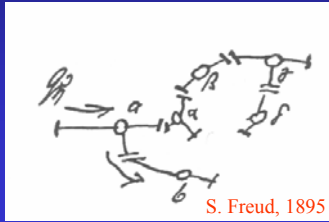


I FONDAMENTI DELLE FUNZIONI NERVOSE

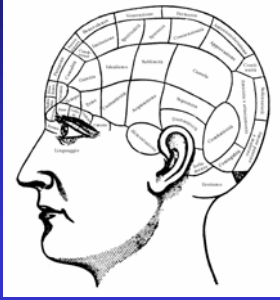


L'uomo, un organismo vivente che si pone quesiti sulla sua esistenza, sta affrontando lo studio dei meccanismi generatori del suo stesso pensiero. Il quesito sulle origini delle funzioni nervose si affianca al quesito sulle origini della Vita e dell'Universo.

Evoluzione della conoscenza del cervello

600-400 a.c.	Greek philosophers describe the mind and soul; thinking depends on the brain (or heart?).
1543	Vesalius accurately describes gross anatomy of the human nervous system.
1637	Descartes characterizes the brain as a machine-like mechanism, independent of, but related to, the soul.
1798	Galvani discovers the electrical nature of nervous activity.
1891	Cajal and others determine that the nervous system is composed of independent nerve cells (neurons) connected together to form pathways.
1897	Sherrington proposes that nerve cells form pathways by communicating with each other through junctions called synapses.
1920s	Langley, Lewis, Dale, and others, identify chemical substances (neurotransmitters) that function as messengers which act on receptors at the synapses.
1940s	Shannon, Weaver, and Wiener introduce concepts of information processing and control systems (cybernetics).
1950s	Hodgkin, Huxley, Katz, and Eccles make precise recordings of electrical signals with micro-electrodes. Electron microscopy reveals synapses and neuronal fine structure.
1950s	Single cell analyses by Mountcastle, Lettvin, Hubel and Wiesel reveal brain circuits for feature abstraction.
1960s	Integrative functions of dendrites are recognized; synaptic circuits and synaptic interactions without impulses are identified.
1970s	Neuromodulator substances and second messengers are found that greatly extend the duration and complexity of neuronal interactions.
1970s	Computerized imaging techniques permit visualization of brain activity patterns in relation to sensation and cognition.
1970s	Molecular methods are introduced for analyzing genetic mechanisms (recombinant DNA technologies) and single membrane proteins (patch clamping).
1980s	Advances in computers and neural networks provide new models of nervous system functions (vision, language, memory, logic).
1990s	"The Decade of the Brain": new emphasis on combining information from different levels of analysis into integrated models of brain function and nervous disease.

(1) Il problema cervello - mente



Se accettiamo che le funzioni superiori vengano elaborate dalle strutture cellulari del sistema nervoso centrale



Deve essere possibile individuare le basi biologiche e biofisiche delle funzioni cognitive e del comportamento

È possibile per l'uomo riuscire in tale impresa? Una sola considerazione: secondo Tulving, "una *macchina* (un sistema logico o informatico) ne può comprendere un'altra solo se di complessità inferiore".

Conviene perciò ridurre la dimensione del problema: il *riduzionismo* come chiave di accesso ai processi che governano la generazione delle funzioni superiori:

1. Studio di componenti elementari delle funzioni nervose
2. Studio di sistemi nervosi semplici

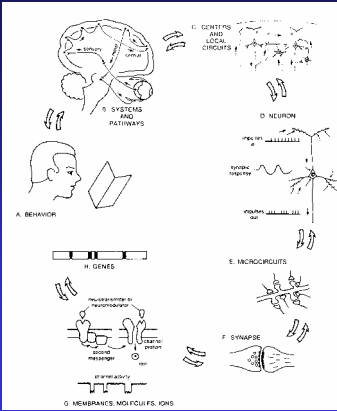
Cerchiamo di *estrarre i principi* che governano le funzioni nervose.

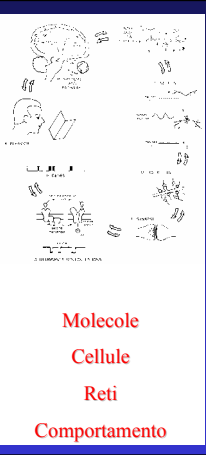
Ciò non implica che potremo spiegare quel particolare comportamento di quell'individuo in quella determinata circostanza.

Non si negano *l'individualità* ed il *libero arbitrio*, ma si pongono le basi per comprendere in che modo le decisioni vengano prese. In un sistema estremamente complesso, non tutte le variabili sono note. Per di più, l'uomo ha aspetti palesi e nascosti del suo comportamento (*inconscio*).

Dove dobbiamo ricercare tali principi?

Possiamo identificare differenti livelli organizzativi e funzionali del sistema nervoso





Osservazioni sperimentali

Modelli biofisici

Teorie computazionali

Implicazioni filosofiche ed etiche: l'origine del comportamento e del pensiero

Implicazioni biofisiche: le basi della computazione in membrane, neuroni e reti

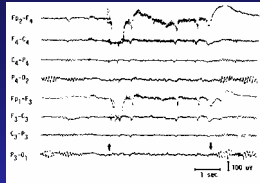
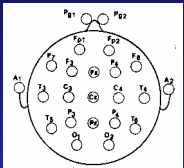
Conseguenze biologiche: emergenza del comportamento dalla materia vivente

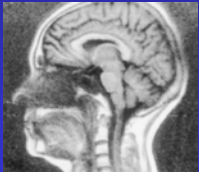
Comprendere i fondamenti delle funzioni nervose

Applicazioni mediche: patogenesi e terapia di malattie del CNS

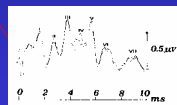
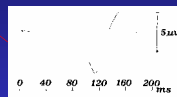
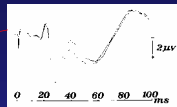
Ricaduta tecnologica: sistemi cognitivi e sensori-motori, interfacce bio-elettroniche

(2) Principi fondamentali della neurofisiologia



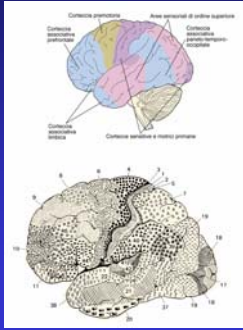


L'EEG rivela l'attività bioelettrica sincrona delle strutture corticali

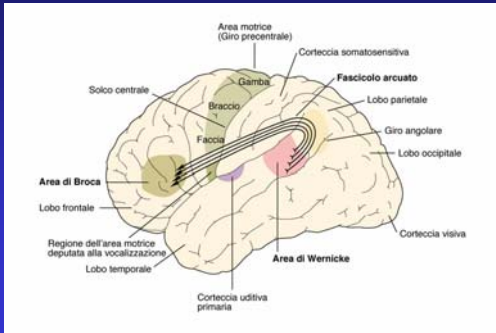


I PEV rivelano l'attività bioelettrica di specifiche aree corticali

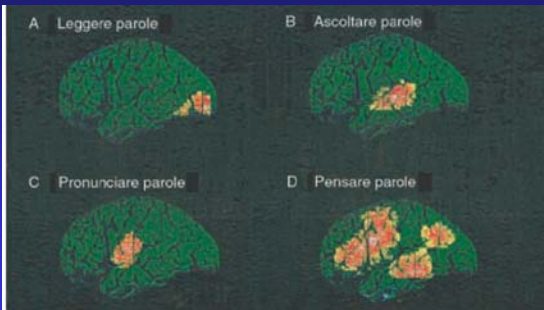
E' possibile identificare diverse aree corticali a seconda della loro natura istologica e funzionale



E' possibile identificare le aree corticali coinvolte nella elaborazione del linguaggio, del movimento e della percezione



E' possibile visualizzare le aree corticali coinvolte nel linguaggio ed altre funzioni superiori (fMRI, imaging funzionale)

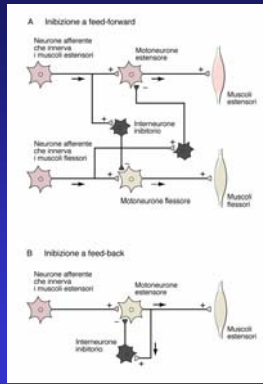


I segnali nervosi vengono modificati ed elaborati nelle reti neuronali composte da numerosi neuroni e sinapsi

I neuroni e le sinapsi svolgono due operazioni fondamentali:

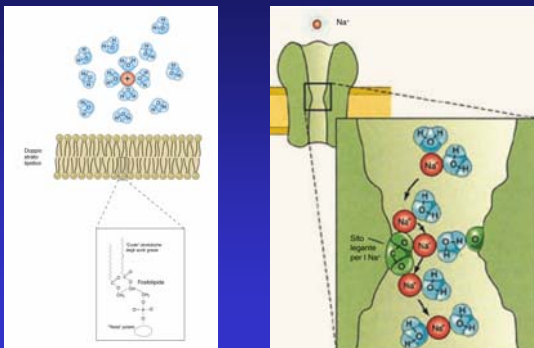
- Codificazione degli impulsi nervosi

- Trasmissione degli impulsi nervosi



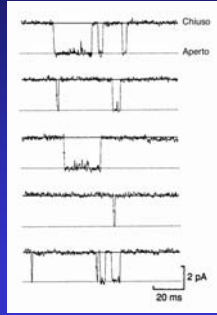
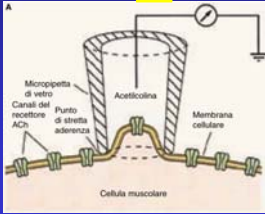
(4) Le basi molecolari delle funzioni di membrana

Membrane e canali ionici



E' possibile registrare le correnti elementari nei canali ionici

Patch-clamp (Neher & Sakmann, 1980)



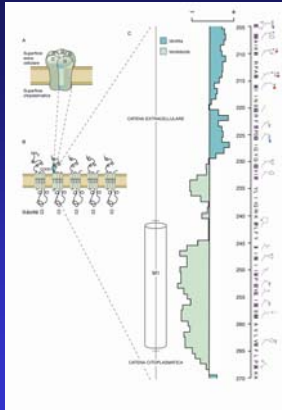
E' possibile

- ricostruire la struttura molecolare e genica dei canali ionici.



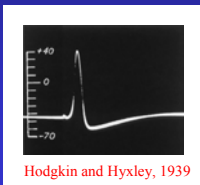
E' possibile

- manipolare i canali ed i flussi ionici di membrana
- comprendere l'eziopatogenesi di malattie ereditarie



Il quesito centrale:

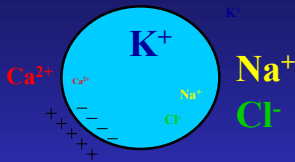
È possibile ricondurre le funzioni dei neuroni ai principi elementari della biofisica cellulare?



- Come viene generato e mantenuto il *potenziale di membrana*?
- Come viene generato il *potenziale d'azione*?

(3) Il potenziale di membrana

Osservazioni fondamentali:



1. Gli ioni hanno una distribuzione asimmetrica all'interno rispetto all'esterno
2. La cellula ha un potenziale interno negativo
3. La cellula è selettivamente permeabile agli ioni
4. Alcune cellule sono eccitabili (PdA)

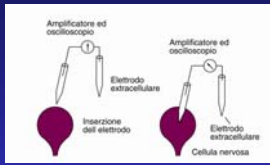
Concentrazioni ioniche transmembrinarie differenti

Table 2.1 Ion concentrations and equilibrium potentials

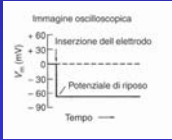
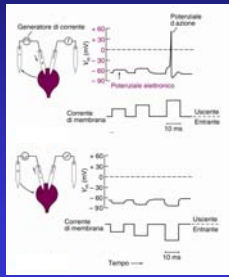
	Inside (mM)	Outside (mM)	Equilibrium Potential (NE)
			$E_i = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[ion]_{out}}{[ion]_{in}}$
Frog muscle (Conway 1957) $T = 20^\circ\text{C} = 293^\circ\text{K}$			
K ⁺	124	2.25	$58 \log \frac{2.25}{124} = -101 \text{ mV}$
Na ⁺	10.4	109	$58 \log \frac{109}{10.4} = +59 \text{ mV}$
Cl ⁻	1.5	77.5	$-58 \log \frac{77.5}{1.5} = -99 \text{ mV}$
Ca ²⁺	4.9 [†]	2.1	$29 \log \frac{2.1}{4.9} = +125 \text{ mV}$
Squid axon (Hodgkin 1964)			
K ⁺	400	20	$58 \log \frac{20}{400} = -75 \text{ mV}$
Na ⁺	50	440	$58 \log \frac{440}{50} = +55 \text{ mV}$
Cl ⁻	40-150	560	$-58 \log \frac{560}{40-150} = -66 - (-33) \text{ mV}$
Ca ²⁺	0.4 [†]	10	$29 \log \frac{10}{0.4} = +145 \text{ mV}$
Typical mammalian cell $T = 37^\circ\text{C} = 310^\circ\text{K}$			
K ⁺	140	5	$62 \log \frac{5}{140} = -89.7 \text{ mV}$
Na ⁺	5-15	145	$62 \log \frac{145}{5-15} = +90.7 - (+61.1) \text{ mV}$
Cl ⁻	4	110	$-62 \log \frac{110}{4} = -89 \text{ mV}$
Ca ²⁺	1-2 [†]	2.5-5	$31 \log \frac{2.5-5}{1-2} = +136 - (+145) \text{ mV}$

[†](10⁻⁴) free

Potenziale di membrana e risposte eccitabili



iniezione di corrente



Il potenziale di membrana è spiegabile dalle leggi che governano il movimento degli ioni:

Legge di Fick

$$J_{diff} = -D \frac{dC}{dx}$$

Legge di Ohm

$$J_{drift} = -\mu C \frac{dV}{dx}$$

Eq. di Einstein

$$D = \mu \frac{kT}{q}$$

Eq. di Nerst-Plank

$$J = J_{diff} + J_{drift} = -\mu \left(zC \frac{dV}{dx} + \frac{kT}{q} \frac{dC}{dx} \right)$$

Eq. Di Nernst

$$I = -\mu z \left(FzC \frac{dV}{dx} + RT \frac{dC}{dx} \right) = 0$$

$$V_i = \frac{RT}{Fz} \ln \frac{C_{out}}{C_{in}}$$

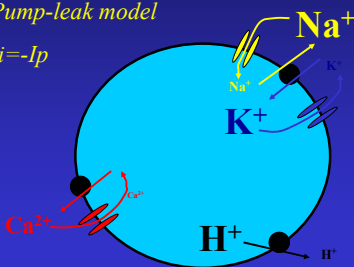
Eq. Di Goldman-Hodgkin-Katz

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{p_K [K^+]_{out} + p_{Na} [Na^+]_{out} + p_{Cl} [Cl^-]_{in}}{p_K [K^+]_{in} + p_{Na} [Na^+]_{in} + p_{Cl} [Cl^-]_{out}}$$

- Gli ioni si muovono sottoposti ad una driving-force $\Delta V = V - z$
- I flussi ionici consumerebbero i gradienti di concentrazione
- Tuttavia il sistema è allo stato stazionario ed i gradienti sono stabili
- Devono esistere pompe ioniche che trasportano attivamente gli ioni attraverso la membrana

Pump-leak model

$$I_i = -I_p$$



- Pompa $Na^+ - K^+$
- Pompa del Ca^{2+}
- Pompa H^+



1. Il potenziale di membrana (V_m) riflette lo stato di *equilibrio dinamico* degli ioni permeanti
2. Il potenziale di membrana tende verso il potenziale di equilibrio dello ione più permeante
3. Il potenziale di membrana a riposo (V_r) è determinato principalmente dallo ione K^+
4. Le pompe elettrogeniche contribuiscono per circa il 10% al potenziale di membrana a riposo

Le pompe di membrana consumano energia metabolica consentendo il controllo simultaneo di:

• concentrazioni ioniche

Regolazione attività enzimatiche
(per es. Ca^{2+} , pH)

• trasporto di soluti (trasporti accoppiati)

Soluti idrofilici (per es. glucosio, AA)

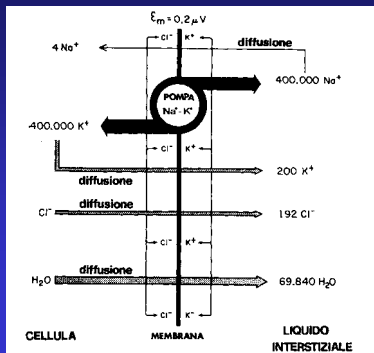
• potenziale di membrana

osm.

• osmolarità, volume cellulare

I movimenti ionici sono accompagnati da movimento di H_2O

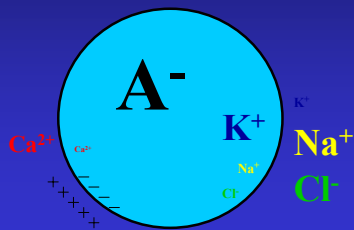
Un ciclo di 20 ms della pompa Na-K



$$\pi = RT \sum_i \sigma_i n_i \phi_i C_i$$

Esistono soluti impermeanti che sviluppano effetti osmotici e determinano l'effetto di Donnan-Gibbs.

- Rigonfiamento cellulare
- Potenziale di Donnan negativo all'interno
- Prevenuto dall'estrusione di Na (pompa Na:K=3:2, doppio eq. Donnan)

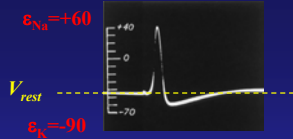


Da un punto di vista termodinamico la cellula (il neurone) è un sistema aperto che scambia:

- Materia
- Energia
- Informazione

Il meccanismo di scambio ionico accumula energia potenziale che può essere impiegata per compiere diverse forme di lavoro

(5) Il potenziale d'azione



Il potenziale d'azione:

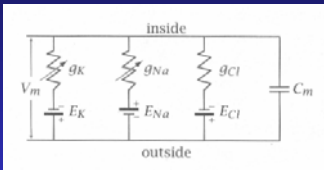
- 1) si attiva quando il potenziale raggiunge un **soglia** che si trova a circa -40 mV
- 2) gode della proprietà del **tutto-o-nulla**, cioè non è graduato ma di ampiezza costante.
- 3) Mostra **refrattarietà** durante stimolazione ripetitiva
- 3) si propaga in modo **non decrementale** nelle fibre nervose. Ciò suggerisce che la sua propagazione deve essere attiva.

• Quindi il potenziale d'azione tende inizialmente verso e_{Na} e poi verso e_K . Secondo la teoria di GHK, questo riflette un aumento transitorio della permeabilità per questi ioni.

• Infatti, il potenziale d'azione è abolito dalla rimozione del Na^+ dal mezzo extracellulare (nonostante tale manovra non alteri sostanzialmente il V_{rest}). La rimozione del K^+ riduce l'undershoot.

• È quindi necessario comprendere in che modo avviene la rapida transizione della conduttanza a favore del Na^+ e poi del K^+ .

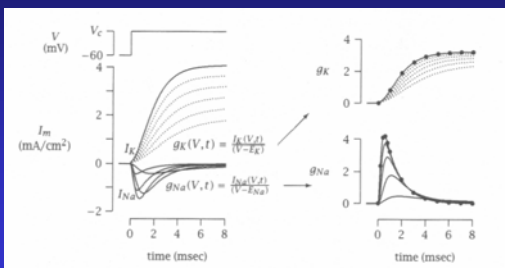
Modello a circuito parallelo



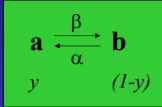
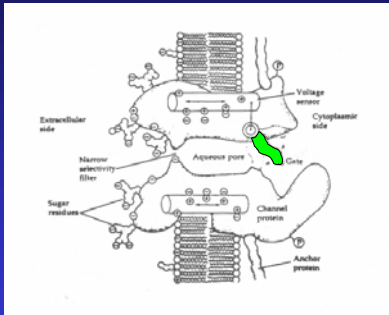
$$I = I_K + I_{Na} + I_{Cl}$$

$$I = C \frac{dV}{dt} + g_K(V - E_K) + g_{Na}(V - E_{Na}) + g_{Cl}(V - E_{Cl})$$

Conduttanze voltaggio e tempo dipendenti



Canali ionici : teoria del gating



tempo-dipendenza

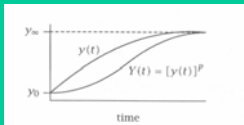
cinetica di primo ordine

$$\frac{dy}{dt} = \alpha(1-y) - \beta y$$

$$y = y_{\infty} - [(y_{\infty} - y_0)e^{-t/\tau}]$$

$$\tau = \frac{1}{\alpha + \beta}$$

$$y_{\infty} = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}$$



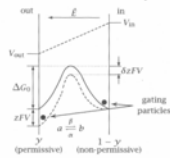
Voltaggio-dipendenza

$$\alpha(V) = \alpha_0 e^{\delta V / RT}$$

$$\beta(V) = \beta_0 e^{-(1-\delta)V / RT}$$

$$\alpha_0 = A e^{-\Delta G_0 / RT}$$

$$\beta_0 = B e^{-\Delta G_0 / RT}$$



Modello di HH

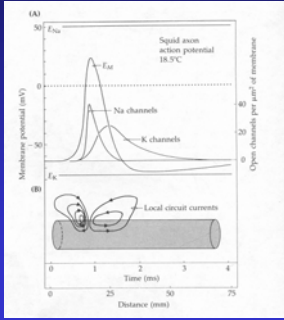
$$\left\{ \begin{array}{l}
 \frac{dV}{dt} = \frac{1}{\tau_m} \left(V - \frac{\sum_i g_i (V - E_i)}{g_{tot}} \right) \quad \text{dove } \tau_m = R_m / g_{tot} \\
 \frac{dy_i}{dt} = \alpha_i - (\alpha_i + \beta_i) y_i
 \end{array} \right.$$

$$g_i = g_i^{\max} y_{i-act}^n y_{i-inact}^m$$

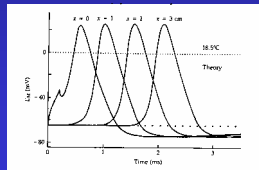
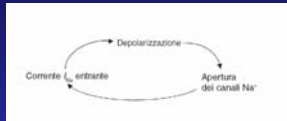
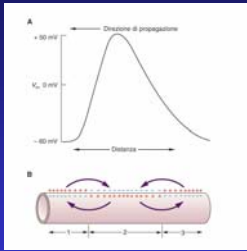
$$\alpha_i, \beta_i = f(V, t)$$

Soluzione con metodi di integrazione numerica

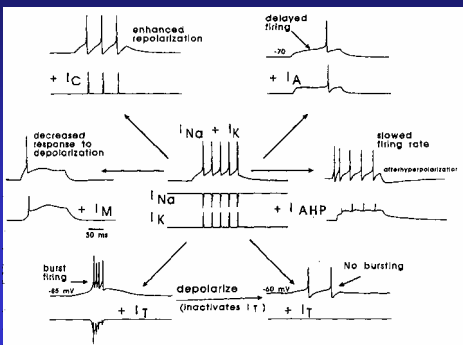
Il modello HH describe le conduttanze di membrana durante il potenziale d'azione



Il pda è autorigenerativo e propagato

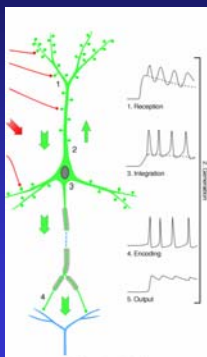
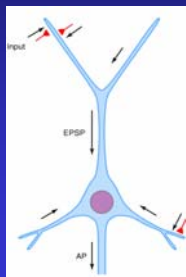


Particolari combinazioni di canali ionici conferiscono ai neuroni diverse proprietà eccitabili



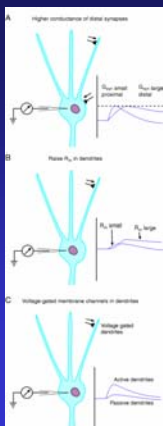
I neuroni hanno regioni funzionalmente distinte

- Trasmissione dei potenziali d'azione
- Trasmissione degli EPSP
- Proprietà locali (compartmentalizzazione)



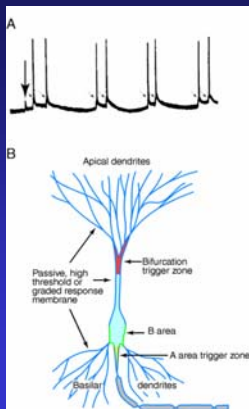
I dendriti hanno proprietà attive e passive

- Filtraggio e amplificazione degli EPSP



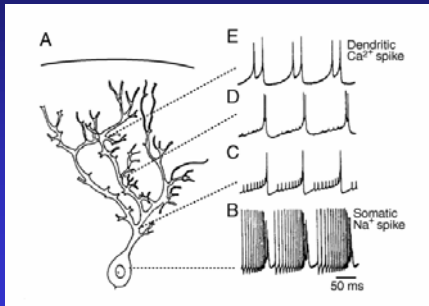
Proprietà attive e passive dei dendriti:

- Spike back-propagation
- Coincidence-detection
- Multiple AP triggering



Proprietà attive e passive dei dendriti:

•Computazione locale e microcircuiti



Conclusioni

Nonostante numerosi aspetti rimangano da chiarire, le basi biofisiche delle funzioni neuronali sono state comprese: ora rimane il problema di comprendere come, dalle funzioni neuronali, emergano le funzioni cognitive.
