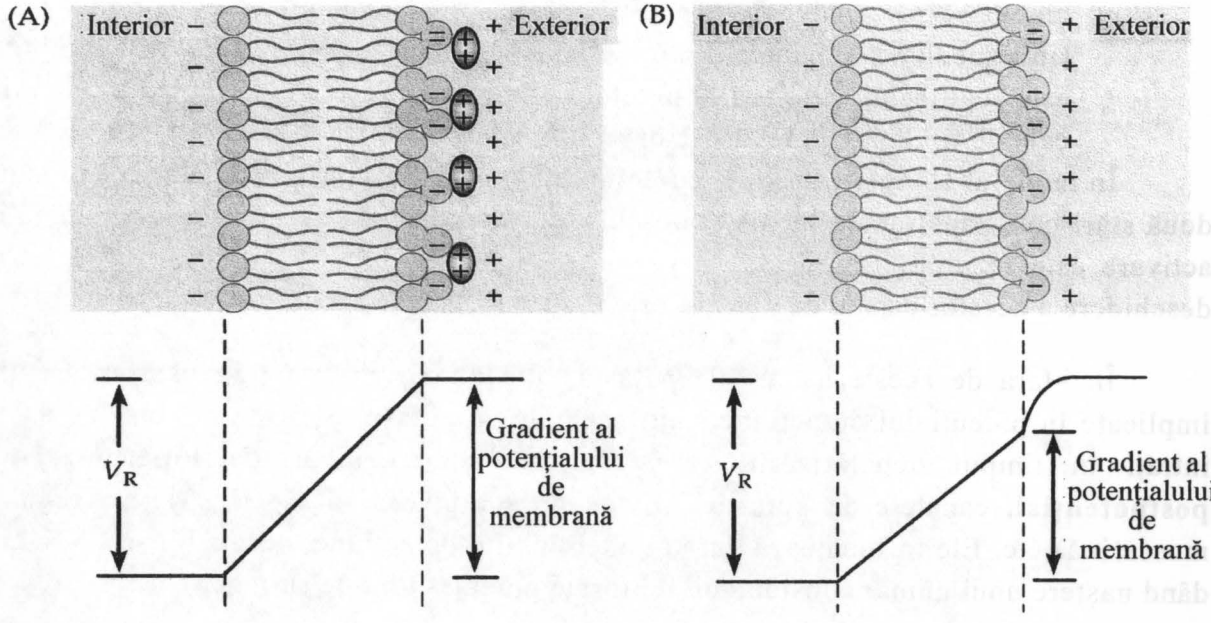


Figura 3.17 Efectul de ecranare al ionilor de calciu asupra sarcinilor negative (după Nicholls, 2001)

Ionii de calciu sunt cationi divalenţi care stabilizează membrana prin neutralizarea sarcinilor negative ale suprafeţei membranare (Fig. 3.17), provenite fie din glicozilarea proteinelor, fie din capetele polare ale lipidelor. Îndepărtarea ionilor de calciu nu influenţează potenţialul membranar, ci forma variaţiei potenţialului membranar la aplicarea unui stimul. Acestea sunt modificări locale care vor influenţa activitatea canalelor dependente de voltaj din imediata vecinătate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BAZELE IONICE AL PERIOADEI REFRACTARE

Perioada refractară se instalează după aplicarea unui stimul (Fig. 3.18) şi reprezintă *perioada în care nervul nu răspunde la aplicarea unui stimul de intenstitatea pragului*. Are o durată de cca 4 ms şi se compune din două faze: o perioadă refractară absolută şi o perioadă refractară relativă.

Perioada refractară absolută se defineşte ca intervalul de timp în care neuronul nu răspunde la nici un stimul, oricât de mare. Spunem că în această perioadă excitabilitatea scade foarte mult, pragul de excitabilitate se măreşte, tinde spre infinit.

Perioada refractară relativă se defineşte ca intervalul de timp în care neuronul răspunde numai la stimuli supraliminali (mai mari decât stimulul liminal). În această perioadă pragul de excitabilitate începe să scadă exponenţial, până când ajunge la valoarea normală. Cu cât al doilea stimul este aplicat mai aproape de primul, cu atât acesta trebuie să fie mai mare pentru a depăşi pragul de excitabilitate al neuronului la momentul respectiv.

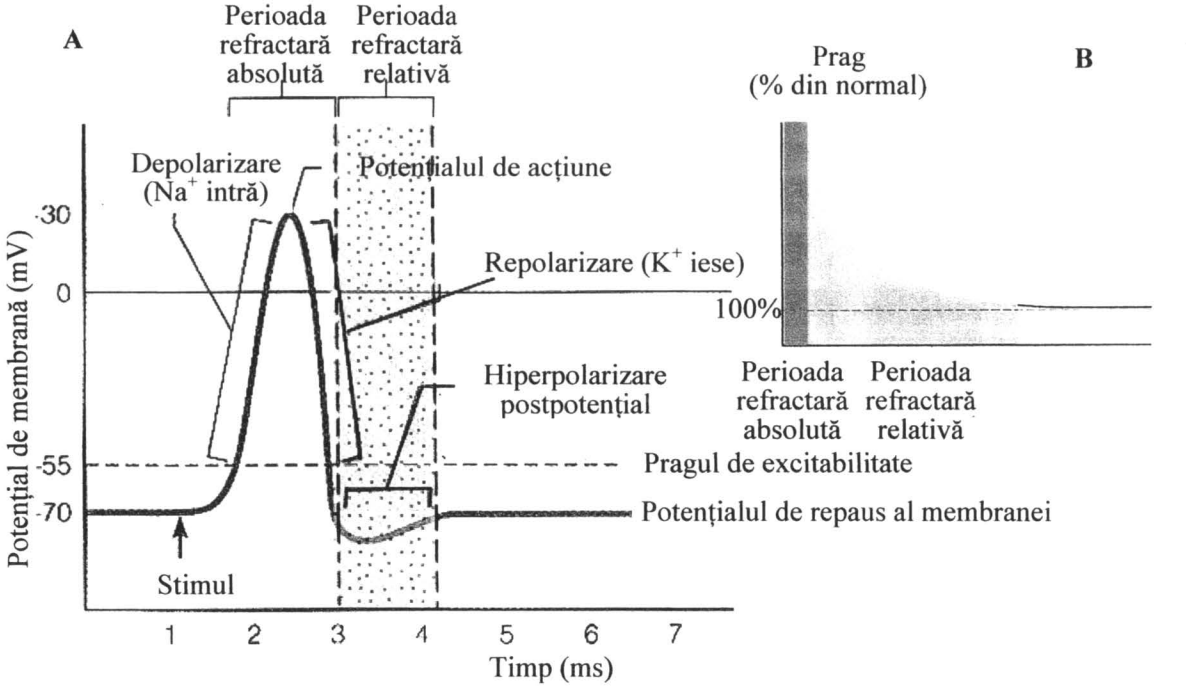


Figura 3.18 **A**: Relaţia dintre perioada refractară şi desfăşurarea în timp a potenţialului de acţiune. **B**: Variaţia pragului de excitabilitate în timpul perioadei refractare (după Marieb, 1998 şi Levitan, 1991)

Perioada refractară este dată de conformaţia canalelor de sodiu. Ele sunt cele care trebuie să se deschidă pentru a iniţia potenţialul de acţiune. Astfel, atâta timp cât

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

canalele de sodiu sunt deschise şi/sau inactive, ele sunt incapabile să se deschidă mai mult sau să treacă din stare inactivă în stare deschisă, de aceea neuronul nu mai poate răspunde la nici o stimulare şi se află în perioadă refractară absolută. Prin repolarizare, canalele de sodiu trec din conformaţia inactivă în cea închisă, şi devin apte să se deschidă, astfel că neuronul trece în perioada refractară relativă.

Canalele de potasiu influenţează pragul de excitabilitate în perioada refractară relativă, prin hiperpolarizarea indusă de efluxul de potasiu.

CONDUCEREA POTENŢIALELOR DE ACŢIUNE

Privind fluxul ionic ca pe un curent într-un circuit electric, o parte din curentul intrat în timpul potenţialului de acţiune (datorită influxului de Na şi Ca) se va reîntoarce pentru a închide circuitul, dar o parte se împrăştie de-a lungul fibrei, căutând locuri cu rezistenţă scăzută pentru a ieşi spre exterior. Cât de departe se propagă impulsul, depinde de raportul dintre rezistenţa membranei şi rezistenţa citoplasmei. Cu cât rezistenţa membranei este mai mare sau cu cât rezistenţa citoplasmei este mai mică, cu atât curentul va tinde să curgă de-a lungul fibrei cu viteze mai mare (vezi *Proprietăţile pasive ale membranei*).

Deşi dimensiunile axonale sunt foarte variate, atât ca lungime, cât şi ca diametru, informaţia este condusă în acelaşi mod în toţi neuronii, fără decrement şi fără pierderea informaţiei.

Conducerea axonală este mai lentă comparativ cu transmiterea PPS. Viteza de transmitere a PA este ***activă*** (implică deschiderea canalelor ionice), în timp ce viteza de trasnmitere a PPS este ***pasivă***. PA iniţiat la nivelul conului axonal se propagă pasiv până la următoarea zonă care are canale dependente de voltaj. Dacă la nivelul următorului nod ajunge o stare de depolarizare de cel puţin valoarea pragului, potenţialul de acţiune se regenerează, deoarece canalele de Na se deschid, şi etapa se repetă. Prin urmare, conducerea axonală poate fi imaginată ca o singură undă de excitaţie care se împrăştie activ cu viteză constantă de-a lungul axonului, şi nu ca o serie de evenimente discrete.

Unda de excitaţie se propagă bidirecţional, dar, deoarece la nivelul corpului celular şi al dendritelor nu există canale dependente de voltaj, conducerea 'înapoi" este pasivă.

La nivelul axonului propagarea este însă unidirecţională deoarece la reîntoarcerea undei de depolarizare, aceasta va întâlni zona anterioară în perioada refractară şi va fi insuficientă pentru generarea unui nou PA.

Conducerea este de două tipuri: prin **curenţi locali** la nivelul fibrelor **amielinizate** care este o conducere pasivă, şi conducerea ***saltatorie*** la nivelul fibrelor ***mielinizate***.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Curenții locali (curenții Hermann)

Propagarea curentului printr-un nerv cu proprietăți capacitive şi rezistive constante se numeşte ***electrotonus***. A fost studiat la sfârşitul secolului XIX, când s-a elaborat ecuația folosită pentru a descrie propagarea electricității prin cablu pentru telefonie, aplicabilă şi nervului (Fig. 3.19). De atunci, proprietățile electrotonice ale celulei nervoase au fost denumite ***proprietăți de cablu***.

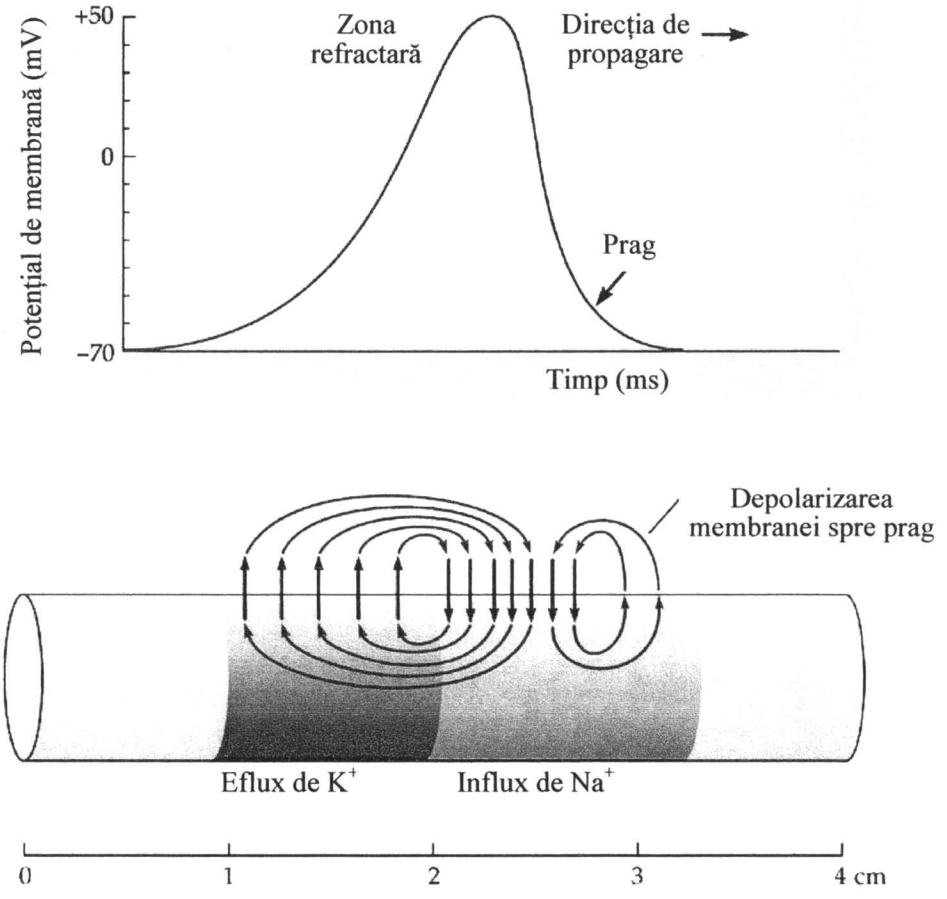


Figura 3.19 Propagarea curentului prin curenți locali de tip Hermann (după Nicholls, 2001)

Rolul cel mai important al potențialelor electrotonice apare în funcția integrativă de la nivelul dendritelor. Dacă apare un impuls, curenții electrotonici se vor distribui şi membranei alăturate. Aceşti curenți se mai numesc curenți locali, şi propagă impulsul către situsuri membranare învecinate, unde, dacă se atinge valoarea prag se generează din nou impulsul. Procesul continuă de-a lungul fibrei, cu o viteză determinată de mărimea fibrei: cu cât fibra e mai mare, cu atât viteza de propagare e mai mare, ceilalți parametri rămânând la fel. Aceasta este o proprietate similară cablului: cu cât diametrul

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

axonului e mai mare cu atât rezistența internă e mai mică şi curenții locali se vor propaga la distanțe mai mari prin citoplasmă. Aceasta întăreşte afirmația că distribuirea curenților locali se produce pasiv.

Propagarea continuă a impulsului prin curenți locali este specifică axonilor nemielinizați. La anumite nevertebrate, aceştia pot fi foarte largi, cum ar fi axonul gigant de calmar. La vertebrate, fibrele nemielinizate sunt cele mai subțiri fibre având dimensiuni de la câțiva μm până la 0.2 μm. Regiuni nemielinizate se regăsesc la nivelul dendritelor şi terminațiilor nervoase ale axonilor.

Conducerea saltatorie.

PA inițiat la nivelul conului axonal se propagă pasiv până la următoarea zonă care are canale dependente de voltaj. Canalele de Na se deschid, şi PA se reface, după care din nou se propagă până la următoarea zonă cu canale de sodiu, şi anume nodul Ranvier, şi etapa se repetă (Fig. 3.21). Prin urmare, conducerea axonală poate fi imaginată ca o singură undă de excitație care se împrăştie activ cu viteză constantă de-a lungul axonului.

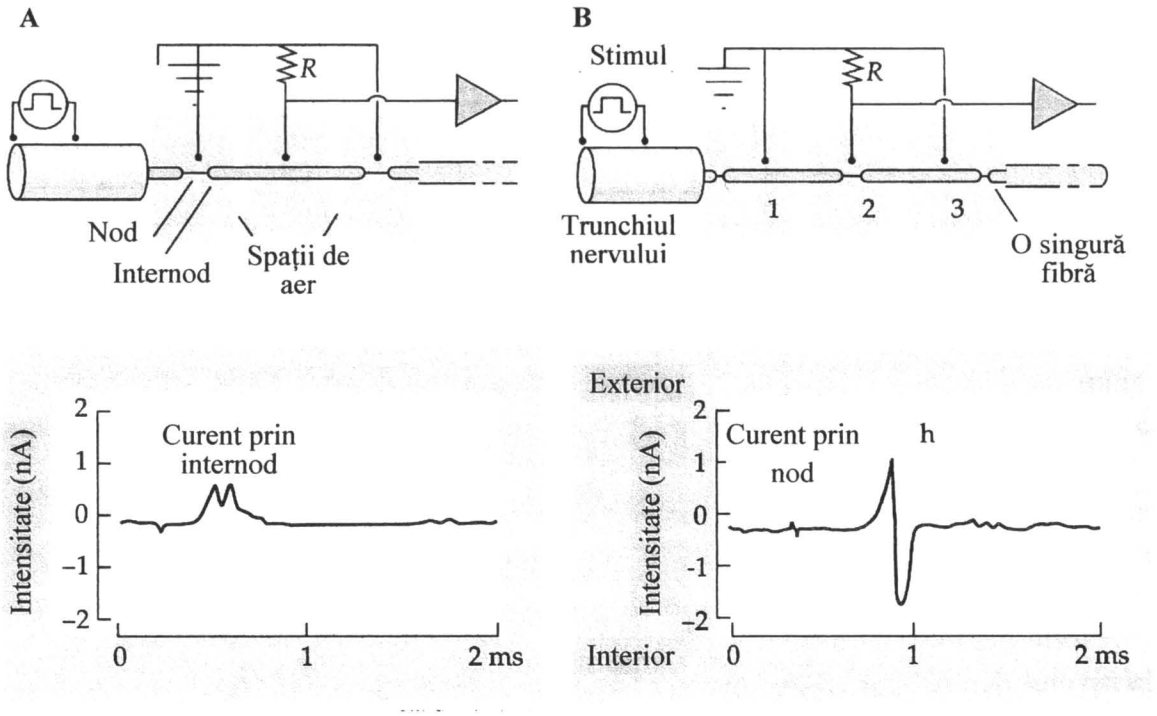


Figura 3.20 Înregistrarea activității electrice la nivelul regiunii internodale şi a nodului Ranvier prin metoda camerei Nonner. Arată că potențialele de acțiune se produc numai la nivelul nodului (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Teaca de mielină este un înveliş cu rol izolator, cu rezistenţă foarte mare, prin care ionii nu pot trece. Este întreruptă din loc în loc la nivelul ştrangulaţiilor Ranvier, unde se află o concentraţie foarte mare de canale de sodiu, 12000 canale/ μm^2. Singurul mediu prin care se pot deplasa ionii este citoplasma axonului, şi singurele locuri pe unde pot ieşi ionii din celulă sunt ştrangulaţiile Ranvier (Fig. 3.20). De aceea, conducerea se desfăşoară din nod în nod şi se numeşte ***saltatorie***.

Mecanismul conducerii saltatorii este eficient, deoarece se atinge maximul de conducere cu consum metabolic minim, prin depolarizarea unei suprafeţe mici de membrană,

Viteza de conducere nu este dependentă de intensitatea stimulului, ci de proprietăţile axonului. Cu cât mielinizarea este mai mare, cu atât constanta de spaţiu este mai mare şi viteza de propagare va creşte. Temperatura este un alt factor care influenţează viteza de propagare a PA: cu cât scade, cu atât se reduce difuzia ionilor. *De exemplu:* durerea rezultată din inflamaţii sau alte răniri poate fi redusă prin aplicarea de gheaţă, deoarece fibrele implicate în conducerea durerii sunt parţial blocate.

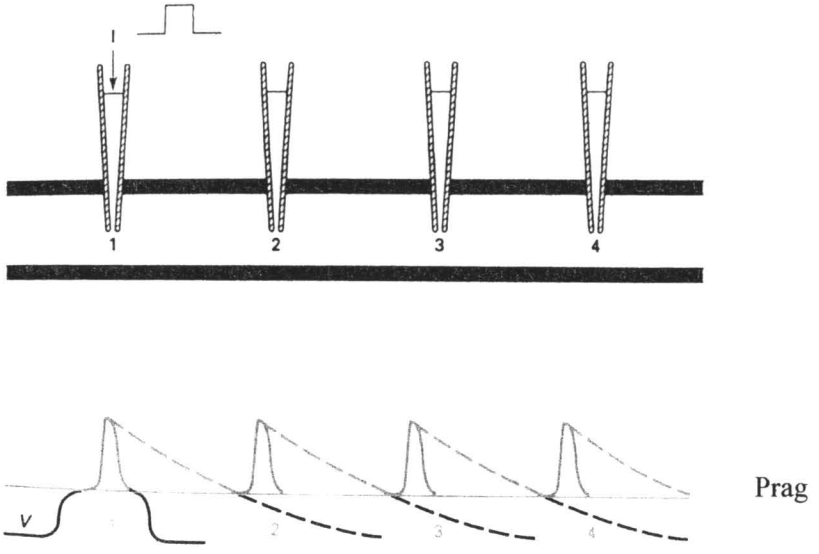


Figura 3.21 Propagarea potenţialului şi reafcerea sa la nivelul nodului Ranvier (după Levitan, 1991)

În funcţie de gradul de mielinizare şi de viteza de propagare, fibrele se împart în 3 categorii:

- fibrele de tip **A:** sunt cele mai mielinizate fibre, cu un diametru total de 5-20 μm, şi cu o viteză de propagare de 12 - 130 m/s. Au o perioadă refractară scurtă, prin urmare, PA pot atinge frecvenţe mari la nivelul lor. Din această categorie fac parte fibrele motorii şi fibrele senzitive activate de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

stimuli uşori: atingere, presiune, poziţia articulaţiilor. Fibrele de tip A sunt implicate în reacţiile rapide ce asigură supravieţuirea. În această categorie intră 3 tipuri (Fig. 3.22) de fibre: A_α – fibrele motorii, A_β – fibre senzitive implicate în atingere, fibre A_δ – implicate în detectarea stimulilor nocivi mecanici şi termici. Diferă prin viteza de propagare a PA şi prin gradul de mielinizare.

- Fibrele de tip **B:** au viteza de conducere mai lentă, în jur de 15 m/s, cu o perioadă refractară mai lungă decât cele de tip A. Sunt mai puţin mielinizate, conduc saltatoriu, fac legătura între viscere şi encefal şi se găsesc la nivelul sistemului nervos autonom.
- Fibrele de tip **C:** sunt slab mielinizate, au perioada refractară cea mai lungă, viteza de conducere cuprinsă între 0.5 - 2 m/s şi sunt fibre implicate în transmiterea durerii atât de la nivelul pielii, cât şi de la nivelul viscerelor. Regăsim fibre de tip C şi la nivelul componentei motorii a sistemului nervos autonom, ce merg spre musculatura netedă, inimă şi glande. Funcţiile motorii ale fibrelor de tip B şi C ale sistemului nervos autonom includ constricţia şi dilatarea pupilelor, precum şi creşterea şi descreşterea ritmului cardiac.

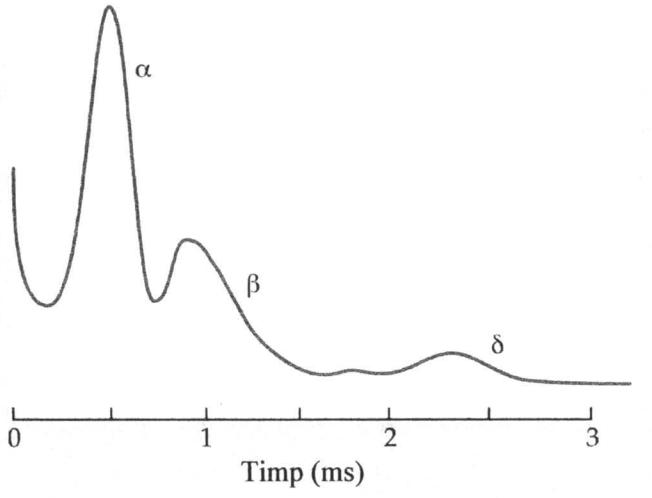


Figura 3.22 Propagarea potenţialului de acţiune în funcţie de gradul de mielinizare al fibrelor nervoase de tip A (după Nicholls, 2001)

***Aplicaţii clinice*:** medicamente ca procaina sau lidocaina sunt folosite pentru inhibarea durerii (de exemplu: în stomatologie). Ele acţionează prin blocarea activării canalelor de sodiu dependente de voltaj, astfel că impulsul nu poate trece dincolo de zona blocată, nu se poate propaga.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Deşi dimensiunile axonale sunt foarte variate, atât ca lungime cât şi ca diametru, informaţia este condusă în acelaşi mod în toţi axonii mielinizaţi, fără decrement şi fără pierderea informaţiei.

CODIFICAREA FRECVENŢEI

Care este modalitatea de a decodifica tăria stimularii? În afară de amplitudinea PA, există alţi parametri ai PA care depind însă de intensitatea stimulului aplicat:

- ***perioada de latenţă***, definită ca timpul scurs de la aplicarea stimulului până la apariţia PA, este cu atât mai scurtă cu cât stimulul este mai puternic. Relaţia dintre stimul şi latenţă, împreună cu perioada refractară, permit codificarea tăriei stimulării în termeni de frecvenţă a potenţialului de acţiune;
- ***perioada refractară***, definită ca perioada de câteva ms ce urmează unui potenţial de acţiune, cu cele 2 etape: *absolută* în care neuronul nu răspunde, oricât de mare ar fi stimulul şi *relativă* în care stimulul trebuie să fie mai mare decât pragul, pentru a declanşa un PA. Altfel spus, după aplicarea unui stimul, pragul de depolarizare variază exponenţial până reatinge valoarea normală.

La aplicarea unui stimul susţinut, lung, de valoarea pragului, neuronul va genera potenţiale de acţiune la o anumită frecvenţă, dată de apariţia unui al doilea potenţial de acţiune după ce pragul a revenit la valoarea normală. Astfel, neuronul va genera PA atâta timp cât stimulul persistă, iar PA vor fi distanţate în timp de perioada refractară.

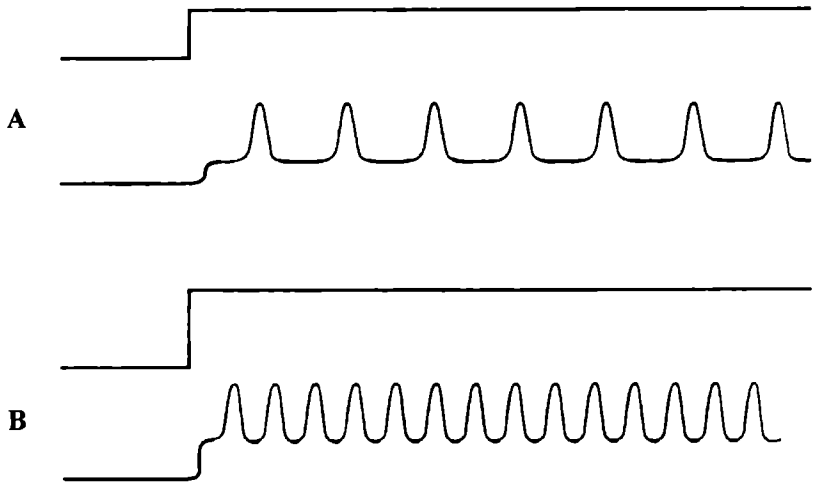


Figura 3.23 Codificarea frecvenţei stimulului este limitată de perioada refractară. **A**: Stimul lung de valoarea pragului. **B**: Stimul lung de valoarea supraliminală (după Levitan, 1991)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dacă stimulul are aceeaşi durată, dar intensitate mai mare (Fig. 3.23B), apariţia celui de-al doilea potenţial va fi mai rapidă, deoarece stimulul mai puternic reuşeşte să genereze PA la un prag mai mare. Astfel, intervalul de timp dintre cele două PA se reduce şi frecvenţa PA va creşte. *Perioada refractară absolută limitează frecvenţa maximă de generare a potenţialelor de acţiune.*

Celulele din diferite regiuni ale sistemului nervos sunt foarte diferite ca morfologie şi funcţie, diferenţă reflectată în proprietăţile biochimice şi electrice. Din punct de vedere electric se pot defini mai multe caracteristici de activitate electrică endogenă (Fig. 3.24):

- neuroni care nu se activează spontan,
- neuroni care au activitate spontană continuă,
- neuroni care au activitate spontană sub formă de trenuri de PA.

Spre exemplu, căile neuronale implicate în reflexele vizuale rapide sau în comportamentul de evadare sunt organizate diferit de cele ce controlează respiraţia, hrănirea sau reproducerea. Modificarea proprietăţilor electrice ale unui neuron îi permit acestuia să controleze diferite tipuri de comportamente.

Neuronii fără activitate spontană au un potenţial de repaus fix, care nu se modifică decât prin stimulare, cum ar fi neuronii motori sau cei senzitivi.

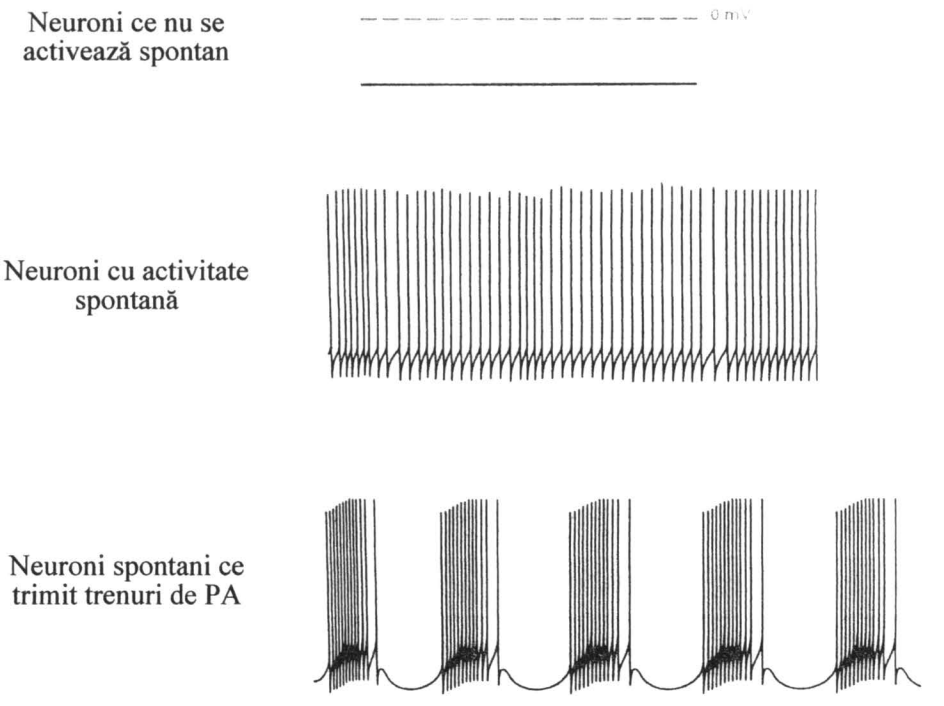


Figura 3.23 Tipuri de neuroni clasificaţi pe baza activităţii electrice endogene (după Levitan, 1991)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Alţi neuroni generează PA cu frecvenţă constantă, repetitiv, şi se numesc neuroni *pacemaker*, cum ar fi cei din centrii cardiaci şi respiratori din trunchiul cerebral. Deşi stimularea externă poate modifica rata de descărcare a PA, mecanismele ce stau la baza activităţii repetitive sunt de obicei intrinseci neuronului şi nu necesită o activare sinaptică permanentă.

Alti neuroni, deşi au activitate spontană în absenţa unui stimul extern, nu au activitate regulată, dar generează regulat trenuri de PA, separate prin perioade de hiperpolarizare a membranei. Această activitate explozivă a neuronilor este folosită în două cazuri:

- generarea activităţii ritmice: respiraţie, mers, înot, masticaţie, comportamente ce necesită o stimulare continuă şi ritmică a unor grupe de muşchi;
- secreţia neurohormonală: neuronii hipotalamici din nucleul magnocelular, ce conţin fie ocitocină, fie vasopresină, hormoni peptidici folosiţi pentru controlul lactaţiei şi al retenţiei de apă.

O altă diferenţă în activitatea neuronilor provine din modalitatea de adaptare la aplicarea unui stimul lung (Fig. 3.25):

- neuroni ***tonici***, care pot genera PA pe toată durata stimulării, cu o frecvenţă dată de intensitatea stimulării;
- neuroni ***fazici***,
  - neuroni **ON**, care generează PA numai la începutul stimulării, deoarece intervine fenomenul de adaptare;
  - neuroni **OFF**, care generează PA la sfârşitul stimulării, comportare ce apare numai în cazul unei stimulări lungi. La stimulări scurte, eşuează în generarea unui răspuns;
  - neuroni **ON-OFF**, care generează PA la începutul şi sfârşitul stimulării.

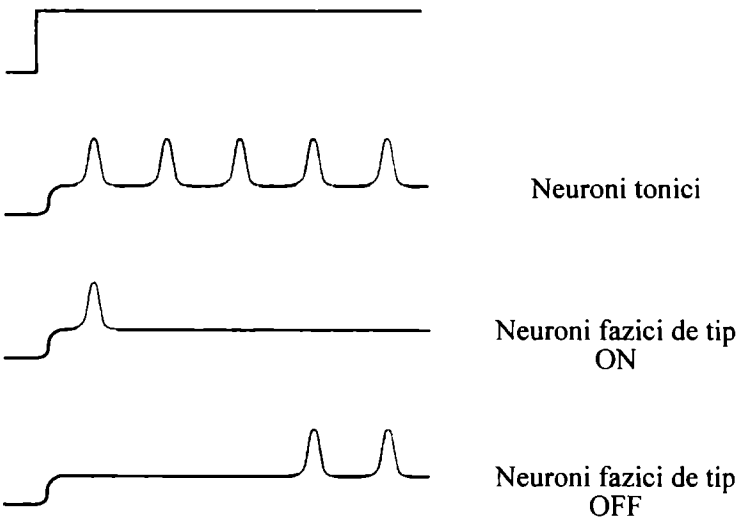


Figura 3.25 Adaptarea diferenţiată a neuronilor (după Levitan, 1991)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Stimularea neuronului o perioadă îndelungată, chiar dacă nu continuă, dar constantă, poate produce modificări în proprietăţile electrice ale neuronului. Spre exemplu, comportamentul alimentar şi cel reproducător trebuie să fie declanşate şi terminate la un moment dat. Un răspuns de apărare trebuie să fie corespunzător situaţiei şi este rezultatul influenţei stimulilor externi asupra proprietăţilor intrinseci ale neuronului. Modificări pe termen lung sau pe termen scurt în forma PA pot fi rezultatul stimulării sinaptice sau hormonale, prin schimbarea mecanismelor endogene implicate în declanşarea PA.

Tabelul 3.1 Compararea potenţialului de acţiune cu potenţialul postsinaptic

	Potenţial de acţiune	**Potenţial postsinaptic**
Propagare	Activă, saltatoriu Situs de generare: conul axonal prin deschiderea canalelor ionice, până la butonii terminali	Pasivă prin curenţi locali Situsul de generare: dendritele sau corpul celular, asemănător transmiterii semnalului electric pe un cablu: apare şi la 1 mm dispare
Distanţa de comunicare	Mare	Mică
Amplitudinea	Constantă pentru acelaşi neuron, nu variază cu stimulul aplicat	Gradată, variază cu intensitatea stimulării
Perioada refractară	Prezentă	Absentă
Sumaţie	Absentă	Prezentă (temporal şi spaţial)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 4. TRANSMITEREA SINAPTICĂ

Transmiterea sinaptică asigură comunicarea între miliardele de neuroni de la nivelul SNC. Sinapsele sunt esenţiale pentru homeostazie, pentru că permit integrarea şi filtrarea informaţiei. Astfel, unele semnale sunt transmise, în timp ce altele sunt blocate. Anumite boli nervoase şi multe dereglări psihice sunt rezultatul unei întreruperi în comunicarea sinaptică.

SINAPSELE

Sinapsele sunt locurile de contact ale neuronilor, la nivelul cărora se transmite informaţia printr-un fenomen de conversie **electric – chimic – electric**. Sinapsele sunt şi situsuri de acţiune ale medicamentelor utilizate în terapii medicale ale unor boli care afectează sistemul nervos central, sau ale substanţelor care creează dependenţă. La nivelul unei sinapse, neuronul care trimite semnalul se numeşte **neuron presinaptic.** Neuronul care primeşte semnalul se numeşte **neuron postsinaptic**.

Clasificarea sinapselor este foarte variată şi un criteriu este cel ***structural***, care bazat pe regiunile de contact, le clasifică în axo-dendritice, axo-somatice, dar există şi unele tipuri de sinapse mai puţin înţelese funcţional: dendro-dendritice şi axo-axonale.

Din punct de vedere **funcţional** există 2 tipuri de sinapse: ***electrice*** şi ***chimice***.

O altă clasificare a sinapselor se face pe baza modului de transmitere:

- sinapse ***directe,*** în care situsul de eliberare al neurotransmiţătorilor este localizat în imediata vecinătate a locului de recepţie al neurotransmiţătorilor; sunt cel mai des întâlnite;
- sinapse ***indirecte***, caz în care situsurile de eliberare şi receptare a neurotransmiţătorilor sunt îndepărtate. În acest caz, neurotransmiţătorul este eliberat la nivelul unor îngroşări ale axonului sau ale ramificaţiilor colaterale ale axonului, în aşa fel încât neurotransmiţătorul este dispersat în jurul neuronului ţintă.

SINAPSELE ELECTRICE

La nivelul lor, curentul ionic trece direct de la o celulă la alta prin **joncţiunile gap**. Aceste joncţiuni sunt prezente la nivelul musculaturii netede viscerale, al muşchiului cardiac, embrionului, sistemului nervos central şi au 2 avantaje evidente:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- pot sincroniza activitatea unui grup de neuroni sau a fibrelor musculare. La nivelul inimii şi al musculaturii viscerale, rolul sincronizării potenţialelor de acţiune este de a realiza o contracţie coordonată a acestor fibre.

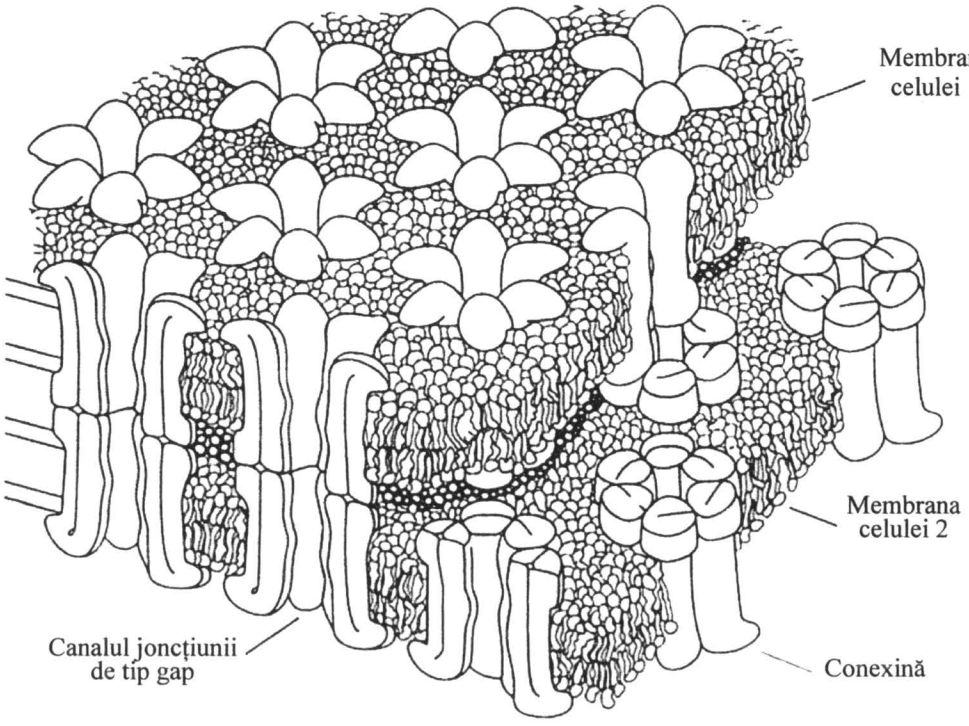


Figura 4.1 Structura sinapsei electrice. Porii care străbat membrana celulară sunt formaţi de conexine aranjate în apoziţie pe cele două membrane biologice. Imaginea a fost obţinută prin difracţie cu raze X (după Makowsli *et al.*, 1977)

Joncţiunile gap (Fig. 4.1) permit trecerea directă, prin difuzie, a moleculelor mici şi ionilor prin porii formaţi în membrana celulară. Aceşti pori pot fi vizualizaţi la microscopul electronic sub formă de ciorchini, uneori cu aspect cristalin.

Evidenţierea joncţiunilor gap este posibilă prin ***metoda criofracţionării***, în care ţesutul, preparatul biologic, se îngheaţă şi apoi se "sparge" în planul membranei. Se expun cele două jumătăţi ale bistratului lipidic, care se acoperă cu platină(Pt) şi carbon (C) pentru a crea un bazorelief al mijlocului membranei. Metoda permite vizualizarea profilului din interiorul membranei, şi anume, a proteinelor integrate în membrană, cum ar fi receptori şi ioni.

Ţesutul biologic din care s-a purificat conexina, componenta de bază a joncţiunilor gap, a fost ţesutul hepatic. Porul este format din 6 conexine, dispuse sub forma unui complex hexameric. Hexamerii din membrana presinaptică sunt poziţionaţi în dreptul hexamerilor din membrana postsinaptică. Diversitatea moleculară a conexinei este mare, conexina hepatică având masă moleculară diferită

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

de conexina neuronală. Aceasta arată că anumite proprietăți ale conexinelor pot fi modificate ca adaptare funcțională. S-a demonstrat că un rol în determinarea structurii conexinelor îl au neurotransmițătorii şi hormonii.

Cu toate că, structural, conexinele pot fi diferite, proprietățile electrice ale joncțiunilor gap sunt similare:

- permeabilitate pentru molecule cu masă moleculară de până la 1000 Da;
- se închid şi se deschid asemănător canalelor ionice controlate, cinetică ce se poate pune în evidență prin înregistrarea activității electrice a celor două celule conectate. Pentru aceasta se foloseşte tehnica de patch-clamp cu 2 electrozi (Fig. 4.2);

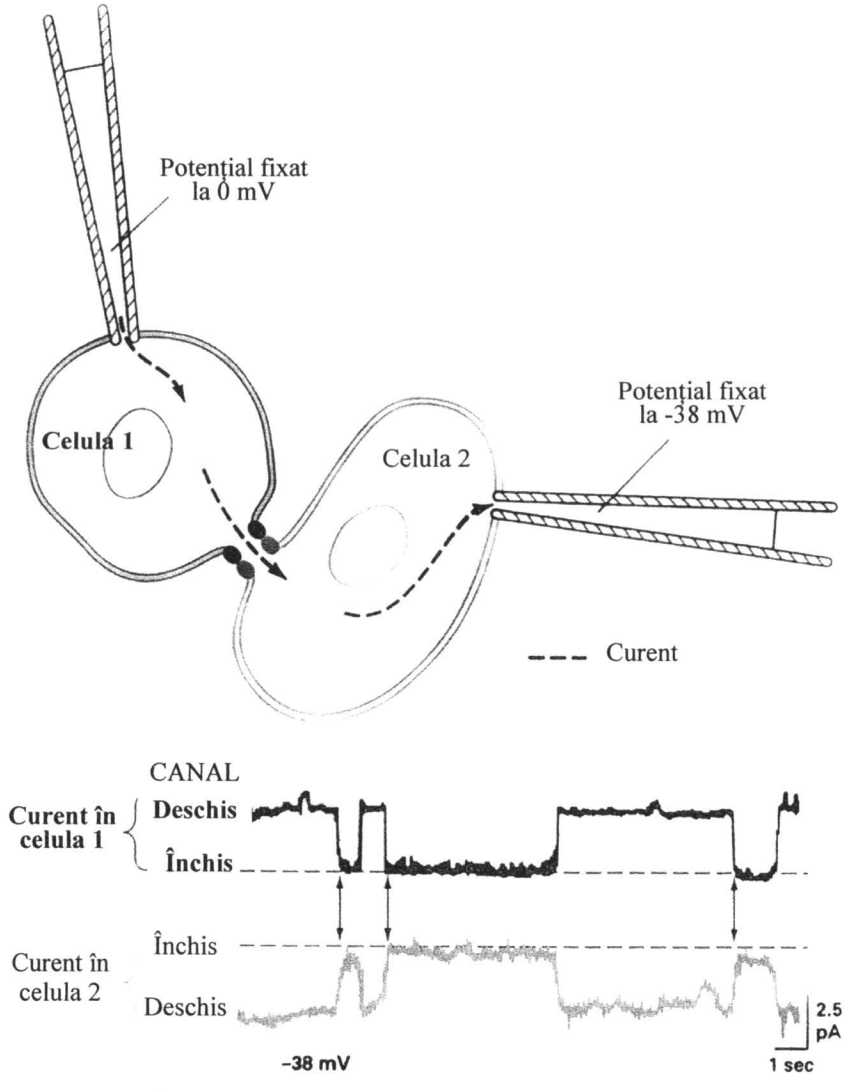


Figura 4.2 Înregistrarea activității la nivelul sinapsei electrice prin tehnica de patch-clamp cu doi electrozi. Înregistrarea activității unui singur canal: când joncțiunea se deschide, în celula 1 se înregistrează un curent spre exterior iar în celula 2 un curent spre interior (Burt şi Spray, 1988)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- conduc în mod egal în ambele direcţii, cu excepţia sinapsei electrice gigant de la moluşte, unde s-a pus în evidenţă rectificarea, prin transmiterea semnalului de depolarizare numai dinspre elementul presinaptic spre cel postsinaptic.

Rolul îndeplinit de joncţiunile gap nu este pe deplin cunoscut, dar despre ele se cunosc următoarele :

- sunt implicate în transmiterea rapidă a informaţiei, cu mai puţine pierderi, ca o consecinţă a absenţei depresiei sinaptice sau a blocării de către neurotoxine. Viteza de transmitere este importantaă pentru reflexele rapide implicate în reacţiile de evadare;
- coexistă la nivelul neuronilor cu sinapsele chimice, atât la nevertebrate cât şi la vertebrate, ceea ce permite neuronului să primească informaţii de la surse diferite, pe căi diferite;
- în retină, activitatea lor poate fi modulată de dopamină, ceea ce arată că sunt componente dinamice ale circuitelor neuronale;
- au rol în dezvoltarea embrionară a multor ţesuturi, perioadă în care multe sinapse se formează şi se disociază;
- la nivelul lor pot trece molecule cu rol de mesageri secundari cum ar fi Ca^{2+}, ATP, cAMP, implicate în semnalizarea intracelulară, care pot induce activitate sincronizată în celule. Există şi cazuri în care neuronii conectaţi prin joncţiuni gap nu sunt sincroni; în acest caz, joncţiunea gap are rol de "informator" despre activitatea neuronului învecinat;
- sunt prezente şi la nivelul celulelor gliale, unde formează o reţea de semnalizare: stimularea electrică a unei căi neuronale determină creşterea calciului intracelular în astrocite, ceea ce va produce o undă de calciu intern, care se propagă cu o viteză de 1 mm/s;
- o maladie neurologică în care este alterată capacitatea celulelor de a forma joncţiuni gap este maladia Charcot-Marie-Tooth, X-linkată, caracterizată prin demielinizare, ca urmare a unei mutaţii punctiforme într-o genă a conexinei 32 din celulele Schwann.

SINAPSELE CHIMICE

Sunt alcătuite din 3 compartimente (Fig. 4.3): presinaptic, fanta sinaptică şi postsinaptic. Fanta sinaptică este un spaţiu de 20 – 50 nm umplut cu lichid extracelular. Impulsurile nu pot trece fanta sinaptică, prin urmare, transmiterea are câteva etape ce presupun conversia semnalului electric în semnal chimic la nivelul elementului presinaptic şi, apoi, transformarea semnalului chimic în semnal electric la nivelul elementului postsinaptic. Transmiterea sinaptică la nivelul sinapsei chimice are următoarele etape:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- eliberarea de neurotransmițător din neuronul presinaptic;
- difuzia neurotransmițătorului prin fanta sinaptică;
- legarea neurotransmițătorului de receptorii specifici ai membranei postsinaptice;
- producerea unui potențial postsinaptic.

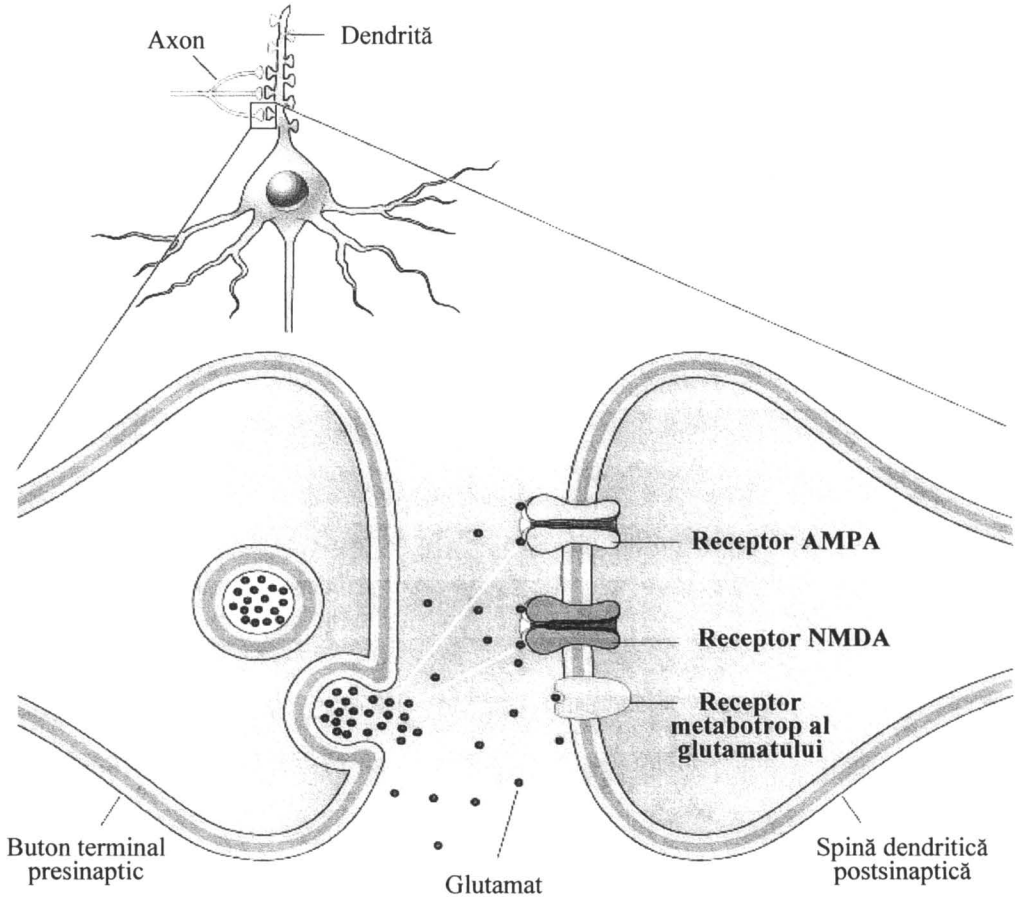


Figura 4.3 Structura sinapsei chimice (după Nicholls, 2001)

Desfăşurat, evenimentul transmiterii sinaptice poate fi descris astfel: impulsul nervos ajunge în dreptul terminației presinaptice, unde depolarizarea induce deschiderea canalelor de calciu dependente de voltaj şi calciul intră în celulă. Creşterea concentrației de calciu intracelular declanşează exocitoza veziculelor sinaptice la nivelul membranei presinaptice şi neurotransmițătorul este eliberat în fanta sinaptică. Fiecare veziculă conține câteva mii de molecule de neurotransmițător care vor difuza spre membrana postsinaptică, ce conține receptori specifici pentru recunoaşterea şi legarea acestuia. Ca rezultat al legării neurotransmițătorului, la nivelul neuronului postsinaptic se declanşează potențiale gradate: ***postsinaptice***

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

excitatoare (PPSE) sau inhibitoare (PPSI), în funcţie de tipul de neurotransmiţător şi de receptorul specific al acestuia.

Funcţionarea normală a sinapselor este asigurată de îndepărtarea neurotransmiţătorului din spaţiul sinaptic prin 3 modalităţi: difuzie, degradare enzimatică şi recaptare.

ETAPELE TRANSMITERII SINAPTICE

SINTEZA NEUROTRANSMIŢĂTORILOR

Neurotransmiţătorii sunt molecule secretate de neuronul presinaptic, pentru decodificarea activităţii sale şi transmiterea mai departe a unei informaţii specifice. Sunt de 2 tipuri: molecule mici şi molecule mari (peptide). Peptidele sunt lanţuri de aminoacizi compuse din cel mult 10 aminoacizi.

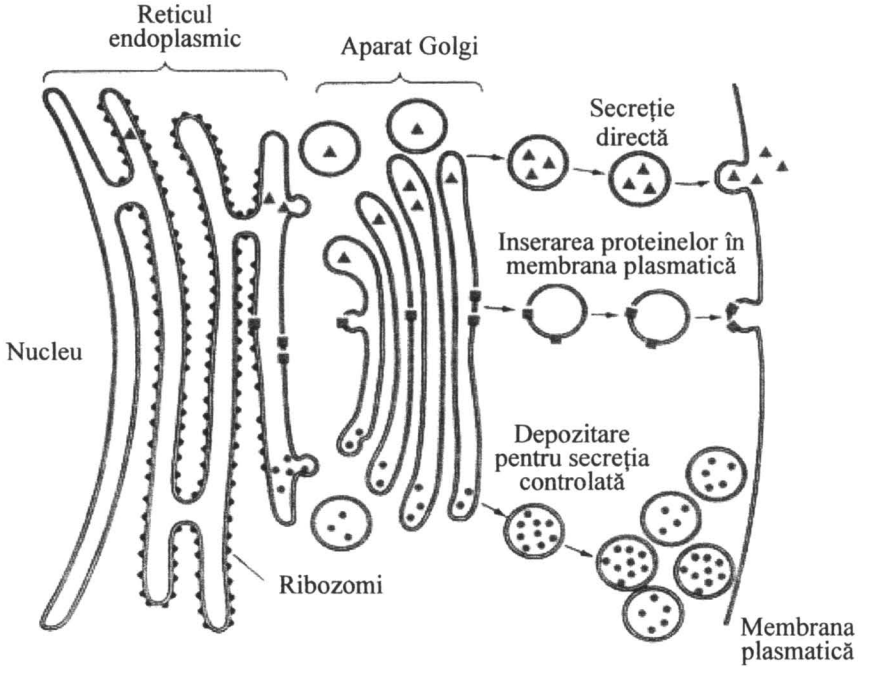


Figura 4.4 Sinteza neurotransmiţătorilor la nivelul butonului terminal (după Levitan, 1991)

Neurotransmiţătorii mici sunt de obicei sintetizaţi în citoplasma butonului terminal (Fig. 4.4) şi împachetaţi în vezicule la nivelul aparatului Golgi de la acest nivel. Umplute cu neurotransmiţători, veziculele sunt stocate în ciorchini în apropierea membranei presinaptice.

Neurotransmiţătorii peptidici sunt sintetizaţi şi împachetaţi în vezicule în citoplasma corpului celular,iar acestea sunt transportate până la butonii terminali cu ajutorul microtubulilor, cu o viteză de 40 cm/zi. La nivelul unei sinapse pot exista

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

vezicule cu diferite tipuri de neurotransmiţători, prin urmare un neuron poate sintetiza cel puţin 2 neurotransmiţători: unul mic şi unul peptidic.

ELIBERAREA NEUROTRANSMIŢĂTORILOR

Exocitoza este procesul prin care neurotransmiţătorii sunt eliberaţi în fanta sinaptică. La repaus, veziculele sinaptice se agregă în jurul membranei presinaptice (Fig. 4.4), într-o regiune bogată în canale de calciu activate de depolarizare. Când potenţialul de acţiune (PA) ajunge la nivelul butonilor terminali, canalele de calciu se deschid, ionii de calciu intră şi determină fuzionarea veziculelor cu membrana presinaptică şi eliberarea conţinutului lor în fanta sinaptică.

Moleculele mici sunt eliberate în ***cuante***, de fiecare dată când un PA ajunge la nivel terminal, în timp ce peptidele sunt eliberate gradat, într-un mod dependent de concentraţia intracelulară de Ca^{2+}. Astfel, eliberarea lor s-ar putea produce numai la o acumulare mare de calciu, consecinţă a unui tren de PA

ACTIVAREA RECEPTORILOR DE CĂTRE MOLECULELE DE NEUROTRANSMIŢĂTORI

Eliberaţi în fanta sinaptică, neurotransmiţătorii difuzează spre elementul postsinaptic şi interacţionează cu receptorii din membrana postsinaptică, continuând semnalizarea. Fiecare receptor este o proteină ce conţine situsuri de legare specifice pentru un neurotransmiţător, prin urmare, neurotransmiţătorii pot influenţa numai neuronii care prezintă receptori specifici pentru ei. Neurotransmiţătorul este un *ligand* al receptorului.

Deşi, iniţial, s-a crezut că un neurotransmiţător se leagă la un singur receptor, în prezent se ştie că există câteva subtipuri de receptori pentru acelaşi neurotransmiţător. Localizarea subtipurilor de receptori este foarte bine controlată în sistemul nervos. Ei răspund prin mecanisme diferite la acţiunea neurotrasnmiţătorilor. Prin urmare, acelaşi neurotransmiţător transmite diferite tipuri de mesaje în diferite regiuni ale sistemului nervos, în funcţie de receptorul întâlnit.

Efectul neurotransmiţătorilor asupra neuronului postsinaptic depinde de tipul de receptor pe care acţionează.

Există 2 clase mari de receptori:

- **ionotropi** = receptori (Fig. 4.5A) care, prin legarea ligandului suferă o modifcarea conformaţională cu expunerea unui por ionic; ca urmare, apare un flux ionic prin receptor, ce va induce ***direct*** şi ***rapid*** modificarea potenţialului membranar
- **metabotropi** = receptori (Fig. 4.5B) asociaţi cu proteine participante la mecanismele de semnalizare intracelulară, ce vor duce ***indirect*** şi ***lent*** la activarea unui canal ionic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

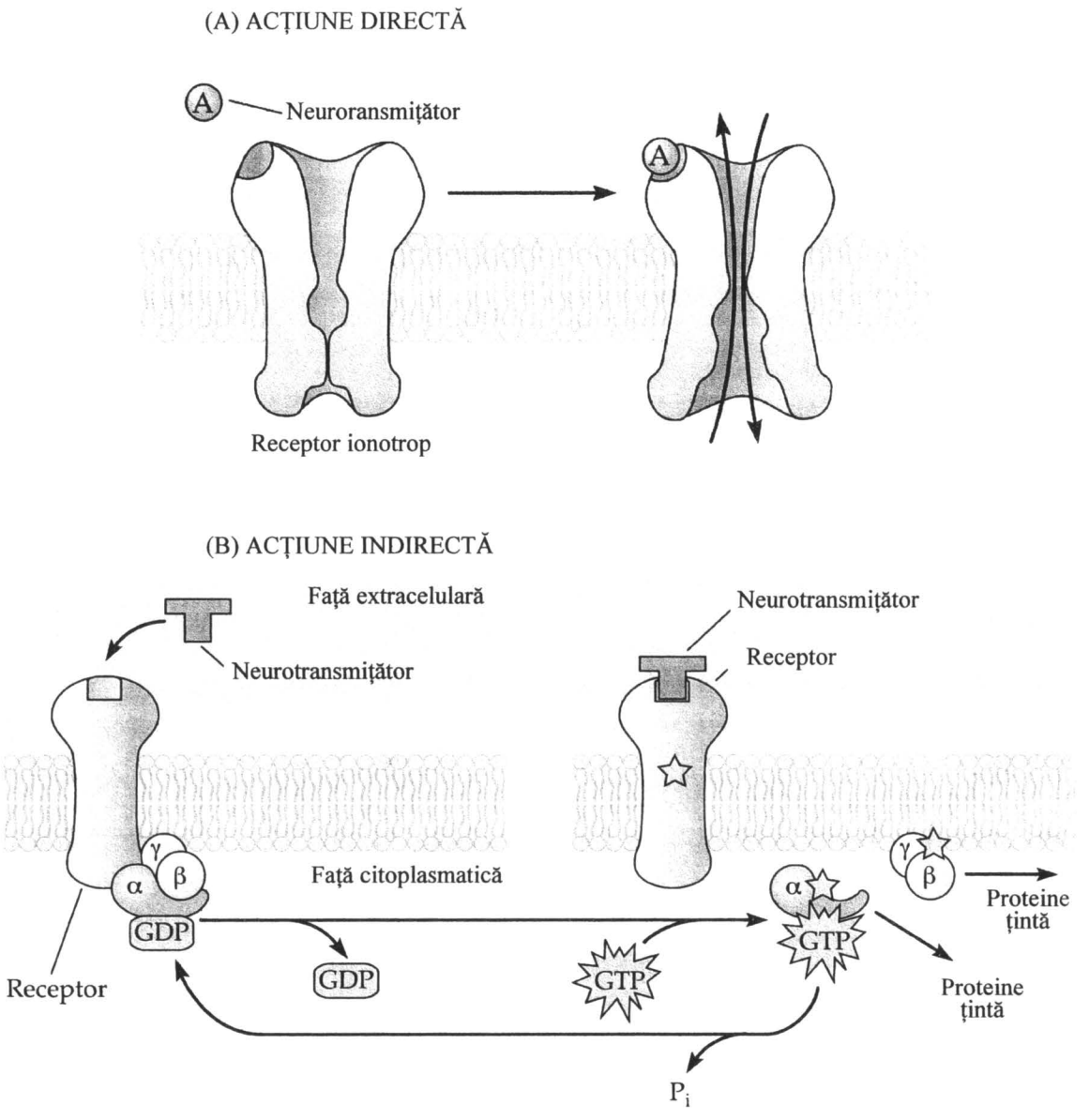


Figura 4.5 A: Transmiterea sinaptică directă prin receptori ionotropi.
B: Transmiterea sinaptică indirectă prin receptori metabotropi. Se activează proteine G care semnalizează intracelular prin cele 2 componente: βγ şi subunitatea α-GTP (după Nicholls, 2001)

Când un neurotransmițător se leagă la un receptor ionotrop, canalul ionic asociat se deschide într-un interval de ordinul milisecundelor, inducând un potențial postsinaptic. PPSE poate fi indus prin deschiderea unor canale de Na, Ca în timp ce PPSI se poate induce prin deschiderea canalelor de Cl sau de K.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Legarea neurotransmițătorului la un receptor metabotrop are un efect mai lent, cu durată mai mare, de la secunde până la minute, mai difuz şi mult mai variat, fiind nivelul la care se modulează plasticitatea sinaptică. Structura receptorilor metabotropi (Fig. 4.6) este tipică proteinelor de semnalizare: 7 domenii transmembranare, situsul de recunoaştere al neurotransmițătorului este localizat extracelular, în timp ce intracelular există o regiune ataşată proteinei G ce mai conține domenii de fosforilare şi de interacție cu citoscheletul.

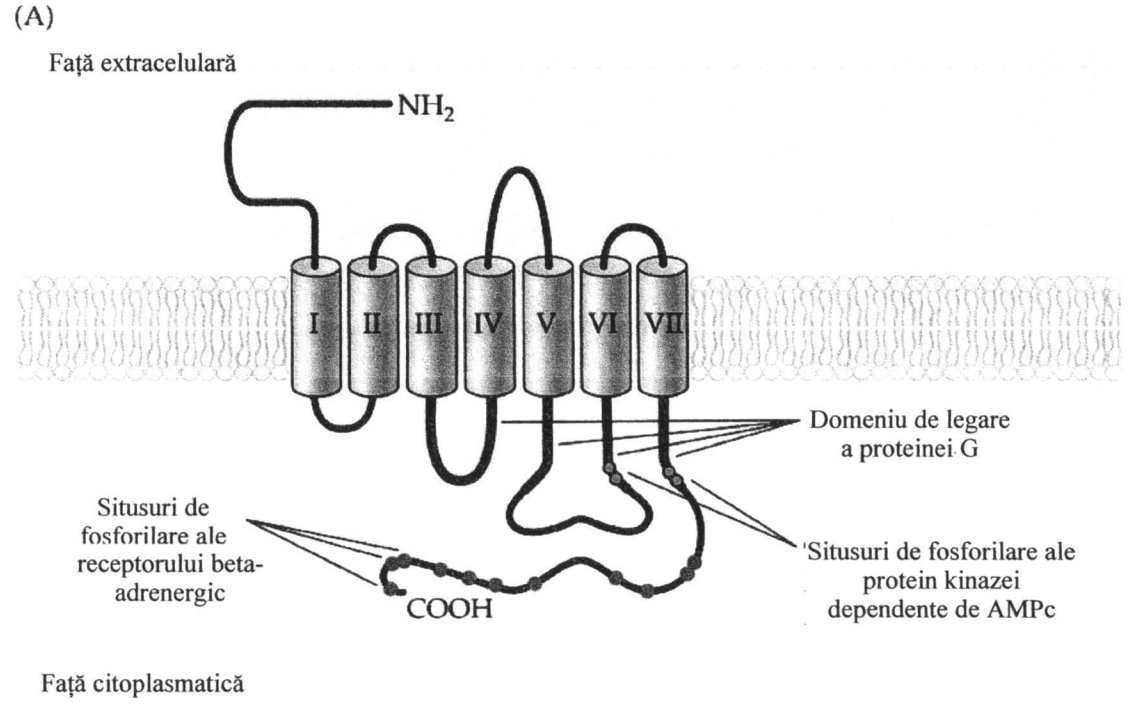


Figura 4.6 Structura receptorului metabotrop al noradrenalinei şi numeroasele situsuri de interacțiune cu proteinele intracelulare pentru modularea activității (după Nicholls, 2001)

Legarea ligandului determină activarea receptorului şi mai departe scindarea proteinei G într-o unitate mobilă:

- fie difuzează de-a lungul suprafeței membranare şi se leagă la canalele ionice alăturate care pot induce PPS,
- fie semnalizează intracelular sinteza unui mediator secundar ce difuzează prin citoplasma şi poate activa alte căi metabolice:
  - fosforilarea unor proteine (enzime sau canale ionice);
  - pătrunde în nucleu, se leagă la ADN şi influențează expresia genică.

Diferența dintre neurotransmițătorii mici şi cei peptidici nu rezidă numai în structura şi modul de eliberare, ci şi în funcția pe care o îndeplineşte fiecare:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- moleculele mici sunt eliberate în sinapsele directe şi acţionează pe receptori ionotropi sau metabotropi (care la rândul lor acţionează direct pe canale ionice), implicate în transmiterea rapidă;
- neurotransmiţătorii peptidici acţionează pe receptori metabotropi prin intermediul mesagerilor secundari, implicaţi în transmiterea lentă.

ÎNDEPĂRTAREA NEUROTRANSMIŢĂTORULUI DIN FANTA SINAPTICĂ

Există trei mecanisme de îndepărtare a neurotransmiţătorului din fanta sinaptică:

- difuzia, o anumită parte din neurotransmiţător difuzează în afara spaţiului sinaptic;
- degradarea enzimatică; de exemplu: acetilcolinesteraza hidrolizează acetilcolina în colină şi acetat;
- preluarea în celula presinaptică a neurotransmiţătorului cu ajutorul unui transportor sau pot fi preluaţi de neuronii învecinaţi. De exemplu, noradrenalina este rapid preluată şi recirculată de acelaşi neuron care o eliberează. De exemplu: cocaina produce senzaţii intense, de euforie deoarece blochează transportorul dopaminei (DOPA), care va persista astfel în spaţiul sinaptic, stimulând excesiv regiuni ale sistemului nervos central. Transportorul foloseşte gradientul de ionilor de sodiu ca energie pentru recaptarea neurotransmiţătorului.

În afară de cele trei mecansime enumerate anterior, care presupun: difuzia din fanta sinaptică, degradarea enzimatică şi recaptarea cu ajutorul transportorilor, există însă un tip special de receptori, denumiţi **autoreceptori,** care sunt receptori metabotropici cu 2 caracteristici neconvenţionale:

- se leagă la neurotransmiţătorul secretat de propriul neuron;
- sunt localizaţi în membrana presinaptică.

Au rolul de a controla numărul de molecule de neurotransmiţător de la nivelul sinapsei şi împiedică eliberarea acestuia dacă a atins concentraţii mari în fanta sinaptică. Induc eliberarea neurotransmiţătorului dacă nivelul scade.

Din punct de vedere funcţional, o altă clasificare a sinapselor le împarte în: *inhibitoare* şi *excitatoare*.

SINAPSELE INHIBITOARE

Clasificarea este dată de tipul de neurotransmiţător pe care îl eliberează: acid γ-amino-butiric (GABA), sau glicina (Gly). Receptorii ionotropi ai acestor aminoacizi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

sunt anionici (Cl^-) şi mediază efectul inhibitor al transmiterii semnalului prin hiperpolarizarea membranei postsinaptice, prin influx de ioni de Cl. Din punct de vedere structural, sinapsele inhibitoare au următoarele proprietăţi:

- suprafaţă membranară mai mică spre fanta sinaptică, şi, prin urmare, o zonă activă mai mică;
- veziculele încărcate cu neurotransmiţător sunt ovale,
- fanta sinaptică este mai îngustă;
- sunt poziţionate cât mai aproape de zona de integrare a potenţialelor postsinaptice, cele mai multe fiind axo-somatice;
- generează potenţiale postsinaptice inhibitoare (PPSI) mici, suficiente pentru a controla activitatea neuronilor spontani. *Exemplu*: celulele pace-maker cardiace.

Sinapsele inhibitoare nu trebuiesc confundate cu inhibiţia sinaptică, fenomen ce stă la baza modulării activităţii sinaptice.

Există un tip particular de sinapsă inhibitoare, de tip ***axo-axonal***, care stă la baza fenomenului de inhibiţie presinaptică, întâlnit în sistemele senzoriale. Într-o astfel de sinapsă, neurotransmiţătorul poate fi variat, cu mecanism diferit de acţiune, dar per total, efectul este de scădere a tăriei sinaptice a neuronului postsinaptic, prin scăderea cantităţii de neurotransmiţător eliberat în fanta sinaptică. Astfel, GABAs ecretat acţionează prin hiperpolarizarea membranei postsinaptice, neuropeptidul cu mecanism diferit de acţiune, dar per total, efectul este de scădere a tăriei sinaptice a neuronului postsinaptic, prin scăderea cantităţii de neurotransmiţător eliberat în fanta sinaptică. Astfel, GABAs ecretat acţionează prin hiperpolarizarea membranei postsinaptice, neuropeptidul Y acţionează prin blocarea canalelor de calciu dependente de voltaj. Există şi un al treilea mecanism, ce implică *glutamatul*, care va depoalriza membrana postsinaptică la o valoare carenu activează canalele de calciu, astfel că scade gradientul electric, iar la sosirea potenţialelor de acţiune, cantitatea de calciu intrată în celulă este mai mică, proportţională cu gradientul electrochimic.

SINAPSELE EXCITATOARE

Neurotransmiţătorii pe care îi eliberează sinapsele excitatoare sunt mai numeroţi: glutamat (Glu), acetilcolină (ACh), aspartat (Asp), serotonină (5-HT), dar efectul lor excitator depinde şi de tipul de receptor pe care acţionează. În general, receptorii ionotropi cationici sunt permeabili pentru ionii de Na şi Ca, inducând *depolarizarea*.

Din punct de vedere structural, sinapsele excitatoare au următoarele proprietăţi:

- suprafaţă membranară mai mare spre fanta sinaptică şi, prin urmare, o zonă activă mai mare;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- veziculele încărcate cu neurotransmițători sunt rotunde;
- fanta sinaptică este mai largă,
- generează potențiale postsinaptice excitatoare (PPSE) mai mici de 1 mV, de ordinul 0.2-0.4 mV, mult mai mici decât pragul necesar generării PA (10 mV) (Fig. 4.7);

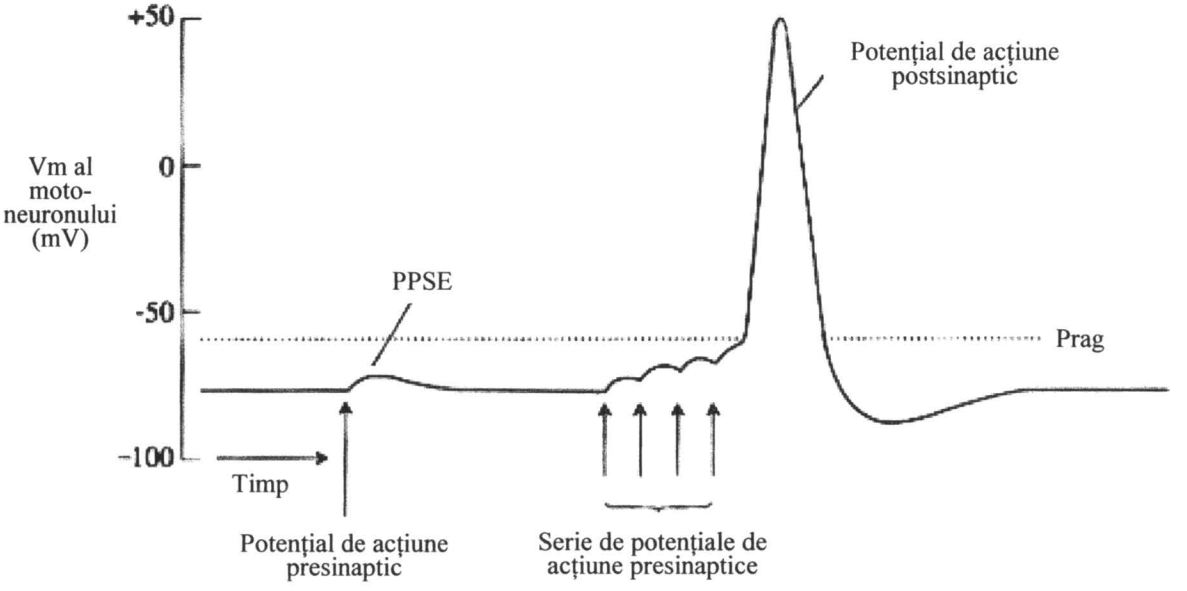


Figura 4.7 Răspunsul unui neuron motor postsinaptic la potențialele de acțiune sosite de la nivelul neuronului senzitiv presinaptic. Săgeata reprezintă momentul stimulării electrice a neuronului senzitiv (după Levitan, 1991)

- cele mai întâlnite tipuri de sinapse excitatoare sunt sinapsele axo-dendritice.

- în anumite zone ale neuronilor corticali: şi anume pe celulele piramidale ale hipocampului, sinapsele excitatoare se formează pe **spinele dendritice** (Fig. 4.8). Acesea reprezintă compartimente biochimice distincte de brațul dendritic, implicate în învățare şi întărirea memoriei celulare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

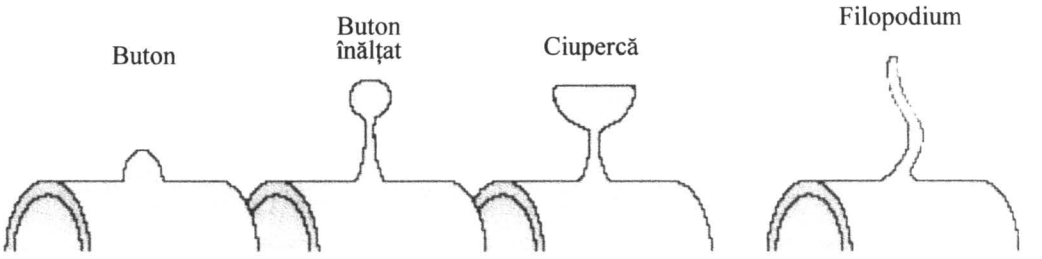


Figura 4.8 Exemple de spine dendritice, diferite morfologic: buton, buton înălțat, ciupercă, filopodium (după Yuste *et al.*, 2004)

PLASTICITATEA SINAPTICĂ

Stă la baza capacității de adaptare a organismului la modificările mediului înconjurător. Plasticitatea neuronală poate fi definită ca modificarea ponderii funcționale neuronale, ca rezultat al experienței. Astfel de modificări au loc în procesele de învățare motorie şi de acomodare, dar mai ales în timpul dezvoltării embrionare. Avantajul acestor modificări este de a conferi organismului capacitatea de adaptare, dincolo de reflexele programate, şi de a asigura dezvoltarea sistemului nervos prin mecanisme genetice.

Sinapsele se formează din timpul dezvoltării embrionare, şi mai departe, în organismul adult tăria sinaptică poate fi modificată, influențând relația dintre stimul şi activitatea sinaptică. Această reformare funcțională a sinapselor, ce se desfăşoară în timpul maturizării sistemului nervos, în cele două etape, pre şi postembrionară, depinde de semnalul trimis retrograd dinspre neuronul postsinaptic către neuronul presinaptic.

În organismul complet dezvoltat, plasticitatea neuronală necesită modificări în eficiența sinaptică. În 1949, Hebb a formulat teoria conform căreia eficiența unei sinapse excitatoare creşte dacă activitatea la nivelul acestei sinapse este constantă şi pozitiv corelată cu activitatea neuronului postsinaptic.

Există două tipuri de transformări ce pot avea loc:

- la nivelul terminațiunii *presinaptice*, spre exemplu, prin modificarea cantității de neurotransmițător eliberat ca răspuns la PA presinaptic. Mecanismele presinaptice ale plasticității neuronale sunt de 2 tipuri: *homosinaptice*, în care fenomenul este dependent de folosirea sinapsei, şi *heterosinaptice*, induse de un modulator eliberat de sinapsa din imediata vecinătate.
- la nivelul neuronului *postsinaptic*, prin modificarea aparatului postsinaptic, astfel că amplitudinea depolarizării se modifică la primirea aceleiaşi cantități de neurotransmițător.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

NEUROTRANSMIȚĂTORII

Neurotransmițătorii se împart în două categorii în funcție de mărime: mici şi mari. Categoria neurotransmițătorilor mici se subîmparte, în funcție de structura chimică (Fig. 4.9 şi Fig. 4.10), în:

- acetilcolină;
- amine biogene: catecolamine, serotonină şi histamină;
- aminoacizi: glutamat, aspartat, glicină, acid γ-aminobutiric;
- gaze solubile: monoxid de carbon (CO) şi monoxid de azot (NO).

Neurotransmițătorii mari sunt peptide cu mărime variată, care au rol de modulator asupra semnalizării moleculelor mici.

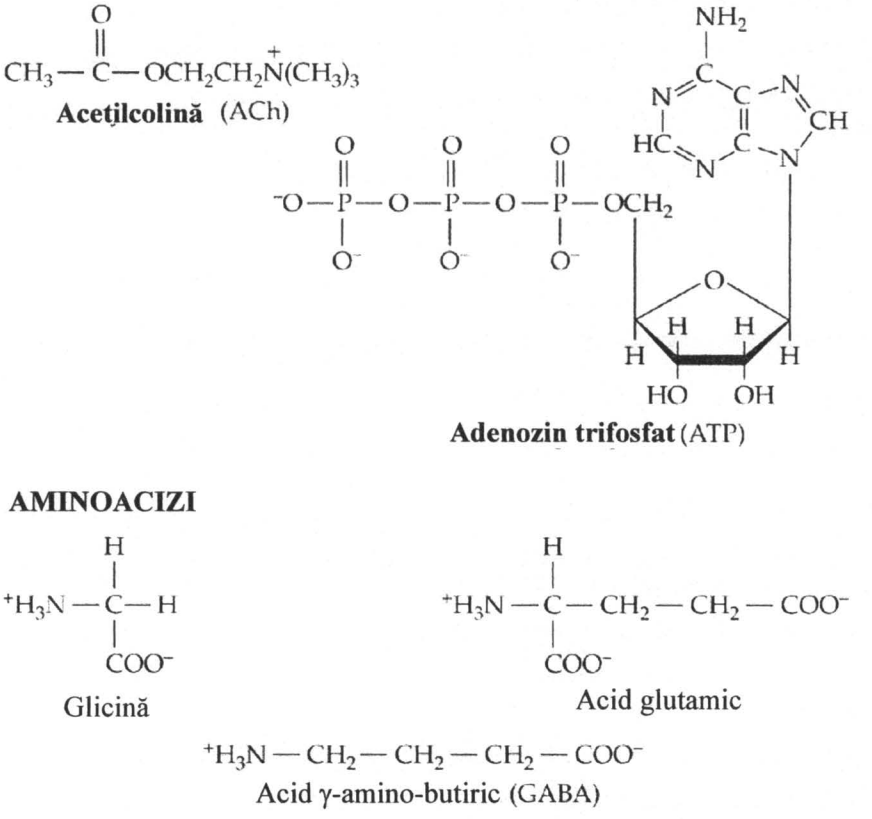
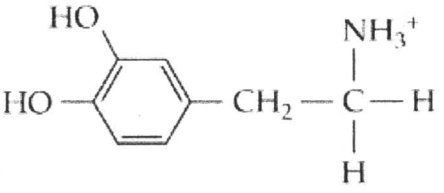


Figura 4.9 Structura chimică a neurotransmițătorilor mici (după Nicholls, 2001)

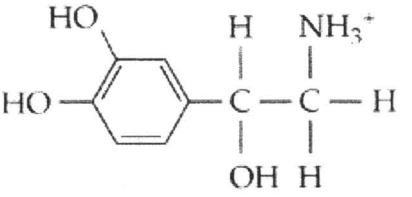
https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

AMINE BIOGENE

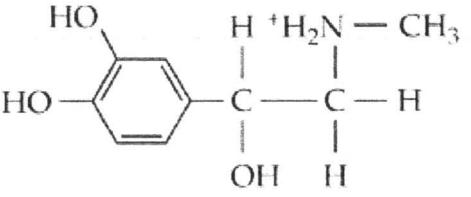
Catecolamine



Dopamină

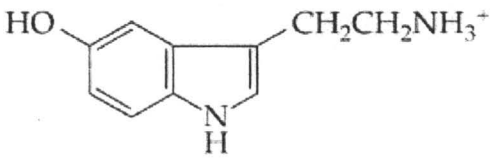


Noradrenalină



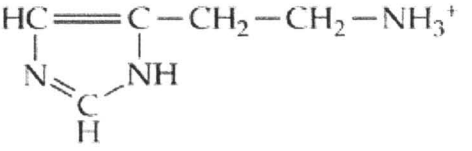
Adrenalină

Indolamină



5-Hidroxitriptamină
(5-HT, serotonină)

Imidazol



Histamină

GAZE SOLUBILE

NO
Oxid nitric

CO
Monoxid de carbon

Figura 4.10 Structura chimică a neurotransmițătorilor mici (după Nicholls, 2001)

NEUROTRANSMIȚĂTORII MICI

ACETILCOLINA

A fost primul neurotransmițător descoperit în 1921 de Otto Loewi într-un experiment ce a explicat acțiunea vagului asupra inimii prin efectul parasimpatic al acetilcolinei (ACh) de a reduce ritmul cardiac. Este singurul neurotransmițător ce nu derivă dintr-un aminoacid. Este format din acetil-coenzimaA (Ac-CoA) şi colină, sub

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

influenţa enzimei denumită *acetiltransferază CAT* (Fig. 4.11), prezentă numai în neuronii ce secretă acetilcolina. Colina nu este sintetizată în ţesutul nervos, ci derivă din dietă fiind furnizată neuronilor prin sânge. Ac-CoA este un produs metabolic prezent în toate celulele, deci nu este tipic celulei nervoase. Particularitatea neuronilor colinergici este dată de prezenţa enzimei CAT.

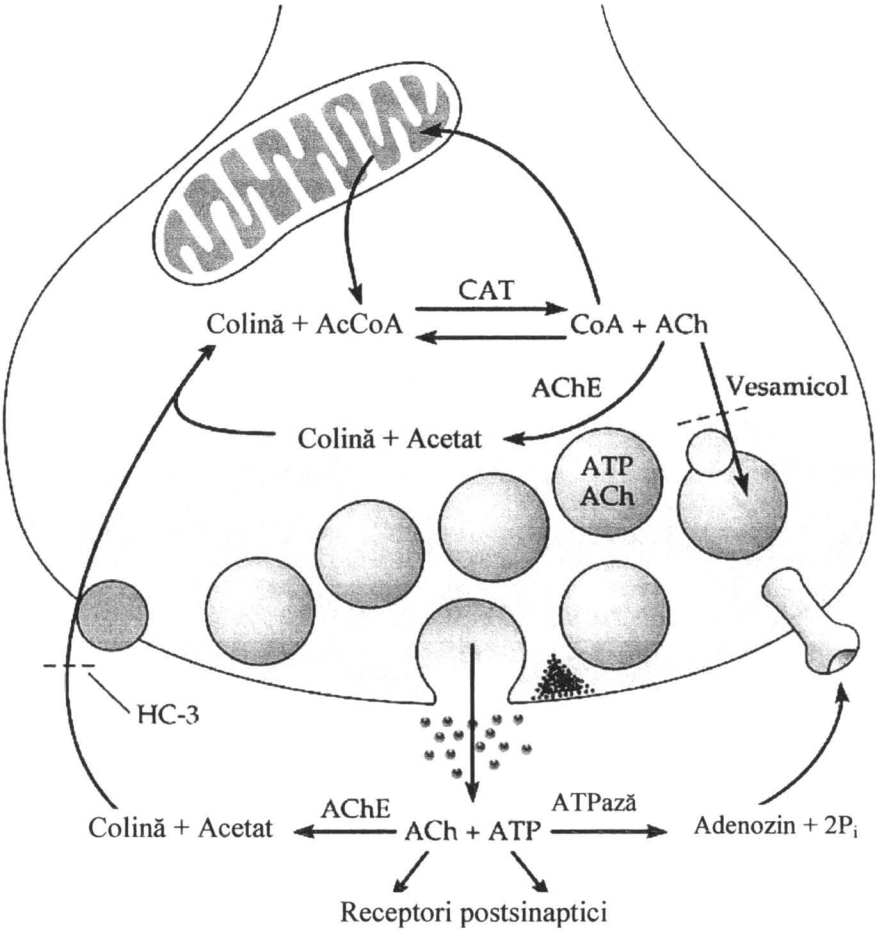


Figura 4.11 Sinteza acetilcolinei la nivelul butonului terminal. Hemicolina (HC-3) şi vesamicolul sunt medicamente ce acţionează la niveluri diferite ale transmiterii sinaptice: recaptarea colinei din fanta sinaptică şi respectiv transportul ACh în vezicule (după Nicholls, 2001)

Ach este împachetată în vezicule şi eliberată la nivelul zonei active, prin exocitoză. Poate exista însă şi sub formă liberă în citoplasmă, arătând că în cazul unor sinapse, ACh se eliberează direct în fanta sinaptică (Fig. 4.4)

ACh este neurotransmiţătorul folosit de:

- neuronii motori ai măduvei spinării, la nivelul joncţiunii neuro-musculare a vertebratelor;
- transmiţătorul tuturor fibrelor preganglionare din sistemul nervos autonom;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- transmițătorul fibrelor postganglionare parasimpatice.

La nivel postsinaptic, ACh acționează la nivelul a cel puțin doi receptori și produce răspunsuri diferite pe celulele țintă. ACh nu persistă în fanta sinaptică prea mult timp, fiind rapid degradată de *acetilcolinesterază*, enzima care are cea mai mare activitate enzimatică dintre enzimele ce degradează neurotransmițătorii, estimată la $10^4 - 10^5$ molecule per secundă. O altă caracteristică este concentrația foarte mare de enzimă la nivelul sinapsei, prin urmare, nivelul de ACh scade foarte repede. Acest metabolism activ al ACh arată importanța acestui compus și sensibilitatea, afinitatea mare a receptorului de la nivelul joncțiunii neuro-musculare. După hidroliză, colina este preluată în butonul presinaptic cu ajutorul unui sistem de transport dependent de gradientul de sodiu, prezent, în concentrație mare pe membrana presinaptică, astfel încât celula să refacă în timp cât mai scurt rezervele de ACh.

Localizarea neuronilor colinergici

Neuronii ce sintetizează și secretă acetilcolina poartă denumirea de neuroni ***colinergici*** și sunt localizați în următoarele structuri (Fig. 4.12):

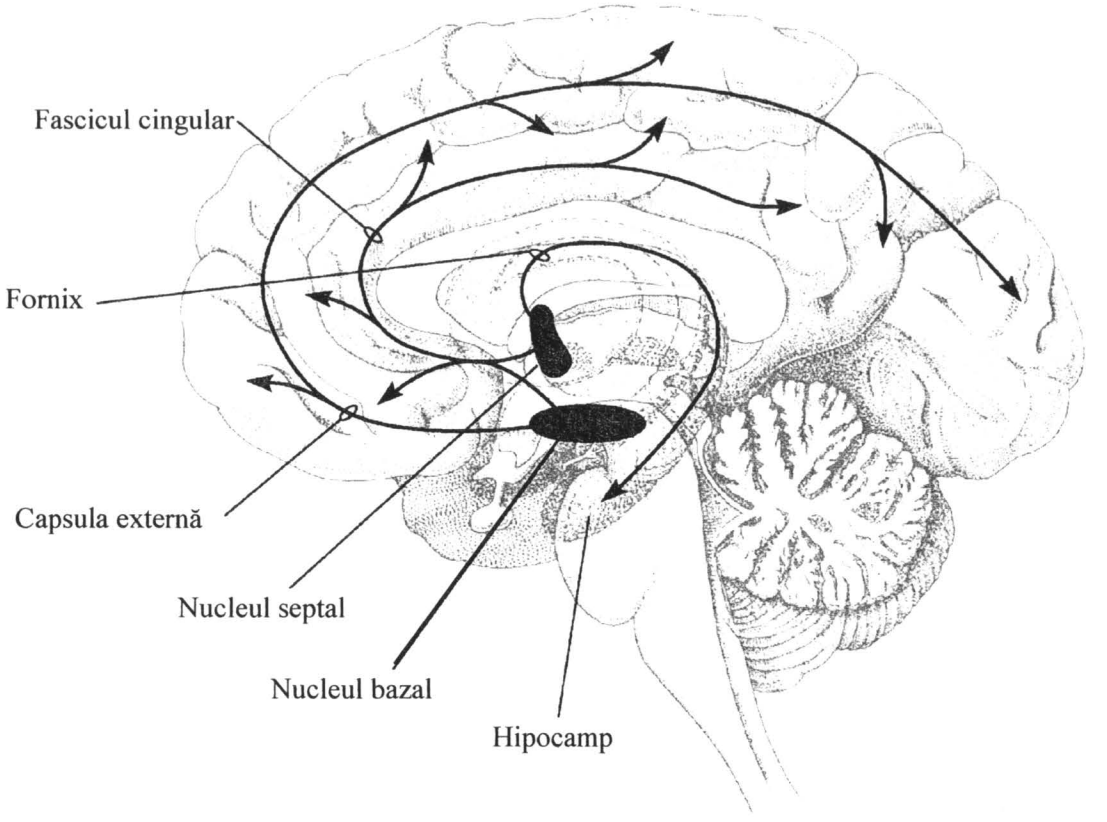


Figura 4.12 Distribuția neuronilor colinergici la nivelul sistemului nervos central (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- la baza neocortexului, în special în **nucleii septali** şi în **nucleul bazal** de unde trimit proiecţii către: cortexul cerebral, nucleul amigdalian, bulbii olfactivi şi hipocamp. Neuronii colinergici din nucleii cortexului prefrontal se deteriorează progresiv în timpul maladiei Alzheimer, afectând puternic funcţiile cognitive: memoria de scurtă durată, orientarea şi chipurile oamenilor;
- o a doua regiune este localizată în partea superioară a mezencefalului şi inervează talamusul, trunchiul cerebral şi anumite regiuni ale hipotalamusului.

Farmacologia transmiterii colinergice

Receptorii ACh au fost intens studiaţi, de aceea farmacologia lor este foarte bogată. În primul rând, receptorii sunt de două categorii, deosebiţi pe baza activatorului lor specific:

- **nicotina** este un agonist sau activator al receptorului ionotrop al ACh, de aceea este denumit *receptor nicotinic*;
- **muscarina** este un activator al receptorului metabotrop, denumit *receptor muscarinic*.

Blocanţi şi activatori sintetici cu activitate mai puţin specifică au fost obţinuţi artificial, într-un număr mai mare pentru receptorul nicotinic, dar există şi compuşi naturali cu efect inhibitor, cum ar fi **atropina şi scopolamina**, blocanţi ai receptorului muscarinic, care în doze mari alterează memoria, sau curara, blocant al receptorului nicotinic.

- **Atropina** este folosită în oftalmologie pentru dilatarea pupilei şi în chirurgie pentru reducerea secreţiei salivare.
- **Curara** este un compus natural folosit de sud-americani la vânătoare, deoarece paralizează prada şi-i induce moartea prin blocarea respiraţiei. Acţionează prin blocarea situsului de legare a ACh la receptorul nicotinic, produce blocarea joncţiunii neuro-musculare, iar moartea survine prin blocarea respiraţiei. Se administrează şi în timpul operaţiilor chirurgicale pentru a bloca contracţiile musculare apărute în timpul inciziilor, în tot acest timp, pacientul este ţinut sub respiraţie artificială.
- **α-bungarotoxina** este un alt ligand competitiv al receptorului nicotinic, se leagă la situsul ACh cu mare afinitate, şi este folosit pentru purificarea şi identificarea receptorului nicotinic.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Rolul sistemului colinergic

Sistemul colinergic este important în mişcare, învăţare, memorare, cunoaştere, atenţie şi somn.

În mişcare, receptorii nicotinici de la nivelul plăcii neuro-musculare sunt foarte importanţi pentru declanşarea contracţiei musculare. O maladie autoimună care afectează nivelul receptorilor nicotinici la acest nivel este *myastenia gravis*. Tratamentul acestei boli constă în administrarea inhibitorilor de ACh-esterază, pentru a mări concentraţia de ACh la nivelul sinapsei, astfel că receptorii sunt stimulaţi mai mult timp şi semnalul se trasnmite mai departe.

Compuşii ce blochează receptorul muscarinic, metabotrop, cum ar fi atropina, scopolamina, împiedică atingerea performanţelor în procesele de învăţare, la fel ca şi leziunile din nucleul magnocelular telencefalic, care induc o scădere de 50% a ACh în cortex. Afectează memoria spaţială şi declarativă, dar nu memoria procedurală.

Fizostigmina, inhibitor al ACh esterazei, facilitează memorarea în cazul subiecţilor normali, dar oferă puţină ameliorare a bolii pentru pacienţii cu Alzheimer.

Neuronii colinergici nu mediază memoria, ci acţionează ca input modulator al neuronilor corticali şi hipocampici.

Leziunile septumului median, sursa de inervare colinergică a hipocampului, scade performanţa celor două tipuri de memorie: de lucru şi de referinţă.

Prin activarea neuronilor dopaminergici din substanţa neagră, de către nicotină, se activează sistemul mezo-cortico-limbic, cu rol în instalarea dependenţei de nicotină.

Maladia Alzheimer sau demenţa senilă este o maladie neurodegenerativă progresivă, caracterizată prin pierderea memoriei şi a capacităţilor cognitive necesare execuţiei, tulburări ale limbajului, ale memoriei, vizuospaţiale. Se caracterizează prin apariţia unor agregate insolubile de neurofibrile în regiunile extracelulare, denumite ***plăci senile*** sau ***amiloide***, alcătuite din proteine degradate greşit, în urma degenerării neuritelor.

Se reduce numărul neuronilor colinergici din nucleul bazal şi hipocamp, şi, în mod specific, scade numărul neuronilor cu receptori nicotinici, şi nu al celor cu receptori muscarinici.

Sunt afectate şi celelalte sisteme de neurotransmiţători, de aceea este dificilă găsirea unui tratament medicamentos.

Experimente pentru identificarea structurii unui receptor

Receptorul nicotinic (Fig. 4.13) este o glicoproteină pentamerică. Etapele parcurse pentru identificarea structurii lui sunt general valabile pentru studiul multor proteine:

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- identificarea unui preparat biologic bogat în acest receptor: organul electric de la *Electrophorus electricus*, sau *Torpedo*;
- purificarea proteinei se face după solubilizarea ei din membrană: prin tratament energic cu detergenţi, urmat de separarea de alte proteine membranare prin cromatografie de afinitate faţă de α-bungarotoxină. Datorită afinităţii mari de legare a toxinei, proteina de interes este reţinută pe coloană şi eluarea ei se realizează cu o concentraţie mare de agonist.
- Separarea subunităţilor se face prin denaturarea proteinei cu dodecilsulfat de sodiu (SDS) urmată de electroforeză în gel de poliacrilamidă. Astfel, s-au identificat 4 tipuri de subunităţi ce intră în compoziţia receptorului nicotinic: α, β, γ, δ într-o stoechimetrie $\alpha_2 \beta \gamma \delta$. Receptorul are în structură 2380 aminoacizi şi o masă moleculară de 268 kDa. Pe lângă partea proteică, receptorul are şi o parte glucidică, formată din 75 de resturi carbohidrat (galactoză, manoză, glucoză şi N-acetil-glucozamină) ataşate ca lanţuri oligozaharidice. La nivelul subunităţilor α s-au identificat situsurile de legare ale ACh şi α-bungarotoxinei.

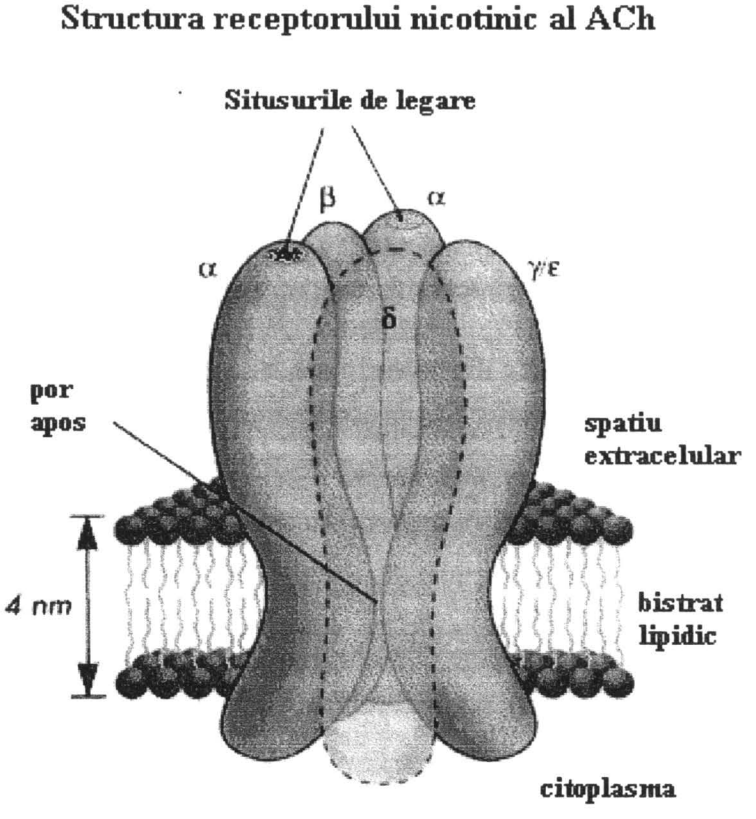


Figura 4.13 Receptorul nicotinic: pentamer $\alpha_2\beta\gamma\delta$. Acetilcolina se leagă al subunitatea α.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- predicția ADN-ului corespunzător, pe baza secvenței de aminoacizi, ajută la identificarea ARN-ului mesager (ARNm). După izolarea ARNm, acesta se poate exprima mai departe în sisteme heteroloage (celule tumorale, ovocite de *Xenopus*) pentru caracterizarea funcțională și farmacologică a proteinei izolate, sau pentru a obține o concentrație mai mare de proteină care permite studiul strcuturii acesteia.

Receptorul nicotinic al acetilcolinei este un receptor ionotrop, permeabil pentru ioni de Na și K. Prin stimulare, se activează foarte repede, într-un interval de ordinul ms, și se desensibilizează complet după 2 s. Revenirea din desensibilizare este completă într-un interval de 30 s. Permeabilitatea relativă pentru ionii de Na este mai mare decât pentru ionii de K, astfel că deschiderea acestui canal la potențiale negative va induce depolarizare prin influx de sodiu.

La nivelul plăcii neuro-musculare receptorul este un pentamer, cu stoechiometria precizată mai sus. La nivelul sistemului nervos central însă, receptorul nicotinic se prezintă sub forma unui heptamer, o combinație de subunități α și β care explică funcționarea și farmacologia diferită a acestora. Astfel, la nivelul ariei ventrale tegmentare receptorul este de tip α_7, în timp ce în substanța neagră, din mezencefal, stoechiometria este $\alpha_5\beta_2$, răspunsul este mai lent și se desensibilizează la concentrația de nicotină din tutun.

CATECOLAMINELE: DOPAMINA, NORADRENALINA, ADRENALINA

DOPAMINA

Catecolaminele fac parte din clasa ***aminelor biogene***, alături de serotonină și histamină. Poartă denumirea de catecolamine, deoarece prezintă în structură inelul *catecol* (3,4-dihidroxi benzen) (Fig. 4.10). Se obțin din tirozină, prin hidroxilare (*tirozin hidroxilaza*, ***TH***), urmată de decarboxilare (*DOPA decarboxilaza*, ***AAAD***) cu formare de dopamină, urmată de o altă etapă de hidroxilare *(β-hidroxilază*, ***DβH***) și formare de noradrenalină. Dacă noradrenalina este metilată se obține adrenalina, reacție catalizată de *N-metil transferaza* (Fig. 4.14). Neuronii sau celulele catecolaminergice sunt marcate histologic cu anticorpi *anti Tyr-hidroxilază.*

Dintre cele 3 catecolamine, o particularitate în procesul de sinteză prezintă noradrenalina, care este sintetizată direct în vezicule, deoarece β - hidroxilaza este o enzimă integrată în membrana veziculelor, asociată feței interne.

Localizarea neuronilor dopaminergici

Neuronii ce conțin DOPA sunt prezenți în clusteri denși în **substanța neagră** (implicați în controlul motor) și **tegmentul ventral** (cu rol în schizofrenie) (Fig. 4.15).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

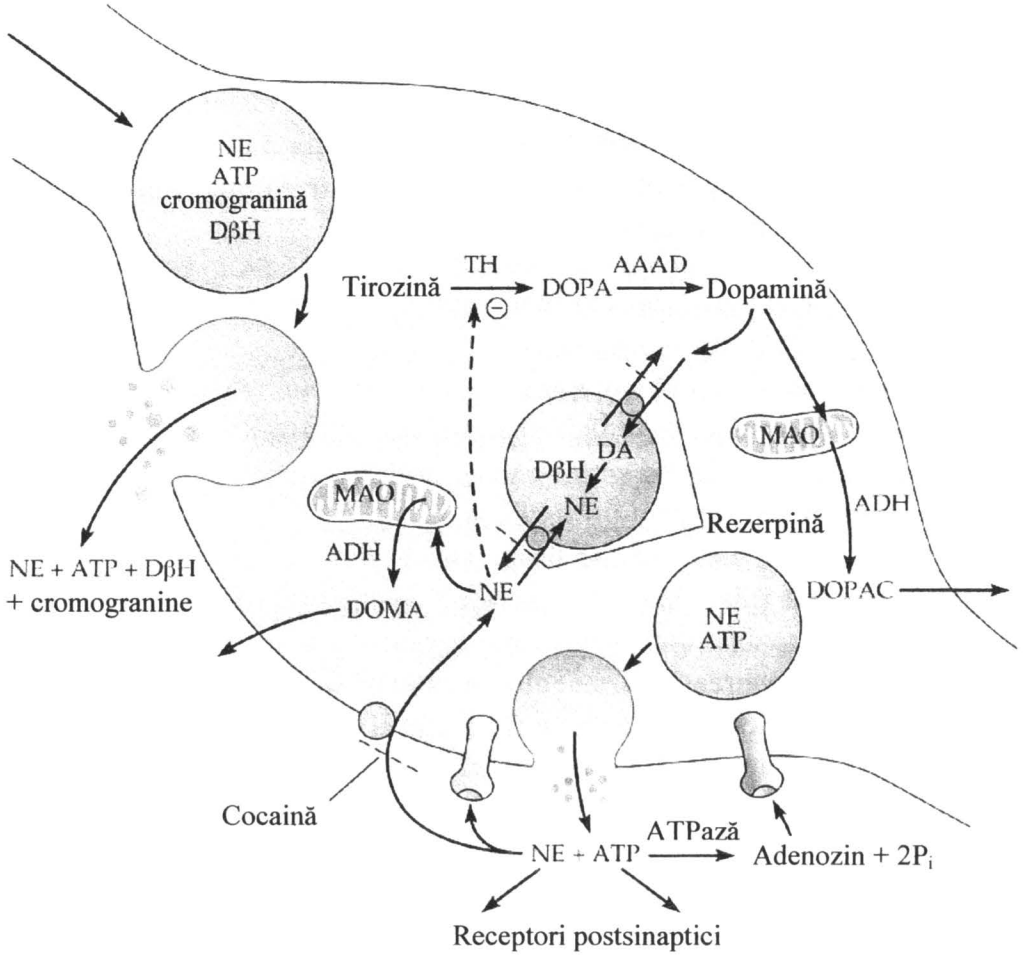


Figura 4.14 Sinteza catecolaminelor. Cromograninele sunt proteine acide, solubile, secretate împreună cu noradrenalina, care funcţionează ca neuropeptid; MAO este monoaminoxidaza, enzimă implicată în degradarea catecolaminelor; ADH este alcool dehidrogenaza, DOMA şi DOPAC sunt produşi de degradare ai noradrenalinei (NE) şi dopaminei (DOPA). Rezerpina este un inhibitor ar transportorului catecolaminergic în veziculele presinaptice, cocaina este un inhibitor al transportorului membranar (după Nicholls, 2001)

Farmacologia transmiterii dopaminergice

Receptorii pe care acţionează DOPA sunt receptori de tip metabotrop, ce funcţionează prin cascada ***adenilat ciclazei***. Ei se împart în 5 tipuri, cu 2 acţiuni diferite: D1 şi D5 activează adenilat ciclaza, D2, D3 şi D4 scad activitatea adenilat ciclazei.

Dintre compuşii farmacologic activi se cunosc ca agonişti: ***apomorfina*** şi ca antagonişti: ***haloperidolul*** şi ***clorpromazina***.

Rezerpina este un inhibitor al transportorului de dopamină din membrana presinaptică.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DOPA nu trece bariera hematoencefalică, de aceea tratamentul maladiei Parkinson nu se poate face prin injectarea DOPA în fluxul sanguin.

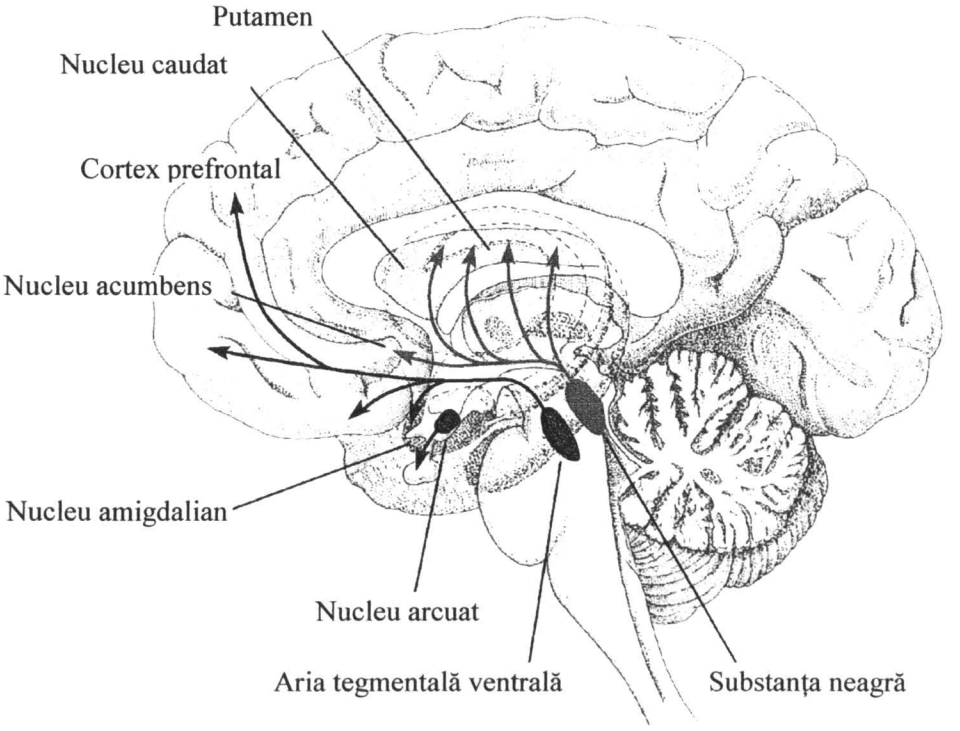


Figura 4.15 Distribuția neuronilor dopaminergici în sistemul nervos central (după Nicholls, 2001)

Rolul semnalizării dopaminergice

Sistemele în care intervine **DOPA** sunt:

- ***nigro-striatal*** porneşte de la substanţa neagră spre ganglionii bazali şi are rol în controlul mişcării. ***Maladia Parkinson*** este caracterizată prin degenerarea neuronilor din ganglionii bazali, neuroni care şi-au pierdut neuronul presinaptic-dopaminergic corespunzător din substanţa neagră. Este caracterizată prin dificultatea de a iniția mişcarea, rigiditate musculară, tremur în repaus.
- sistemele ***mezo-limbic*** şi ***mezo-cortical,*** în care dopamina se eliberează în regiuni corticale responsabile de controlul stării afective şi emoţionale, cum ar fi nucleul acumbens şi cortexul prefrontal, implicate în cogniţie şi în emoţii. Hiperactivitatea acestei căi, sau, administrarea de L-DOPA poate duce la tulburări psihice, de tip schizofrenic,
- ***nucleul arcuat,*** care trimite procese spre regiunea mediană a hipotalamusului, regiune bogată în peptide de eliberare a hormonilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

NORADRENALINA

Localizarea neuronilor noradrenergici

Neuronii ce sintetizează noradrenalina (**NA**) sunt concentrați în ***locus coeruleus*** din puntea lui Varolio (Fig. 4.16). De aici, neuronii se proiectează în mod difuz în mai multe regiuni, în special în cerebel, hipocamp şi neocortex. Spre neocortex, intrarea fibrelor se face printr-o regiune îngustă a polului frontal, astfel că o leziune foarte mică prefrontală, poate duce la o reducere a concentrației de NA în tot cortexul.

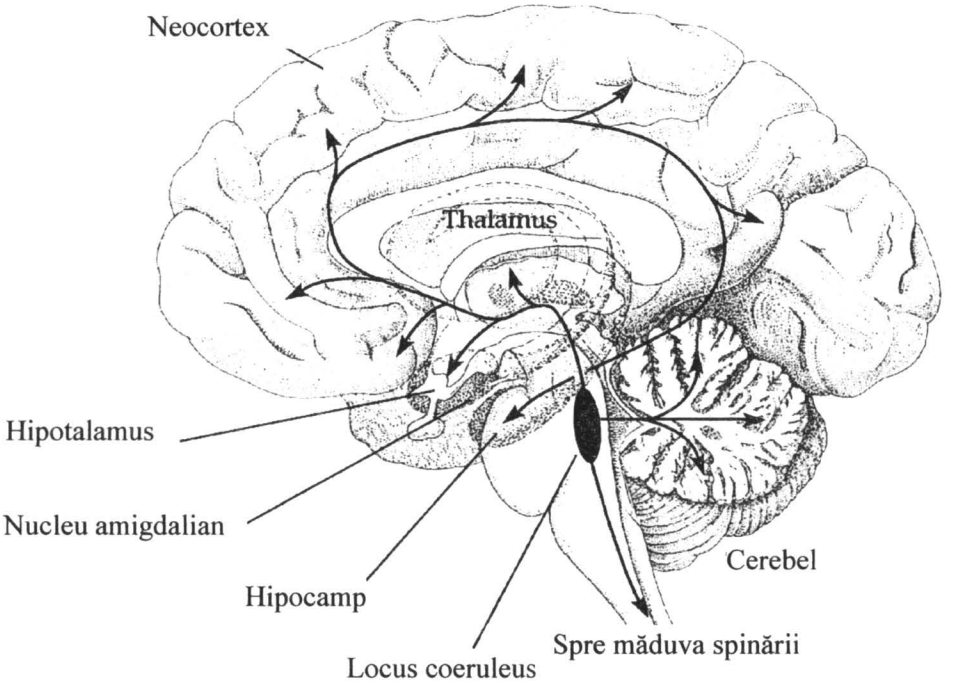


Figura 4.16 Distribuția neuronilor noradrenergici (după Nicholls, 2001)

Farmacologia noradrenergică

Receptorii adrenergici sunt receptori metabotropi, clasificați în 2 mari clase cu agonişti şi antagonişti specifici: receptorii α-adrenergici şi receptorii β-adrenergici. La rîndul lor, aceşti receptori se împart în cel puțin două subclase:

- α1 şi α2, cu *agonişti* specifici: fenilefrina, clonidina, *antagonişti*: prazocina, yohimbina;
- β1 şi β2 cu *agonişti* dobutamida, zinterol şi *antagonişti*: practolol, propanolol.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Rolul semnalizării noradrenergice

Este studiat cu ajutorul farmacologiei receptorilor noradrenergici, dar şi a sistemelor de recaptare a NA în neuronul presinaptic. S-a observat implicarea noradrenalinei în următoarele stări:

- depresie, în care se foloseşte desipramina, antidepresiv, pentru inhibarea sistemului de recaptare a NA;
- atenţie selectivă şi anxietate;
- memorie şi cunoaştere;
- în procesele de asociere a unui stimul cu recompensa;
- pentru reglarea somnului şi stării psihice;
- stres; stresul acut creşte secreţia de noradrenalină
- atât noradrenalina, cât şi dopamina pot modula activitatea partenerilor sinaptici, adică a neurotransmiţătorului co-localizat în neuronul presinaptic.

Cantităţi reduse de NA au fost observate în următoarele tulburări: Alzheimer, Parkinson, maladia Korsakoff – tulburări cognitive asociate cu alcoolismul cronic. Medicamente stimulatoare cum ar fi: cocaina sau amfetaminele, au efecte excitatoare asupra sistemului nervos, deoarece cresc concentraţia de NA şi DOPA în fanta sinaptică. Anumite medicamente antidepresive şi multe medicamente ce reglează presiunea sângelui acţionează la nivelul receptorilor NA şi DOPA, cu inducere de efecte secundare.

Adrenalina este secretată în sistemul nervos central în neuroni dispersaţi în bulbul rahidian. Rolul adrenalinei în sistemul nervos central nu e cunoscut, dar datorită localizării sale, se presupune că are rol în reglarea presiunii sângelui.

NA şi A sunt însă prezente şi în celulele glandei adrenale şi în nervii simpatici ai sistemului nervos autonom.

SEROTONINA

Localizarea neuronilor serotoninergici

Neuronii ce secretă serotonina sunt prezenţi în ***nucleii rafeului*** din punte (Fig. 4.17), dar aceasta poate fi sintetizată şi de celule ne-neuronale, cum ar fi plachetele sanguine şi celulele tractului digestiv.

Sinteza porneşte de la triptofan, asemănător catecolaminelor, cu o etapă de hidroxilare şi urmată de decarboxilare. Triptofanul este preluat în celule, printr-un sistem de transport pe bază de ioni de sodiu, transformat în serotonină şi împachetat în vezicule. Se presupune că eliberarea se face prin exocitoză dependentă de calciu.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Este un neurotransmiţător care controlează diferite stări emoţionale şi poate declanşa foarte uşor trecerea dintr-o stare afectivă în alta. De la nivelul nucleului rafeului, neuronii se proiectează difuz, la diferite nivele corticale şi subcorticale: substanţa neagră, aria tegmentară ventrală, putamen, caudat, hipotalamus, cortex.

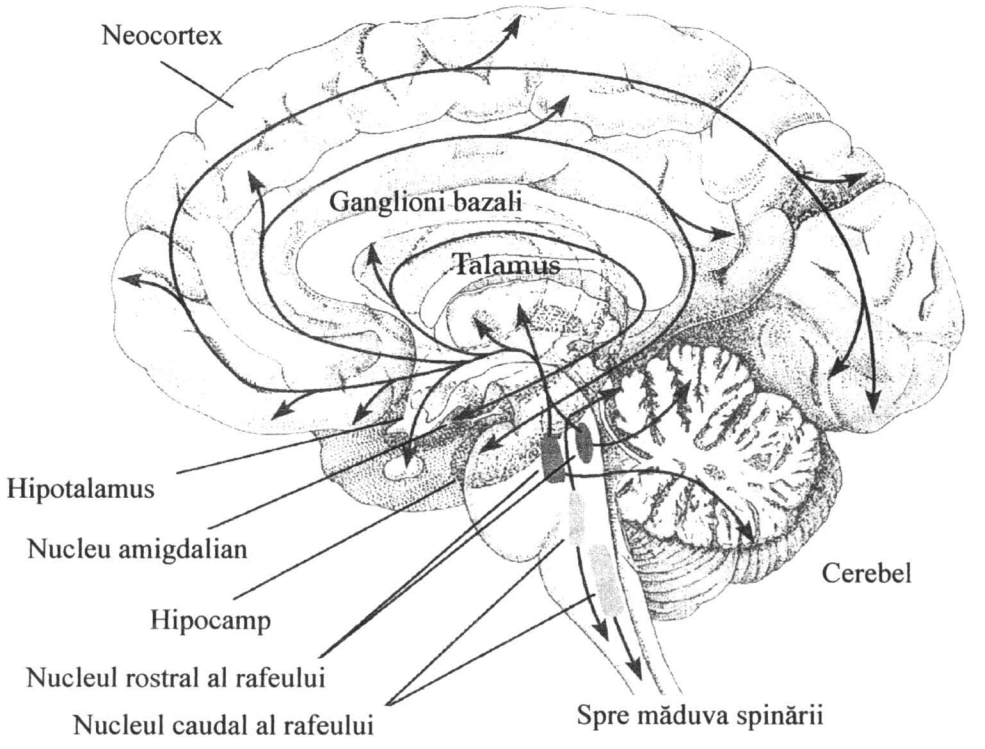


Figura 4.17 Localizarea nucleilor serotoninergici (după Nicholls, 2001)

Rolul semnalizării serotoninergice

S-a arătat că acest neurotransmiţător are rol în:

- reglarea temperaturii,
- percepţia senzitivă,
- instalarea somnului,
- depresie şi anxietate,
- agresivitate şi tendinţe de sinucidere, prin scăderea concentraţiei de serotonină.

Farmacologia serotoninergică

La nivelul receptorilor serotoninergici acţionează drogurile halucinogene: dietilamida acidului lisergic (LSD), ca şi anumite medicamente antidepresive.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Medicamentele utilizate în depresia severă, ***Prozac,*** având compus activ *fluoxetinul*, acţionează fie la nivelul sinapselor serotoninergice fie la sinapsele noradrenergice, şi previn recaptarea normală a neurotransmiţătorului în terminaţiile presinaptice.

HISTAMINA

Localizarea neuronilor histaminergici

Corpii celulari ai neuronilor histaminergici (Fig. 4.18) sunt localizaţi într-o mică regiune a hipotalamusului, ***nucleii tuberomamilari***, ai căror axoni ajung în toate regiunile sistemului nervos central. Axonii histaminergici nu inervează numai neuroni, ci şi celule gliale, vase sanguine mici şi capilare.

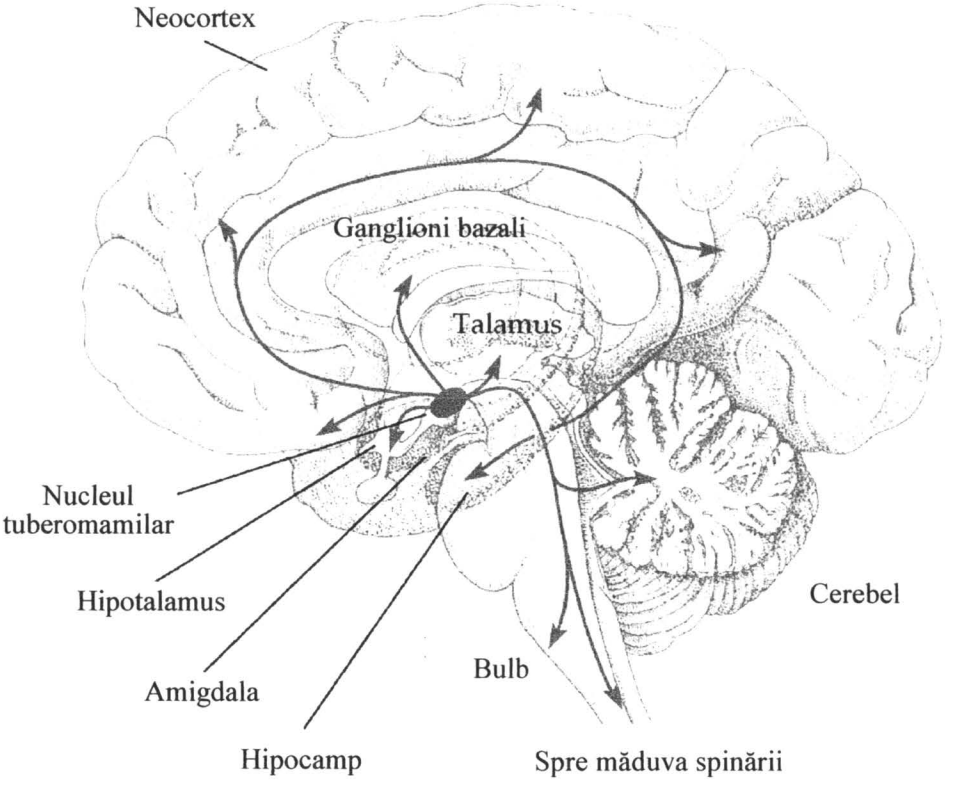


Figura 4.18 Distribuţia neuronilor histaminergici (după Nicholls, 2001)

Rolul semnalizării histaminergice

Intervine în următoarele comportamente: starea de veghe, metabolismul energetic, prin intermediul mecanismelor indirecte mediate de receptorii de la nivelul neuronilor, astrocitelor şi vaselor de sânge.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

La periferie este eliberată din macrofage şi face parte din mediatorii inflamatori. Periferic, induce reacţii alergice şi reglează secreţia gastrică. În sistemul nervos central au fost clonaţi şi caracterizaţi farmacologic trei receptori ai histaminei, ceea ce arată prezenţa semnalizării histaminergice şi la acest nivel. Sunt receptori metabotropi: receptorul H1 induce depolarizare în neuronii colinergici ai nucleului bazal, prin activarea canalelor de sodiu insensibile la TTX.

GLUTAMATUL

Face parte din categoria neurotransmiţătorilor de tip ***aminoacizi***, alături de aspartat, GABA şi glicină. Deşi glutamatul şi aspartatul sunt aminoacizi proteici, nespecifici (Fig. 4.19), ca neurotransmiţători, ei sunt prezenţi în sistemele descendente corticale şi în aferenţele cerebelului. Glutamatul şi aspartatul sunt neurotransmiţători de tip excitator la nivel periferic la nevertebrate (în locul acetilcolinei) şi în sistemul nervos la vertebrate. Ei activează receptori ionotropi şi metabotropi, implicaţi în numeroase procese fiziologice, de la dezvoltarea şi specificitatea contactelor neuronale în timpul dezvoltării embrionare, până la învăţare şi memorie.

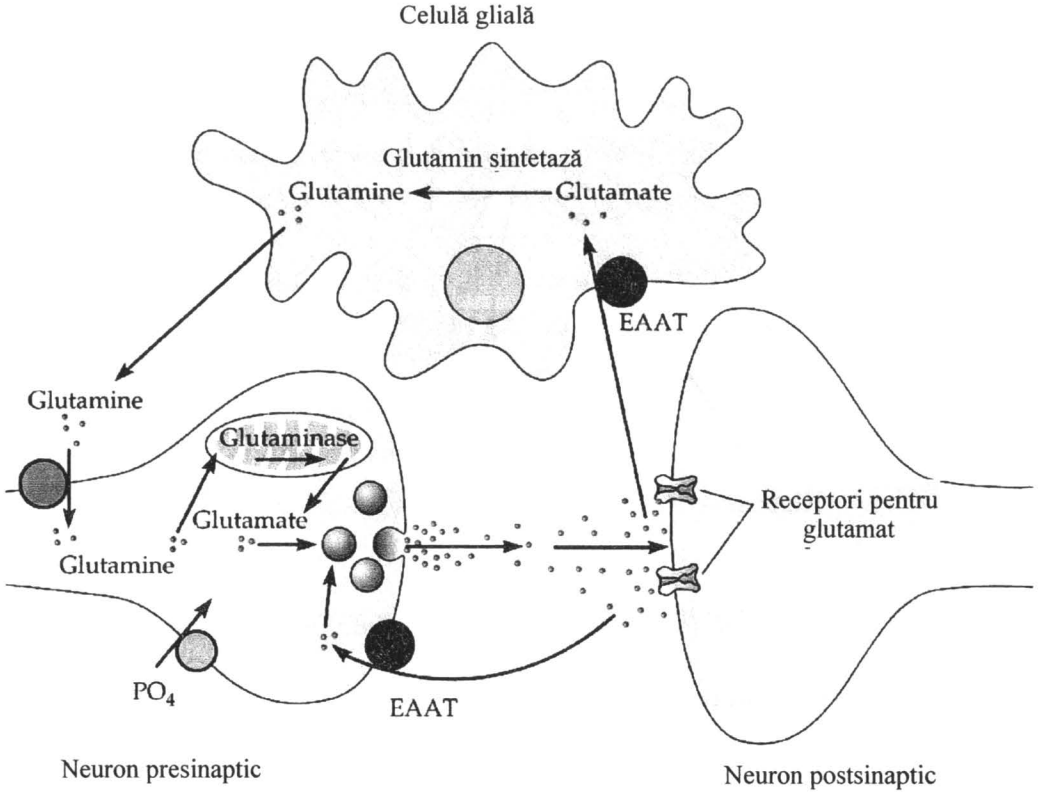


Figura 4.19 Recircularea glutamatului la nivelul sinapsei (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Receptorii ionotropi ai glutamatului sunt de două categorii, în funcție de farmacologie: **NMDA**, denumiți astfel deoarece sunt activați de N-metil-D-aspartat, și **non-NMDA**: AMPA, kainat, I-AP4. Distribuția lor este varoată, la nivel cortical, în corpii striați și sistemul limbic sunt coexprimați receptorii NMDA, AMPA și kainat, în timp ce în cerebel apare o segregare funcțională: celulele granuloase conțin numai receptori NMDA și cele Purkinje numai receptori AMPA. Antagoniștii acestor receptori sunt implicați în neuroprotecție, convulsii și învățare.

Receptorii NMDA și non-NMDA diferă prin *permeabilitate*.

Receptorii non-NMDA sunt permeabili pentru Na^+ și K^+, sunt primii care se deschid și sunt localizați atât la nivel postsinaptic, cât și presinaptic. Depolarizarea indusă de fluxul ionic prin acești receptori poate îndepărta sau debloca receptorii NMDA.

Receptorii NMDA (Fig. 4.20) sunt permeabili pentru ionii de Na^+ și Ca^{2+}, dar în stare de repaus sunt blocați de ionii de Mg^{2+}. Pentru a se deschide, nu este suficientă aplicarea de agonist, ci și o depolarizare puternică pentru a îndepărta ionii de Mg din porul canalului. De aceea, faza târzie a depolarizării potențialului postsinaptic este susținută de receptorii NMDA. Ionii de calciu ce pătrund prin acești receptori induc modificări pe termen lung în semnalizarea centrală. Activarea receptorului NMDA necesită și prezența glicinei, denumită *coagonist*.

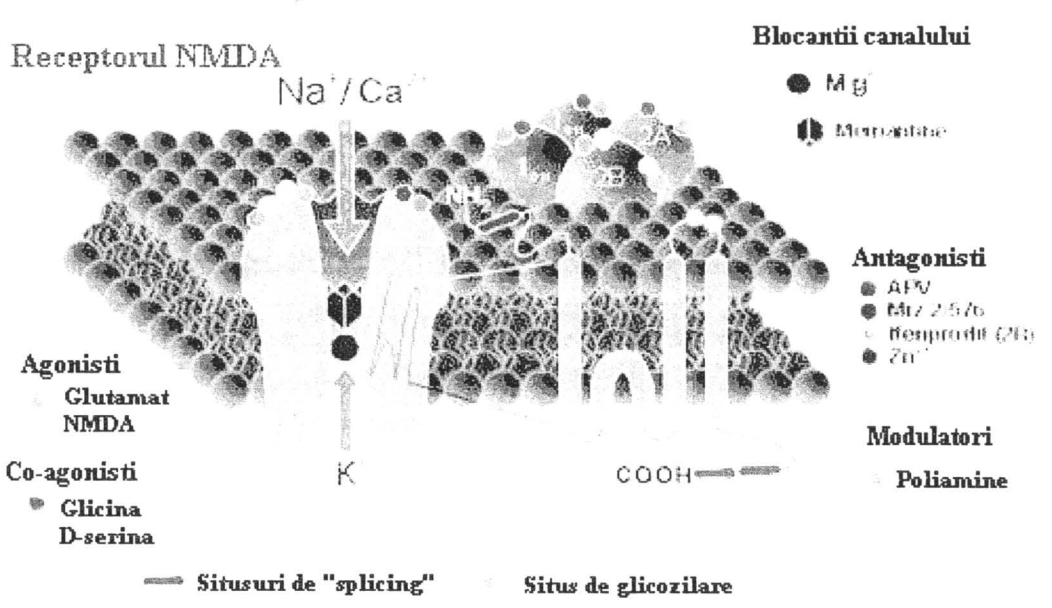


Figura 4.20 Receptorul NMDA este un tetramer. Fiecare subunitate are 3 segmente transmembranare și o buclă ce intră parțial în membrană

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Stimularea receptorilor NMDA poate induce modificări benefice în sistemul nervos central, dar suprastimularea poate duce la alterarea neuronilor şi moartea celulară prin influx masiv de calciu. De aceea, se menţionează ***excitotoxicitatea*** glutamatului sau toxicitatea procesului excitator, explicată prin epuizare energetică indusă de activarea mecanismelor intracelulare dependente de calciu.

Aceşti receptori sunt implicaţi şi în neurotoxicitatea produsă de anoxie, hipoglicemie şi infarct.

GABA – ACIDUL GAMMA-AMINO-BUTIRIC

Se obţine din decarboxilarea glutamatului şi este cel mai frecvent întâlnit neurotransmiţător inhibitor din organism. Cercetători japonezi au arătat că celulele Purkinje din cerebel eliberează GABA ca neurotransmiţător inhibitor pe celulele din trunchiul cerebral. La nivelul sistemului vizual de asemenea este folosit de către celulele orizontale şi celulele amacrine în inhibiţia laterală. Corpii celulari gabaergici sunt foarte răspândiţi, prezenţi în: neocortex, hipocamp, nucleul amigdalian, corpii striaţi, nucleul accumbens, nuclei subtalamici, globus pallidus, substanţa neagră, hipotalamus, cerebel, nucleii rafeului şi măduva spinării.

Biccuculina şi ***picrotoxina*** sunt inhibitori ai receptorilor ionotropi (denumiţi $GABA_A$ şi $GABA_C$) ai GABA, şi aplicarea lor induce modificarea câmpului vizual. *Picrotoxina* şi *penicilina*, de asemenea inhibitor al receptorilor GABA, produc convulsii.

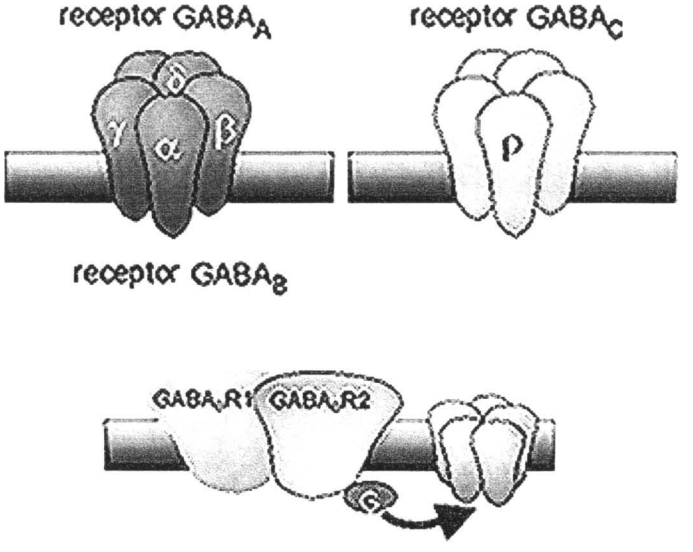


Figura 4.21 Reprezentarea receptorilor GABA

Receptorii GABA (Fig. 4.21): sunt împărţiţi în 3 clase: 2 ionotropi (A şi C) şi 1 metabotrop ($GABA_B$), prezenţi în sistemul nervos central. Studii privind distribuţia

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ARNm au arătat că subunitățile ce intră în compoziția acestor receptori sunt specifice anumitor regiuni cerebrale. Astfel se explică heterogenitatea farmacologică a receptorilor GABA nativi.

Receptorii ionotropi sunt permeabili pentru Cl^- și induc hiperpolarizare prin influx de sarcini negative. În cazuri patologice, ca urmare a unei activități crescute a celulelor, deoarece se modifică gradientul electrochimic al ionilor de clor, GABA poate induce depolarizare. La nou-născuți, unde mecanismele nu sunt bine definitivate, GABA poate fi responsabil de convulsii deoarece influxul de clor induce depolarizare.

Receptorii de tip C au farmacologie diferită de a celor de tip A. din punct de vederea structural, subunități ale receptorului de tip C se pot combina cu subunități ale receptorilor de tip A, cu formarea unui receptor funcțional, crescând varietatea receptorilor gabaergici.

Receptorul metabotrop ($GABA_B$) are acțiune lentă, e insensibil la biccuculină, dar sensibil la ***baclofen***. Interacționează intracelular cu proteina G și activează un canal de potasiu cu rectificare spre interior. Poziționați presinaptic, receptorii $GABA_B$ suprimă activitatea canalelor de calciu dependente de voltaj.

Receptorii gabaergici sunt modulați alosteric, de ***benzodiazepine*** și ***barbiturice***. Benzodiazepinele, care includ *diazepamul*, sunt relaxanți musculari și medicamente antianxioase. Barbituricele, de tip *fenobarbital,* sunt anticonvulsive.

Subunitățile care pot forma canale funcționale sunt α și β, la care se leagă GABA și barbituricele, în timp ce benzodiazepinele se leagă la subunitatea γ. Ionii de Zn^{2+} sunt modulatori atât ai receptorilor GABA cât și ai receptorilor glutamatului. Zincul este prezent în concentrații mari în anumite vezicule sinaptice și este eliberat în timpul activității neuronale pentru modularea transmiterii sinaptice.

În epilepsie, anxietate, memorie și învățare, benzodiazepinele acționează la nivelul receptorilor, ca activatori, asemenea medicamentelor anticonvulsive.

Maladii asociate semnalizării gabaergice sunt: maladia Huntington, în care neuronii gabaergici din centrii de coordonare a mișcării degenerează, provocând mișcări necontrolate.

GLICINA

Este al doilea neurotransmițător inhibitor din SNC, în special în bulbul rahidian și măduva spinării, folosit de neuronii Renshaw. ***Stricnina*** este un inhibitor competitiv al receptorului glicinei, și un convulsivant, acționând prin *inhibarea inhibiției* exercitate asupra interneuronilor măduvei.

Glicina acționează mai puternic decât GABA la nivelul centrului respirator bulbar și contribuie la reflexul inhibitor declanșat de expansiunea plămânilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ADENOZIN TRIFOSFATUL (ATP)

Este prezent în vezicule sinaptice şi acţionează pe receptorii purinergici, care sunt de 2 tipuri: ionotropi P2X şi metabotropi P2Y. Adenozina, produs de metabolizare a ATP-ului, acţionează la nivelul a 4 receptori, toţi metabotropi.

ATP-ul şi adenozina s-au considerat neurotransmiţători ce acţionează pe musculatura netedă, unde induc relaxare, iar la nivelul sistemului nervos periferic acţionează pe aferenţele nociceptive, unde au efect modulator asupra durerii (sensibilizează terminaţiile nociceptive).

La nivel central, absenţa receptorilor purinergici din ganglionii bazali au indus, în şoarecii transgenici, o scădere a activităţii de explorare, iar în şoarecii masculi knock-out o creştere a agresivităţii. P2X sunt prezenţi în membrana presinaptică a neuronilor catecolaminici. La acest nivel, ATP este împachetat în aceleaşi vezicule cu DOPA, iar eliberarea lor poate modula presinaptic semnalizarea.

MONOXIDUL DE AZOT (NO)

Este implicat în relaxarea musculaturii netede endoteliale. Difuzează prin joncţiunile gap, dar, pot difuza şi prin membrana celulară. Celulele care produc NO au în interior *NO sintaza* (*NOS*). Şoarecii mutanţi, transgenici pentru *NOS*, sunt rezistenţi la ischemia cerebrală şi la lezarea chimică a neuronilor dopaminergici. Neuronii ce conţin NOS sunt specific inervaţi de neuronii colinergici din ganglionii bazali. Timpul lor de viaţă este de câteva secunde, ceea ce face dificilă studierea lor. Stimulează producerea de mesageri secundari, în principal a cGMP.

La anumite sinapse, NO mediază transmiterea retrogradă, prin semnale de feed-back. De asemenea NO este un modulator a numeroase cascade intracelulare (Fig. 4.22).

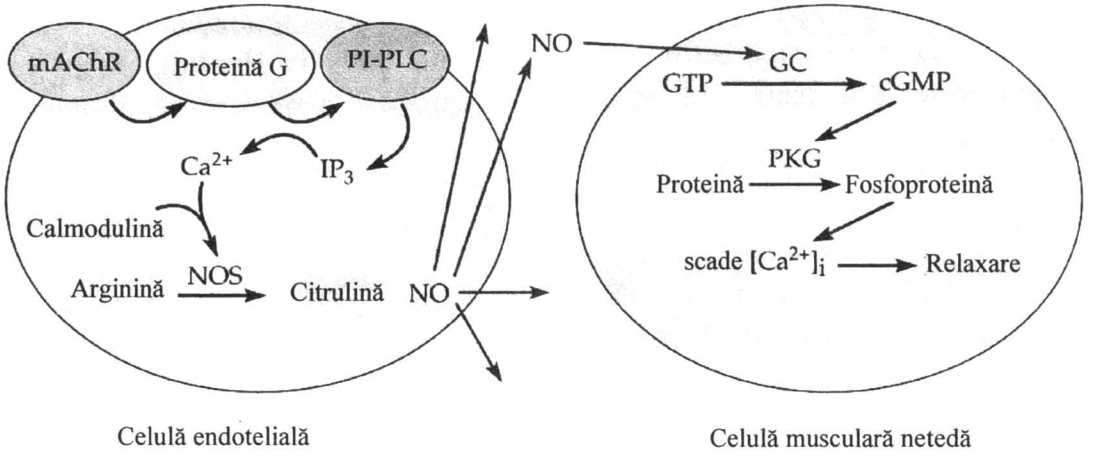


Figura 4.22 Efectul monoxidului de azot asupra reacţiilor intracelulare (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

NEUROTRANSMIȚĂTORII PEPTIDICI

La nivelul sistemului nervos central s-au pus în evidență mai mult de 40 de peptide ce funcționează ca neurotransmițători. Cele mai cunoscute neuropeptide sunt ***endorfinele*** sau peptide opioide, cu acțiune similară morfinei, care sunt implicate în controlul durerii. O altă categorie de peptide pentru care s-au identificat și caracterizat receptorii sunt ***tahikinele***, din care face parte ***substanța P***, cu rol în transmiterea senzației dureroase.

Neuropeptidele pot să exercite efectele centrale atât ca neurotransmițători cât și ca neuromodulatori. Deși sunt foarte active, ele sunt prezente în concentrație foarte mică în sistemul nervos. Neuronii care le sintetizează produc de cele mai mule ori și un al doilea neurotransmițător, mic.

Funcțiile îndeplinite de neuroppetide sunt:

- asigură comunicarea dintre sistemul nervos central și restul organismului,
- au rol modulator aupra acțiunii neurotransmițătorilor mici,
- ca și moleculele mici, unele sunt secretate în fanta sinaptică și acționează local, altele sunt secretate la distanță.

Proprietăți generale ale transmiterii sinaptice folosind neuropeptide:

- sunt sintetizate sub forma unor precursori mari (Fig. 4.23), la nivelul somei, și apoi transportate terminal,
- postsinaptic au efecte lente,

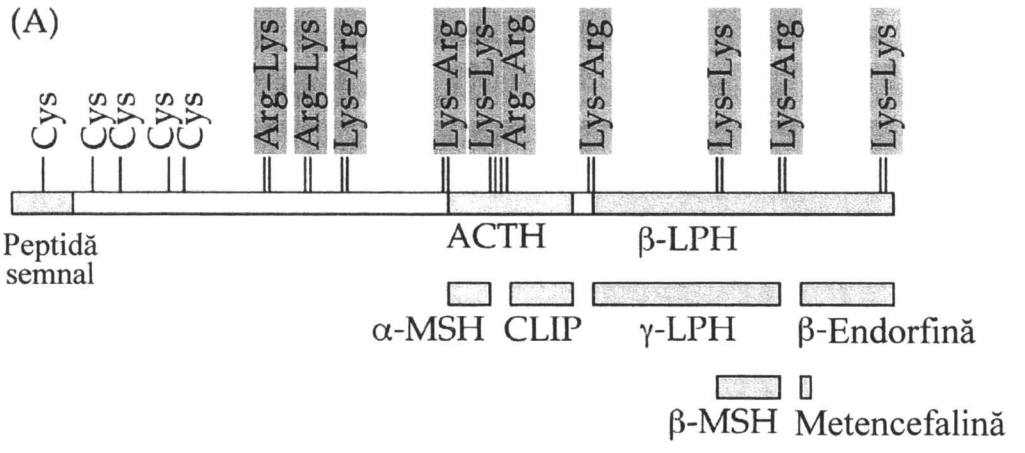


Figura 4.23 Precursorul metabolic al endorfinei este pro-opiomelanocortina, este comun cu hormonul melanocitostimulator (α-MSH), lipotropinei (LPH), corticotropinei (CLIP) (după Nicholls, 2001)

- sunt degradate lent de către *peptidaze extracelulare* și produșii de reacție difuzează din fanta sinaptică,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- sunt uneori eliberate concomitent cu neurotransmiţătorii mici, clasici,
- pot fi implicate în circuite neuronale cu rol în coordonarea activităţii celulare,
- acţiunea lor nu necesită conectarea sinaptică seriată.

Peptide cu funcţie de hormoni intestinali ca: secretina, gastrina, bradikinina, somatostatina şi colecistokinina (CCK), au fost identificate şi în terminaţiile sistemului nervos autonom, dar şi în sistemul nervos central, cum ar fi: CCK, bradikinina, gastrina, polipeptida intestinală vasoactivă, bombesina. Mai mult, peptidele care, iniţial, au fost atribuite hipotalamusului, au fost localizate şi în intestin şi pancreas, unde au efecte importante.

Deşi sunt foarte active, ele sunt prezente în concentraţie foarte mică în sistemul nervos.

Neuronii care le sintetizează produc şi un al doilea neurotransmiţător, o moleculă mică. Ideea care a derivat din această observaţie este că peptidele ar funcţiona ca un semnal secundar, care modulează eficienţa acţiunii neurotransmiţătorului mic produs de acelaşi neuron.

Mulţi oameni de ştiinţă presupun că peptidele sunt o formă primitivă de semnalizare interneuronală, deoarece semnalele mediate de ele nu sunt exclusiv neuronale (glandele endocrine).

Există 5 familii majore de peptide:

- ocitocina şi vasopresina: sunt nonapeptide secretate de hipotalamus,
- tahikininele,
- peptidele asemănătoare glucagonului: polipeptida intestinală vasoactivă (VIP) în sistemul nervos, şi glucagonul în pancreas,
- peptide asemănătoare peptidelor pancreatice: neuropeptidul Y,
- peptidele opioide.

SUBSTANŢA P

Face parte din clasa *tahikinelor*, peptide cu acţiune rapidă. La nivel periferic au efecte vasodilatatoare ale vaselor de sânge, cu reducerea presiunii sanguine şi în contracţia musculaturii netede intestinale.

Substanţa P este un peptid cu o secvenţă de 11 aminoacizi, întâlnită în căile senzitive ale sistmeului nervos, mai ales în terminaţiile implicate în durere şi în sensibilitatea mecanică (atingere).

La nivel central, corpii celulari sunt localizaţi în nucleul caudat, nucleul accumbens, septum, corpi striaţi, hipotalamus, nucleu amigdalian, nucleii rafeului şi măduva spinării. La nivelul trunchiului cerebral este coexprimată cu ACh sau serotonina.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Comportamental, substanţa P are rol de facilitare retrogradă a memoriei, cu aplicaţii posibile în Alzheimer. Plăcile amiloide depuse sunt toxice, pentru că sunt antagonişti ai receptorilor neurokinelor, prin urmare, substanţa P administrată local ar înlătura efectul inhibitor al acestora. Nu este însă folosită în tratamentul maladiei.

Acţionează la nivelul a 3 receptori metabotropi, cuplaţi cu proteina G. Şoarecii transgenici lipsiţi de NK1 (receptorul 1) au sensibilitate redusă la durere şi agresivitate teritorială este de asemenea redusă, indicând implicarea substanţei P în axa hipotalamo-hipofizară-adrenală.

În maladia Huntigton s-a pus în evidenţă un nivel scăzut de substanţă P în substanţa neagră.

Antagonişti ai substanţei P sunt folosiţi ca antidepresive.

PEPTIDELE OPIOIDE

Endorfinele sau encefalinele – sunt opiacee endogene care au proprietăţi farmacologice analgezice asemănătoare morfinei, ce acţionează prin deprimarea activităţii neuronale. Există două encefaline: **Met-encefalina** şi **Leu encefalina,** peptide formate din 5 aminoacizi, ce diferă prin aminoacidul N-terminal. Aceste peptide acţionează pe receptorii denumiţi *opioidici*. Injectarea encefalinelor în jurul substanţei cenuşii periventriculare induce analgezie, stări euforice dar şi rigiditate musculară. Analgezia provocată de encefaline este de scurtă durată, deoarece sunt catabolizate rapid. Administrarea lor repetată induce dependenţă.

Receptorii opioidici au fost descoperiţi în 1970, sunt activaţi şi de morfină şi alti derivaţi ai opiumului, şi sunt prezenţi în intestin şi sistemul nervos. Sunt concentraţi în regiuni implicate în percepţia durerii, iar activarea lor induce hiperpolarizare prin activarea canalelor de potasiu activate de calciu, inhibarea canalele de calciu, sau reducerea activităţii adenilat-ciclazei, în funcţie de subtipul de receptor pe care acţionează. ***Naloxona*** este un blocant al acestor receptori, care reversează analgezia.

În afară de analgezie, encefalinele sunt asociate cu activitatea motorie şi memoria. Peptidele opioide sunt implicate în memoria motivată de teamă şi foame, într-o manieră dependentă de sistemul noradrenergic. Endorfinele pot fi eliberate la nivelul sinapselor axo-axonale, pe neuronii ce conţin substanţa P.

OCITOCINA ŞI VASOPRESINA

Sunt neurohormoni secretaţi de hipotalamus. Sunt peptide de 9 aminoacizi cu efecte periferice în lactaţie şi echilibrul hidric. La nivel central influenţează activitatea neuronilor din circuite neuronale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

SOMATOSTATINA

Este un factor hipotalamic de la nivelul sistemului nervos central, ce împiedică eliberarea hormonului de creştere. Se găseşte coexprimată cu GABA la nivelul talamusului, hipocampului şi neocortexului. Nivelul de somatostatină în hipocamp şi neocortex scade în Alzheimer, prin urmare, are efecte pozitive în memorie şi procesele cognitive. În testele comportamentale, prin administrarea antagoniştilor somatostatinei, se induce selectiv amnezie anterogradă sau retrogradă.

NEUROTENSINELE

Sunt secvenţe de 13 aminoacizi colocalizate cu DOPA în mezencefal şi cu noradrenalina în bulbul rahidian. Injectate intraventricular, induc hipotermie şi reduc activitatea motorie. Au activitate antagonică DOPA.

DINORFINA

Secvenţă de 17 aminoacizi, cu rol analgezic la nivelul măduvei spinării. Potenţează efectul analgezic al morfinei în faza de toleranţă. În alte condiţii nu are nici un efect, nu induce toleranţă şi poate fi folosită ca substituent al morfinei. Scade presiunea sanguină, scade ritmul cardiac, induce hipertermie şi stimulează apetitul.

GALANINA

Are 29 aminoacizi şi este colocalizată telencefalic cu acetilcolina. Împiedică eliberarea presinaptică a ACh şi antagonizează postsinaptic efectele acesteia. Posibile aplicaţii clinice prezintă în Alzheimer, unde inhibitori ai galaninei pot fi administraţi pentru substituţia colinergică. Este implicată în procesele de învăţare.

COLECISTOKININA (CCK)

Este un peptid intestinal, implicat în controlul saţietăţii. Chiar şi la nivelul sistemului nervos central, este cel mai abundent peptid. Este implicat în comportamente emoţionale şi motivaţionale, inclusiv efecte negative, în răspunsuri afective şi de stress. Animalele de laborator care manifestă comportamente submisive au concentraţii mari de CCK în *tegmentum* şi *cortexul posterior*. Este implicată şi în homeostazia termică rapidă a organismului, la modificările temperaturii ambientale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 5. CIRCUITE NEURONALE

Următorul nivel de organizare este cel al **circuitelor neuronale**. Un circuit neuronal este format din doi sau mai mulţi neuroni, între care se stabilesc diferite tipuri funcţionale de sinapse. La nivelul circuitelor neuronale, informaţia nu este numai direcţionată spre o anumită regiune corticală, dar şi amplificată, în funcţie de modalitatea de conectare. Comportamentele stereotipe şi reflexe au la bază circuite neuronale bine definite în timpul dezvoltării, capabile de foarte mare plasticitate sub influenţa mediului înconjurător.

Sistemul nervos central conţine milioane de neuroni organizaţi în circuite complexe, fiecare cu trăsături specifice. Fiecare circuit are o anumită particularitate, care îi defineşte un rol propriu în reglarea homeostaziei.

În circuitele neuronale se pot defini, simplificat, 3 modalităţi de comectare a neuronilor: în serie sau ierarhizate, convergent şi divergent.

CIRCUITE SIMPLE

CIRCUITE ÎN SERIE

Circuitele seriate simple sunt acele reţele de neuroni în care impulsul nervos este condus de la un singur neuron presinaptic către un singur neuron postsinaptic, fără reîntoarcerea informaţiei, astfel că *fiecare neuron* formează *o singură sinapsă* cu neuronul imediat superior şi primeşte o singură sinapsă de la neuronul imediat inferior. Sunt cele mai întâlnite la nivelul căilor senzitive şi motorii, unde sunt organizate ascendent, şi respectiv, descendent.

Circuitul în serie, cel mai simplu nivel de organizare, se poate întâlni în circuite neuronale mai complexe.

În sistemele senzitive, ierarhia *ascendentă* este un lanţ ordonat de neuroni prin care informaţia urcă de la periferie (extern sau intern) spre sistemul nervos: de la receptorii primari spre releele secundare- terţiare, unde va fi sortată, comparată şi depozitată.

Sistemele motorii sunt organizate într-o ierarhie *descendentă*, în care comenzile coboară de la sistemul nervos spre muşchi, prin intermediul centrilor din măduva spinării.

Sistemele ierarhice facilitează comunicarea între neuroni cu localizări diferite, cu ajutorul unui număr redus de ramificări. Circuitele în serie au însă dezavantajul că alterarea unui singur element al circuitului prin lezare, boală, infarct sau tumoră,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

afectează întregul circuit. Existența acestor etape divergente şi convergente conferă circuitului capacitatea să funcționeze şi în urma unei alterări. Dacă în aria lezată supraviețuiesc totuşi câteva celule, ele sunt capabile să mențină funcția circuitului.

Poate fi exemplificat ca circuit în serie, lanțul de celule de la nivelul sistemului auditiv (Fig. 5.1): celule auditive interne trimit informația către nucleii olivari în bulb, care, mai departe, sinapsează cu neuroni din coliculii inferiori (mezencefal), neuroni din nucleul geniculat median al talamusului şi cortexul auditiv primar. La nivel central, procesarea informației pentru perceperea şi integrarea ei este rezultatul activității unor circuite mai complexe.

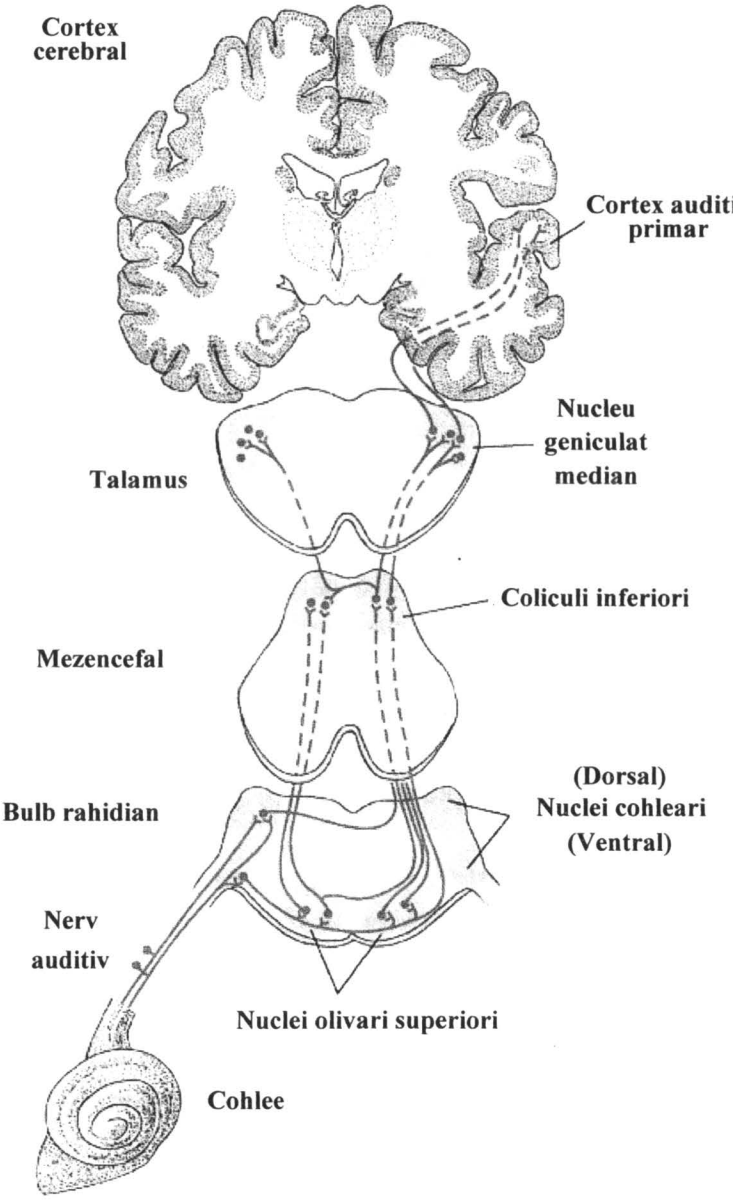


Figura 5.1 Circuit serial al transmiterii informației auditive de la receptorul periferic spre analizatorul central (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Circuitele neuronale în serie pot comunica între ele prin: convergenţă şi/sau divergenţă, informaţia fiind astfel ***filtrată şi amplificată***. Dacă în aria lezată supravieţuiesc totuşi câteva celule, ele sunt capabile să menţină funcţia circuitului

Circuitele în serie apar în conexiunile neuronale ce îndeplinesc o funcţie specifică: căile senzitive, caile motorii, sistemele de memorare, sistemul endocrin central.

CIRCUITE DIVERGENTE

În **circuitele divergente** (Fig. 5.2A), *un* singur *neuron presinaptic* formează *sinapse cu mai mulţi neuroni* postsinaptici.

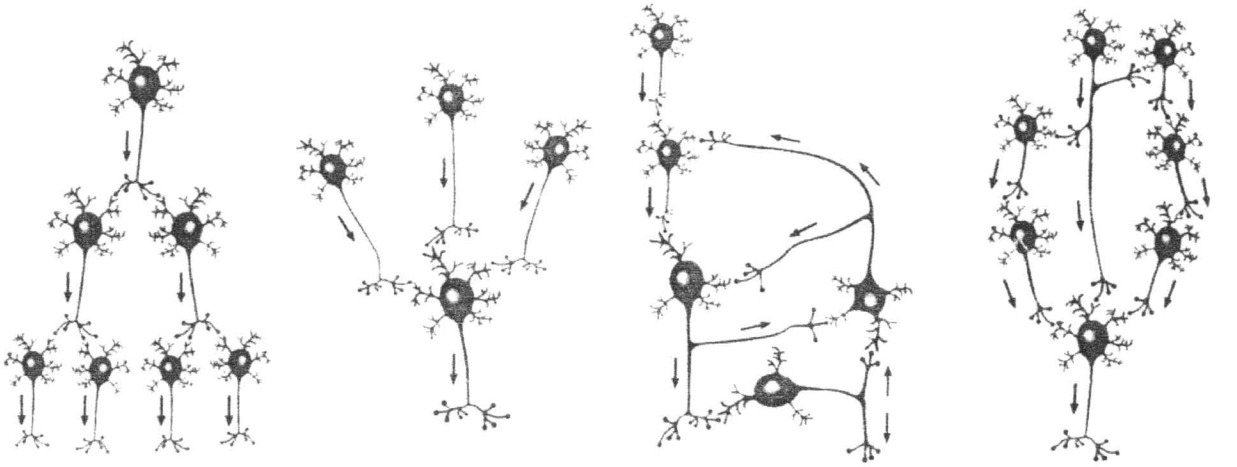
Sunt prezente în circuitele motorii, spre exemplu, un singur neuron motor din sistemul nervos central stimulează mai mulţi neuroni motori din măduva spinării, şi chiar în relaţia dintre un neuron motor şi efectorii săi, celulele musculare.

Au avantajul de a comunica simultan cu neuroni implicaţi în circuite seriale diferite, de aceea, fac posibilă trecerea de la sisteme motorii la senzitive sau către alte sisteme funcţionale.

Deoarece aceste circuite pot influenţa diferite niveluri şi funcţii, ele funcţionează ca sisteme integratoare ale diverselor activităţi ale sistemului nervos.

Sunt o fracţie mică a circuitelor neuronale, dar sunt implicate în controlul anumitor stări comportamentale, cum ar fi: somnul, activitatea şi atenţia.

Sunt tipice sistemelor *monoaminice*.



A. Circuit divergent **B**. Circuit convergent **C**. Circuit reverberant **D**. Circuit paralel

Figura 5.2 Tipuri de circuite neuronale

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CIRCUITE CONVERGENTE

În **circuitele convergente** (Fig. 5.2B), *mai mulţi neuroni* presinaptici formează sinapse cu *un singur neuron postsinaptic* integrator. Astfel de conectări se întâlnesc la nivelul retinei, între celulele cu bastonaşe şi celulele bipolare. Deoarece celulele cu bastonaşe sunt responsabile pentru vederea nocturnă, când intensitatea luminoasă este foarte scăzută, ele îşi măresc sensibilitatea prin creşterea numărului de pigmenţi, astfel că devin capabile să răspundă la un singur foton. Un stimul slab va determina un răspuns slab din partea celulei cu bastonaş, insuficient pentru activarea ulterioară a neuronilor bipolari. De aceea, mai multe bastonaşe sinapsează pe o singură celulă bipolară, pentru ca prin sumaţie spaţială să activeze această celulă.

Un alt exemplu de circuit convergent este localizat în măduva spinării şi este format din neuronul motor α, implicat în arcul reflex, care primeşte informaţii atât de la neuronul senzitiv *Ia* cât şi descendent, de la centrii superiori corticali care comandă mişcarea.

Circuitele neuronale sunt însă mult mai complexe, fiind rezultatul combinării acestor 3 tipuri de organizare neuronală.

CIRCUITE COMPLEXE

CIRCUITE NEURONALE LOCALE

Sunt tipuri particulare de circuite, localizate cel mai adesea in cortex, cu rolul de a integra informaţia aferentă. Exemple de circuite locale se regăsesc la nivelul ariilor senzitive primare, ariilor de asociaţie, cortexului motor, hipocampului.

Aceste circuite sunt alcătuite din:

- fibre aferente ce formează sinapse excitatoare pe spinele dendritice (situate apical) ale neuronilor piramidali;
- colaterale reexcitatoare ale neuronilor piramidali din interiorul circuitului;
- interneuroni locali, stimulaţi fie de fibrele aferente pentru a produce inhibiţie retrogradă, fie de ramificaţiile axonale pentru a produce inhibiţie laterală.

În unele cazuri, neuronii ce formează circuite locale au axoni scurţi şi nu generează potenţiale de acţiune (PA). Când un circuit local este activat prin sinapse la suprafaţa sa, neuronii eliberează aproape imediat neurotransmiţători. Un neuron al unui circuit local primeşte şi trimite mesajele într-un spaţiu limitat, prin care pot trece circuitele în serie şi, astfel, poate funcţiona ca un filtru al informaţiei.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

GENERATORI CENTRALI DE RITM

Deşi un singur neuron poate genera potenţiale de acţiune ritmic, în rafale regulate chiar în absenţa stimulării externe, totuşi un comportament ritmic cum ar fi mersul sau înotul, poate fi controlat de un circuit cu activitate ritmică. În acest caz, circuitul trebuie să comande contracţia şi relaxarea alternativă a muşchilor flexori, în coordonare cu muşchii extensori.

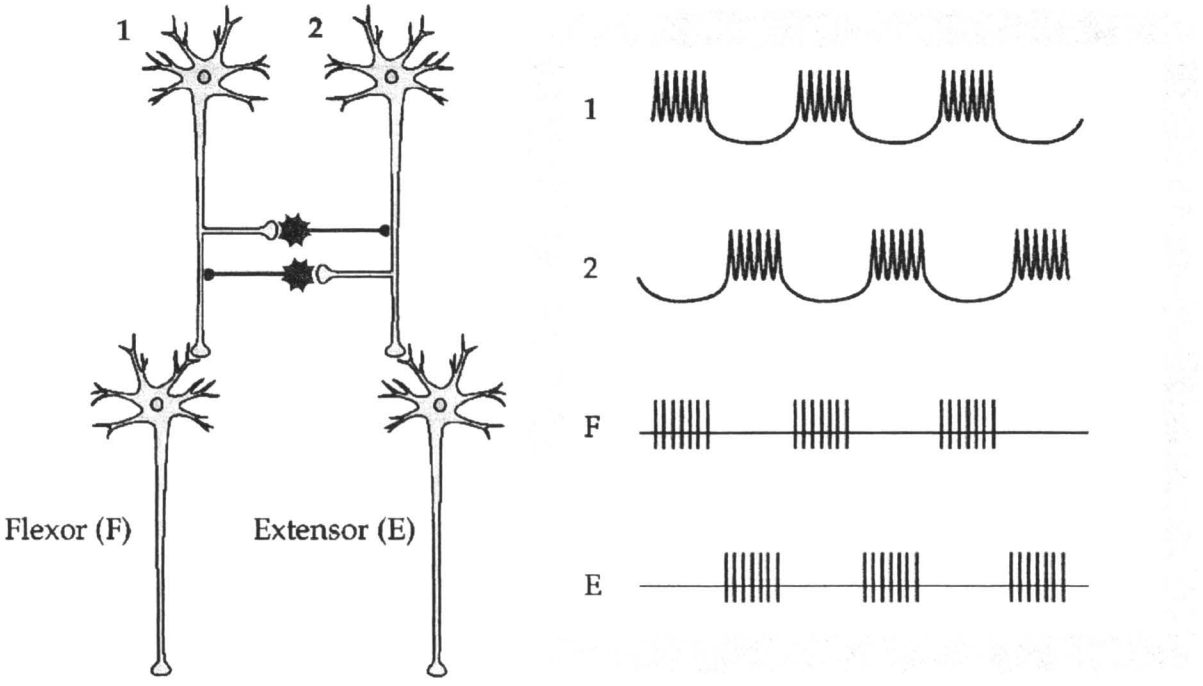


Figura 5.3 Un circuit simplificat de generator de ritm. 1 şi 2 reprezintă două celule pacemaker, ce sinapsează excitator pe motoneuronii muşchiului flexor şi extensor. Între cei doi neuroni pacemaker se află doi interneuroni, inhibitori, care defazează neuronii pacemaker. Înregistrările electrofiziologice arată activitatea celor 4 neuroni prezentaţi în circuit, în rafale şi defazată (după Nicholls, 2001)

Generatorii centrali de ritm (Fig. 5.3) sunt reţele de neuroni capabili să genereze activitate ritmică în absenţa informaţiei sosite de la efectorul controlat. În cazul mişcării, feed-back-ul senzitiv nu este necesar pentru generarea mişcării ritmice, ci pentru a modifica şi rafina mişcarea în funcţie de circumstanţe.

CIRCUITELE REVERBERANTE

Sunt construite astfel încât stimularea celulelor presinaptice determină o activitate mai intensă la nivelul neuronului postsinaptic. Neuronii sunt legaţi în serie şi se stimulează succesiv, iar ramurile neuronilor postsinaptici (secundari, terţiari) vor sinapsa cu un neuron anterior din circuit (Fig. 5.2C). Astfel, semnalul de ieşire se

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

reîntoarce, realimentând circuitul, şi poate dura de la câteva secunde până la câteva ore, în funcţie de aranjamentul neuronilor în circuit şi de numărul sinapselor. Neuronii inhibitori sunt cei care opresc activitatea circuitului reverberant. Exemple de circuite se întâlnesc în controlul memoriei de scurtă durată, al respiraţiei, sau al activităţii musculare coordonate (Fig. 5.4).

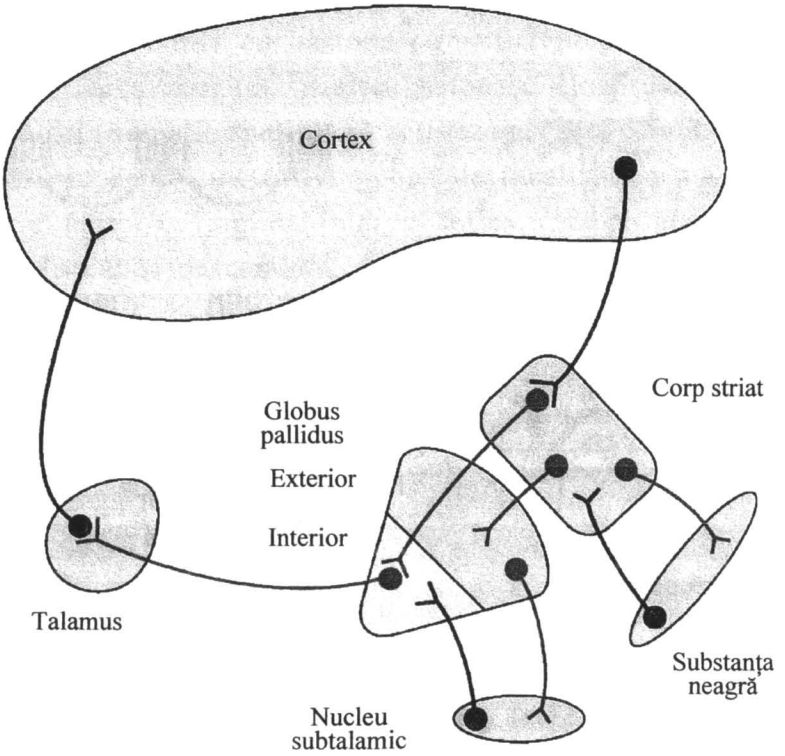


Figura 5.4 Circuitul controlului motor de la nivelul ganglionilor bazali. Neuronii glutamatergici din cortex stimulează neuronii gabaergici ai neuronilor din corpii striaţi care, la rândul lor, vor inhiba neuronii din stratul extern al fomaţiunii globus pallidus. De la acest nivel pornesc prelungiri gabaergice spre talamus, care inhibă neuronii glutamatergici, ce pornesc din talamus către cortex. Căile excitatoare sunt reprezentate în negru, iar cele inhibitoare în gri (după Nicholls, 2001)

Circuitele reverberante sunt cel mai bine cunoscute ca fiind circuitele implicate în memoria de scurtă durată (Fig. 5.5). În acestea se regăsesc numai sinapse excitatoare care pornesc în serie de la neuronii din cortexul entorinal spre girusul dentat, hipocamp zona CA3, hipocamp zona CA1, subicul şi înapoi în cortexul entorinal.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

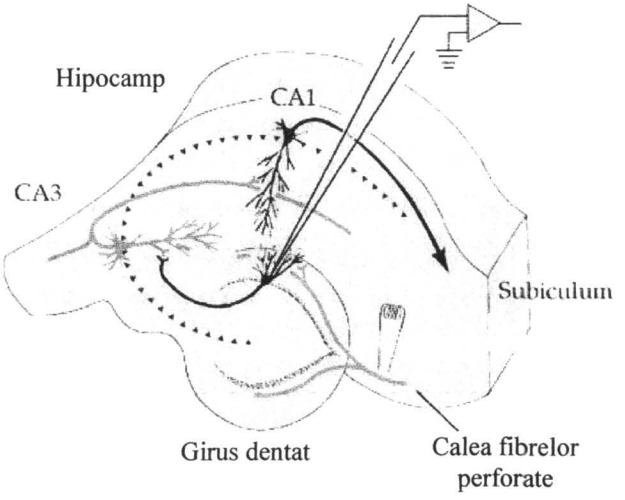


Figura 5.5 Circuitul informației la nivelul hipocampului. Calea fibrelor perforate pornește din cortexul entorinal, unde se și reîntoarce după ce parcurge tot traseul. Întreruperea circuitului blochează memoria de scurtă durată (după Nicholls, 2001)

Alte exemple de circuite reverberante:

- ***Inhibitoare***:
  - *Inhibiția retrogradă*, în care neuronul secundar sau terțiar se întoarce inhibitor la nivelul somei, asupra neuronului primar, este întâlnită la nivelul măduvei spinării și este implicată în controlul contracției musculare. De asemenea este implicată în generarea unei caracteristici oscilante prin întârzierea inhibiției retrograde, prin sinapse axo-axonale (inhibiție presinaptică).
  - *Inhibiția laterală*, în care neuronii de la același nivel se inhibă reciproc, este întâlnită în retină și este implicată în detectarea marginilor și contrastelor imaginii.
- ***Excitatoare***
  - În circuitele memoriei de scurtă durată, sinapsele dintre neuroni sunt excitatoare și activitatea se autoîntreține. În acest circuit există și sinapse inhibitoare, care sunt activate la o frecvență foarte mare a potențialelor de acțiune din circuit.

Există și cazuri patologice generate de activarea necontrolată a unui circuit reverberant, cum ar fi ***epilepsia grand-mal***. Epilepsia constă în convulsii motorii spontane și recurente, pierderea echilibrului și a conștienței.

Funcționarea neuronilor disociați este mult diferită de activitatea din interiorul circuitelor, deoarece este dependentă de activitatea celulelor învecinate. Astfel, neuronii pot să formeze circuite cu caracteristici specifice. Asocierile neuronilor în diferite circuite sunt rezultatul organizării, dezvoltării și specializării sistemului nervos. Neuronii sunt elemente componente ale unor structuri anatomice și funcționale mult mai complexe.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CIRCUITELE PARALELE

Sunt acele circuite în care un singur neuron presinaptic stimulează un grup de neuroni (Fig. 5.2D) şi fiecare neuron în parte va intra în circuite seriate, din care ultimul neuron va sinapsa cu aceeaşi celulă postsinaptică. În acest circuit, între primul şi ultimul neuron există mai multe căi de transmitere a informaţiei. În funcţie de numărul sinapselor existente pe fiecare braţ, apar întârzieri sinaptice, astfel că ultimul neuron va integra informaţia primită, sub formă de semnale inhibitoare şi excitatoare, şi va decide frecvenţa de generare a potenţialelor de acţiune. Astfel de circuite paralele sunt implicate în calculele matematice.

CIRCUITE NEURONALE CE STAU LA BAZA UNOR COMPORTAMENTE CUNOSCUTE

ÎNVĂŢAREA MOTORIE

Cortexul cerebelos (Fig. 5.6) este organizat în trei straturi: stratul ***molecular***, stratul ***celulelor Purkinje***, stratul ***celulelor granulare.*** În învăţarea motorie intervin însă şi ***nucleii cerebeloşi***. Celulele Purkinje primesc informaţii aferente de la ***fibrele musciforme*** (*mossy fibers*) şi proiecţii ascendente de la olivele inferioare din bulbul rahidian prin ***fibrele cățărătoare*** (*climber fibers*).

Fibrele musciforme poartă, în egală măsură, informaţii senzitive aferente şi centrale, şi fac sinapsă cu celulele stratului granular. Apoi, prin fibrele paralele, informaţia ajunge la celulele Purkinje. La nivelul stratului granular, fiecare celulă primeşte diferite informaţii de la celulele musciforme. De la celulele Purkinje informaţia este transmisă prin sinapse inhibitoare către celulele din stratul nucleilor cerebeloşi. Informaţia este condusă mai departe, pe calea motorie spinală, iar prin talamus către ariile corticale, pentru integrarea centrală.

Activarea simultană a celor două tipuri de fibre induce modificări ale tăriei sinaptice la nivelul cerebelului. În consecinţă, cortexul motor va ajusta mişcarea, iar circuitul se reia, astfel ca eroarea să fie redusă la următorul eveniment similar.

Există teoria semnalizării în paralel, la nivelul cortexului motor şi al cerebelului, deoarece cerebelul primeşte informaţii despre comenzile cortexului motor şi informaţii senzitive, la care adaugă comenzi pentru adaptarea mişcării.

Mersul pe bicicletă este un exemplu de învăţare motorie care se transformă în reflex şi nu se pierde, deoarece se stochează sub formă de memorie *nedeclarativă* în cerebel. Memoria şi învăţarea mediate de cerebel sunt posibile printr-un fenomen denumit depresie pe termen lung (LTD), definit ca scăderea eficienţei de transmitere sinaptică a semnalului în fibrele nervoase ce semnalizează o eroare. Cerebelul are rol în învăţarea şi memorarea mişcărilor implicate, la care se adaugă rolul său în coordonarea motorie.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Etapele învățării mersului pe bicicletă sunt următoarele:

- Fibrele musciforme şi paralele conduc către cerebel informaţii despre circumstanţele în care se produce mişcarea. La început, sunt trimise către muşchi semnale motorii de la cortexul cerbral şi de la cerebel.
- Semnalele trimise cortexului cerebelar sunt trimise celulelor Purkinje, pe calea fibrelor paralele.
- La fiecare celulă Purkinje se conectează circa *200000 fibre paralele* şi **o singură fibră cățărătoare**.
- Fibrele cățărătoare semnalizează o mişcare executată greşit. Căderea de pe bicicletă este o greşeală imediat semnalizată celulelor Purkinje prin fibra cățărătoare.
- La nivelul celulelor Purkinje, sosirea simultană a semnalelor pe calea fibrelor paralele şi cățărătoare induce depresia pe termen lung (LTD) a sinapselor sosite de la fibrele paralele care transmit informaţii eronate.
- Prin continuarea exerciţiilor, se elimină succesiv comenzile eronate, până când numai comenzile motorii corecte sunt selectate şi memorate.

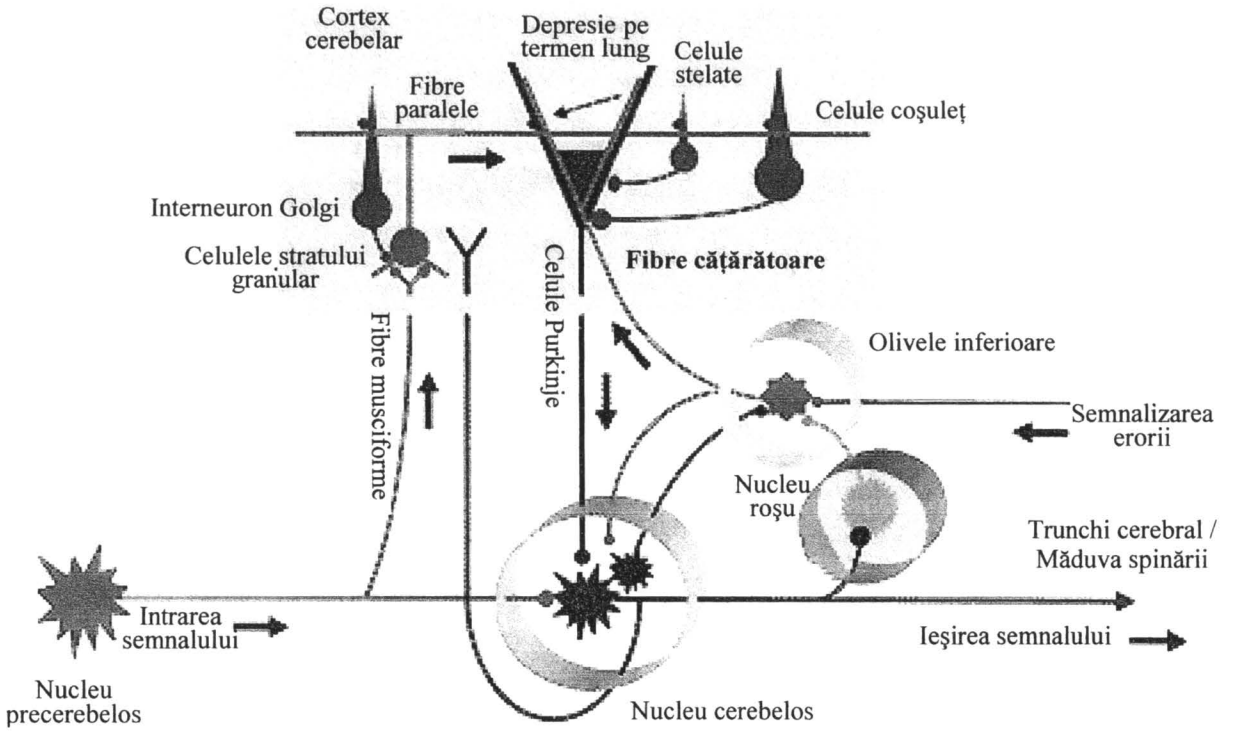


Figura 5.6 Circuitul neuronal de la nivelul cerebelului implicat în învățarea motorie

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

SOMNUL

Exemplu de circuit implicat în controlul somnului:

- Identificarea regiunilor implicate în *starea de veghe*:
  - formaţiunea reticulată din punte şi nucleul magnocelular,
  - locus coeruleus, neuronii noradrenergici, ce proiectează informaţia către cortexul anterior, cerebel şi măduva spinării,
  - regiunea posterioară a hipotalamusului,
  - substanţa neagră secretă DOPA către centrii de iniţiere a activităţii locomotoare.
- Identificarea regiunilor implicate în *somn*:
  - nucleul rafeului din trunchi – serotonina, mediază somnul profund;
  - nucleul tractului solitar (trunchi) – primeşte fibre senzitive de la mugurii gustativi şi alţi stimuli viscerali;
  - aria postrema din bulb - arie lipsită de barieră hematoencefalică, ce poate fi stimulată direct, de substanţe prezente în circulaţia sanguină.

..

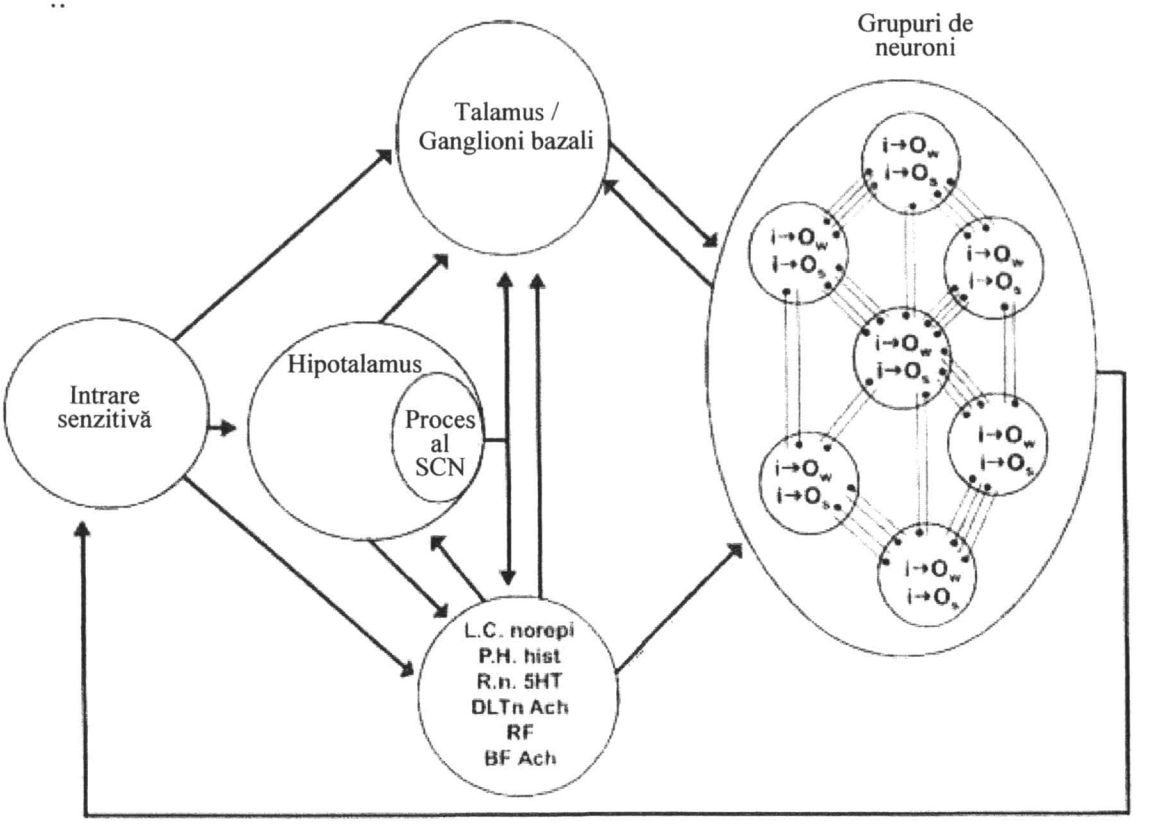


Figura 5.7 Reţelele ce reglează somnul şi circuitele implicate în coordonarea grupurilor de neuroni (GN).Abrevieri: SCN, nucleul suprachiasmatic; LC, locus coeruleus; PH, hipotalamus posterior; RN nucleul rafeului; DLTn, nucleii tegmentului lateral dorsal; RF, fromaţiunea reticulată; BF, ganglionii bazali. $i \rightarrow o_w$ reprezintă intrarea-ieşirea din starea de veghe; $i \rightarrow o_s$ reprezintă tranziţia în timpul somnului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Un circuit al ciclului somn-veghe este reprezentat în figura 5.7: grupuri individuale de neuroni (dreapta) oscilează între starea de veghe (V) şi cea de somn (S), în funcţie de activitatea lor anterioară. În aceste grupuri, neuronii tind să se comporte ca şi vecinii lor şi astfel, îşi blochează starea de activare în fază cu ceilalţi neuroni. Reţelele reglatoare de somn din talamus şi ganglionii bazali comunică bidirecţional cu grupul de neuroni (GN) şi asigură coordonarea somnului cu funcţiile autonome şi somatomotorii. Circuitele de activare se proiectează pe neuroni corticali şi au rol de deblocare a neuronilor oscilatori. Circuitele superioare de reglare de la nivelul hipotalamusului sunt implicate în echilibrarea acestor două circuite.

DEPENDENŢA DE DROGURI

Dependenţa de droguri este o problemă foarte serioasă de sănătate. Medicamentele care induc dependenţă, şi care sunt denumite droguri, sunt: opioizii, stimulanţi ca amfetamina şi cocaina, alcoolul, nicotina. Acestea sunt substanţe active la nivelul sistemului nervos central, unde pot altera transmiterea informaţiei.

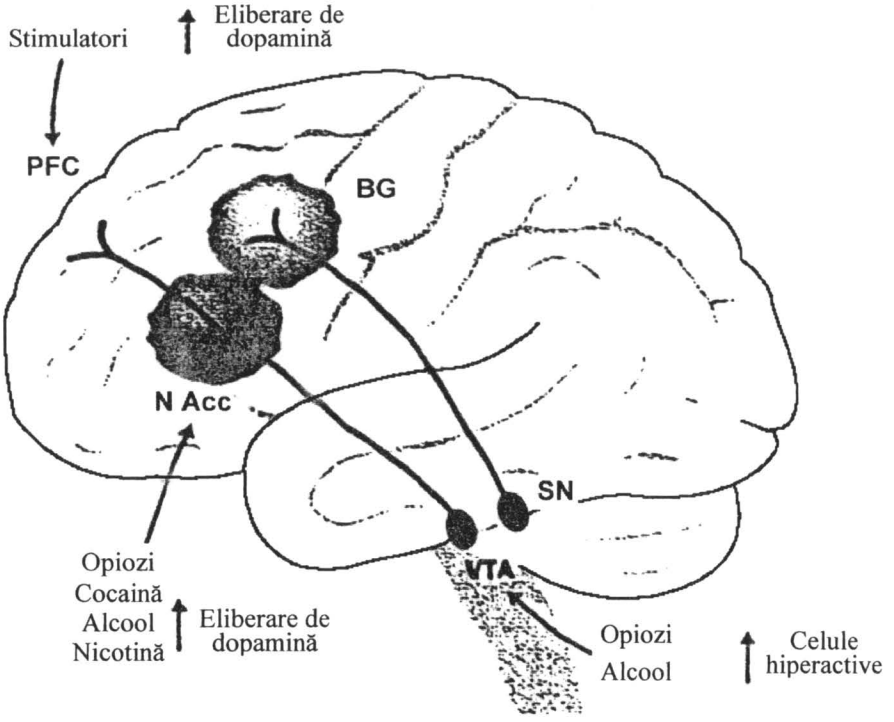


Figura 5.8 Circuitele neuronale ale dependenţei de droguri

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Dependența se instalează treptat, și depinde de cantitatea și de frecvența cu care se administrează, urmată de instalarea stărilor de toleranță, incapacitatea de abținere, modificări fizice și comportamentale. Dependența poate fi fizică sau psihică, independente una de cealaltă, contribuind în proporții diferite la instalarea dependenței de un anumit drog.

Circuitele neuronale implicate în dependență au fost studiate mai mult pe animale. Un prim circuit (Fig. 5.8) implică dopamina, secretată de nucleii din aria tegmentală ventrală, prin nucleul accumbens din cortexul prefrontal. În afară de benzodiazepine, toate drogurile determină eliberarea dopaminei în aceste locații, acționând pe căi diferite: cocaina împiedică recaptarea dopaminei, în timp ce opioidele cresc activitatea neuronilor dopaminergici și cresc secreția de dopamină.

Încetarea administrării drogurilor, este însoțită de reducerea semnalizării dopaminergice, și duce la instalarea unor comportamente agresive, printre care plăcerea de a-și provoca suferință, deoarece determină secreție de dopamină.

Alte regiuni implicate în dependență sunt *globus pallidus* și *nucleul amigdalian*, regiuni care primesc proiecții din partea nucleului accumbens, precum și de la nucleii secretori de noradrenalină și serotonină: *locus coeruleus* și respectiv *nucleii rafeului*, unde s-au înregistrat modificări în semnalizare.

INTERACȚIA DINTRE SISTEMUL SENZITIV, MOTOR ȘI CEL MOTIVAȚIONAL

Simpla aruncare a mingii necesită câteva informații senzitive despre: mișcarea mingii, impactul mingii cu mâna, poziția mâinilor, a picioarelor și a trunchiului în spațiu.

Informațiile senzitive merg către ariile de asociație ale cortexului, unde mișcarea este planificată. De acolo, este transmisă către sistemul motor care generează comenzi de mișcare implicate în anticiparea, prinderea și păstrarea mingii. Aceste mișcări trebuie conduse către mușchii spatelui, umărului, brațelor și mâinilor, care trebuie să fie temporizați pentru coordonarea contracției și a relaxării mușchilor opuși. De asemenea, trebuie controlată postura organismului, și, mai mult, pentru atingerea unei performanțe, sistemul motor necesită o continuă informare despre modificările induse în tensiunea musculară.

În timp ce sistemele senzitiv și motor sunt implicate în aruncarea mingii, sistemul motivațional este implicat în inițierea și ducerea la bun sfârșit a acestui comportament.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Neuronii sistemului motivațional au următoarele efecte:

- influențează mișcarea voluntară prin legăturile formate cu neuronii sistemului motor somatic din creier
- influențează comportamentul prin acțiunea asupra sistemului nervos autonom: transpirația și ritmul cardiac.

Principalul modulator al sistemului motor autonom este ***hipotalamusul***, care are rol în emoții și motivație, deoarece:

- trimite fibre descendente către nucleii simpatici și parasimpatici din măduva spinării și ai trunchiului cerebral;
- reglează secreția hormonală și este influențat de nivelul de insulină și glucoză din sânge.

Acest sistem exercită o influență foarte mare. În funcție de starea jucătorului: entuziast, concentrat, plictisit, distrat, depinde calitatea aruncării mingii.

ALTE TIPURI DE CIRCUITE

Circuitele ce leagă sistemul nervos central de organism sunt circuite mixte, stabilite între neuroni și sistemele efectoare:

- neuroendocrine,
- neuroimune

CIRCUITE NEUROENDOCRINE

Au la bază eliberarea hormonală sub control nervos central. Circuitul neuroendocrin cel mai cunoscut este cel hipotalamo-hipofizar.

Sub influența hipotalamusului, neurohipofiza secretă *ocitocina*, care va determina mai departe contracția musculaturii netede uterine sau secreția laptelui la nivelul glandelor mamare. *Vasopresina* va induce reținerea apei în organism la nivelul tubulilor renali și contracția musculaturii netede a arteriolelor cu creșterea presiunii sanguine. Neurohipofiza reprezintă partea nervoasă a hipofizei.

Hipofiza are însă o a doua parte, endocrină denumită *adenohipofiza*, care se află, de asemenea, sub controlul hipotalamusului (Fig. 5.9).

Hipotalamusul este o regiune foarte complexă, la care ajung comenzi (Fig. 5.10) de la:

- centrii superiori: cortex cerebral, sistem limbic;
- neurohipofiză, prin feed-back negativ.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

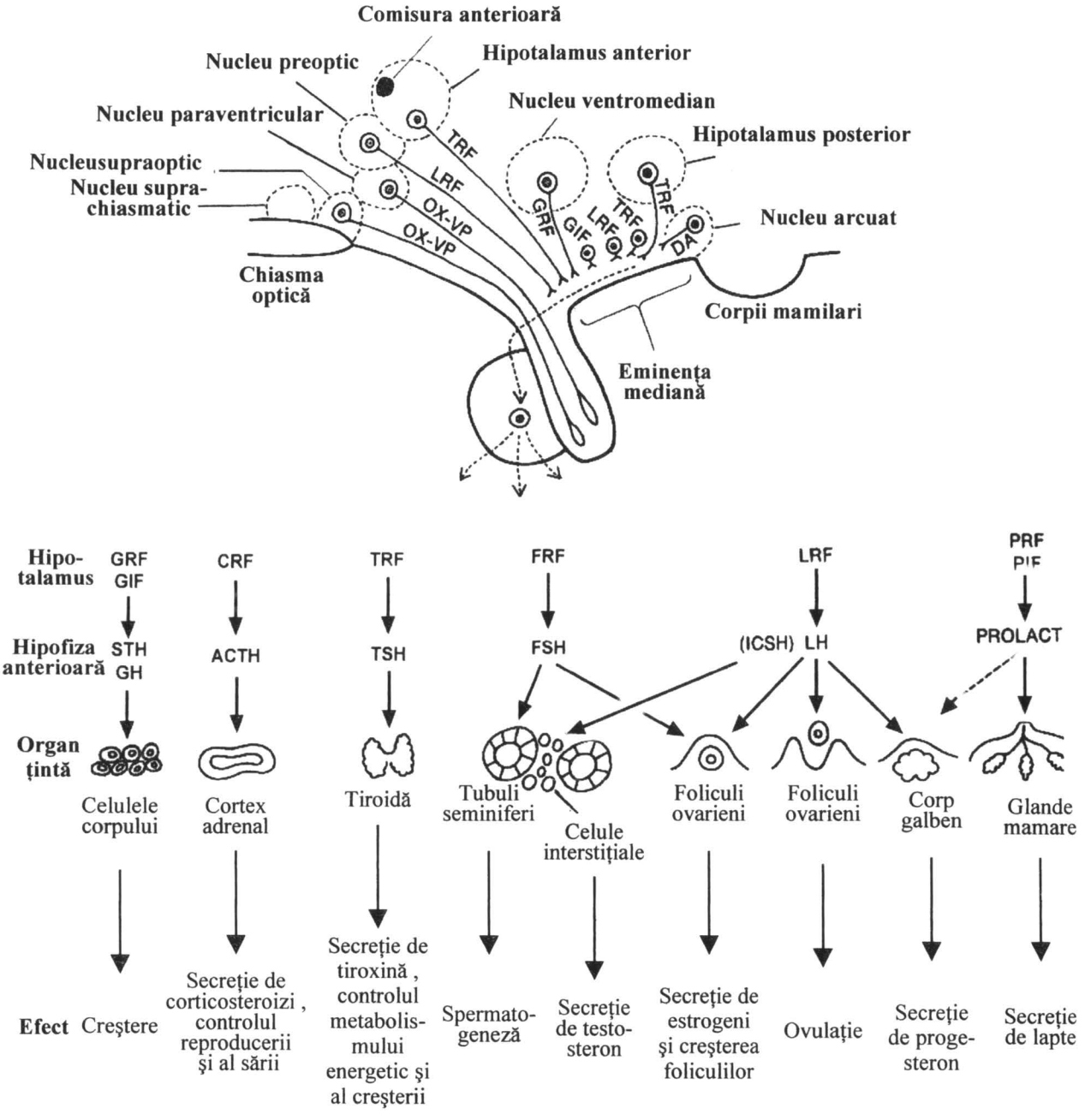


Figura 5.9 Sistemul hipotalamo-hipofizar (după Shepherd, 1988)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

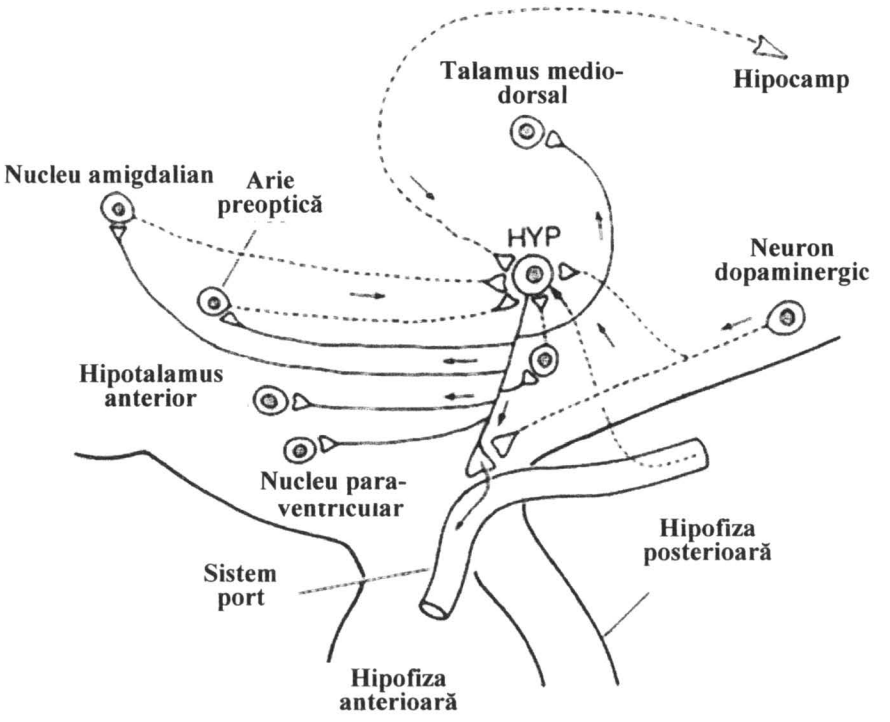


Figura 5.10 Conexiunile unei singure celule neuroendocrine din hipotalamus. Liniile continue reprezintă fibrele eferente, liniile punctate reprezintă fibrele aferente (după Renaud, 1977)

CIRCUITE NEUROIMUNE

Inițial s-a considerat că sistemul imun este separat de sistemul nervos. Din punct de vedere anatomic, cele două sisteme sunt foarte diferite: sistemul imnun este dispersat în tot organismul, sub forma glandelor, organelor, limfocitelor circulante, imunoglobuline, în timp ce sistemul nervos este compact localizat.

La ora actuală se ştie că cele două sisteme funcționează coordonat şi că interacționează prin conexiuni ce formează circuite neuroimune.

Aceste circuite pot fi activate ca urmare a unui eveniment emoțional puternic: un deces în familie poate induce o depresie severă, un stress foarte mare poate duce la blocarea proliferării limfocitare. Calea prin care apar aceste stări psihice şi comportamentale trece prin ***hipotalamus***.

Leziuni electrolitice ale hipotalamusului anterior duc la scăderea proliferării limfocitare. Leziuni ale sistemului limbic duc la creşterea numărului de limfocite.

Relația inversă, reciprocă, este aceea că *limfokinele* secretate de limfocitele B şi T, şi *timokinele* secretate de timocite acționează pe receptorii corticosteroizi ai limfocitelor, şi pe neuroni ai hipofizei şi hipotalamusului. În afară de hormonul adrenocorticotrop (ACTH), şi alți neurotransmițători influențează hipotalamusul şi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

afectează căile neuroimune: lezionarea nucleului rafeului (unde se găsesc neuronii serotoninergici) duce la creşterea titrului de anticorpi, iar lezionarea *punţii* la nivelul *locus coeruleus* (neuronii noradrenergici) duce la scăderea numărului de limfocite.

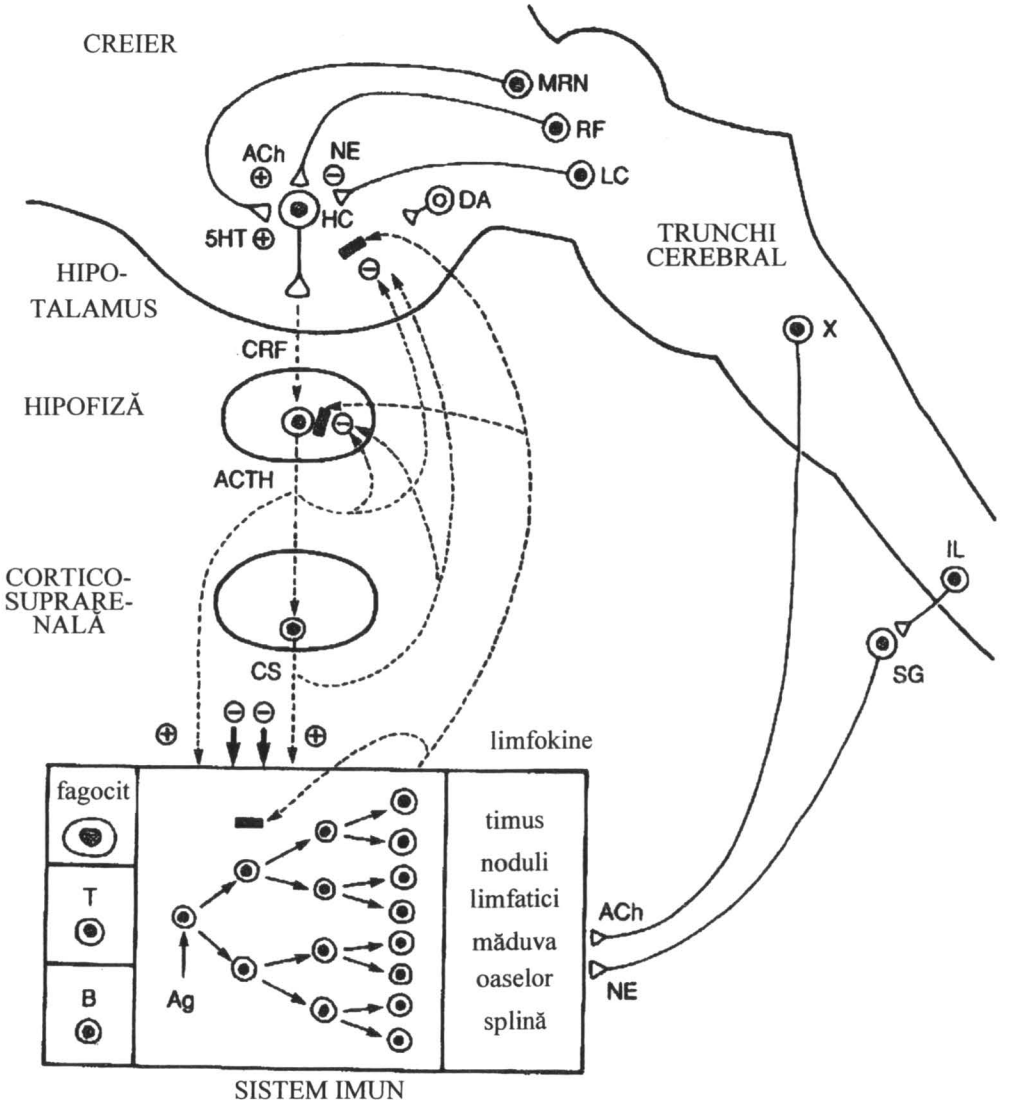


Figura 5.11 Circuite neuroimune (după Shepherd, 1988)

Studiul circuitelor neuronale este o adevărată provocare. Circuitele prezentate anterior sunt mult simplificate, fiecare neuron reprezintă mai mult un nod într-o reţea. Ele sunt utile pentru a explica transferul de informaţie între staţiile principale ale circuitului şi rolul său într-un anumit comportament.

Adevărata structură a acestui nod este dificil de explorat şi necesită o combinaţie de tehnici de mare sensibilitate, pornind de la imagerie, electrofiziologie cu înregistrări intracelulare şi până la tehnici imunohistochimice şi de biologie moleculară.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 6. DEZVOLTAREA EMBRIOLOGICĂ A SISTEMULUI NERVOS

Prin dezvoltarea sistemului nervos înţelegem totalitatea proceselor prin care apar şi se diferenţiază neuronii şi celulele gliale, se formează sinapsele şi se definitivează structurile nervoase. Unele procese, cum ar fi diviziunea neuronilor, sunt complete la momente diferite de timp, foarte devreme în dezvoltare, cu mult înainte de naştere, în timp ce altele ca formarea sinapselor, continuă mult timp după naştere. Cu toate că din punct de vedere anatomic şi structural procesele se desăvârşesc, modificările celulare şi moleculare continuă pe toată durata vieţii.

Genele încep să dicteze etapele dezvoltării sistemului nervos central (SNC) încă de la fertilizare şi continuă pe toată durata vieţii. În prezent, componenta genetică este privită în interacţiune cu mediul înconjurător, şi majoritatea studiilor biopsihologice privind dezvoltarea postnatală a sistemului nervos central se realizează prin sutdii etologice.

Etapele dezvoltării se împart în funcţie de perioada dezvoltării embrionare în:

- prenatale
- postnatale
  - informaţii cognitive
  - informaţii senzitive
  - dezvoltarea gândirii
- îmbătrânirea creierului

DEZVOLTAREA PRENATALĂ

Cele mai importante părţi ale corpului: inima şi creierul, încep să se formeze din primele săptămâni de fertilizare.

În prima lună s-au evidenţiat următoarele etape principale (Fig. 6.1):

- după primele 5 zile, din zigot se formează *blastocistul*, care are cca 100 de celule embrionare;
- în ziua 8 – se formează *discul embrionar* prin detaşarea celulele interne;
- în ziua 15 – o parte din celulele discului se diferenţiază în 2 straturi:
  - *ectoderm* – devine sistem nervos, piele, unghii, păr;
  - *endoderm* – devine tract respirator, tract digestiv şi organe aferente;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- mai târziu se formează *mezodermul,* strat care contribuie la formarea sistemului nervos prin eliberarea de factori trofici şi reglatori ai diferenţierii neuronale.

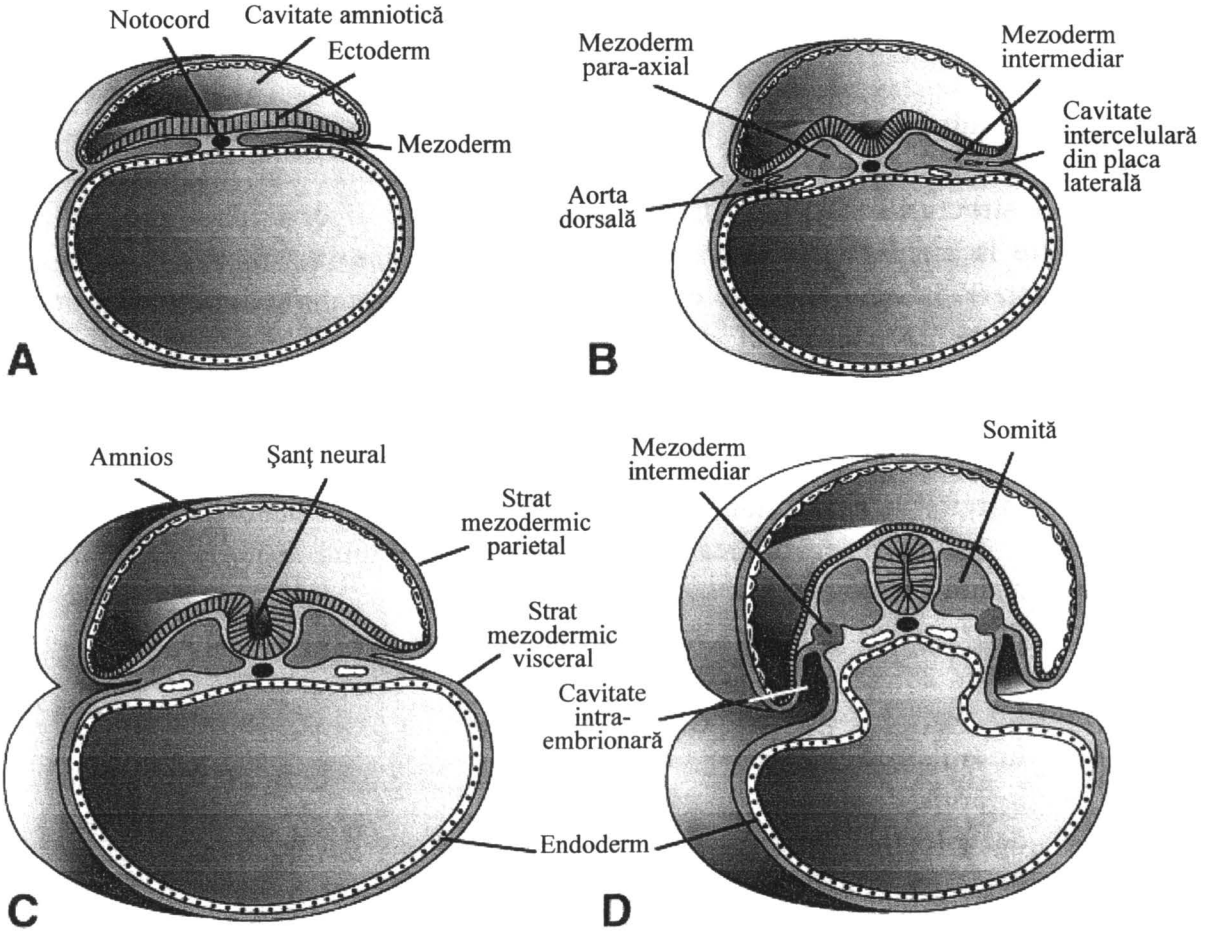


Figura 6.1 Diferenţierea discului embrionar **A.** Ziua 17. **B.** Ziua 19. **C.** Ziua 20. **D.** Ziua 21. Stratul mezodermic va forma mezodermul para-axial din care se formează somitele, mezodermul intermediar, din care se formează unităţile excretorii şi placa laterală, împărţită în două straturi ce căptuşesc cavitatea intraembrioanră (http://connection.lww.com/products/sadler/images/figurelarge5-9.jpg)

La scurt timp după diferenţierea ectodermului, acesta se îngroaşă pe linia mediană, formând ***placa neurală primitivă***, în care sunt deja diferenţiate şi programate segmente specifice pentru anumite părţi ale creierului. În acest stadiu însă, placa neurală este capabilă să regenereze un fragment îndepărtat, fără să altereze structura creierului. Spunem că, celulele din placa neurală primitivă sunt ***multipotente,*** deoarece se pot diferenţia în orice celulă a sistemului nervos. Cu câteva zile mai târziu însă, placa neurală nu mai este capabilă să înlocuiască regiunea

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

lipsă, indicând instalarea etapelor de diferențiere. Leziunile apărute în această etapă vor duce la dezvoltarea unui creier incomplet.

Placa neurală se dezvoltă în continuare prin formarea de-a lungul ei a unor ***creste neurale*** paralele, care se curbează una spre cealaltă, fuzionează, iar la 18 zile de la concepere formează ***tubul neural***. Partea superioară a tubului începe să se îngroaşe, şi prezintă rostral segmente ce vor deveni: prozencefal, mezencefal şi rombencefal. Restul tubului neural se transformă în măduva spinării.

Tubul neural se închide în prima lună la ambele capete, atât rostral cât şi caudal. Există cazuri patologice în care tubul nu se închide rostral şi copilul se naşte fără cortex şi nu supraviețuieşte mai mult de o lună. Dacă defectul tubului neural este localizat la extremitatea caudală, copilul are un intelect normal, dar suferă tulburări motorii.

După închiderea tubului neural, un grup de celule din crestele neurale, denumite ***neuroblaşti,*** rămân în afara tubului neural şi formează sistemul nervos periferic. Ele se desprind înainte de închiderea tubului neural şi se vor diferenția în două direcții:

- în *celule ganglionare somatice*, care vor da naştere după metamerizare ganglionilor nervilor cranieni şi spinali;
- în *celule ganglionare viscerale*, care vor forma ganglionii viscerali paravertebrali, previscerali şi neuronii vegetativi din plexurile nervoase intramurale.

În a doua lună (Fig. 6.2) se accentuează diferența dintre cele 3 regiuni majore ale creierului, apar compartimentele ventriculare cerebrale sub forma unor cavități mari, veziculele se diferențiază prozencefalul în telencefal, ce va forma mai târziu cortexul şi diencefalul (compus din talamus şi hipotalamus).

Dezvoltarea telencefalului cuprinde 3 etape:

- dezvoltarea regiunii olfactive, care în luna a 2-a, include hipocampul şi structurile stratului intern al cortexului;
- îngroşarea pereților prozencefalului, prin diviziunea celulelor corespunzătoare ganglionilor bazali, care se vor organiza în cei 3 nuclei: *caudat*, *putamen* şi *globus pallidus*. Toate cele trei regiuni sunt implicate în coordonarea sistemelor senzitiv şi motor precum şi în anumite forme de învățare. Din acelaşi grup de celule va deriva şi *nucleul amigdalian,* cu rol în stări emoționale, integrarea informațiilor senzitive provenite de la nivelul creierului şi în generarea de răspunsuri de adaptare la modificările mediului intern;
- dezvoltarea cortexului cerebral cu toate regiunile specializate.

Cortexul cerebral, sau neocortexul, este un strat de neuroni de câțiva mm grosime, prezent numai la mamifere. Este cel mai dezvoltat în organismul uman, având numeroase circumvoluțiuni care îi permit rearanjarea în cutia craniană. La jumătatea dezvoltării embrionare, creierul atinge viteza maximă de diviziune, de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

250000 celule/minut şi încep să apară circumvoluţiunile. În luna 6 sau 7, dezvoltarea este completă şi 70% din neuronii totali ai creierului se găsesc în neocortex.

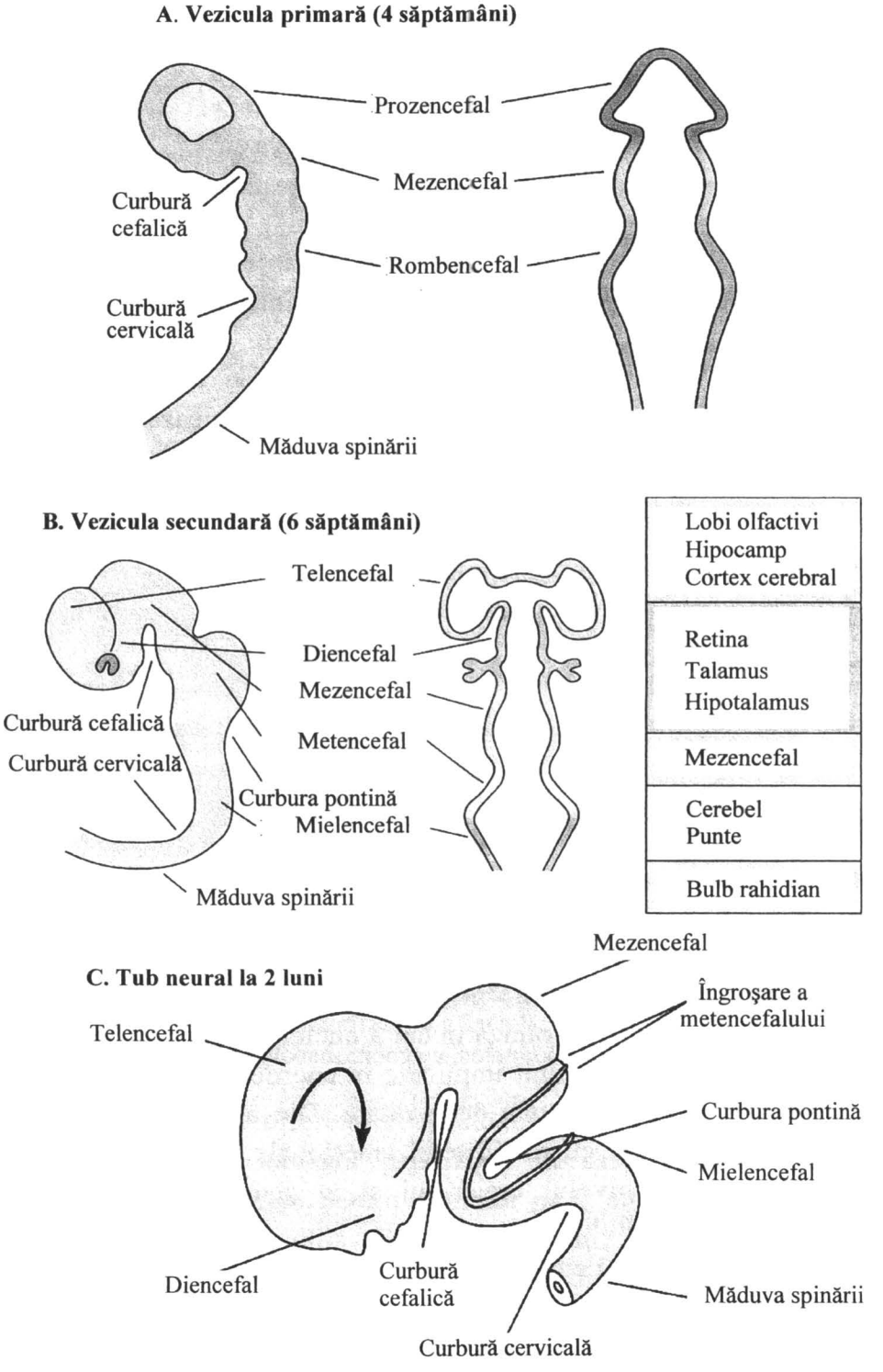


Figura 6.2 Dezvoltarea embrionară a creierului uman (după Nicholls, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

În continuare sunt prezentate şapte etape ale dezvoltării ce permit diferenţierea şi distribuirea neuronilor şi a celulelor gliale în diferitele regiuni ale sistemului nervos: *inducţia*, *proliferarea*, *migrarea*, *agregarea*, *diferenţierea*, *formarea circuitelor* (axoni şi sinapse) şi *apoptoza* şi *definitivarea* sinapselor. Aceste etape se suprapun într-o oarecare măsură, în sensul că în timp ce unii neuroni continuă să migreze şi să prolifereze, alţi neuroni încep procesul de diferenţiere şi de formare a sinapselor.

INDUCŢIA PLĂCII NEURALE

Inducţia plăcii neurale este procesul care permite transformarea discului neural al ectodermului în ***placă neurală***, din care se va forma sistemul nervos, în timp ce celelalte părţi ale ectodermuluidevin tegument şi structuri cornoase (Fig. 6.3). Pasul declanşator al acestui eveniment se presupune a fi interacţiunea dintre ectoderm şi mezoderm, deoarece mezodermul produce factori inductori neurali şi modulatori care permit formarea axei neurale a ectodermului.

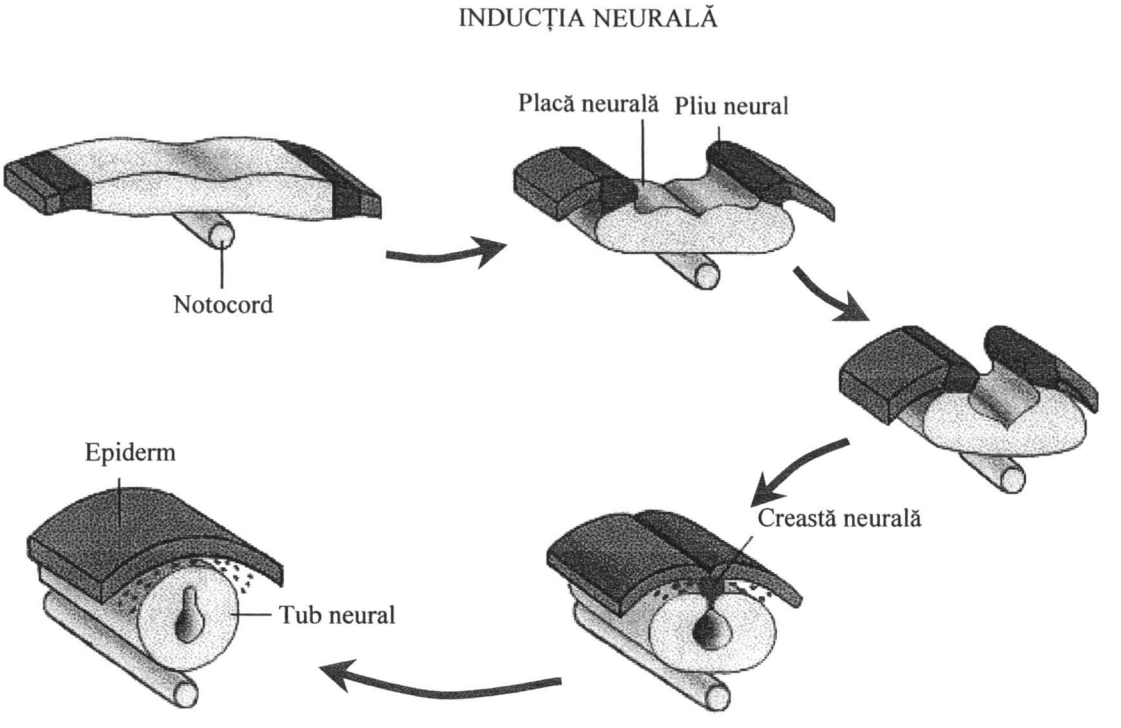


Figura 6.3 Inducţia neurală (http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap14/UCLAneurulation.gif)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Un alt factor este ordinea de formare a mezodermului, care va influenţa împărţirea ectodermului în prozencefal, mezencefal şi rombencefal. Această comunicare are la bază producerea unor factori trofici, substanţe chimice secretate de mezoderm. S-au identificat 3 proteine implicate în dezvoltarea regiunii anterioare a plăcii neurale: *folistatina*, *noggina* şi *cordina*.

Experimentele care au dovedit implicarea mezodermului în etapa de inducere a plăcii neurale au constat în prelevarea de ţesut mezodermic şi implantarea lui sub ectodermul ventral al altui embrion. Acesta a indus dezvoltarea celei de a doua plăci neurale pe suprafaţa ventrală a primitorului.

Dacă un experiment similar se realizează câteva zile mai târziu în dezvoltarea embrionară, rezultatele sunt foarte diferite. Astfel, mezoderm din embrion de şoarece prelevat de sub regiunea ectodermică care induce în mod normal formarea gurii, a fost implantat în embrion de găină în regiunea similară, a indus apariţia unui pui cu dinţi. Acest experiment demonstrează că transformarea celulelor depinde de factorii locali de mediu şi de factorii de trasncripţie interni.

PROLIFERAREA NEURALĂ

Este etapa de diviziune celulară, ce începe cu închiderea tubului neural. Se mai numeşte etapă de ***neuronogeneză***.

Din experimentele pe şoareci, se presupune că proliferarea se desfăşoară în 2 etape:

- prima fază durează până în ziua 11 şi constă în dublarea numărului de celule din ectoderm.
- după ziua a 11-a din 21 (perioada totală de gestaţie a şoarecelui) celulele se împart în două grupuri:
  - un grup care proliferează dar rămân fixe în stratul ventricular (Fig. 6.4)
  - un grup în care începe diferenţierea în neuroni tineri. Astfel de celule vor migra şi nu se mai divid. La maimuţe, şoareci şi oameni, celulele care devin neuroni se detaşează de pe *faţa ventriculară* a tubului neural şi migrează spre exterior, către pia mater.

La şoareci, prima fază a diviziunii celulare durează 10 zile, în timp ce la maimuţe durează 40 de zile. Durata este importantă deoarece limitează numărul de neuroni ai cortexului.

Celulele care proliferează, formează procese de-a lungul cărora corpul celular se va deplasa spre suprafaţa externă a tubului neural, unde sintetizează ADN, după care se întorc pentru a se divide din nou (Fig. 6.4). După câteva cicluri de migrare şi sitneză (replicare) de ADN, neuronul nu se mai divide şi nu se cunoaşte mecanismul care blochează sinteza de ADN şi proliferarea neuronală. O parte din celule vor deveni neuroni şi o parte vor deveni celule gliale. Singurele regiuni în care neuronii

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

continuă să se dividă sunt: bulbii olfactivi, regiunea dentată a hipocampului şi anumite regiuni ale cortexului frontal.

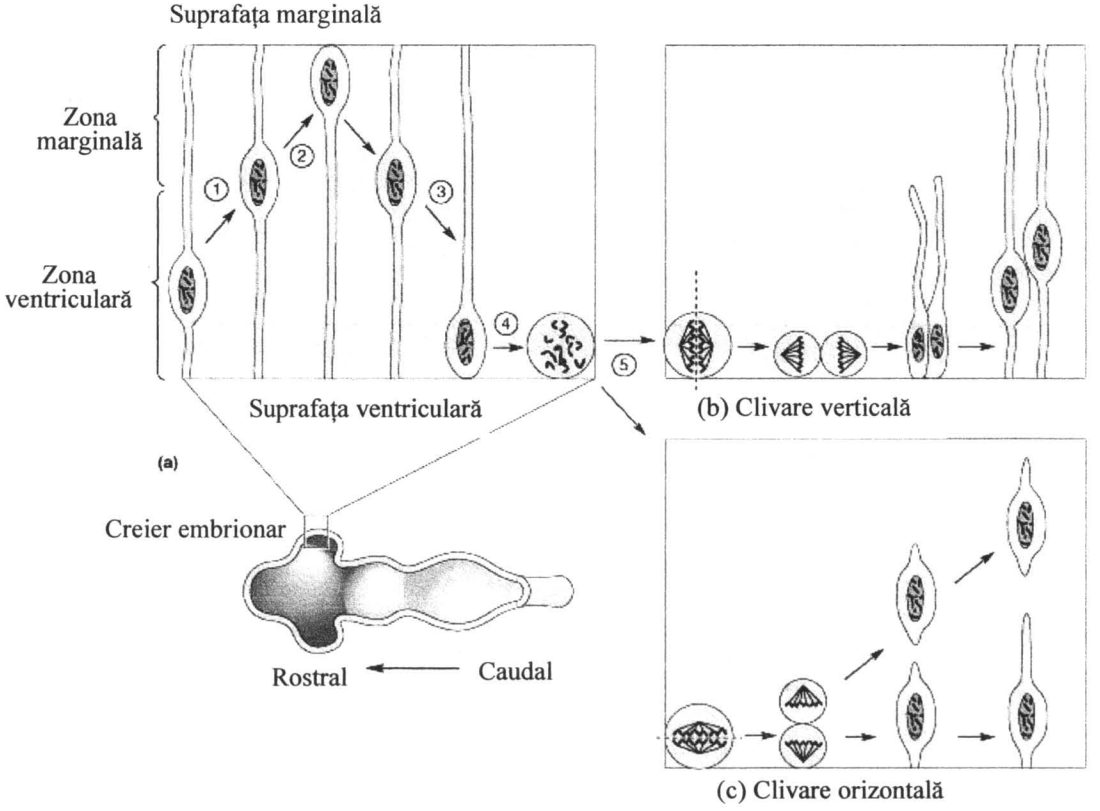


Figura 6.4 (a) Peretele „creierului embrionar" conţine iniţial două straturi: unul marginal şi unul ventricular. Fiecare celulă din stratul ventricular trece prin etapele diviziunii mitotice: G1 (1), S (2), G2 (3), M (4 şi 5) numerotate de la stânga la dreapta. Destinul celulelor fiice depinde de planul de scindare al diviziunii. (b) Prin scindare verticală cele două celule rămân în stratul ventricular şi continuă diviziunea. (c) Prin scindare orizontală, celula dinspre interior se desprinde, nu se mai divide şi migrează. (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

MIGRAREA NEURONILOR

Migrarea este etapa de deplasare a celulelor din zona de proliferare la destinaţia finală. Celulele migrează de la zona ventriculară către cea marginală (Fig. 6.5).

Primii neuroni diferenţiaţi în timpul fazei de proliferare, staţionează şi vor forma zona *intermediară*, îngroşând cortexul. La acest nivel, neuronii nu proliferează.

După formarea zonei intermediare, neuronii se reîntorc spre stratul ventricular, dar formează un strat *subventricular* în care continuă să prolifereze, formând interneuronii şi celulele gliale ce vor intra în structura prozencefalului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Aceste celule se numesc *radiale* (Fig. 6.5) au rol în direcţionarea migrării finale a neuronilor, deoarece trimit *procese radiale* la suprafaţa creierului. În general neuronii migrează de-a lungul acestor celule, dar şi tangenţial, la unghi drept faţă de ele. După ce neuronii ajung la destinaţia finală, aceste celule radiale se divid mitotic de 2 ori şi se diferenţiază în ***astrocite***.

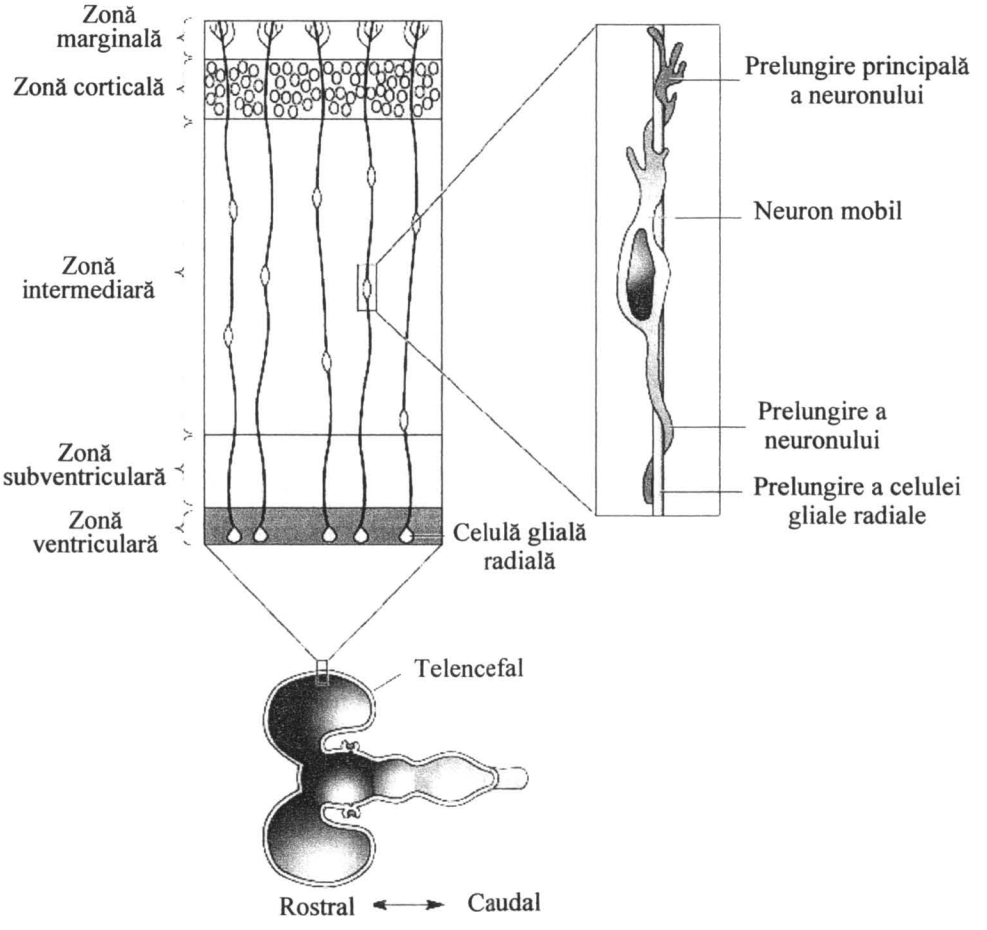


Figura 6.5 Migrarea neuroblaştilor către zona corticală. Regiunea mărită arată o celulă glială radială pe care îşi ghidează prelungirile un neuroblast (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

În cazul celulelor din crestele neurale, ce se vor diferenţia în sistem nervos periferic, migrarea este direcţionată de mediul prin care călătoresc, şi nu de informaţia genetică continută după diferenţiere. În această etapă, celulele transplantate dintr-o parte în alta a crestei neurale, adoptă ruta caracteristică a noii locaţii, pe baza substanţelor chimice din mediu, care pot atrage sau respinge neuronii.

În prozencefal, noi celule încep să migreze prin aceste straturi, şi vor forma un strat denumit **cortical,** ce va forma cortexul cerebral. Neocortexul este format din 6 straturi. Primele celule care ajung sunt cele din stratul profund, VI, celelalate celule

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

vor trebui să migreze printre ele. Această caracteristică a dezvoltării sistemului nervos, de a forma prima dată stratul profund este denumită ***de la interior spre exterior*** (Fig. 6.6).

În timpul dezvoltării există posibilitatea ca o parte din celule să migreze greşit, şi atunci, aceste celule sunt programate să moară, degenerează. Dacă nu degenerează, apar anormalităţi cum ar fi absenţa unor regiuni corticale, absenţa circumvoluţiunilor, evenimente din săptămânile 13 – 15. Copii cu astfel de anomalii sunt retardaţi mental.

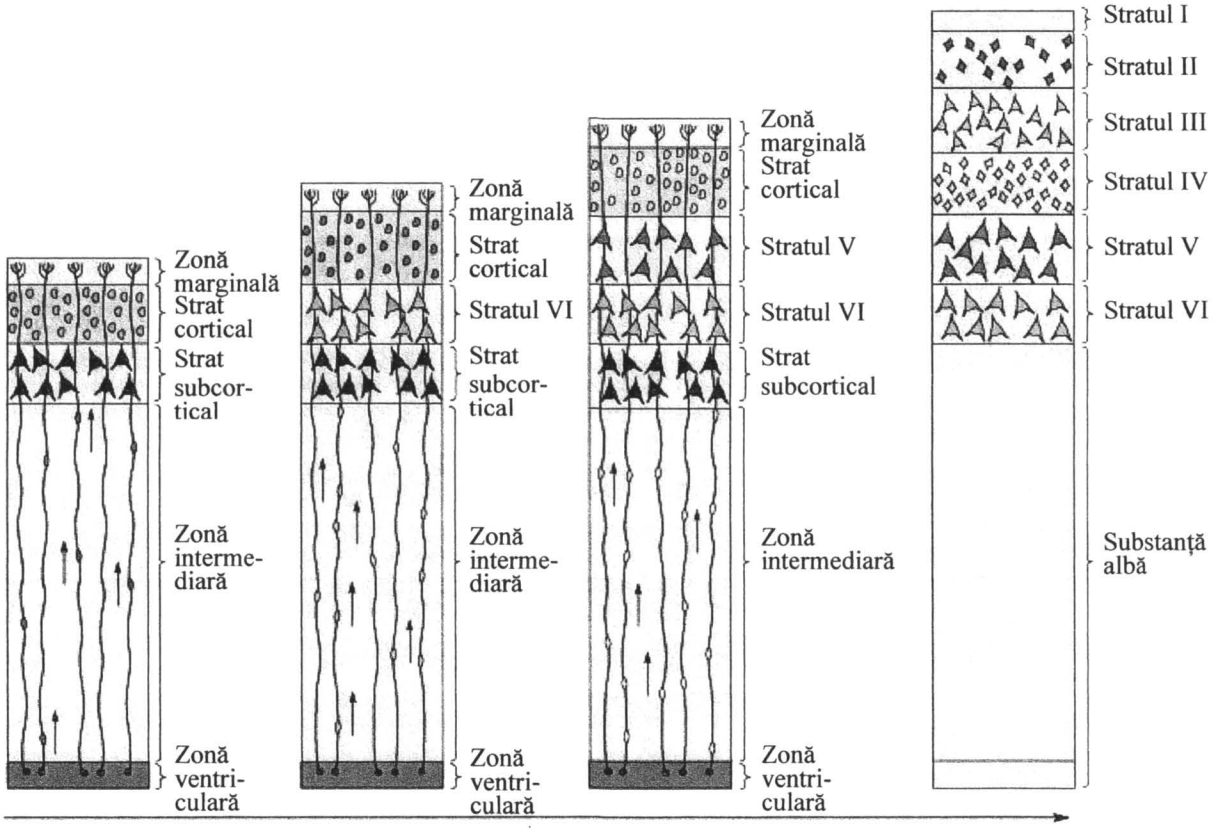


Figura 6.6 dezvoltarea cortexului dinsre interior spre exterior. Primele celule care migrează sunt cele care formează regiunea subcorticală. Pe măsură ce aceste celule se diferenţiază în neuroni, neuroblaştii programaţi să ajungă în stratul VI migrează printre şi se localizează imediat superior unde se concentrază şi formează un nou strat, stratul V. Procesul se continuă până când apar cele 6 straturi. După ce cortexul s-a format şi neuronii s-au diferenţiat, stratul subcortical dispare. (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Când s-a terminat migrarea celulelor din zona venticulară spre zona corticală, celulele rămase în zona ventriculară se diferenţiază în celule ependimale ce căptuşesc ventriculii cerebrali şi canalul vertebral.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

AGREGAREA NEURONILOR

După migrarea neuronilor în poziția finală, neuronii aderă de neuroni similari (celule de același tip), cu care vor forma mai târziu unități funcționale cum ar fi nucleii talamici.

Recunoașterea celulelor se face pe baza moleculelor de adezivitate celulară (N-CAM) prezente în membrana celulară. Principiul este asemănător sistemului imun, care deosebește celulele self de cele non-self.

DIFERENȚIEREA CELULARĂ

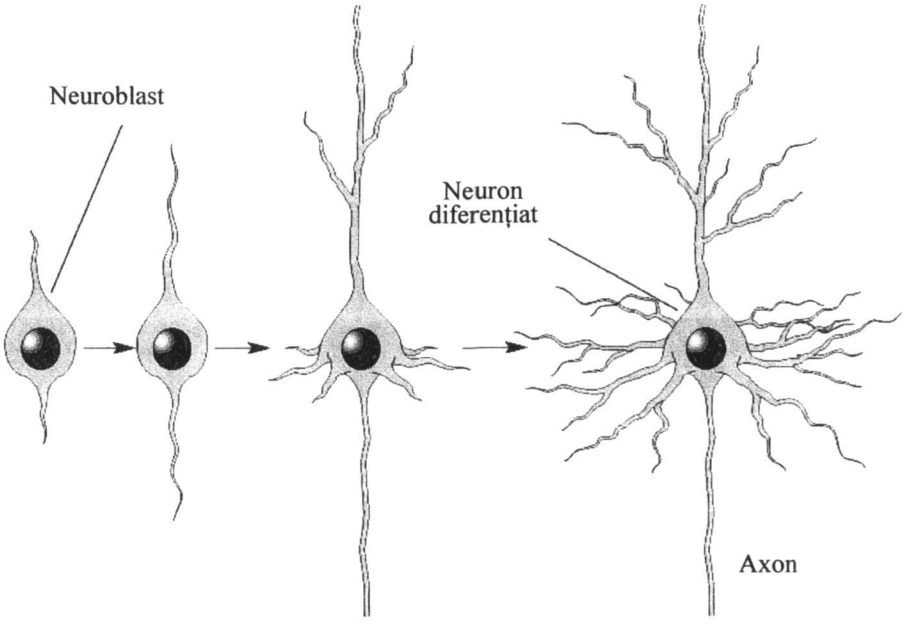


Figura 6.7 Diferențierea neuronilor din stadiul de neuroblast până la forma adultă, cu prelungiri specializate funcțional (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Este procesul prin care neuronul ajunge la o anumită mărime, formă, poziție, conexiuni și stabilește modul de transmitere a mesajelor: inhibitor sau excitator.

Începe devreme în dezvoltarea embrionară, în prima fază a proliferării. Diferitele populații de celule au momente de timp diferite de începere și terminare a proliferării. Sincronizarea acestor evenimente, în cazul unei populații de celule, influențează localizarea și funcțiile celulare. *Exemplu*: celulele din stratul VI al cortexului, sunt primele care își opresc proliferarea.

Regula valabilă pentru toate structurile este: ***celulele destinate unei poziții similare sunt diferențiate în același timp***.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Următoarea etapă în diferențiere este decizia neuronului de a folosi un anumit neurotransmițător, care depinde de:

- timpul de stopare a proliferării
- celulele din mediul înconjurător.

Experiment: neuroni tineri ai tubului neural, care în mod normal ar deveni noradrenergici, au fost transplantați în trunchiul cerebral în timpul dezvoltării şi au devenit colinergici. Neuronii au capacitatea de a sintetiza câțiva neurotransmițători, iar mediul înconjurător, în care se fixează în timpul diferențierii, va determina care neurotransmițător va fi produs.

FORMAREA CIRCUITELOR: AXONI ŞI SINAPSE

CREŞTEREA AXONILOR

Un neuron va forma dendrite şi axoni numai după ce ajunge în poziția finală. Creşterea inițială a acestor extensii celulare este determinată genetic, deoarece nu se modifică în experimente de inversare a locației celulelor.

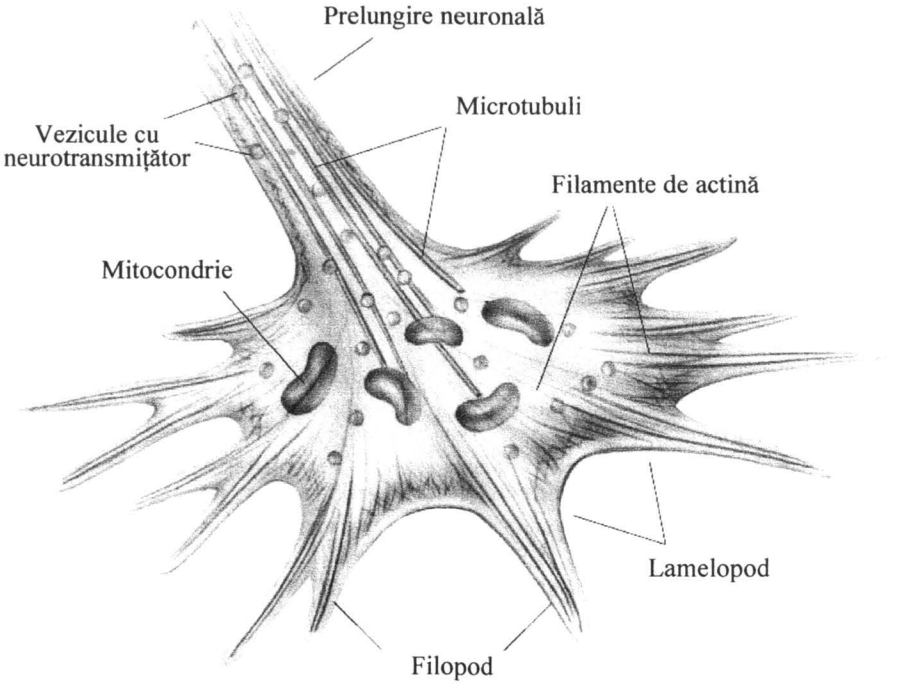


Figura 6.8 Conul de creştere axonală (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Traiectoria unui axon nu e o linie dreaptă sau curbă, ci apare împărțită în segmente scurte ce cresc brusc, astfel încât axonii ajung la țintă din aproape în aproape.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Creşterea dendritelor şi a axonilor este influenţată de numeroşi factori din mediul înconjurător: mecanici şi chimici. *Exemplu:* în neuronii tineri, creşterea axonului depinde de contactele cu anumite suprafeţe: neuronale sau matricea extracelulară.

Capătul de creştere al axonilor (Fig. 6.8) derivă din extensii ale membranei, denumite *filopode*, care se întind şi se retrag, explorând mediul şi căutând suprafaţa de care trebuie să adere. Această creştere direcţionată depinde de *atractanţi* şi *repelenţi*, substanţe chimice care atrag şi resping axonul (Fig. 6.10).

O altă modalitate de creştere axonală este *fasciculare*a (Fig. 6.9), care reprezintă tendinţa axonilor de a creşte de-a lungul căilor stabilite de predecesorii lor.

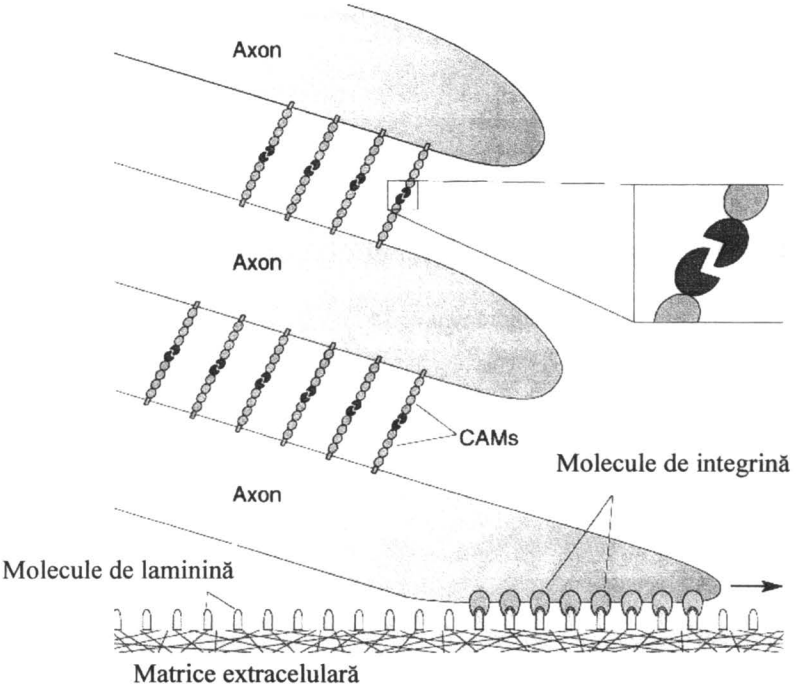


Fig. 6.9 Fasciculare presupune formarea axonilor în direcţia prestabilită de un alt neuron, al cărui axon îşi „găseşte drumul" prin interacţia cu moleculele de laminină ale matricei extracelulare. Axonii interacţionează prin intermediul moleculelor CAM (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Substanţele care atrag axonul difuzează, formând un gradient de concentraţie (Fig. 6.10), astfel încât axonul creşte spre concentraţii mai mari. *Exemplu*: factorul de creştere neuronală (NGF) injectat în creierul şobolanilor, unde nu există în mod normal, fiind secretat de periferie, a determinat neuronii senzitivi din ganglionii spinali să trimită axonii periferici spre creier, când traseul normal este către periferie (experimentul Ritei Levi-Montalcini, pentru care a primit Premiul Nobel).

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

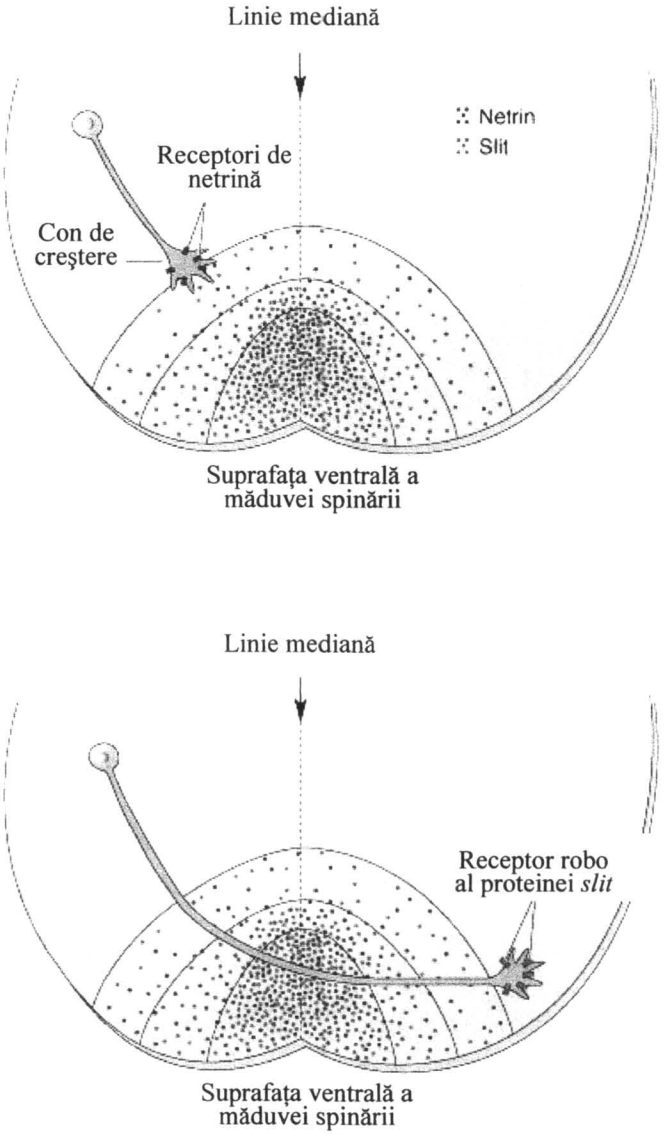


Figura 6.10 Ipoteza chemoafinităţii. Neuronii regiunii mediane secretă două proteine: netrina şi slit. Neuronii ce conţin receptorii pentru aceste proteine se orientează spre regiunea cu concentraţia cea mai mare de molecule. (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Substanţele repelente inhibă creşterea axonală, şi sunt distribuite în jurul axonului, astfel încât nu îi oferă decât o singură cale de creştere.

Alte substanţe implicate în creşterea axonală sunt: CAM, factorii neurotrofici secretaţi de creier (BDNF) şi de celulele gliale (GDNF), factorul de diferenţiere colinergică, etc.

Alte experimente (Fig. 6.11):

- rotirea ochiului de broască, cu 180° în diferite etape de dezvoltare embrionară:
  - fără tăierea nervului optic, câmpul vizual este rotit cu 180°,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- cu tăierea nervului optic, inițial se instalează orbirea, după care nervul regenerează şi are acelaşi efect de inversare a câmpului vizual, deci axonii au migrat către aceleaşi situsuri sinaptice, inițiale.

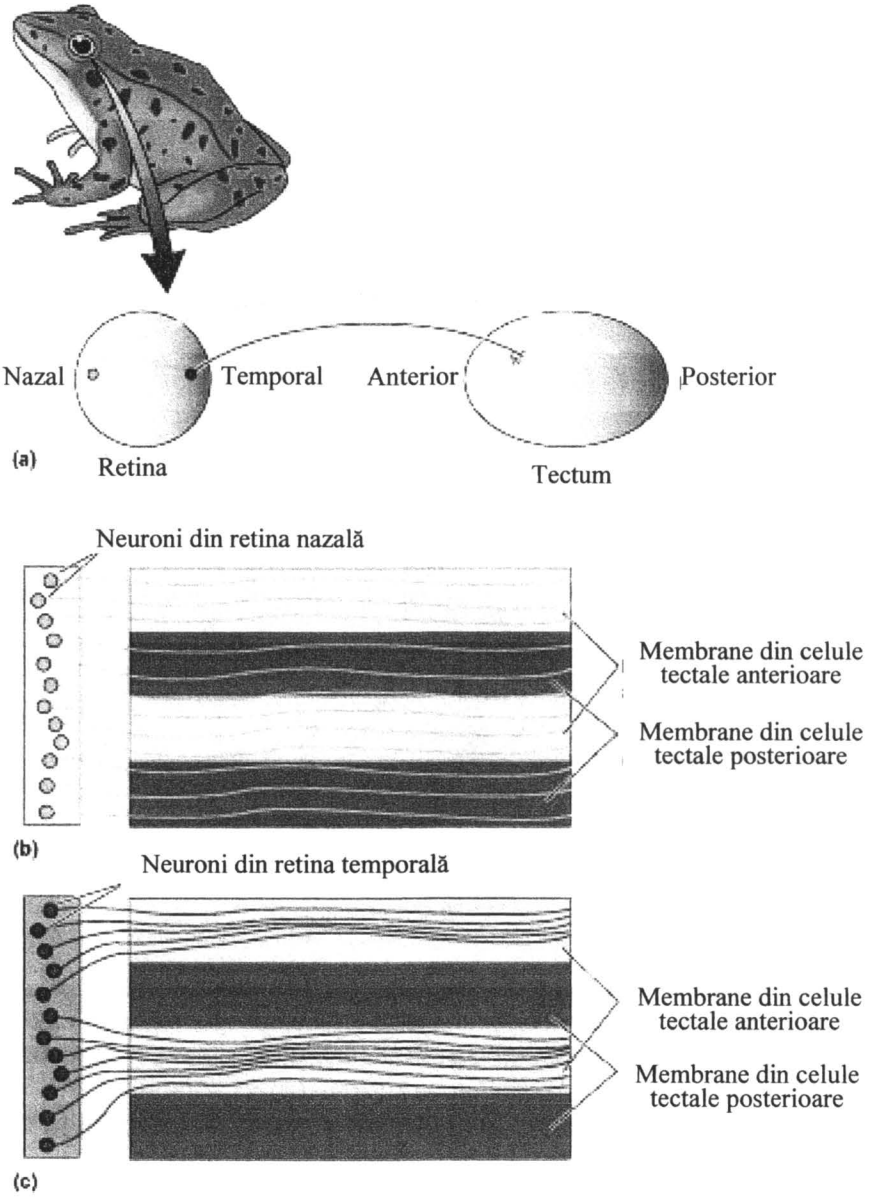


Figura 6.11 Figura indică proiecția retinotopică a imaginii, de la retină la nivelul tectumului, astfel că retina nazală se proiectează posterior, în timp ce retina temporală se proiectează anterior. În imaginile (a) şi (b) este reprezentat un experiment în care s-au izolat membrane celulare din tectumul anterior şi respectiv posterior. Neuronii din retina nazală trimit proiecții în mod egal către ambele tipuri de membrane. Neuronii din retina temporală se orientează numai spre regiunea anterioară. Acest experiment arată că neuronii sunt programați să recunoască o regiune specifică spre care cresc, chiar dacă poziția acesteia s-a modificat (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

FORMAREA SINAPSELOR

Fiecare tip de neuroni din sistemul nervos central este capabil să formeze sinapse, cu un număr redus de tipuri celulare (Fig. 6.12). Majoritatea sinapselor în neocortex apar după naştere. Cu puţin timp înainte de naştere însă, cortexul începe să formeze numeroase sinapse, proces urmat de reducerea numărului lor, până ajung la numărul sinapselor din organismul adult.

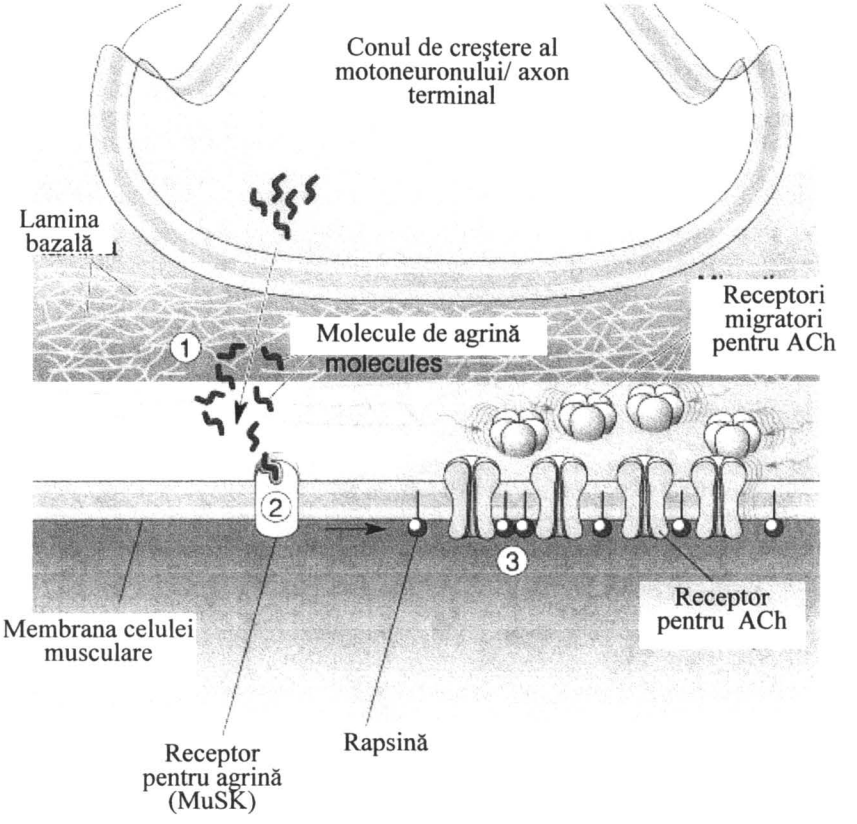


Figura 6.12 Formarea sinapsei neuro-musculare are câteva etape: neuronul motor secretă agrina în lamina bazală. Agrina interacţionează cu receptorul său (MuSK) din membrana celulei musculare, interacţie care va induce aglomerarea receptorilor nicotinici la acel nivel, prin intermediul proteinei denumită rapsină. (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Iniţial s-a presupus că sinapsele se formează pe măsură ce se dezvoltă comportamentele, şi anume că s-ar forma mai repede în ariile senzitive decât în cele cognitive (capacitatea de a vedea comparativ cu capacitatea de a planifica). Ulterior s-a demonstrat că formarea sinapselor este similară pentru fiecare arie studiată.

Formarea sinapselor începe din luna a 6-a, embrionară şi continuă până la 1 an. În această perioadă, fiecare arie trece printr-o etapă în care sinapsele sunt în exces, urmată de o reducere masivă de sinapse în primul an, şi din ce în ce mai puţin în anii urmatori.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Ariile corticale au timpi diferiți de organizare a sinapselor: aria vizuală şi auditivă ating nivelul final al sinapselor în copilărie, între 2 – 6 ani. În girusul frontal median, nivelul adult se atinge în adolescență. Aceste momente sunt dependente de experiența şi de evenimentele înconjurătoare.

APOPTOZA ŞI RAFINAREA SINAPSELOR

Apoptoza este moartea programată a celulelor, reglată genetic. Este o etapă foarte importantă în dezvoltarea embrionară. Procesul permite eliminarea neuronilor conectați greşit sau redundant, până când reşelele neuronale se ajustează corespunzător ariei controlate.

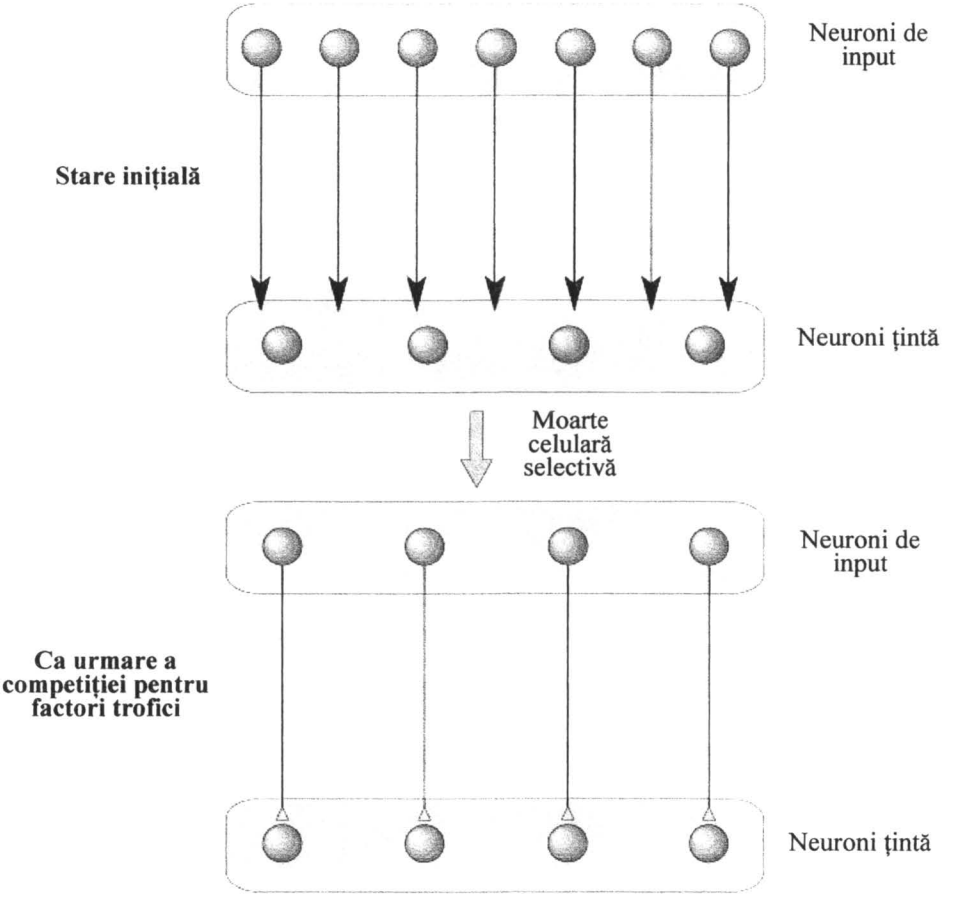


Figura 6.13 Competiția neuronilor pentru factorii trofici secretați de țintă. Supraviețuirea neuronilor depinde de aceşti factori trofici, care sunt prezenți în concentrație foarte mică (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

Unii neuroni motori mor înainte de diferențiere, alții după diferențiere, deoarece supraviețuirea depinde de factori secretați de organul țintă (Fig. 6.13). Prin urmare, numai neuronii conectați corect vor supraviețui.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Experiment: grefarea unui al treilea picior în stare embrionară reduce numărul de celule apoptotice în măduva spinării, deoarece celulele au găsit o țintă care le asigură supraviețuirea.

Dezvoltarea sinapselor neuro-musculare este foarte activă şi înainte de naştere, deoarece fătul îşi mişcă membrele, respiră, înghite, întărind anumite sinapse. Contracţia muşchilor la un anumit moment va determina neuronii motori să elimine anumite celule. Daca muşchii sunt paralizaţi, membrul devine puternic inervat, deoarece molecula de recunoaştere a ţintei este receptorul nicotinic (Fig. 6.14). În muşchiul paralizat, receptorul şi factorii stimulatori sunt păstraţi, prin urmare apoptoza este împiedicată.

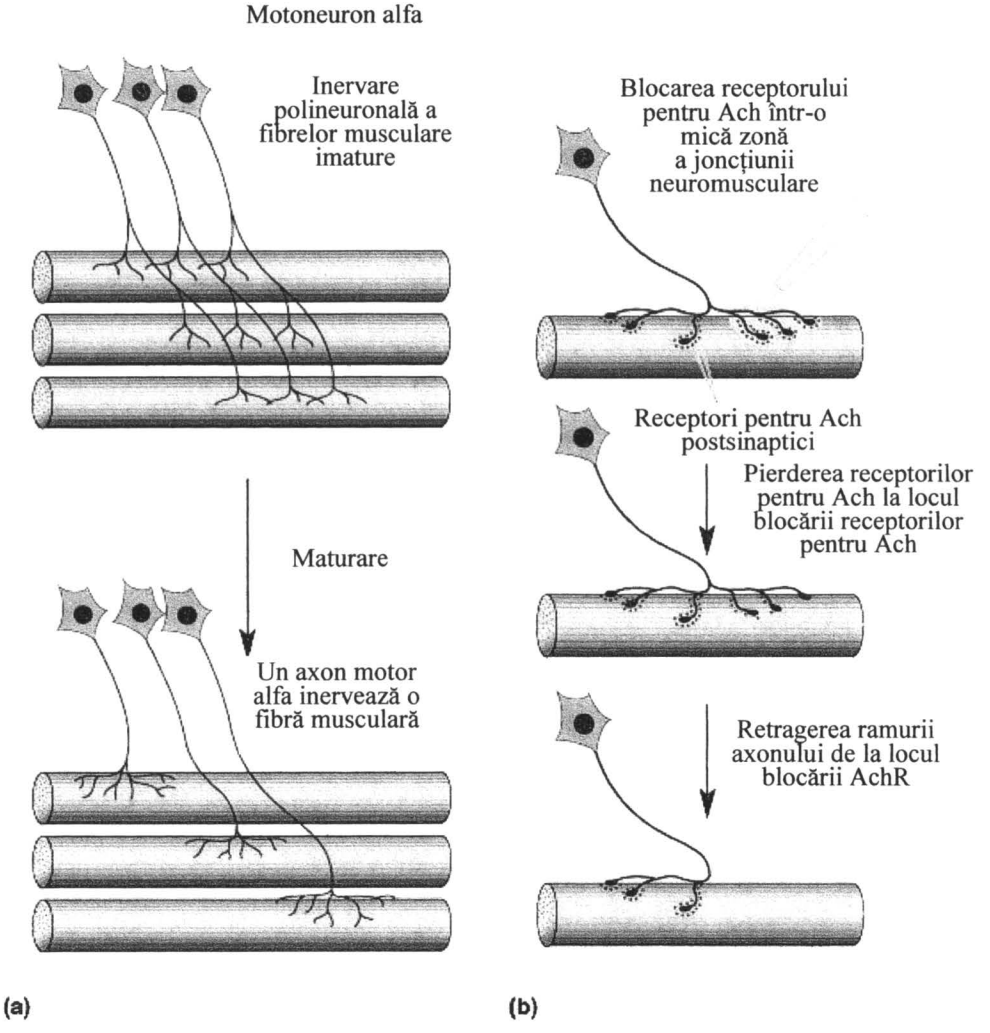


Figura 6.14 Eliminarea sinapselor. Iniţial, fiecare fibră musculară primeşte sinapse de la mai mulţi motoneuroni, dintre care numai unul va fi păstrat. Pierderea receptorilor nicotinici din membrana postsinaptică duce la dispariţia ramificărilor axonale. Experimental aceasta se poate demonstra prin aplicarea α-bungarotoxinei, care blochează receptorul nicotinic, şi terminaţiile axonale se reformează. (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

DEZVOLTAREA POSTNATALĂ

La naştere, creierul reprezintă 25% din greutataea creierului adult, şi la 2 ani atinge 75%. Deoarece diviziunea neuronilor s-a oprit, această creştere se explică prin:

- creşterea dimensiunii neuronilor,
- creşterea numărului de conexiuni,
- a numărului de celule gliale,
- a gradului de mielinizare.

Un exemplu de rearanjare al sinapselor (Fig. 6.15B) ar fi modificarea distribuţiei sinapselor, deşi numărul este acelaşi.

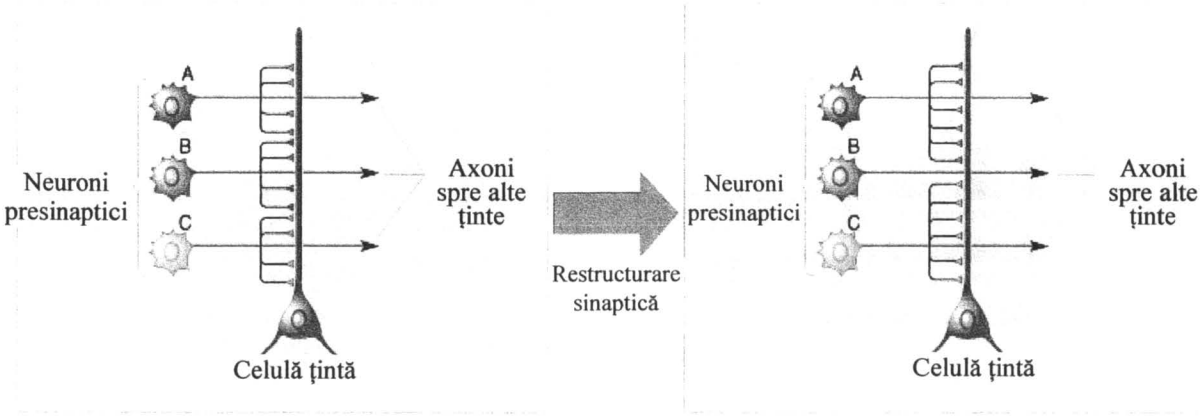


Figura 6.15 Rearanjarea postnatală a sinapselor
(http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

După naştere, programul genetic începe să interacţioneze cu mediul înconjurător, din care cele mai importante informaţii sunt: senzitive şi cognitive, informaţii care vor determina modificarea eficienţei sinaptice şi formarea dendritelor.

INFORMAŢIILE SENZITIVE:

Sunt oferite sub forma a două exemple:

- în timpul copilăriei, cei doi ochi competiţionează pentru conexiunile dendritice din stratul IV al cortexului vizual primar, astfel încât acoperirea ochiului drept duce la pierderea stimulării vizuale a acestui ochi. Ochiul stâng va domina în cortexul vizual primar, astfel că se elimină proiecţiile corticale ale ochiului drept, cu instalarea orbirii acestuia;

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- mustăţile şoarecelui au un rol tactil foarte important, dând informaţii despre spaţiu şi mişcare. Îndepărtarea unui rând de mustăţi duce la diminuarea şi pierderea funcţiei celulelor corticale care le inervau, iar celulele învecinate îşi lărgesc reprezentarea corticală. Experimentul demonstrază plasticitatea SNC.

Un caz patologic uman este *astigmatismul* (curbura anormală a corneei) necorectat prin ochelari, ce determină o imagine înceţoşată pe direcţia afectată. Măsurarea activităţii neurale prin electroencefalogramă (EEG) de înaltă rezoluţie arată că potenţialele evocate în cortexul vizual sunt mai mici pe această direcţie.

Reorganizarea sinapselor este un proces ce apare la orice vârstă. *Exemplu*: cazul membrului fantomă, în care deşi o mână a fost amputată, subiectul afirmă existenţa unor senzaţii la nivelul ei. Explicaţia este că faţa este inervată de o zonă localizată lângă reprezentarea corticală a membrului lipsă. Atingerea feţei induce activitate şi în zona corticală alăturată, astfel încât activitatea este percepută ca o senzaţie în membrul fantomă: furnicături, durere, în funcţie de intensitatea activităţii.

Copiii crescuţi în orfelinate, care sunt lipsiţi de informaţii senzitive şi emoţionale, sociale, se dezvoltă mai greu, vorbesc mai greu, învaţă să meargă în jurul vârstei de 3 ani, deoarece muşchii nu sunt stimulaţi.

INFORMAŢII COGNITIVE

Experimental, s-a observat că şobolanii crescuţi într-un mediu plin cu jucării, cuşti şi alţi sobolani, şi-au dezvoltat capacitatea de a explora, şi supuşi unor teste, performanţele lor au fost mult mai bune.

Autopsia acestor animale a arătat că:

- anumite regiuni corticale sunt mai bine dezvoltate şi un neuron stabileşte mai multe sinapse
- spinele dendritice şi ramificările sunt mai numeroase şi mai lungi
- fluxul sanguin e mai puternic în anumite regiuni unde apar noi vase de sânge.

Un alt exemplu îl dau muzicienii. Violoniştii, au o reprezentare corticală a mâinii stângi mult mai largă decât a mâinii drepte, deoarece mâna stângă realizează mişcări mai fine şi mai complexe. Reprezentarea corticală este cu atât mai mare cu cât cariera a început înainte de vârsta de 10 ani.

Deşi creierul devine mai puţin plastic cu înaintarea în vârstă, este capabil de reorganizarea sinapselor şi este capabil să înveţe.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

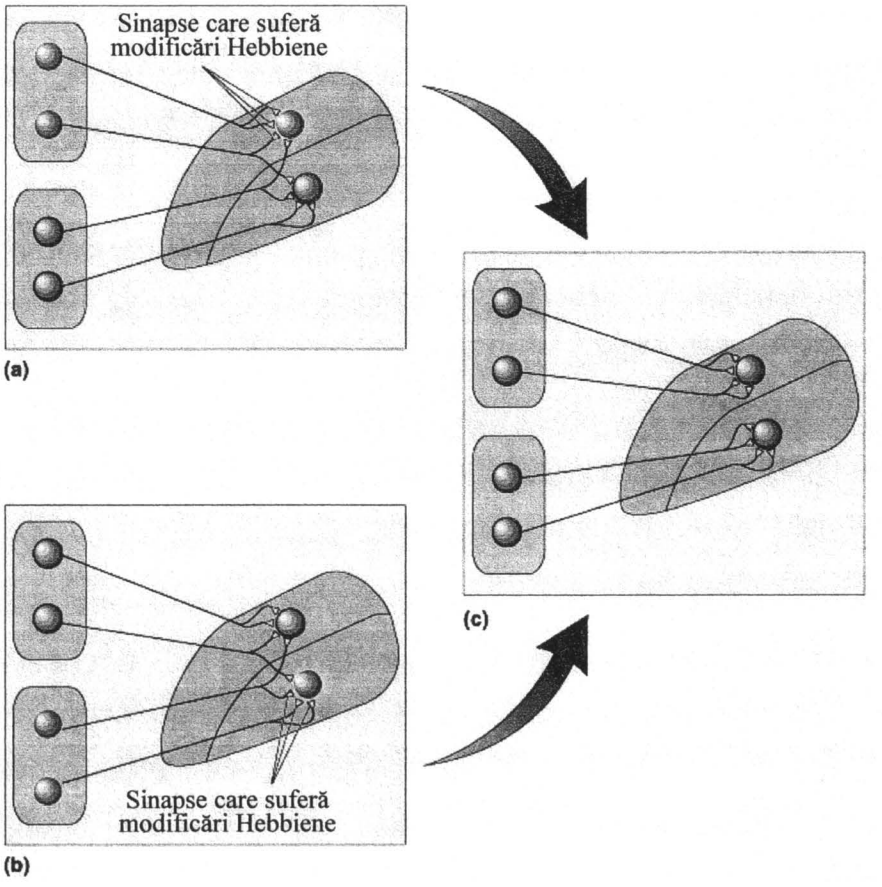


Figura 6.16 Palsticitatea sinapsei Hebb. În imagine sunt reprezentaţi doi neuroni din nucleul geniculat lateral al talamusului, care primesc iniţial aferenţe de la cei doi ochi, suprapuse (a şi b), dar ulterior se separă sub influenţa activităţii, devenind monooculari (c) (http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320/24a.html)

DEZVOLTAREA GÂNDIRII

Procesele psihice şi mentale se dezvoltă între 10-20 de ani, şi depind puternic de experienţele trăite, de momentul la care le trăim, şi de modul în care le integrăm.

Dezvoltarea emoţională, cum ar fi ataşamentul copiilor faţă de părinţi depinde de experienţă. Grija, responsabilitatea şi sensibilitate părintilor se răsfrâng în comportamentul copiilor astfel: au mai multă încredere în ei înşişi, sunt mai deschişi la confidenţe în faţa părinţilor, mai maturi în relaţiile sociale şi au avantaje intelectuale. Limbajul este de asemenea dependent de mediul în care trăieşte copilul, dar are şi o componentă independentă de condiţiile socio-culturale: capacitatea de a deosebi sunetele vorbirii unei limbi străine apare în primele 6 – 12 luni de viaţă.

La jumătatea adolescenţei sinapsele cortexului prefrontal încep să scadă. Oamenii de ştiinţă consideră că aceasta este o altă regulă a organizarii SNC, şi

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

anume, dezvoltarea mentală se face prin crearea de noi sinapse, care să definitiveze rolul cortexului prefrontal în rezolvarea problemelor şi realizarea funcţiilor executive ca memoria de lucru şi planificarea comportamentului.

ÎMBĂTRÂNIREA ŞI INFLUENŢA SA ASUPRA CREIERULUI

Vârsta medie a mamiferelor este proporţională cu mărimea animalului, ritmul respirator şi cardiac. Omul trăieşte de 3 ori mai mult decât ar trebui, deşi ritmurile sunt corect corelate cu dimensiunea.

Studiile legate de efectul îmbătrânirii s-au dezvoltat de îndată ce au apărut tehnologiile moderne, care permit explorarea în profunzime a structurii şi funcţiilor creierului. Statisticile din trecut nu pot fi folosite din mai multe motive, dintre care media de viaţă, care a fost scăzută în secolul XIX, în jur de 47 de ani. Igiena şi noile medicamente descoperite au dus la creşterea mediei de viaţă până la cel puţin 75 de ani.

În plus, foarte mulţi artişti şi savanţi au devenit prolifici în a doua jumătate a vieţii: Picasso, Einstein, Verdi, ceea ce contrazice părerea multor oameni că îmbătrânirea duce la scăderea sau pierderea capacităţilor cognitive.

În prezent, neurobiologii consideră că starea de sănătate a creierului nu este afectată de îmbătrânire, dar bolile sunt cauza pierderii memoriei, a intelectului, a fluenţei verbale, etc. De aceea, se urmăreşte accentuarea diferenţei dintre îmbătrânire şi efecte ale bolilor asupra sistemului nervos, boli ca: demenţa senilă, Parkinson, accidentele vasculare, ateroscleroza etc.

Unele schimbări se produc, dintre care cel mai des se menţionează următoarele:

- creierul se micşorează şi pierde din greutate şi volum
- neuronii pierduţi sunt înlocuiţi cu astrocite fibroase
- încetinirea proceselor fiziologice ce afectează viteza de răspuns
- demielinizarea contribuie la scăderea funcţiilor cognitive, în special în lobul frontal, implicat în rezolvarea problemelor
- scade cu 30% densitatea receptorilor NMDA, implicaţi în memorie şi învăţare.

Pierderea neuronală nu este un proces tipic îmbătrânirii. Creierul atinge mărimea maximă în jurul vârstei de 20 de ani, după care pierde constant 10 % pe toată durata vieţii. De aceea, scăderea numărului neuronilor nu este o consecinţă a îmbătrânirii.

La orice vârstă, după pierdera axonală, neuronii sunt capabili să refacă sinapsele, din moment ce corpul neuronal este intact. Pot creşte atât dendritele cât şi axonii. Dacă neuronii sunt complet distruşi, neuronii învecinaţi, care supravieţuiesc, pot compensa parţial absenţa lor, prin stabilirea de noi sinapse.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Până la vârsta de 70 de ani, abilităţile verbale nu sunt afectate: vocabularul se îmbogăţeşte, deşi vorbirea poate deveni mai lentă, înţelegerea vorbirii, recunoaşterea similarităţilor nu sunt afecate. Performanţele persoanelor în vârstă sunt la fel ca ale celor tineri, reducerea vitezei de reacţie fiind compensată de experienţă.

Cauzele genetice sunt cele mai probabilce cauze ale îmbătrânirii, la care se adaugă stilul de viaţă:

- activarea unor gene la anumite momente de timp
- alterarea programului genetic, astfel încât încep să se exprime proteine inactive sau dăunătoare,
- reducerea numărului de proteine ce funcţionează corespunzător
- implicarea sistmului imun în eliminarea proteinelor asamblae greşit şi instalarea maladiilor autoimune.

Activitatea intelectuală constantă a persoanelor în vârstă previne declinul cognitiv.

Cele mai multe observaţii privind îmbătrânirea provin din experimentele pe şobolani, pentru care s-a observat că scade capacitatea de orientare spaţială şi abilitatea de a procura hrana. Dacă şobolanii trăiesc într-un mediu stimulator, s-au observat următoarele modificări la nivelul sistemului nervos:

- dendritele neuronilor din cortexul cerebral sunt mai numeroase şi mai lungi,
- numărul sinapselor creşte prin exerciţii fizice,
- creierul se măreşte şi cortexul se îngroaşe,
- şobolanii bătrâni pot forma noi dendrite şi sinapse ca şi cei tineri, dar comparativ cu cei tineri, scade ritmul de formare de noi vase de sânge.

La ora actuală există nişte răspunsuri la nenumăratele întrebări. Se încearcă a se da răspunsuri la diferenţele pe sexe privind îmbătrânirea creierului, efectul hormonilor, relaţia dintre gene, proteinele exprimate şi rolul lor în sistemul de comunicare al creierului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

CAPITOLUL 7 METODE ŞI TEHNICI DE STUDIU ÎN NEUROBIOLOGIE

Studiul biologiei comportamentului se concentrează pe mecanismele nervoase ale comportamentului, dar ţine cont şi de evoluţia, baza genetică şi capacitatea de adaptare a proceselor comportamentale.

Neurobiologii experimentalişti se confruntă cu 2 probleme majore:

- metodele de studiu al sistemului nervos;
- metodele de studiu al comportamentului.

Majoritatea tehnicilor folosite pentru studiul creierului uman sunt însă folosite şi în scop clinic, pentru diagnosticare şi pentru tratament.

Un astfel de exemplu este cel al unui profesor în biopsihologie, căruia i s-a localizat o tumoare cerebrală la nivelul nervului auditiv vestibular drept (nerv VIII). Testele ce urmau să i se facă erau identice cu testele utilizate în propriul său laborator:

- măsurarea capacităţii de a detecta sunete de diferite amplitudini,
- măsurarea amplitudinii semnalelor electroencefalograma (EEG) evocate în cortexul auditiv de către zgomote mici prezentate unilateral, pe urechea dreaptă,
- injectarea în urechea dreaptă a unei cantităţi de apă din ce în ce mai rece, pentru testarea funcţiei vestibulare (echilibrul vestibular).

Toate aceste teste au indicat că nervul este deteriorat, şi ar trebui îndepărtat. În timpul operaţiei EEG s-a înregistrat continuu cu electrozi fixaţi pe scalp în dreptul cortexului somato-senzitiv, în timp ce pielea obrazului drept a fost ciupită. *De ce?* Pentru ca în timpul operaţiei să se realizeze un control permanent al activităţii nervului facial (VII) aflat în vecinătatea nervului VIII (acustico-vestibular).

Metodele de studiu al structurilor şi funcţiilor nervoase se pot împărţi în metode ***neinvazive***, în care dispozitivele de înregistrare sunt poziţionate în exteriorul organismului, astfel încât nici o structură nu este alterată, şi metode ***invazive*** în care dispozitivele de captare a semnalului sunt introduse în organism, cu alterarea ţesuturilor traversate.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

TEHNICI UTILIZATE "IN VIVO"

METODE NEINVAZIVE

TEHNICI DE IMAGISTICĂ CEREBRALĂ

Înainte de anii 1970, cercetările neurobiologice au fost încetinite de imposibilitatea obţinerii unor imagini ale activităţii creierului uman. Prima tehnică de vizualizare a creierului a folosit razele X. Principiul acestei tehnici este următorul: un fascicul de raze X este trimis printr-un "obiect" şi razele neabsorbite impregnează o placă fotografică. Fiecare moleculă prin care trece fasciculul absoarbe o parte din radiaţii, de aceea numai regiunile neabsorbite ale radiaţiei ajung la placa fotografică. Razele X sunt utile pentru fotografierea unor regiuni care diferă substanţial de mediul înconjurător prin gradul în care absorb razele X. *Exemplu*: diferenţa dintre un revolver şi hainele din valiza care îl înconjoară. Totuşi, între structurile sistemului nervos nu există diferenţe semnificative ale densităţii şi compoziţiei, de aceea un fascicul de raze X nu va transmite informaţii suficiente despre forma structurilor individuale (Fig. 7.1).

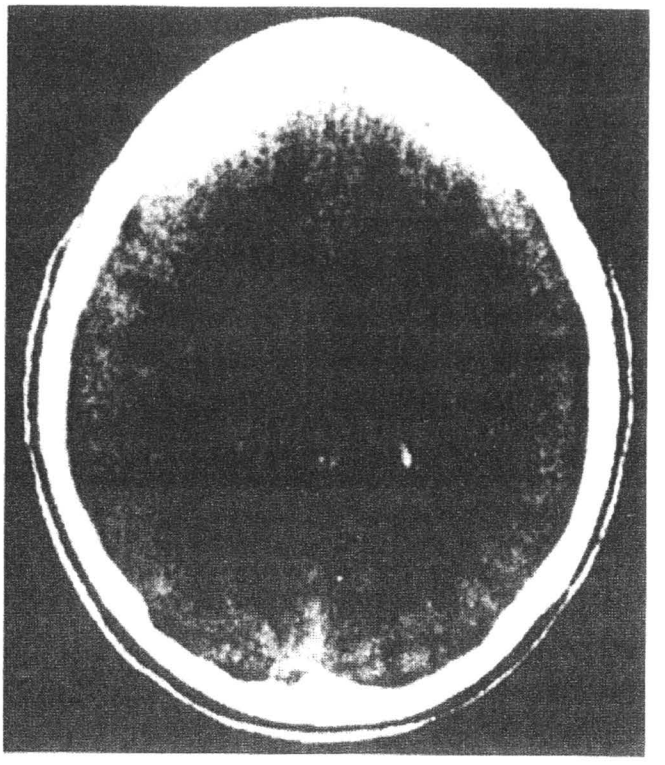


Figura 7.1 Imaginea unui creier normal preluată cu raze X. Figura prezintă în special craniul, deoarce ţesutul nervos nu are densitate mare şi nu blochează trecerea razelor X
(după Bloom, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Razele –X – tehnica de contrast

În următoarea etapă, fotografierea convențională cu raze X a fost îmbunătățită prin folosirea unei substanțe de contrast pentru vizualizarea creierului. *Metoda* presupune injectarea într-un compartiment al corpului a unei substanțe care absoarbe razele X într-o proporție mai mare decât mediul înconjurător. În acest fel, substanța va accentua contrastul dintre compartiment şi țesutul înconjurător la iradierea cu raze X.

Din punct de vedere clinic, o astfel de tehnică de contrast este **angiografia cerebrală**, prin care, în artera cerebrală se injectează o substanță radioopacă pentru a vizualiza sistemul circulator cerebral (Fig. 7.2). Această analiză este utilă pentru localizarea accidentelor vasculare. În plus, deplasarea vaselor de sânge de la poziția lor normală poate indica prezența unei tumori.

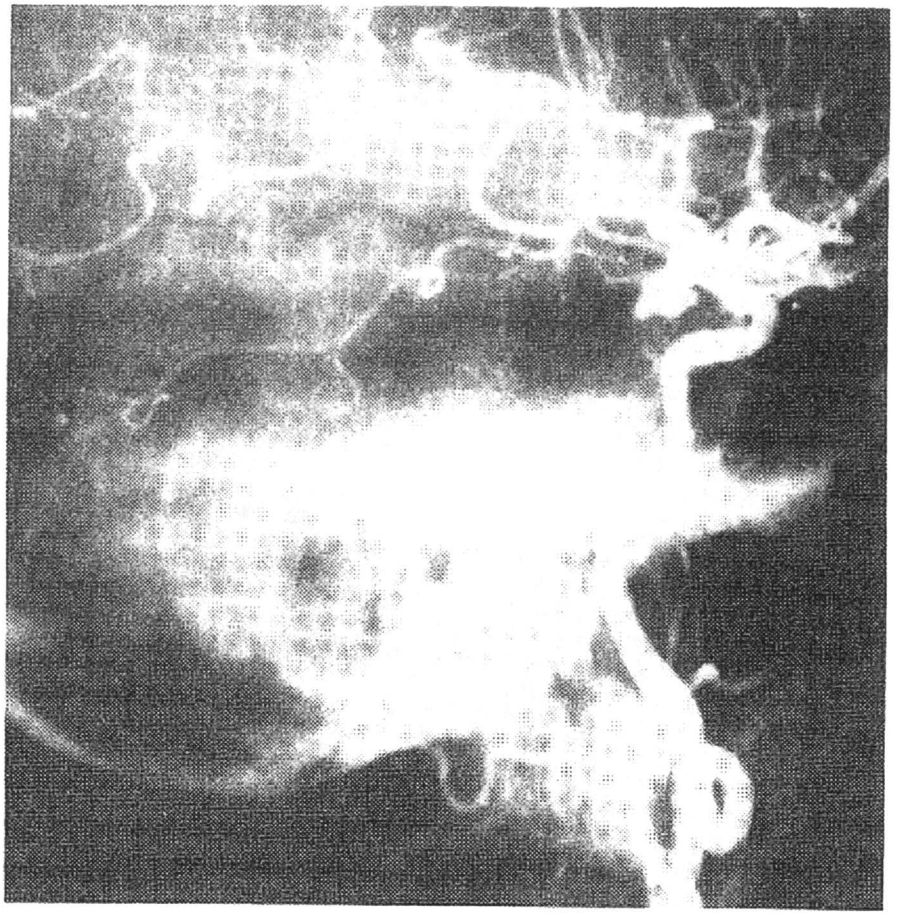


Figura 7.2 Angiogramă cerebrală a unui subiect normal. Vasele de sânge devin vizibile şi permit formarea unor repere pentru localizarea accidentelor vasculare (după Bloom, 2001)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tomografia computerizată cu raze X

La începutul anilor 1970, studiul structural al creierului uman în activitate a fost revoluționat prin introducerea ***tomografiei computerizate***. Tomografia computerizată este o procedură asistată de calculator ce utilizează razele X, folosită pentru vizualizarea creierului şi a altor structuri interne ale organismului viu. În timpul tomografiei computerizate, capul pacientului este poziționat în centrul unui cilindru (Fig. 7.3). Într-o parte a cilindrului se află un tub ce trimite fasciculul de raze X către cap. Razele sunt captate de un detector de raze X, montat pe partea diametral opusă. Ansamblul tub-detector se roteşte automat în jurul capului şi preia mai multe fotografii de la un singur nivel al creierului, din toate unghiurile. Fotografiile bidimensionale preluate sunt ulterior combinate cu ajutorul unui calculator, ce va genera o imagine a secțiunii transversale prin creier. Ulterior, ansamblul tub-detector se mişcă de-a lungul axei longitudinale a pacientului până la un alt nivel al creierului şi procesul se repetă. De la un pacient, se obțin în mod normal 8 sau 9 secțiuni orizontale ale creierului, care, prin combinare vor da o imagine tridimensională.

Este folosită pentru localizarea tumorilor, cheagurilor de sânge, hidrocefalia, dar şi a bolilor degenerative, cum ar fi *scleroza multiplă*.

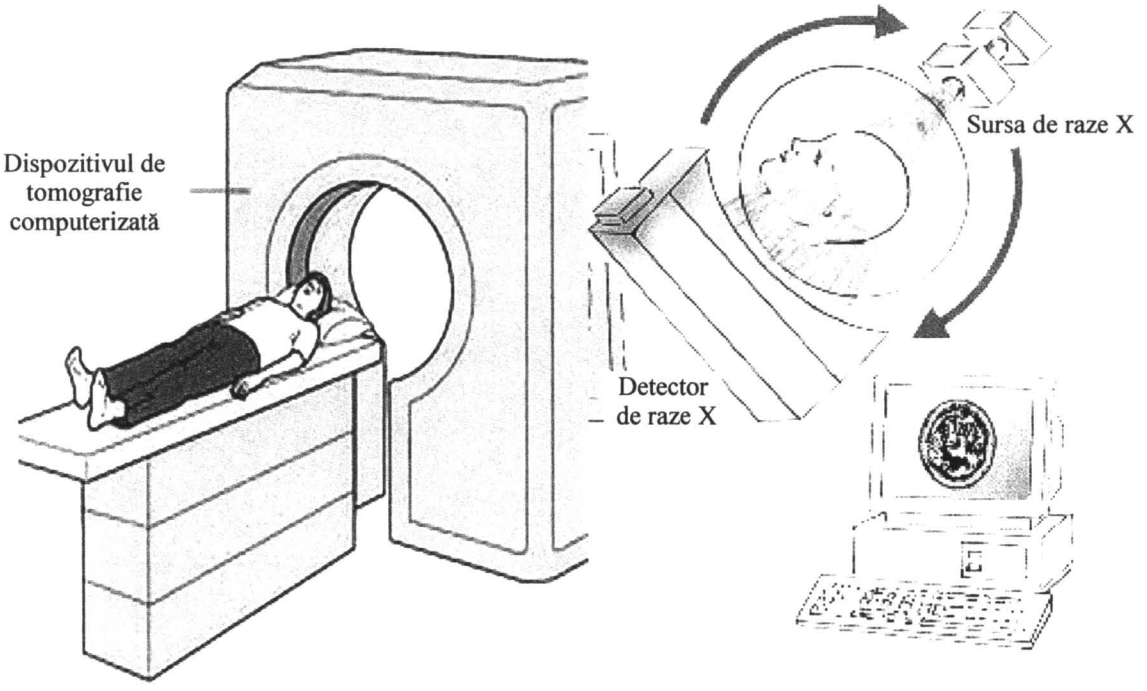


Figura 7.3 Tomografie computerizată (adaptare după Pinel, 2003)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Imageria prin rezonanță magnetică (RMI)

Descoperirea tomografiei computerizate a stimulat dezvoltarea altor tehnici care să furnizeze mai multe imagini ale structurilor interne. Printre aceste tehnici se află **imageria prin rezonanță magnetică** (RMI), procedeu prin care se obțin imagini tridimensionale de înaltă rezoluție, construite prin măsurarea undelor emise de atomii de hidrogen activați în cîmp magnetic. Dacă în aceste condiții se aplică unde de frecvență radio, hidrogenul va rezona şi va emite energie cu frecvențe diferite, în funcție de orientarea moleculei. Detectorul este astfel reglat pentru detectarea frecvenței moleculelor de hidrogen. Metoda oferă imagini mai clare ale creierului decât tomografia computerizată (Fig. 7.4), în care structurile sunt diferențiate pe baza concentrației diferite în particule de hidrogen.

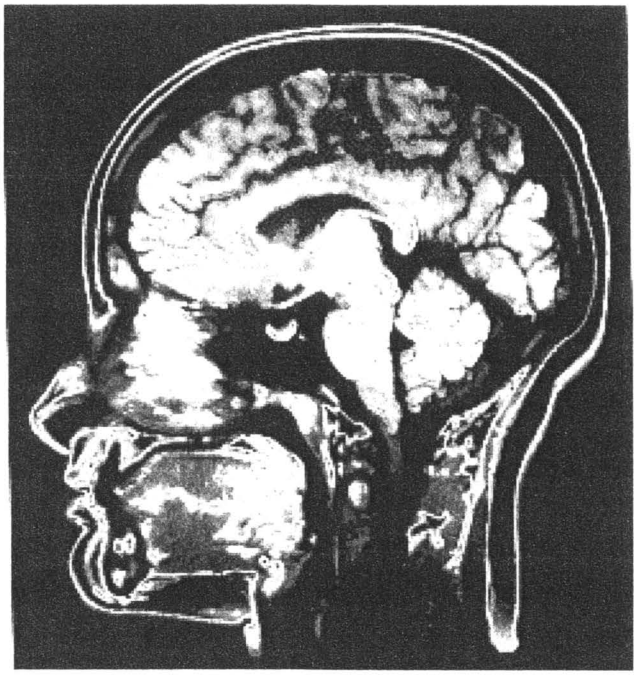


FIgura 7.4 Imaginea preluată prin rezonanță magnetică nucleară oferă mai bune detalii structurale ale creierului (după Pinel, 2003)

Tomografia cu emisie de pozitroni (PET)

PET este o tehnică de imagistică a creierului intens utilizată, deoarece oferă informații privind activitatea şi structura creierului. În versiunea cea mai cunoscută a PET, se injectează în artera carotidă a pacientului (arteră a gâtului ce conduce ipsilateral sângele spre emisferele cerebrale) ***2-deoxiglucoza*** marcată radioactiv. Datorită similarității cu glucoza, principalul suport metabolic al creierului, 2-deoxiglucoza este rapid preluată de neuronii activi. Spre deosebire de glucoză,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

2-deoxiglucoza nu poate fi metabolizată, de aceea se acumulează în neuronii activi până când este complet scindată. La trecerea unui fascicul de raze X, moleculele de 2-deoxiglucoză emit particule denumite ***pozitroni,*** captate de detector. Fiecare imagine PET indică nivelul de radioactivitate (printr-un un cod al culorilor) în diferitele părți ale unei secțiuni orizontale a creierului.

De exemplu: dacă în timpul scanării PET, un pacient citește timp de 30 de secunde, înregistrările vor indica cele mai active zone (Fig. 7.5). De obicei, se scanează câteva niveluri ale creierului pentru o determinare mult mai precisă a activității acestuia.

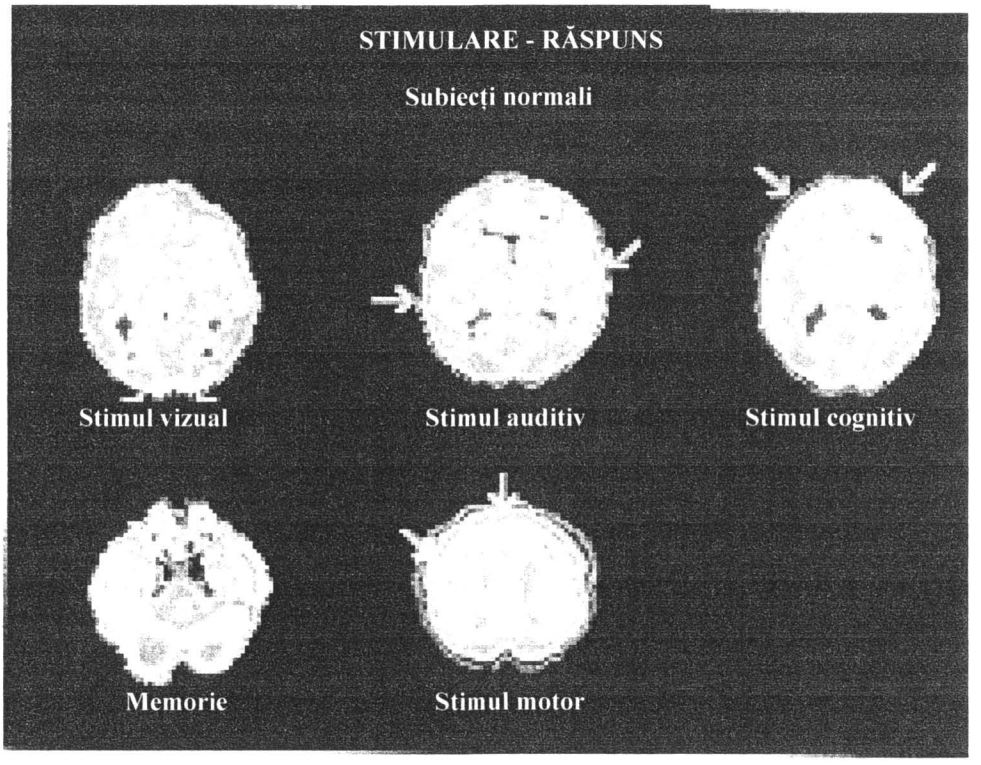


Figura 7.5 Serie de scanări PET. Fiecare scanare este o secțiune orizontală înregistrată în timpul unor activități fiziologice diferite. Regiunile gri, înconjurate de regiuni albe, au în realitate culoarea roşie şi inidcă zonele de activitate maximă (după Pinel, 2003)

Un alt avantaj al PET este creşterea fluxului sanguin în ariile active, deoarece neuronii activi eliberează oxidul nitric care acționează ca vasodilatator. În această situație se injectează apă marcată radioactiv în sistemul circulator cerebral, pacientul este supus anumitor activități, iar înregistrarea va indica ariile cu flux sanguin crescut.

Imaginile PET arată ca o hartă colorată, în care fiecare regiune poate fi asimilată unei structuri cerebrale.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Imageria prin rezonanţă magnetică funcţională (fMRI)

Această tehnică furnizează imagini pe baza creşterii fluxului de oxigen în regiunea activă a creierului. Această tehnică prezintă următoarele avantaje faţă de PET:

- pacientului nu i se injectează nici o substanţă artificială,
- furnizează atât informaţii structurale, cât şi funcţionale în aceeaşi imagine,
- rezoluţia spaţială este mai bună,
- poate fi folosită pentru producerea unei imagini tridimensioanle a activităţii întregului creier.

Dezavantajul tehnicilor PET şi fMRI este rezoluţia temporală slabă, deoarece sunt necesare câteva secunde pentru a forma o singură imagine, în timp ce evenimentele neuronale se desfăşoară într-un interval de milisecunde.

TEHNICI DE ÎNREGISTRARE A PROCESELOR FIZIOLOGICE

Cele mai folosite metode sunt:

- electroencefalograma – măsoară activitatea creierului
- electromiograma – măsoară tensiunea musculară
- electrooculograma – înregistrează mişcarea ochilor
- detectorul de minciuni - măsoară conductanţa pielii
- electrocardiograma – înregistrează activitatea cardiovasculară.

Electroencefalograma (EEG)

Se realizează cu ajutorul unor *electrozi* dispuşi pe suprafaţa capului şi cu un aparatul numit *electroencefalograf.* Fiecărui electrod îi corespunde un canal de înregistrare. Semnalele reflectă suma evenimentelor electrice de la nivelul creierului. Aceste evenimente includ potenţialele de acţiune, potenţialele postsinaptice peste care se suprapun semnalele provenite de la piele, muşchi, ochi, sânge. De aceea, EEG este folosită ca o tehnică de diagnosticare, deoarece anumite forme din înregistrările EEG sunt asociate cu stări particulare de conştienţă, ca în cazul *somnului* (Fig. 7.6) sau cu stări patologice particulare cum ar fi *epilepsia.*

Deoarece semnalele EEG scad în amplitudine pe măsură ce se îndepărtează de sursa generatoare, compararea semnalelor înregistrate de la diferite situsuri ale suprafeţei capului pot indica originea particulară a acestor unde. Acesta este motivul pentru care înregistrarea se realizează simultan la nivelul mai multor situsuri.

Cele mai interesante sunt potenţialele legate de anumite evenimente, care apar în semnalul de fond al EEG şi sunt asociate anumitor stări psihice. O înregistrare EEG care pune în evidenţă o stimulare controlată are 2 componente: răspunsul faţă de stimul (semnalul) şi activitatea ulterioară EEG (zgomotul). Semnalul este partea de interes a înregistrării, în timp ce zgomotul trebuie recunoscut şi eliminat. În multe astfel de

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

situații, zgomotul este așa de mare încât potențialul evocat este mascat. Metoda folosită pentru reducerea zgomotului presupune medierea semnalului. Analiza potențialului evocat mediat se realizează prin urmărirea direcției (pozitivă sau negativă) și latenței. De exemplu, o undă pozitivă este evocată numai dacă semnalul are un înțeles pentru subiect. Micile unde ce însoțesc această deflecție se numesc *potențiale de câmp îndepărtat,* care au originea în stațiile intermediare ale percepției semnalului.

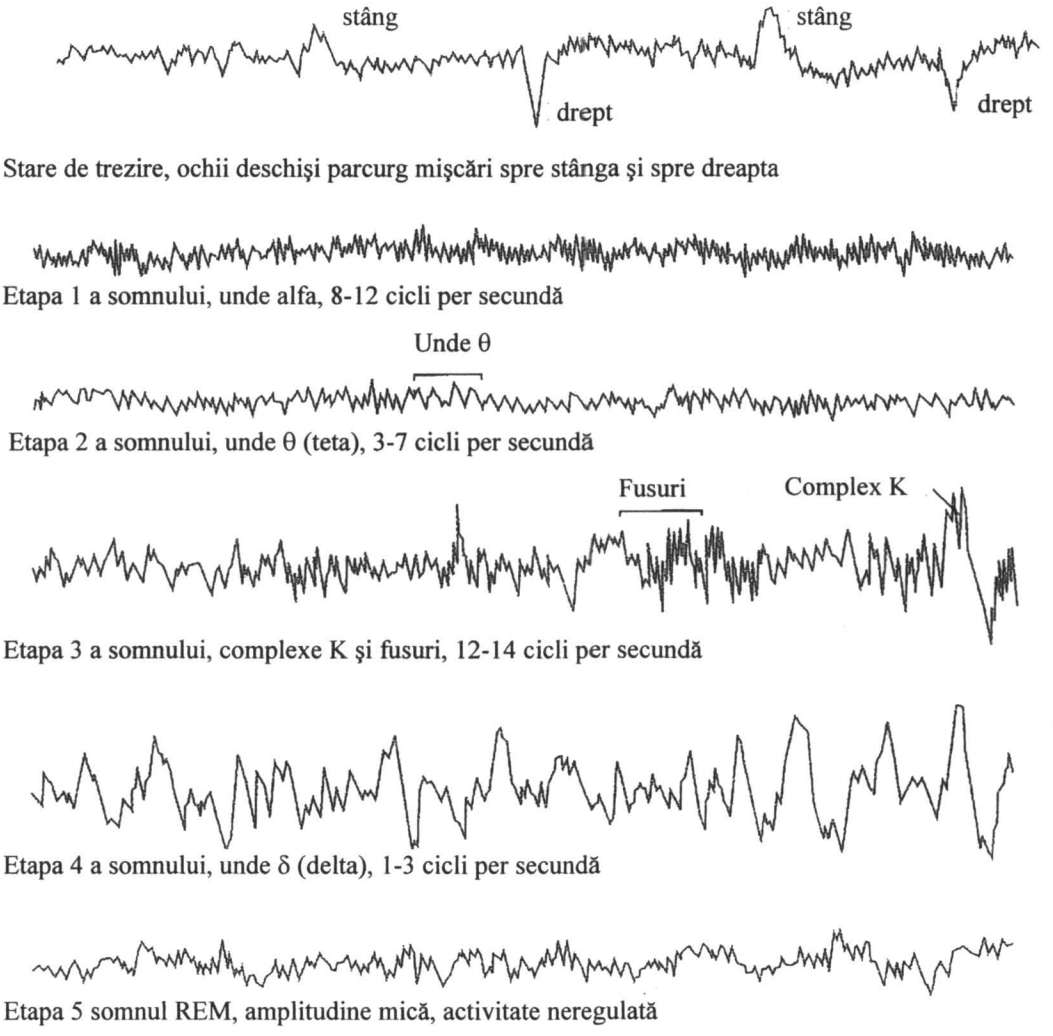


Figura 7.6 Electroencefalograme corespunzătoare diferitelor etape ale ciclului somn-veghe (după Bloom, 2001)

Deşi EEG oferă o mai bună rezoluție temporală, nu are rezoluție spațială. Aceasta poate fi însă îmbunătățită prin folosirea mai multor electrozi şi prelucrarea computerizată a semnalului sau prin combinarea EEG cu IMR tridimensională.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Electromiograma

Fiecare muşchi scheletic este alcătuit din milioane de fibre musculare, care se contractă prin activarea neuronului care le inervează. Există însă un *tonus muscular*, rezultat al descărcărilor spontane ale neuronilor de la nivelul măduvei spinării, ce ţin muşchiul într-o stare uşor contractată. Mişcarea este rezultatul contracţiei sincronizate a unui număr mare de fibre musculare, comandată de centrii motori corticali.

Persoanele tensionate au un nivel înalt de repaus al tensiunii musculare, motiv pentru care neurobiologii sunt interesaţi de măsurarea tensiunii musculare, ca indicator al atenţiei şi vigilenţei psihice.

Electromiografia este procedeul de măsurare a tensiunii musculare, iar înregistrarea se numeşte electromiogramă (EMG). De obicei, se utilizează 2 electrozi plasaţi pe suprafaţa muşchiului de interes. Pe măsură ce amplitudinea EMG creşte, înseamnă că muşchiul se contractă, amplitudinea fiind proporţională cu numărul de fibre musculare ce se contractă la un moment dat. Pentru analizarea EMG, se foloseşte versiunea prelucrată ca număr de potenţiale de acţiune în unitatea de timp, obţinând astfel un semnal integrat.

Electrooculograma

Tehnica electrofiziologică pentru înregistrarea mişcărilor oculare se numeşte *electrooculografie* şi înregistrarea se numeşte *electrooculogramă* (EOG). Principiul înregistrării este măsurarea diferenţei de potenţial dintre punctele anterioare (pozitiv) şi posterioare (negativ) ale globului ocular. Dacă ochiul se mişcă, acest potenţial se modifică, prin urmare se înregistrează potenţialele electrice dintre electrozii plasaţi în jurul ochiului. Mişcările orizontale se măsoară cu 2 electrozi plasaţi de o parte şi de alta a ochiului, în timp ce mişcările verticale se măsoară cu 2 electrozi dispuşi sub, şi deasupra ochiului.

Detectorul de minciuni

Gândurile şi experienţele emoţionale sunt asociate cu creşterea capacităţii pielii de a conduce curentul electric. Activitatea electrodermică se exprimă prin:

- nivelul de conductanţă al pielii, indică nivelul de repaus, asociat cu o situaţie particulară: stare patologică, evenimente obişnuite,
- răspunsul conductanţei pielii măsoară modificările tranziente ale conductanţei, asociată cu stări discrete.

Bazele fiziologice ale modificării conductanţei pielii nu sunt complet cunoscute, dar se ştie că implică glandele sudoripare prin sistemul nervos vegetativ. Deşi funcţia principală a glandelor sudoripare este de a răcori corpul, ele devin active în stări emoţionale. Glandele sudoripare sunt distribuite la nivelul întregii suprafeţe a corpului,

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

dar, dintre ele, în mod particular cele mai receptive la stimulii emoţionali sunt cele de pe mâini, picioare, subsuori şi frunte.

Electrocardiograma

Există în vorbirea de zi cu zi expresii ca: "alb de frică" sau "roşeşti ca o mireasă", care indică relaţia dintre activitatea cardiovasculară şi emoţii. Sistemul cardiovascular are 2 părţi: vasele de sânge şi inima. În analiza neuropsihologică sau neurobiologică sunt implicaţi 2 parametri de măsurare a activităţii cardio vasculare:

- ***ritmul cardiac***: semnalul electric asociat cu fiecare contracţie a inimii se poate înregistra cu ajutorul electrozilor plasaţi pe piept. Înregistrarea se numeşte electrocardiogramă (EKG sau ECG). Ritmul normal este de 70 de bătăi pe minut, dar creşte brusc la un eveniment ce produce o reacţie emoţională: auzul unui sunet puternic, un secret pe care nimeni nu trebuie să-l afle, teama.
- ***presiunea arterială***: măsurarea presiunii arteriale implică două măsurători independente: măsurarea presiunii maxime în timpul contracţiei cardiace (sistola) şi măsurarea presiunii minime din timpul perioadei de relaxare (diastola). Presiunea sângelui se exprimă ca raport între presiunea sistolică şi cea diastolică, în mm Hg. Este un al doilea parametu care se modifică la emoţii puternice.

METODE INVAZIVE

Studiul relaţiei comportament – structuri nervoase este împiedicat de dificultatea de a ajunge la o interacţie directă cu creierul. Tehnicile directe sunt tehnici invazive, care se împart în două mari categorii:

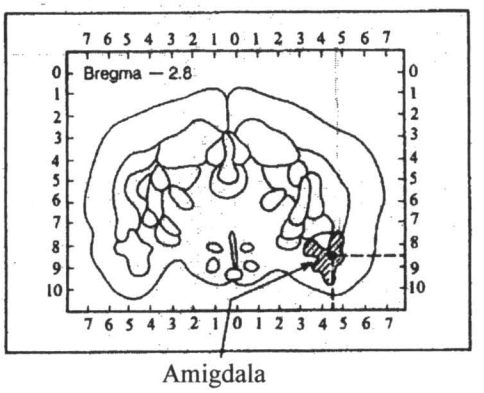
- metoda lezionării
- stimularea electrică

STEREOTAXIA

Este tehnica prin care instrumentele experimentale sunt poziţionate precis în cele mai adânci structuri ale creierului (Fig. 7.7). Pentru aceasta este nevoie de:

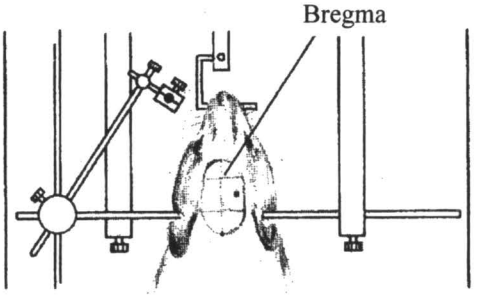
- *un atlas stereotaxic*: trebuie să fie tridimensional şi să furnizeze detalii despre poziţia structurilor nervoase. Cuprinde hărţi individuale bidimensioanle ale unei secţiuni de creier. Distanţele sunt exprimate în mm şi se consideră ca punct comun de referinţă, punctul de intersecţie al suturilor craniene, denumit ***bregma***. Atlasul stereotaxic trebuie să fie adecvat animalului şi vârstei acestuia.
- instrumentul care să atingă structura urmărită are 2 părţi: un suport pentru cap şi un suport al electrodului. La acestea se adaugă un sistem precis de deplasare tridimensională a electrodului.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro



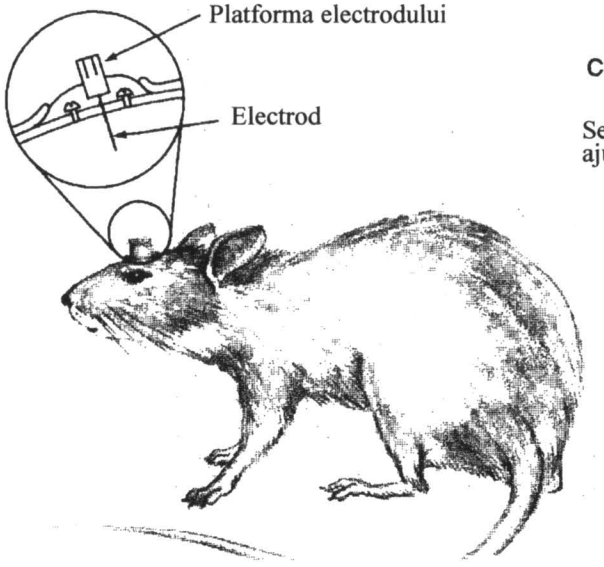
A

Atlasul stereotaxic indică poziția amigdalei la 2.8 mm posterior, 4.5 mm lateral şi 8.5 mm ventral față de bregmă (Secțiune transversală realizată la 2.8 mm posterior față de bregmă)



B

Se perforează craniul în pozițiile indicate în plan orizontal. Apoi se introduce electrodul vertical la 8.5 mm adâncime, prin spațiul format.



C

Se fixează electrodul pe craniu cu ajutorul unei platforme permanente

Figura 7.7 Chirurgie stereotaxică: implantarea unui electrod în nucleul amigdalian al şobolanului (după Pinel, 2003)

Tipurile de electrozi folosiți în stereotaxie sunt de mai multe tipuri, în funcție de aplicația neurobiologică. Atfel, experimentele neurotaxice pot fi de:

- lezionare,
- stimulare,
- înregistrare.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Lezionarea creierului

În metodele de lezionare a creierului, se îndepărtează sau se distruge o parte din creier şi se urmăreşte în continuare comportamentul "pacientului". Este o metodă de evaluare a funcţiei structurii lezionate: cât de importantă este aceasta şi cum afectează comportamentul. Gradul de lezionare se poate măsuracu precizie postmortem, prin tehnici histologice. Există 4 tipuri de lezionări:

- *prin aspirare*: este cea mai folosită metodă în cazul în care aria corticală de interes este localizată în jurul ochilor. Ţesutul este aspirat printr-o pipetă de sticlă fină, în aşa fel încât substanţa albă şi vasele de sânge de sub aria corticală să rămână intacte;
- *electric*: folosind un curent de intensitate mare ce trece prin ţesutul ţintă pornind de la electrodul poziţionat. Ţesutul este distrus de căldura degajată. Mărimea şi forma leziunii este determinată de durata şi intensitatea curentului şi de configuraţia vârfului electrodului;
- *tăiere*: tăierea sau secţionarea se realizează cu un bisturiu şi este folosită pentru întreruperea unui nerv sau a unui tractus nervos;
- *prin îngheţare* sau blocare criogenică cu ajutorul unei substanţe care răceşte o regiune până la temperaturi la care neuronii nu mai generează potenţiale de acţiune. Temperatura se păstrează peste nivelul de îngheţare, pentru a evita alte leziuni structurale. Pe măsură ce ţesutul îşi revine şi se încălzeşte, revine şi activitatea nervoasă normală. Aceasta lezionare este *reversibilă*.

Leziunile induse pot fi unilaterale (cu efecte mai blânde asupra comportamentului) sau bilaterale simetrice, cele mai studiate, pentru a evidenţia efectele lezionării asupra comportamentului.

Toate cele patru tehnici enumerate sunt tehnici de lezare ***mecanică***. Lezionarea se poate realiza şi chimic.

Lezarea ***chimică*** este o metodă mult mai selectivă, deoarece cu ajutorul ei se distrug regiuni discrete ale creierului şi se pot studia căile de transmitere neurală. Se injectează neurotoxine specifice pentru anumite componente ale sistemului nervos. Are avantajul specificităţii de acţiune, se pot injecta blocanţi specifici ai unor receptori şi în felul acesta, studiul se extinde la nivel *molecular*.

De exemplu:

- 6-hidroxi-dopamina distruge numai neuronii ce eliberează noradrenalina sau dopamina, deoarece aceşti neuroni au şi sisteme de recaptare a neurotransmiţătorului, astfel că vor prelua 6-hidroxi-dopamina, toxică;
- se poate aplica bicuculină, inhibitor al receptorului GABA, pentru a îndepărta fenomenele inhibitoare dintr-o anumită regiune. Îndepărtarea inhibiţiei produce excitaţie, care în proporţii mari este toxică şi induce moartea neuronilor GABA sensibili.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Stimularea experimentală

Detalii despre funcționarea structurilor nervoase se pot obține prin stimularea electrică a unei anumite regiuni cu un electrod bipolar. Electrodul bipolar este format din două fire izolate, răsucite împreună și tăiate la un vârf. Pulsuri slabe trimise prin acest electrod cresc activitatea neuronală, chiar în jurul electrodului.

Stimularea electrică a creierului este importantă deoarece, permite realizarea experimentului opus, și anume acela de stimulare a regiunii ce a fost izolată anterior, și se observă rolul ei în cazul hiperactivității. Poziționarea electrodului se realizează tot prin stereotaxie. Răspunsul înregistrat depinde de poziționarea electrodului, parametri curentului și condițiile de mediu în care se desfășoară testul.

Înregistrarea experimentală

Se poate realiza în mai multe configurații:

- *intracelulară*: măsoară modificările gradate ale potențialului membranar al unui singur neuron. Electrodul este foarte subțire și este coborât stereotaxic până în regiunea dorită. La inserția în celulă, se modifică brusc potențialul eletrodului, de la valoarea de 0 mV, la – 60 mV (potențialul de repaus al celulei). Pentru aceste înregistrări animalele sunt imobilizate chimic.

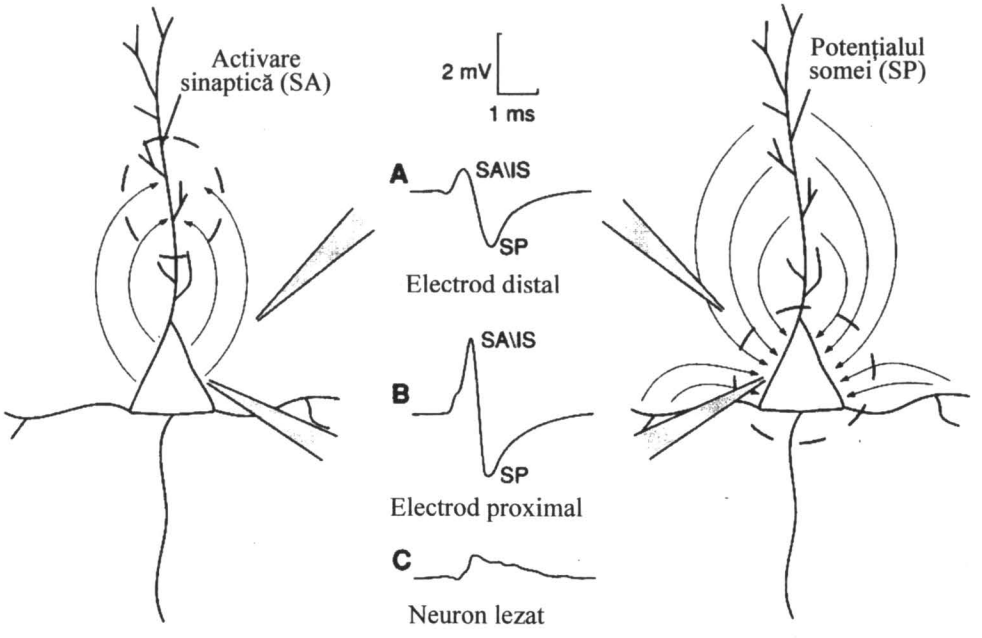


Figura 7.8 Schemă simplificată a înregistrării cu electrozi extracelulari, pe neuron piramidal. Neuronul este reprezentat în două situații: depolarizare dendritică (stânga) și depolarizare somatică (dreapta). IS reprezintă potențialul inițial al electrodului poziționat în dreptul segmentului urmărit (după Martin, 1997)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

- *extracelulară*: permite înregistrarea potenţialului de acţiune al neuronului cu ajutorul unui electrod poziţionat în spaţiul extracelular (Fig. 7.8). Potenţialul înregistrat de acest electrod este influenţat de activitatea tuturor celulelor din jurul său, deci nu reflectă activitatea unui singur neuron.
- *electroencefalogramă invazivă*, similar EEG, dar electrozii se implantează subcortical.

Tehnicile electrofiziologice dau informaţii despre proprietăţile fizice ale neuronilor: viteza de conducere, frecvenţa potenţialelor de acţiune.

Metode de analiză chimică

În această categorie intră ***microdializa intracerebrală***, care are ca scop administrarea de medicamente care sporesc sau diminuează acţiunea unui neurotransmiţător, cu observarea consecinţelor comportamentale. Principiul ce stă la baza acestei metode este difuzarea unei molecule solubile printr-o membrană semipermeabilă. În plus, metoda permite prelevarea unei probe de fluid extracelular, pe baza căreia se identifică neurotransmiţătorul utilizat şi se pot realiza analize cantitative ale concentraţiei de neurotransmiţători şi modalitatea de eliberare.

Alte modalităţi de administrare a substanţelor chimice neuropsihotrope in vivo sunt: prin hrană, injectare intragastric (în stomac), intraperitoneal (în cavitatea peritoneală), intramuscular, subcutanat (în stratul adipos de sub piele), intravenos.

Dificultatea este dată de faptul că nu toate medicamentele trec bariera hematoencefalică, şi atunci se recurge la microdializă intracerebrală.

Activitatea chimică a creierului este măsurată prin injectarea **2-deoxi-glucozei** radioactive pe care neuronul o preia dar nu o metabolizează. După ce animalul experimental este supus unui test, este sacrificat folosind metode care să evite suferinţa, creierul este îndepărtat şi analizat histochimic. Regiunile care sunt implicate în realizarea testului sunt evidenţiate radioactiv pe felii de creier.

TEHNICI UTILIZATE IN VITRO

TEHNICI NEUROANATOMICE

Cuprind procedeele clasice de vizualizare a diferitelor părţi ale celulei. Implică mai multe etape:

- *fixare* pentru păstrarea intactă a structurii celulare. Fixarea se realizează de cele mai multe ori cu formaldehidă care blochează autoliza, întăreşte ţesuturile moi şi omoară orice microorganism;
- *secţionare* cu ajutorul microtomului, pentru a obţine cât mai multe detalii despre preparat, de la orice nivel. Secţionarea se poate face la temperatura camerei, prin

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

încoporarea preparatului în parafină sau la temperaturi mai mici de zero grade prin *criosecționare*;

- *marcare* se realizează pentru evidențierea detaliilor structurale fine ale preparatului biologic.

Posibilitățile de marcare sunt numeroase și practic împart tehnicile în:

- tehnici de colorare
- autoradiografie
- tehnici imunohistochimice
- hibridizare in situ.

Tehnici de colorare

Presupun incubarea preparatului biologic cu un colorant specific pentru anumite compartimente ale neuronului:

- **corpul celular** se marchează cu albastru de metilen. Coloraţia a fost descoperită de Nissl, iar regiunea colorată a fost denumită *substanţă Nissl*, care este o aglomerare de ADN, ARN şi proteine (reticul endoplasmic rugos) dispersate sub formă de granule în jurul citoplasmei. Dezavantajul acestei metode este dat de nespecificitatea colorantului pentru neuroni, deoarece marchează şi celulele gliale, dar s-au diferenţiat în acest mod corpii celulari de fasciculele de fibre nervoase. În prezent cel mai folosit colorant este cresyl violet.
- **Mielina** se marchează cu un colorant pentru mielină şi pune în evidenţă fibrele nervoase;
- **Membrana celulară** se marchează cu un colorant pe bază de săruri de metale grele: argint (Ag), osmiu (Os), uraniu (U), ce indică forma celulei. Coloraţia Golgi, pe bază de Ag este foarte selectivă, deoarece marchează numai o categorie de neuroni.
- **Degenerarea axonilor**, apare când corpul celular este distrus, poate fi pusă în evidenţă tot printr-o coloraţie pe bază de Ag, utilizată şi pentru a stabili conexiunile formate de neuronul degenerat.

Autoradiografia

Autoradioagrafia este o tehnică de marcare cu ajutorul substanţelor radioactive. Principiul constă în iradierea unui preparat cu raze X sau gamma şi înregistrarea semnalului pe hârtie fotografică. Preparatul biologic este marcat radioactiv şi se foloseşte pentru vizualizarea unei "ţinte" ce poate fi o categorie de celule sau componente celulare ca: proteine, acizi nucleici, receptori membranari, neurotransmiţători. Tehnica permite localizarea şi cuantificarea "ţintei".

Pentru localizarea unui receptor, preparatul biologic este incubat cu un ligand marcat radioactiv cu tritium (^{3}H), ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S sau ^{125}I, se fixează pentru păstrarea ligandului şi se acoperă cu un gel cu proprietăţi speciale. În urma iradierii, radiaţia

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

emisă de ţesut converteşte argintul ionic din gel în argint metalic, care creează o imagine latentă ce se developează sub forma unei hărţi de compuşi radioactivi.

O variantă a autoradiografiei in vivo este folosită pentru marcarea traseului axonal. Această variantă foloseşte aminoacizi marcaţi radioactiv, care injectaţi într-o anumită regiune a creierului, vor fi transportaţi în corpul celular şi încorporaţi în proteine. Proteinele sunt transportate către terminaţii. După ce animalul este sacrificat, se analizează secţiunile pentru refacerea traseului axonal.

Hibridizare in situ

Tehnica presupune legarea, pe baza complementarităţii, a unei probe sintetice de acid nucleic la acizii nucleici endogeni ADN sau ARN dintr-un ţesut, o celulă sau chiar un cromozom izolat. Deşi iniţial s-a bazat pe formarea unor hibrizi de tip ADN-ADN, în prezent este posibilă identificarea acizilor nucleici prin hibridizare de tip ARN-ADN şi ARN-ARN. Fragmentele de acizi nucleici folosite ca sonde de marcare sunt fragmente mici de 18 nucleotide, ce pot fi vizualizate prin marcare radioactivă sau fluorescentă.

Cea mai importantă aplicaţie a acestei tehnici este detectarea ARNm, chiar în cantităţi foarte mici. O astfel de marcare ajută la identificarea nivelului de expresie a unei proteine în celula studiată.

Southern Blot şi *Northern Blot* sunt alte două tehnici de biologie moleculară, folosite pentru localizarea unei anumite molecule de ADN şi respectiv de ARN. Asemănător tehnicii Western Blot, acizii nucleici sunt mai întâi separaţi prin gel electroforeză, urmează un transfer pe membrana de nitroceluloză şi identificarea prin hibridizare cu o sondă de ADN sau ARN.

Tehnici imunocitochimice

Au la bază folosirea anticorpilor primari crescuţi faţă de o structură specifică: un receptor, un neurotransmiţător peptidic etc. Procedeele de localizare a neuroproteinelor pot fi ***directe***, prin legarea unui colorant fluorescent direct la anticorpul primar sau ***indirecte*** prin folosirea unui anticorp secundar. Vizualizarea se face fie cu ajutorul unui compus fluorescent (fluorescein izotiocianat – FITC) legat de anticorpul secundar, fie cu ajutorul unui sistem enzimatic, al cărui produs de reacţie este vizibil (peroxidaza din hrean sau fosfataza alcalină au produşi de reacţie coloraţi în albastru şi respectiv galben, Fig. 7.9).

Tehnica permite de asemenea localizarea şi cuantificarea relativă a conţinutului proteic, în funcţie de intensitatea coloraţiei.

Anticorpii pot fi folosiţi şi în *Western Blot*, pentru colorarea spotului (blotting) de proteine. Principiul este asemănător, dar "preparatul" este reprezentat de fracţii proteice separate prin electroforeză pe gel de poliacrilamidă, şi transferate ulterior pe o membrană de nitroceluloză unde se face identificarea cu ajutorul anticorpilor.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

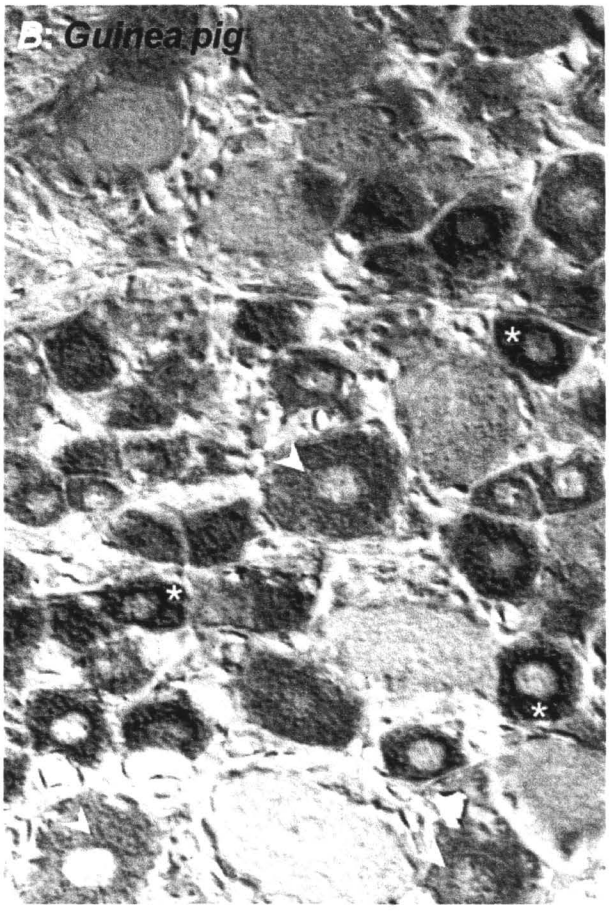


Figura 7.9 Evidențierea subunității $Na_v1.7$ a canalului de sodiu în ganglioni senzitivi spinali de cobai prin tehnici imunohistochimice (Djouhri *et al*, 2003)

TEHNICI ELECTROFIZIOLOGICE

Tehnicile electrofiziologice permit studierea funcției proteinelor şi a activității celulare. Ele sunt, de asemenea, de două categorii: extracelulare şi intracelulare, în funcție de localizarea electrozilor de înregistrare.

Înregistrări extracelulare

Asemănător înregistrărilor extracelulare *in vivo*, electrozii de înregistrare sunt poziționați în exteriorul celulei şi detectează modificările locale de potențial, ca urmare a activității celulare față de un electrod de referință. Stimularea preparatului se poate realiza chimic sau electric. Se aplică în general nervilor izolați şi se înregistrează potențialul de acțiune compus, viteza de conducere, şi prin aplicarea unor blocanți specifici se pot identifica tipurile de canale ionice implicate în fenomenele electrice de la acest nivel.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Înregistrări intracelulare

Tehnicile de înregistrare electrofiziologică intracelulare presupun introducerea a cel puțin un electrod în citoplasma celulară şi se măsoară diferența de potențial față de un electrod de referință. Cu ajutorul unui amplificator cu un circuit de feed-back, se poate menține potențialul membranar constant şi se măsoară fluxul ionic prin membrană. Ele sunt de două tipuri: ***voltage-clamp*** (cu doi sau patru electrozi de înregistrare) şi ***patch-clamp*** (cu un electrod de înregistrare (Fig. 7.10). Pot fi aplicate pe celule izolate în culturi primare, pe linii celulare ca sisteme de exprimare heterologă a unei proteine funcționale, pe țesuturi, pe felii de organe.

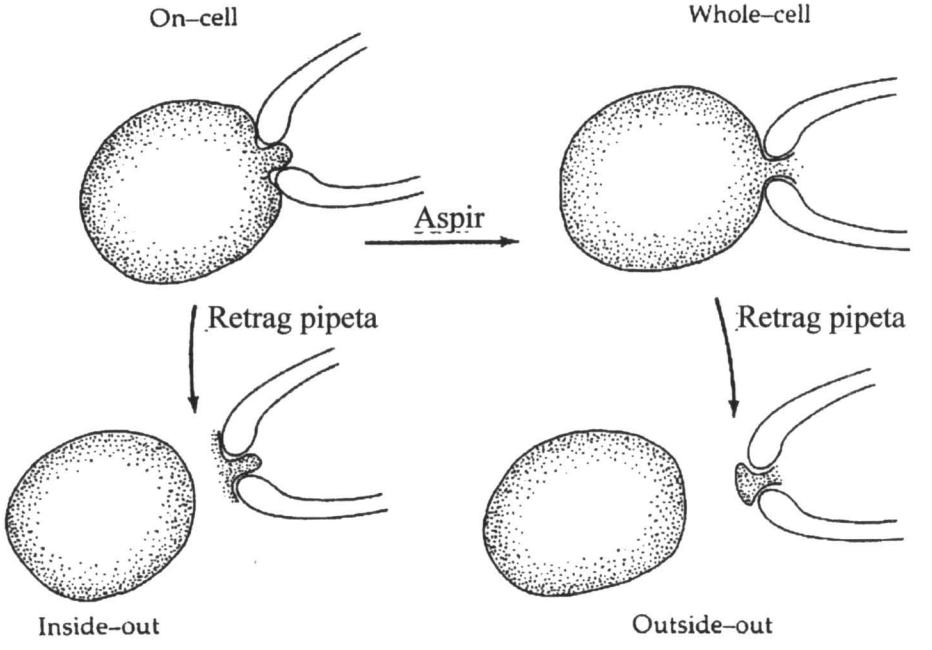


Figura 7.10. Configurațiile membranei în tehnica de patch-clamp. Pipeta se apropie de celulă şi se formează o primă configurație în care întreaga celulă este fixată la pipetă (on cell). Din această configurație se pot obține două configurații diferite: prin retragerea pipetei, la vârful acesteia rămâne un fragment orientat cu interiorul membranar spre exterior (inside-out), sau prin aspirare se rupe fragmentul din vârful pipetei, şi se va înregistra curentul prin întreaga celulă (whole-cell). Ultima configurație este fragment membranar orientat cu exteriroul spre exterior (outside-out) care se obține din whole-cell.

Tehnica de patch-clamp are în plus avantajul fixării unei singure celule la vârful unei pipete de sticlă, şi prin desprinderea ulterioară a unui fragment mic de membrană, se poate separa un singur canal ionic. Metoda permite astfel caracterizarea biofizică a acestui canal, corelarea fluxului ionic cu modificările conformaționale ale proteinei, într-un interval de ordinul fracțiunilor de secundă.

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

TEHNICI GENETICE

Tehnica de suprimare a unei gene

Se aplică pe şoareci şi constă în folosirea de oligonucleotide antisens pentru a bloca etapa de translaţie a unei molecule de ARNm. Tehnica se poate aplica atât in vivo cât şi in vitro.

Oligonucleotidele antisens sunt secvenţe de catenă 3' – 5' a ADN-ului (catena sens este cea 5'-3') corespunzătoare, de cele mai multe ori, regiunii din jurul codonului de iniţiere a translaţiei (ATG). Aceste secvenţe sunt complementare ARNm, de care se vor lega formând o regiune dublu-catenară. În funcţie de localizarea probei, este blocată migrarea ribozomilor de-a lungul moleculei de ARN sau ARN-ul este degradat în regiunea dublu-catenară. Astfel, se blochează exprimarea specifică a unei proteine.

Tehnologia şoarecilor transgenici

Această aplicaţie s-a realizat pe şoareci, deoarece conferă anumite avantaje, dintre care cel mai important este cunoaşterea genomului lor. Există două tipuri de transformări: introducerea unei gene noi şi modificarea unei gene endogene .

În prima variantă, se injectează un fragment de ADN ce conţine gena recombinată într-un zigot mascul.

A doua variantă poate produce două tipuri de modificări ale genei endogene: eliminarea completă (şoareci knock-out) sau inducerea unei mutaţii în domeniile funcţionale ale proteinei.

Etapele sunt reprezentate în figura 7.11

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

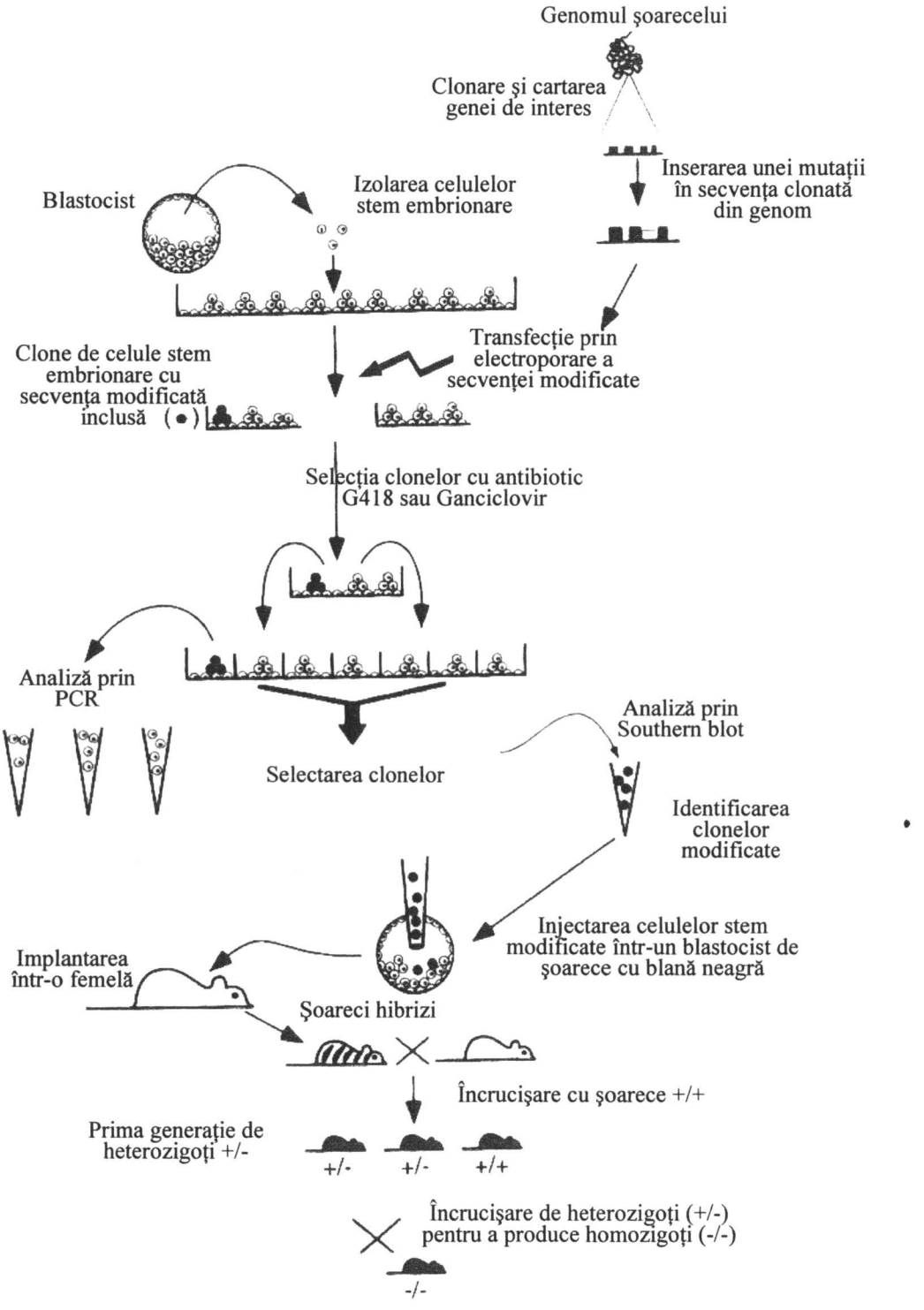


Figura 7.11 Strategia de generare a şoarecilor knock-out. Pentru recunoaşterea clonei, se foloseşte un criteriu de selectare a şoarecelui mutant, dat de culoarea blănii: gena este izolată de la un şoarece cu blană galben-brună, iar şoarecele primitor are blană de culoare neagră. Şoarecii hibrizi vor avea blana în mai multe culori, ce arată contribuţia relativă a celulelor donorului la expresia fenotipică a acceptorului (după Martin et al., 1997)

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Bibliografie

1. Bloom F, Nelson CA, Lazerson A, 2001, *Brain, mind and behavior,* Worth Publishers, USA
2. Burt JM, Spray DC. 1988, *Single-channel events and gating behavior of the cardiac gap junction channel* Proc Natl Acad Sci U S A. May; 85(10): 3431-4.
3. Djouhri L, Newton R, Levinson SR, Berry CM, Carruthers B, Lawson SN, 2003, *Sensory and electrophysiological properties of guinea-pig sensory neurones expressing Nav 1.7 (PN1) Na+ channel alpha subunit protein*, J Physiol. Jan 15; 546(Pt 2): 565-76
4. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, 2000. *Principles of Neural Science*, McGraw-Hill Companies, Inc.
5. http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap14/UCLAneurulation.gif
6. http://connection.lww.com/products/sadler/images/figurelarge5-9.jpg
7. http://rabbit.if-pan.krakow.pl/~popikp/ibogaina/nmda.gif
8. http://www.biocenter.helsinki.fi/bi/physiol/GABA/pictures/gabaABC.gif
9. http://www.psych.purdue.edu/Classes/psy320
10. http://www.riken.go.jp/engn/r-world/info/release/news/2003/feb/#fro_01
11. Levitan IB, Kaczmarek LK, 1991, *The Neuron, Cell and Molecular Biology*, Oxford University Press
12. Makowski L, Caspar DL, Phillips WC, Goodenough DA. 1977, *Gap junction structures. II. Analysis of the x-ray diffraction data*, J Cell Biol. Aug; 74(2): 629-45.
13. Marieb E, 1998. *Human Anatomy & Physiology*, Addison-Wesley.
14. Martin R, 1997, *Neuroscience Methods, A Guide for Advanced Students*, Harwood Academic Publishers
15. Nicholls JG, Martin AR, Wallace BG, Fuchs PA, 2001, *From Neuron to Brain*, Sinauer Associates, Inc.
16. Pinel JP John, 2003, *Biopsychology*, USA
17. Renaud LP, 1977, Soc. For Neurosci. Symp, vol 2, pg 265
18. Shepherd GM, 1988, *Neurobiology*, Oxford Univeristy Press
19. Strungaru G, Pop M, Hefco V, 1983. *Fiziologie animală*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti.
20. Yuste R, Bonhoeffer T., 2004, *Genesis of dendritic spines: insights from ultrastructural and imaging studies,* Nat Rev Neurosci. Jan; 5(1): 24-34

VERIFICAT 2011

VERIFICAT 2007

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

Tiparul s-a executat sub c-da nr. 1332/2004
la Tipografia Editurii Universităţii din Bucureşti

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

BIBLIOTECA CENTRALA
UNIVERSITARA „CAROL I"



DE OPERIBUS ET ANIMA

DATA RESTITUIRII		
6. MAI. 2007	28 NOV. 2019	
5. DEC. 2008		
10. NOV. 2013		
10 SEP. 2015		
11 SEP. 2015		
11 SEP. 2015		
14 SEP. 2015		
2015		

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro

ISBN 973575982-9
ISBN 973575983-7



Lei 130000

https://biblioteca-digitala.ro / https://unibuc.ro