



CURSO DE BIOMEDICINA I & II
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE



ESTRUCTURA Y SEÑALIZACIÓN CELULAR II
Synapsis, Plasticidad sináptica y memoria



Dra. Tatiana Adasme Rocha
Laboratorio de Señales mediadas por Calcio
Facultad de Medicina
Universidad de Chile



Agosto, 2018.

EL CEREBRO

Es una red compuesta por más de 100 billones de células nerviosas interconectadas en sistemas que construyen nuestras percepciones del medio externo.



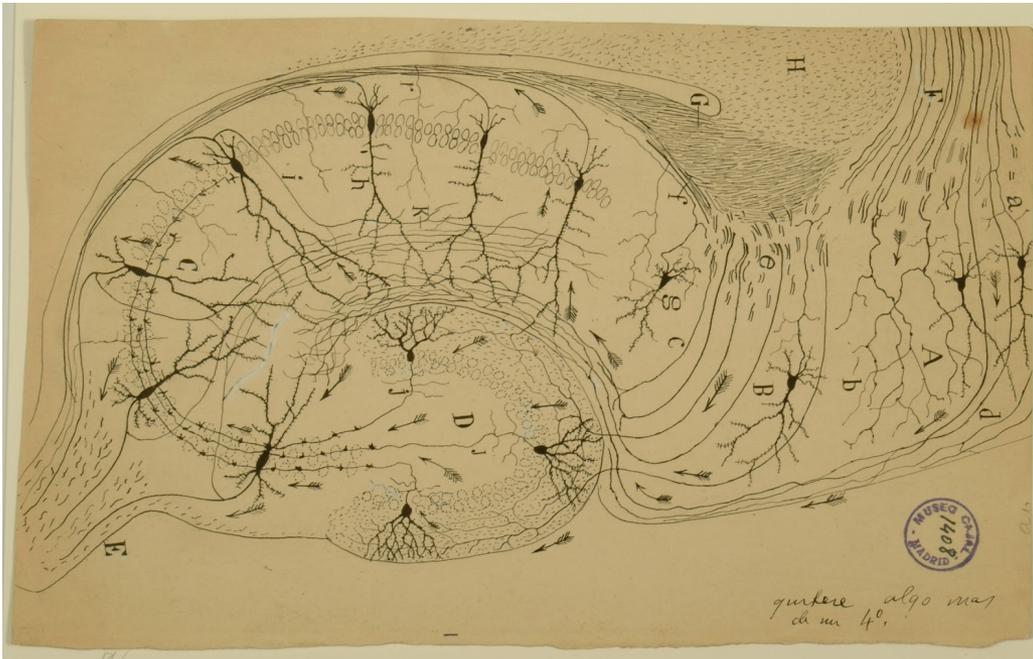
NEURONAS



Camilo Golgi



Santiago Ramón y Cajal: utilizando la tinción de golgi, mostró que el tejido nervioso no es continuo, sino una red de células discretas. Describió a las **neuronas** como elementos fundamentales individuales del sistema nervioso.

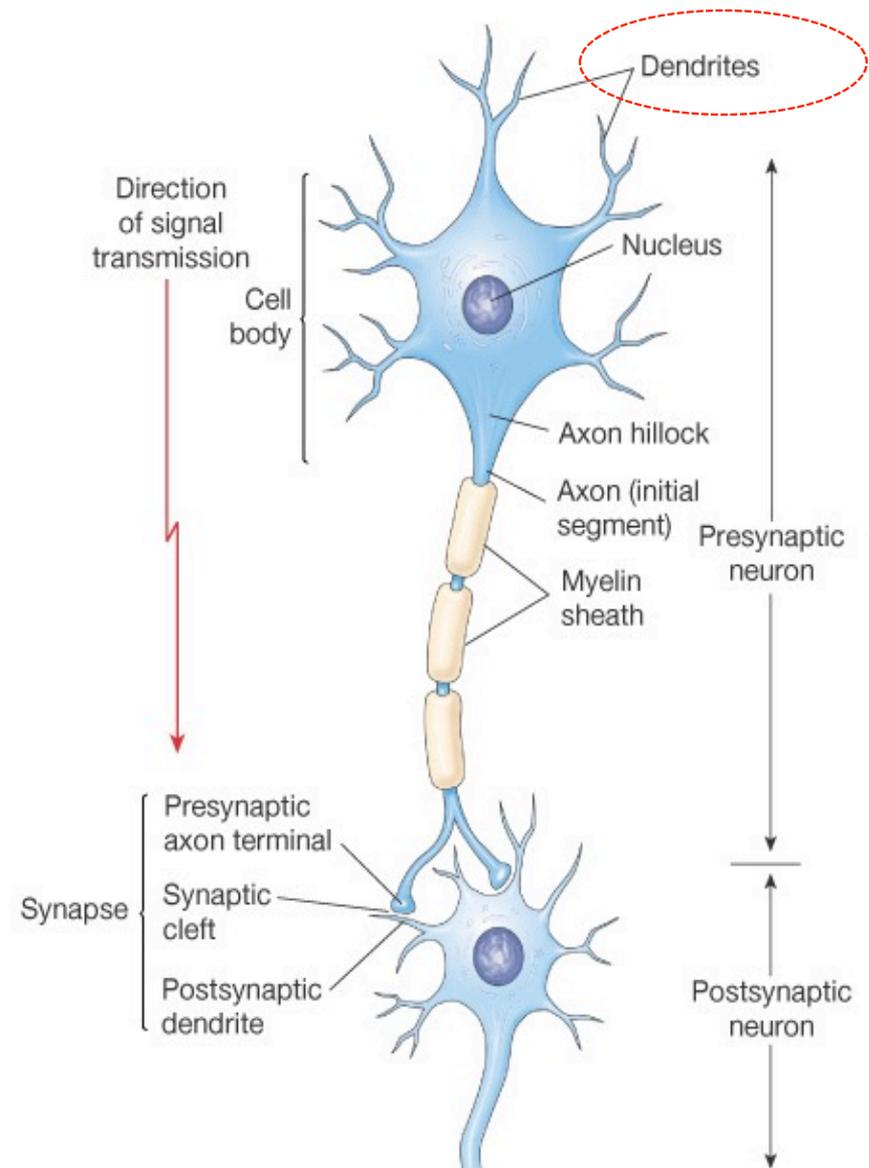


Planteó que las neuronas se comunican entre sí a través de contactos funcionales llamados **sinapsis**

LAS NEURONAS

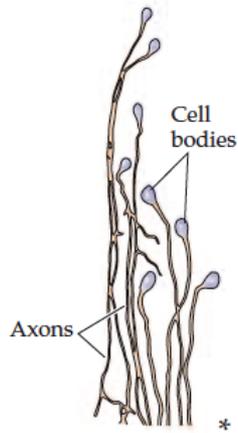
- Son células polarizadas con dominios especializados en la **recepción** (dendritas y soma), **conducción** (axón) y **emisión** (terminal axónico) de mensajes intercelulares.

- Las neuronas reciben y generan señales eléctricas (**potenciales de acción, potenciales sinápticos**) y químicas (**neurotransmisores**).

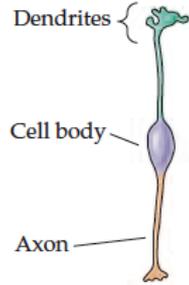


DIFERENCIAS MORFOLOGICAS DE LAS NEURONAS

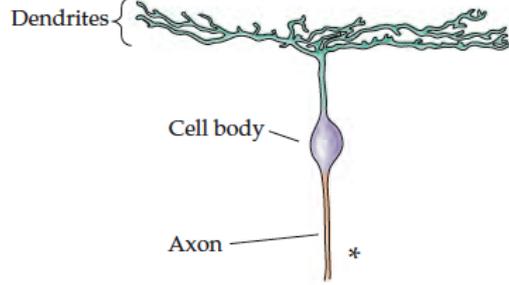
(A) Neurons in mesencephalic nucleus of cranial nerve V



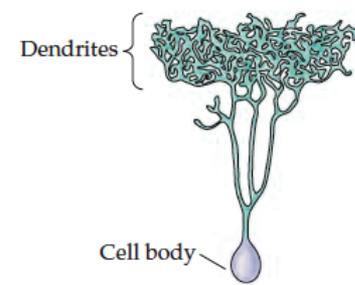
(B) Retinal bipolar cell



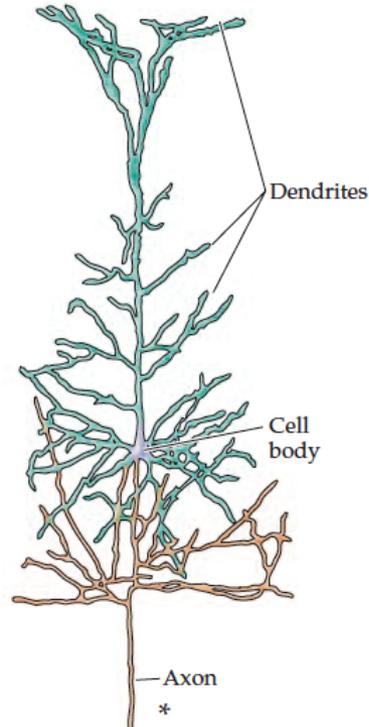
(C) Retinal ganglion cell



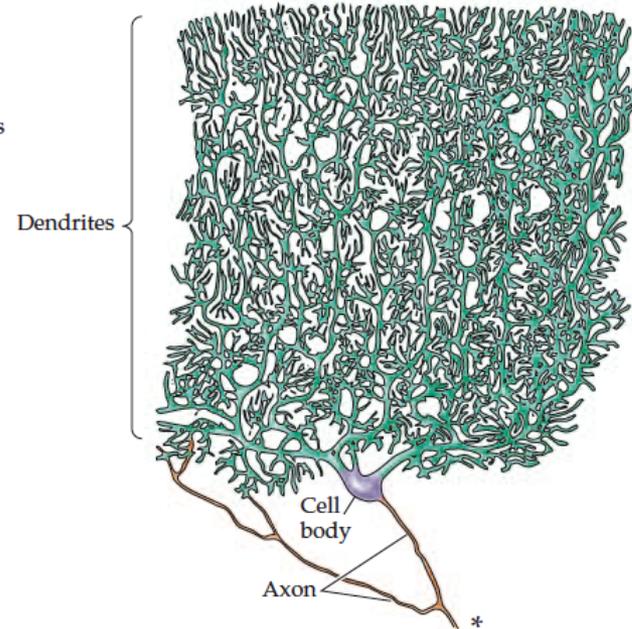
(D) Retinal amacrine cell



(E) Cortical pyramidal cell



(F) Cerebellar Purkinje cells

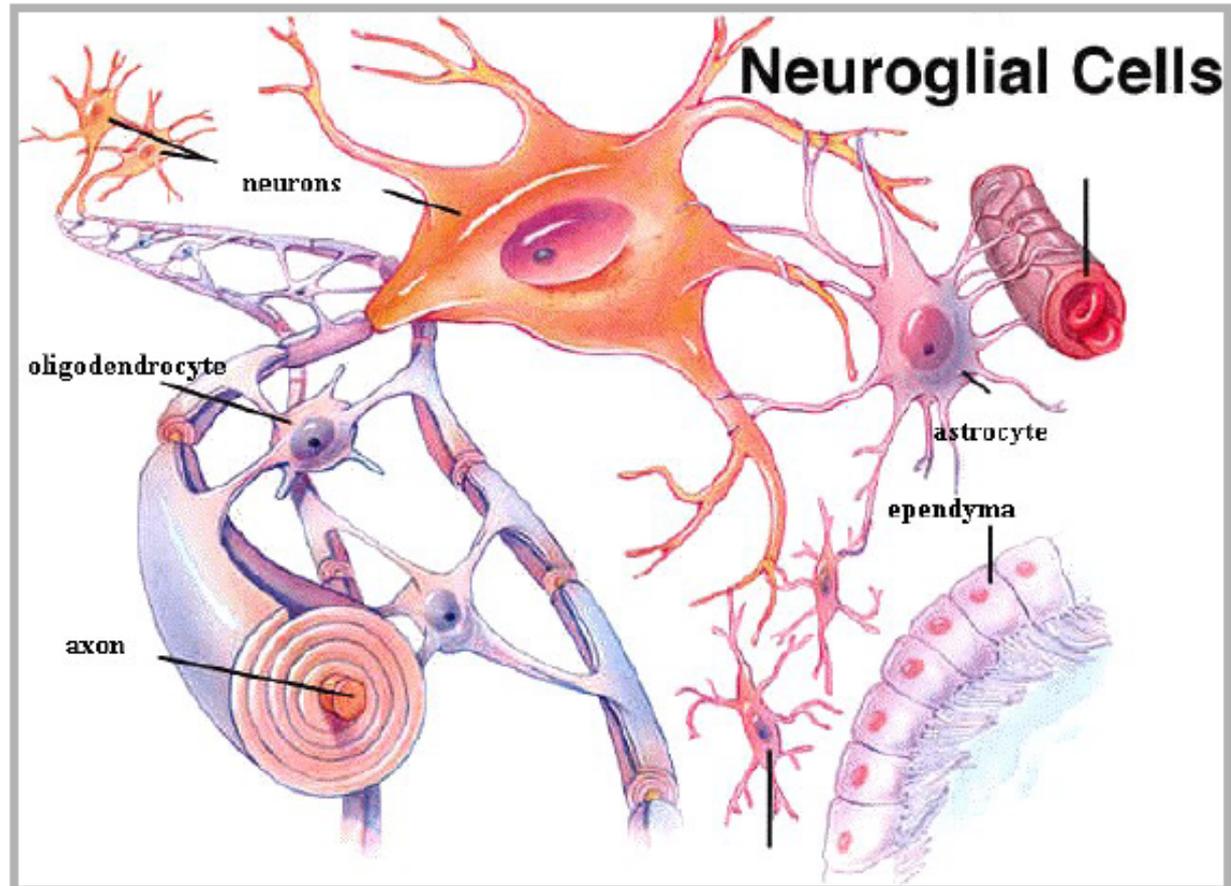


CÉLULAS DE LA GLÍA O NEUROGLÍA

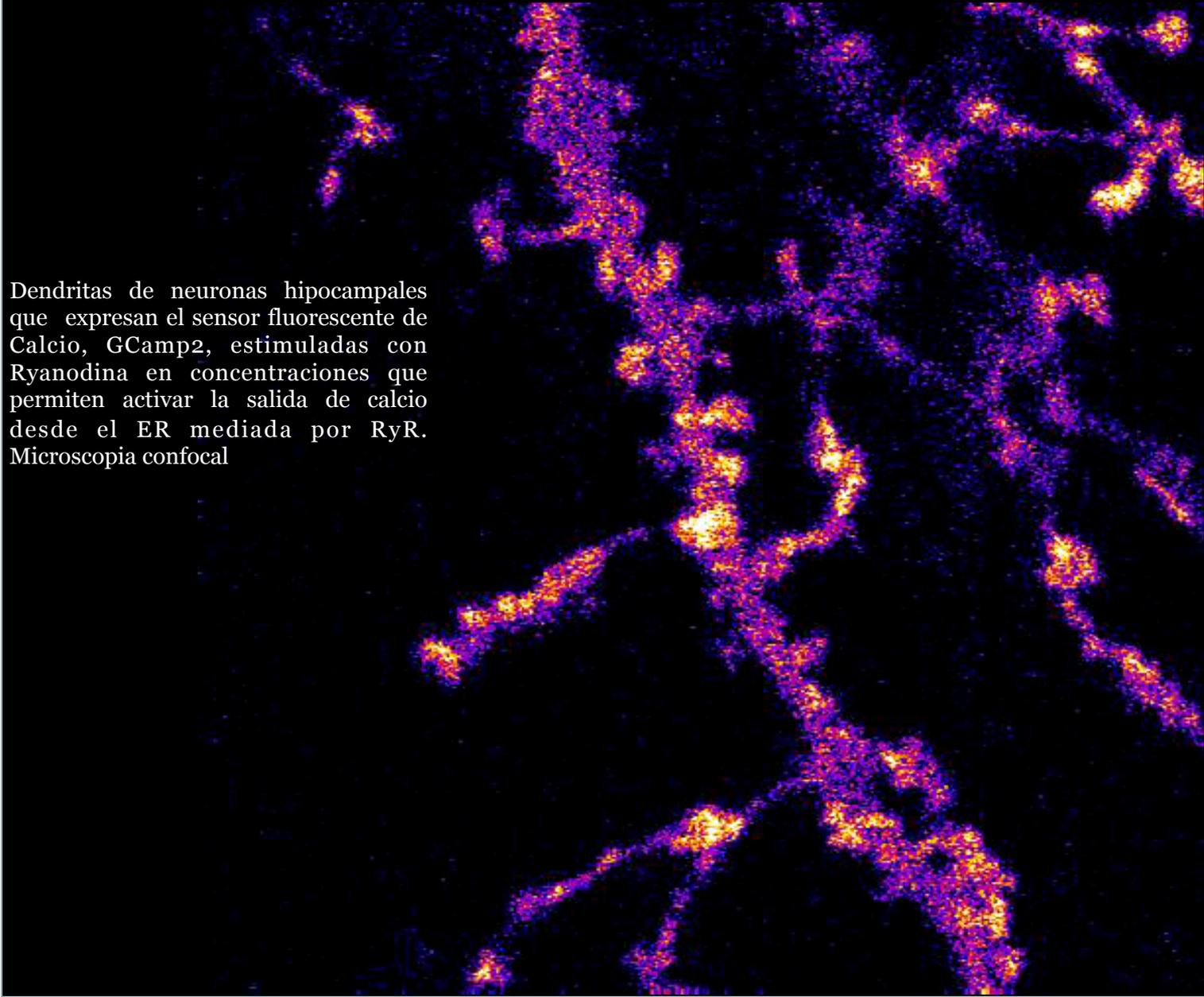
- 10-50 veces más numerosas
- Ramificaciones escasas y cortas
- Soporte mecánico y aislamiento

- Constancia microambiente neuronal
- Desarrollo neuronal y nutrición

- Astroglía
- Oligodendroglía
- Células de Schwann
- Microglía



Dendritas de neuronas hipocampales que expresan el sensor fluorescente de Calcio, GCamp2, estimuladas con Ryanodina en concentraciones que permiten activar la salida de calcio desde el ER mediada por RyR. Microscopia confocal



Sinapsis

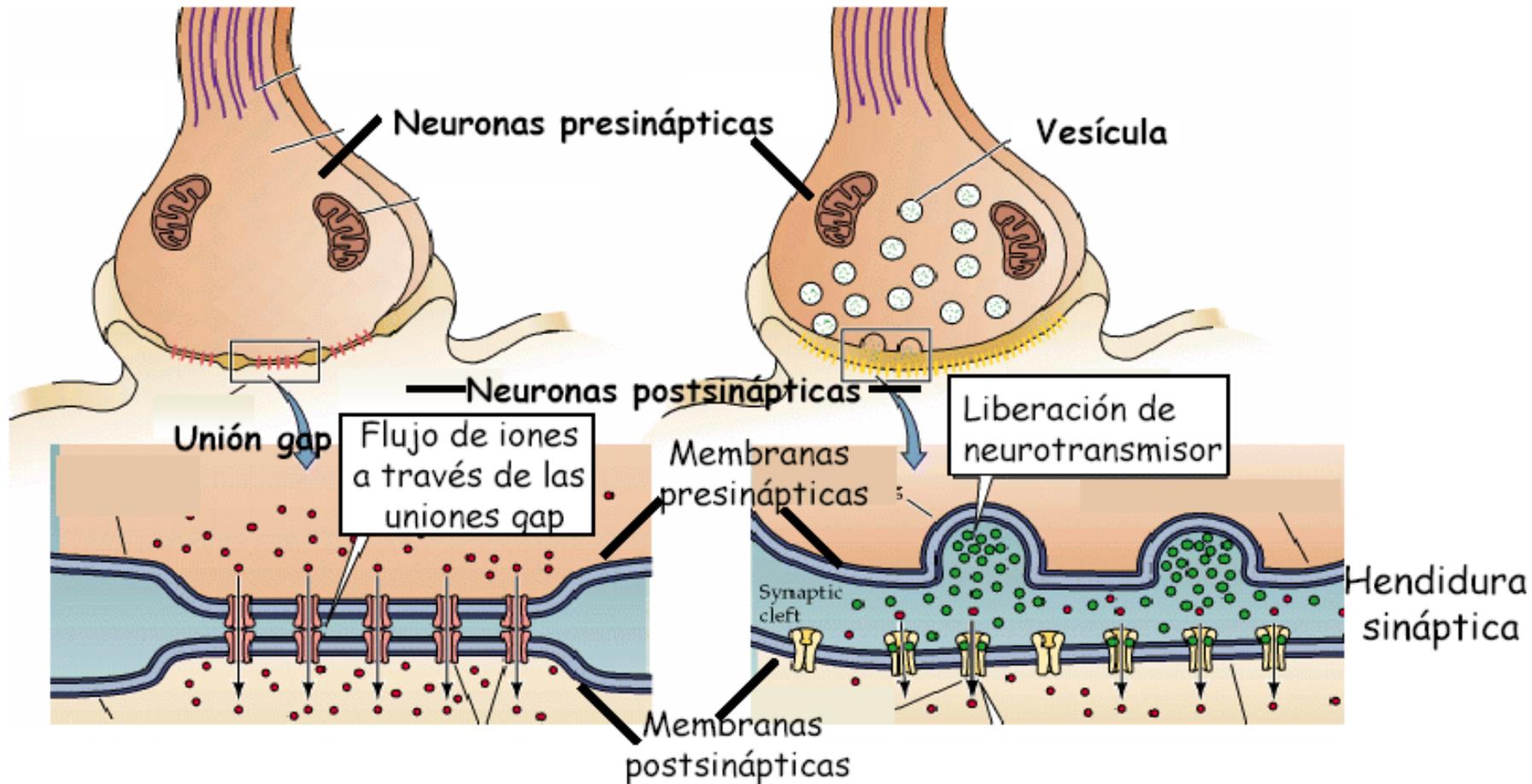
Comunicación e interacción que establecen las neuronas entre si (**Sinapsis Neuronal**) o con el músculo (**Sinapsis Neuromuscular**).



Las Sinapsis se dividen en dos grupos principales

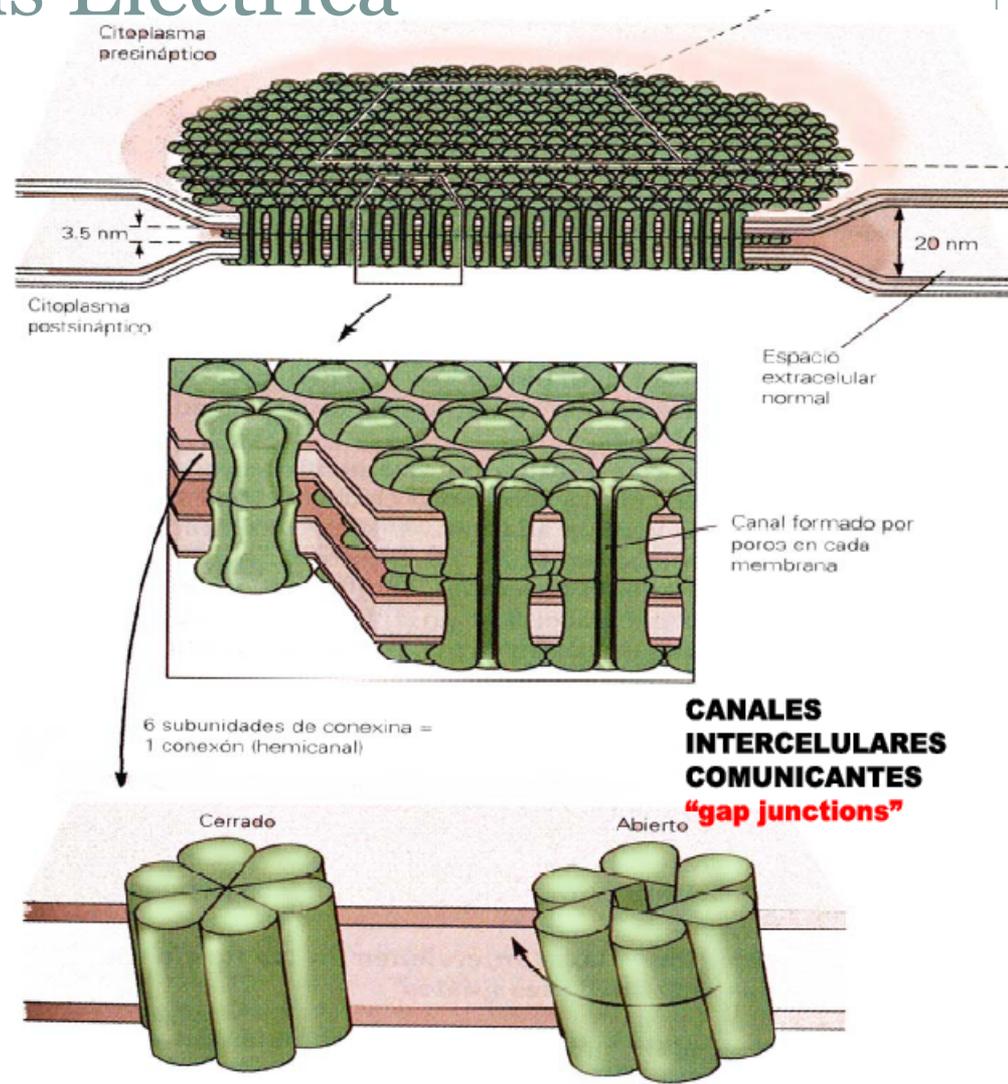
Eléctricas

Químicas

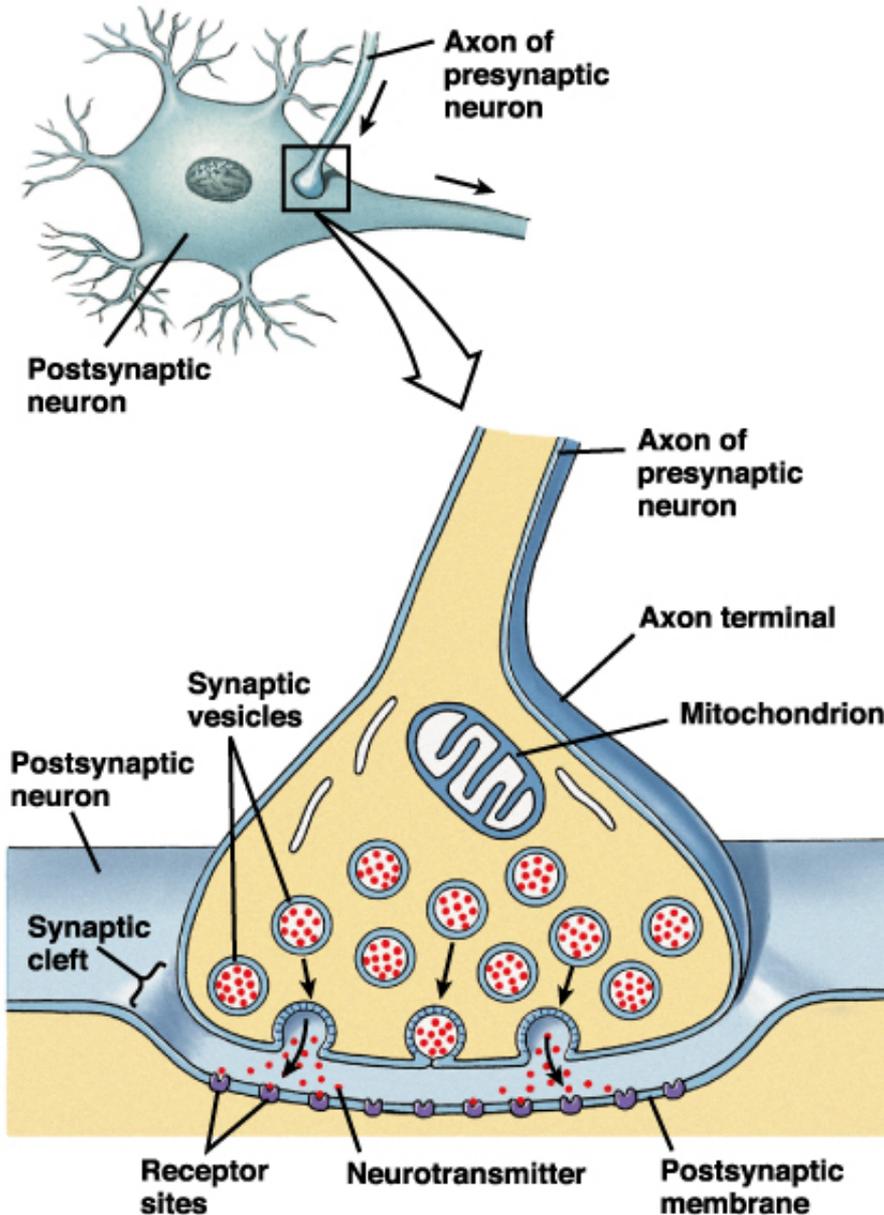


Sinapsis Eléctrica

- Continuidad entre la célula pre y post-sináptica (canales intercomunicantes)
- Agente transmisor: Corriente iónica
- Rapidez: no hay retraso sináptico
- Transmisión bidireccional
- Sincronización rápida de grupos celulares

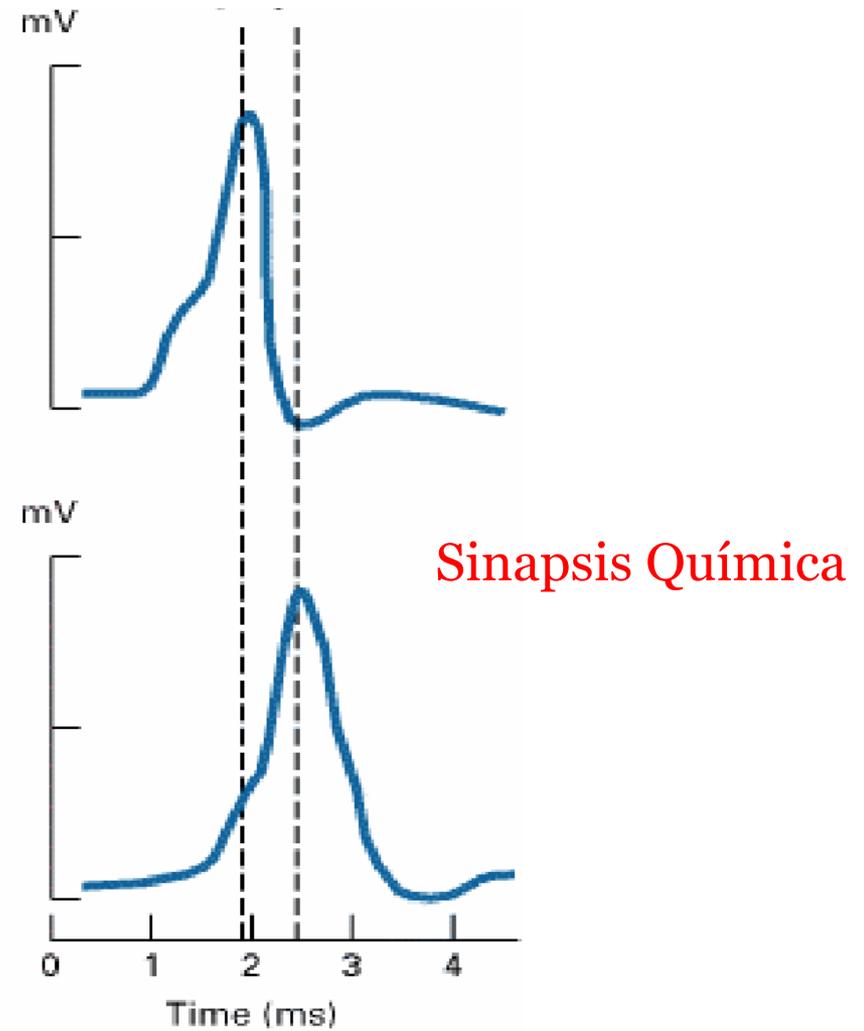
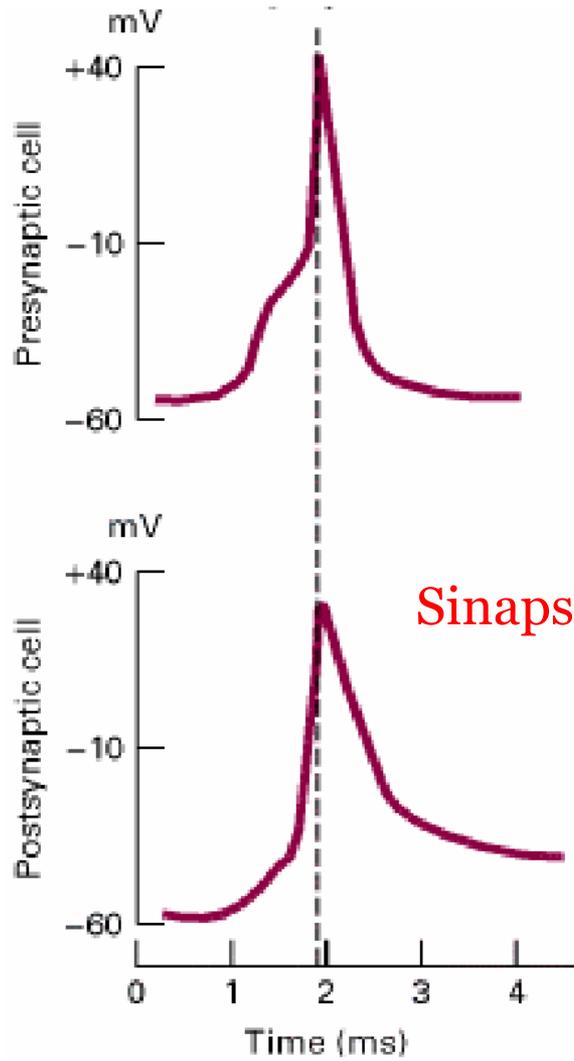


Sinapsis Química

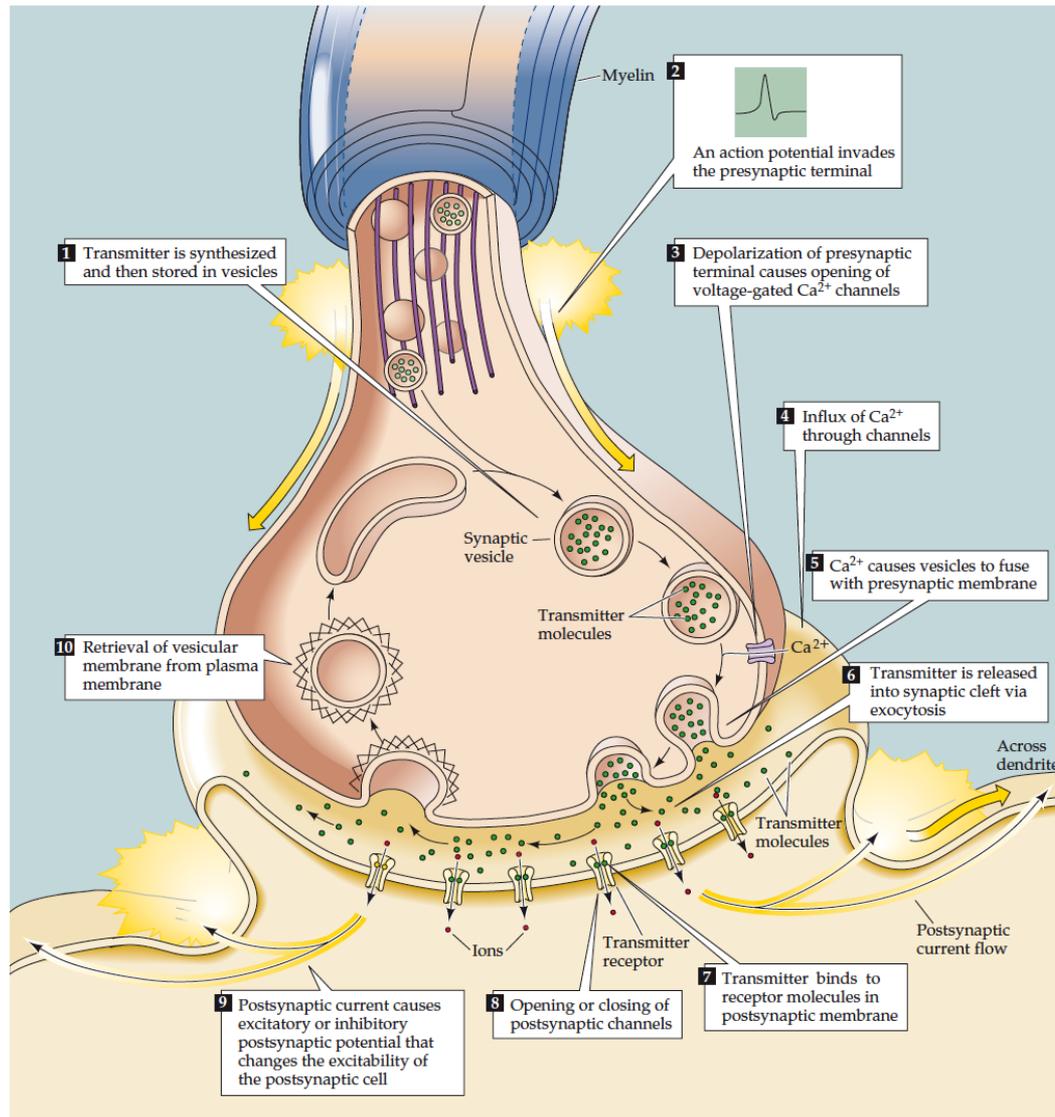


- Separación entre célula pre y post-sináptica (hendidura sináptica 20-40 nm)
- Agente transmisor: Transmisor químico
- Rapidez: retraso sináptico significativo entre 0.5 y 1.5 ms
- Transmisión unidireccional
- Mayor versatilidad y capacidad de regulación

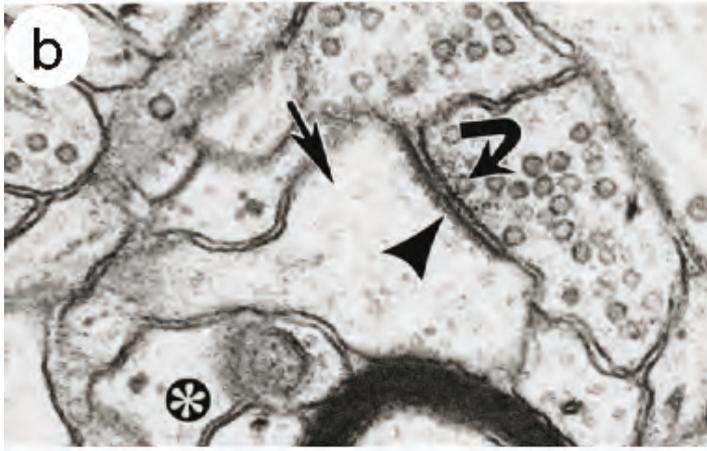
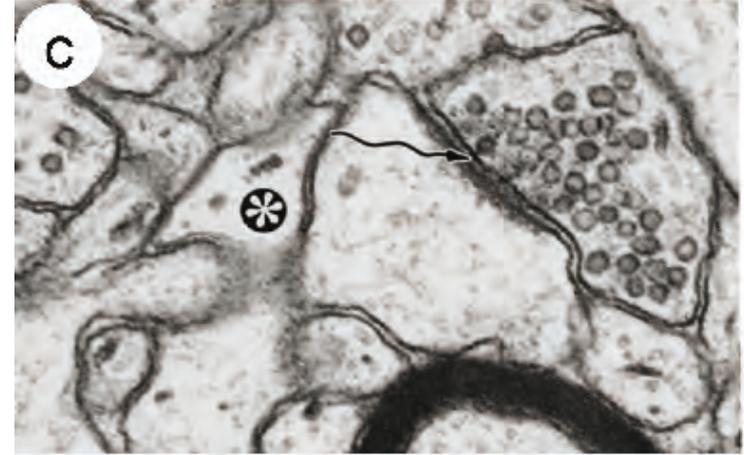
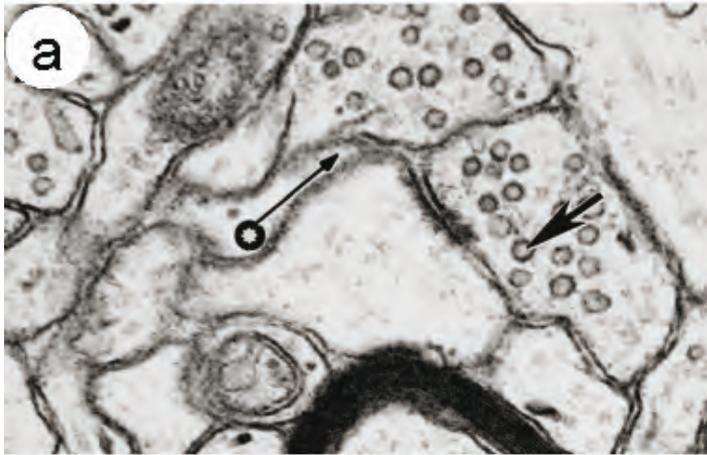
Retraso Sináptico



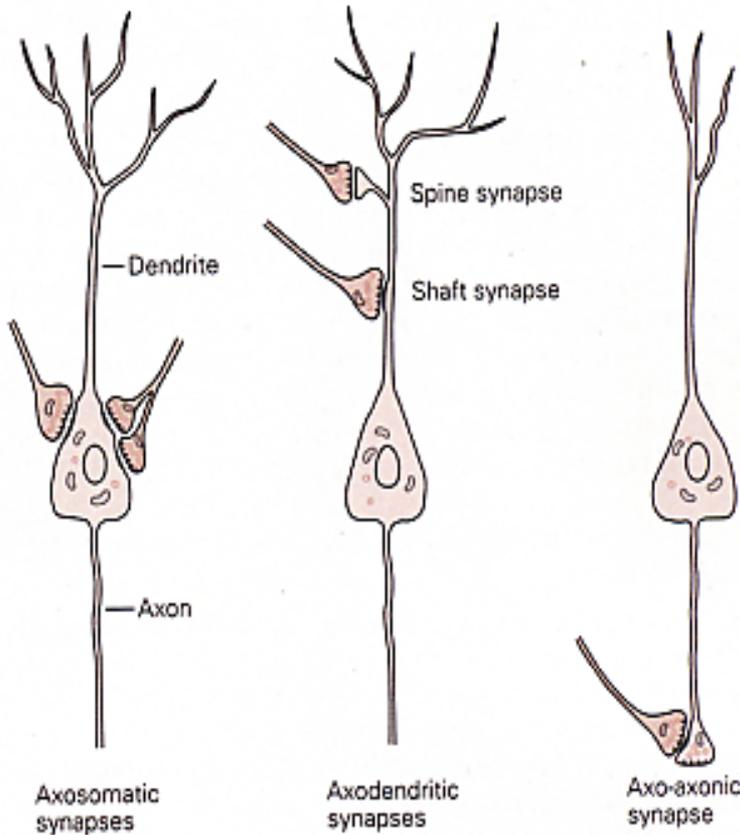
Transmisión sináptica en la sinapsis química



Transmisión sináptica: microscopía electrónica



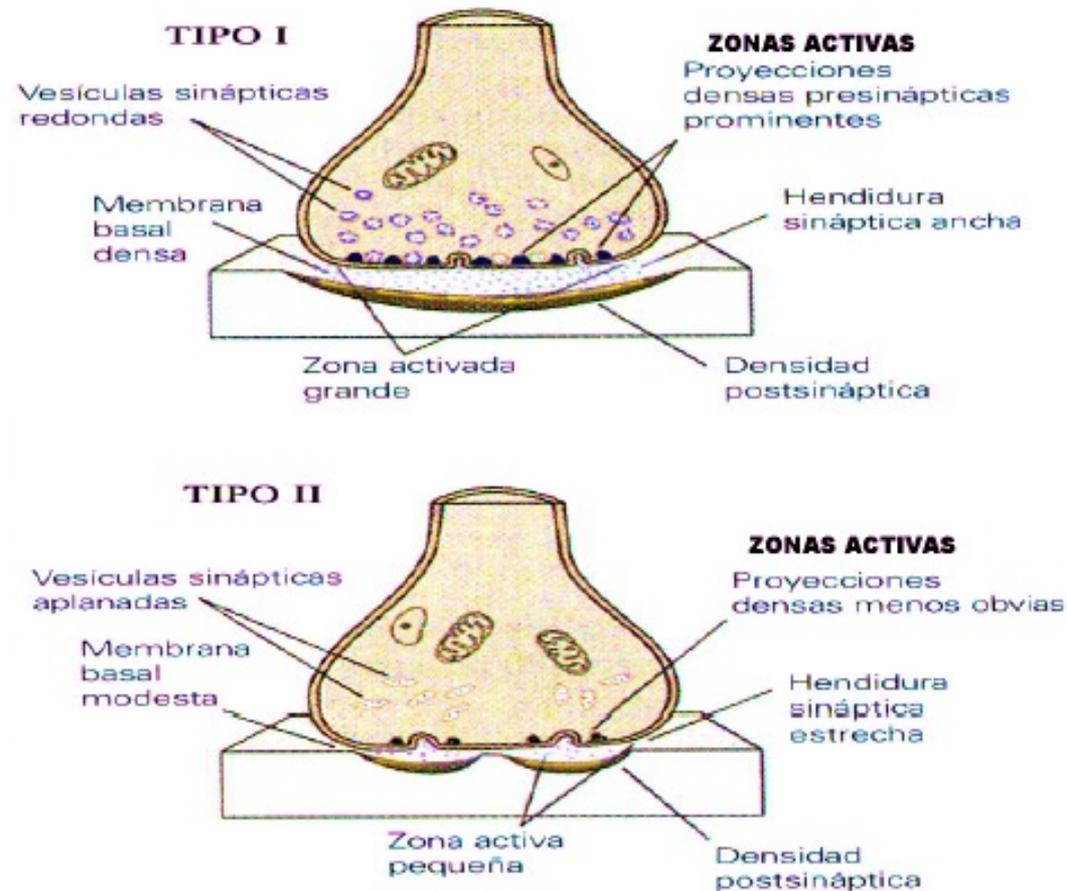
Las sinapsis excitadoras e inhibitorias tienen ultra estructuras características



INHIBITORIA
Tipo II

EXCITATORIA
Tipo I

EXCITATORIA
Tipo I



GABAérgicas
inhibitorias

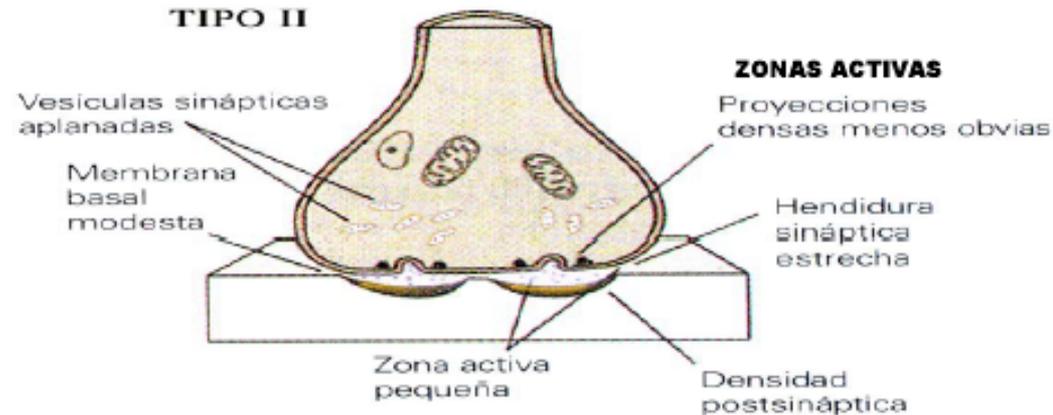
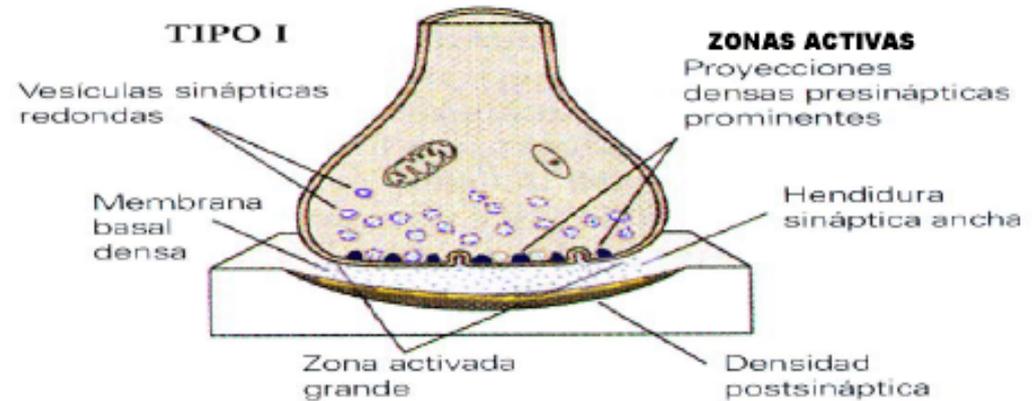
Glutamatérgicas
excitatorias

Las sinapsis excitadoras e inhibitorias tienen ultra estructuras características

Las **sinapsis de tipo I** generalmente son glutamatergicas, la hendidura sináptica esta ensanchada, las regiones densas de lib. del neurotransmisor son prominentes, al microscopio las vesículas se obs. Redondas.

Las **sinapsis de tipo II** generalmente son

GABAérgicas, la hendidura sináptica es angosta, las especializaciones de la mb presináptica son discretas. las vesículas se obs. Ovaladas o planas.



INHIBITORIA
Tipo II

EXCITATORIA
Tipo I

EXCITATORIA
Tipo I

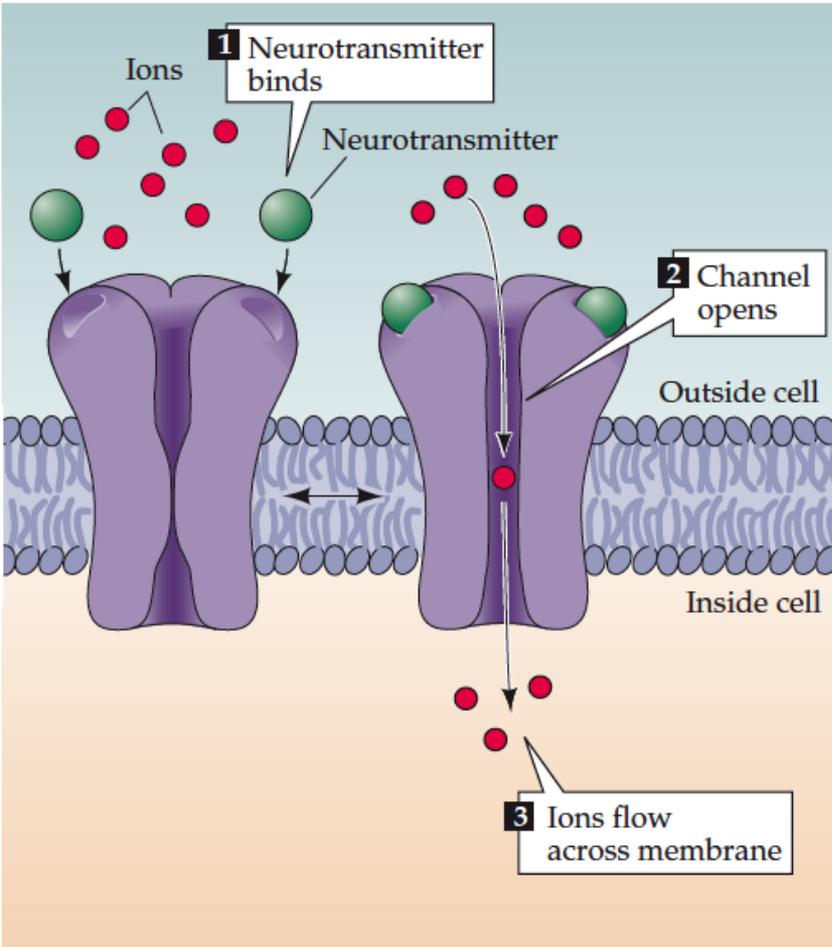
GABAérgicas
inhibitorias

Glutamatergicas
excitatorias

Los Neurotransmisores actúan directa o indirectamente sobre los canales iónicos que regulan el flujo de corriente en las neuronas

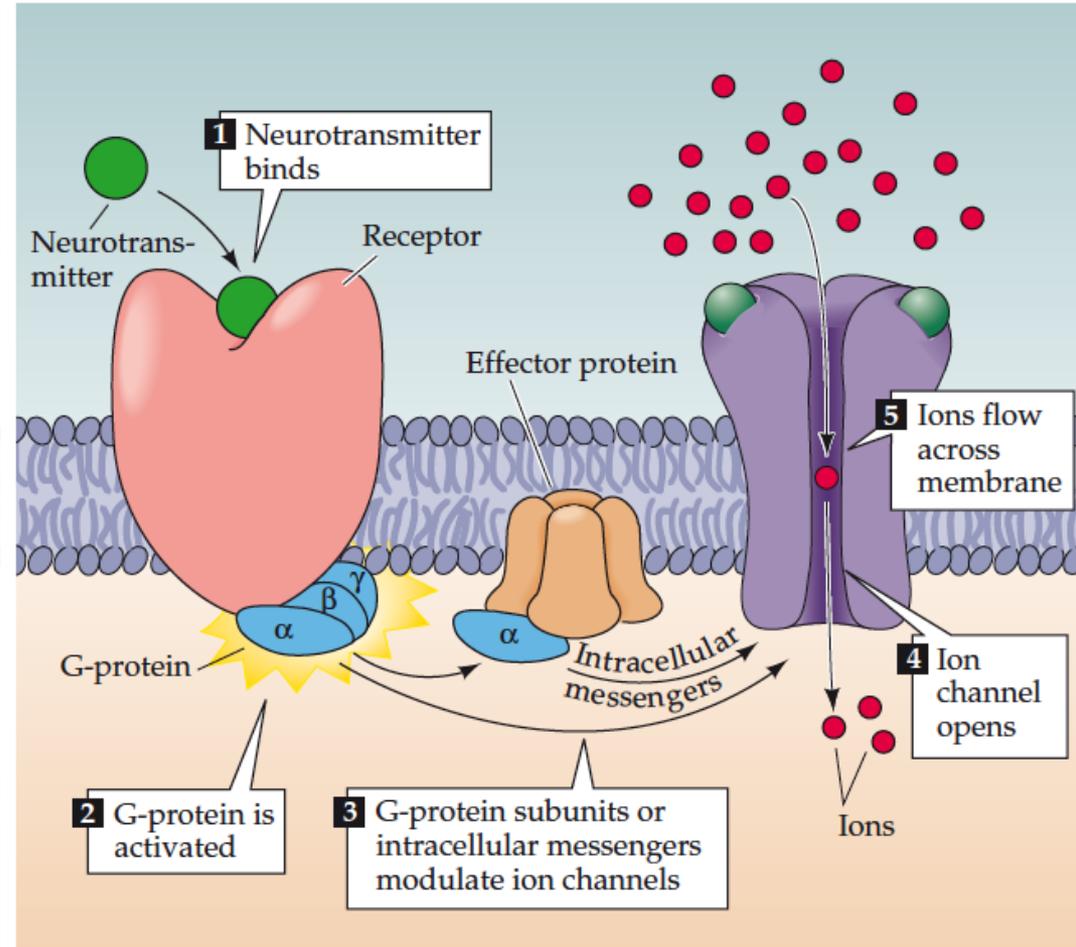
Activación Directa

(A) Ligand-gated ion channels



Activación Indirecta

(B) G-protein-coupled receptors



4 Etapas en la transmisión química

Presinápticas

- 1) Síntesis de sustancia transmisora
- 2) Almacenamiento y liberación del neurotransmisor

Postsinápticas

- 3) Interacción del transmisor con su receptor en la membrana postsináptica
- 4) Eliminación del neurotransmisor de la hendidura sináptica.

Definición de Neurotransmisor:



Sustancia liberada por una neurona en la sinapsis que afecta de forma específica a una célula postsináptica, sea una neurona o un órgano efector, como una célula muscular o una glándula.

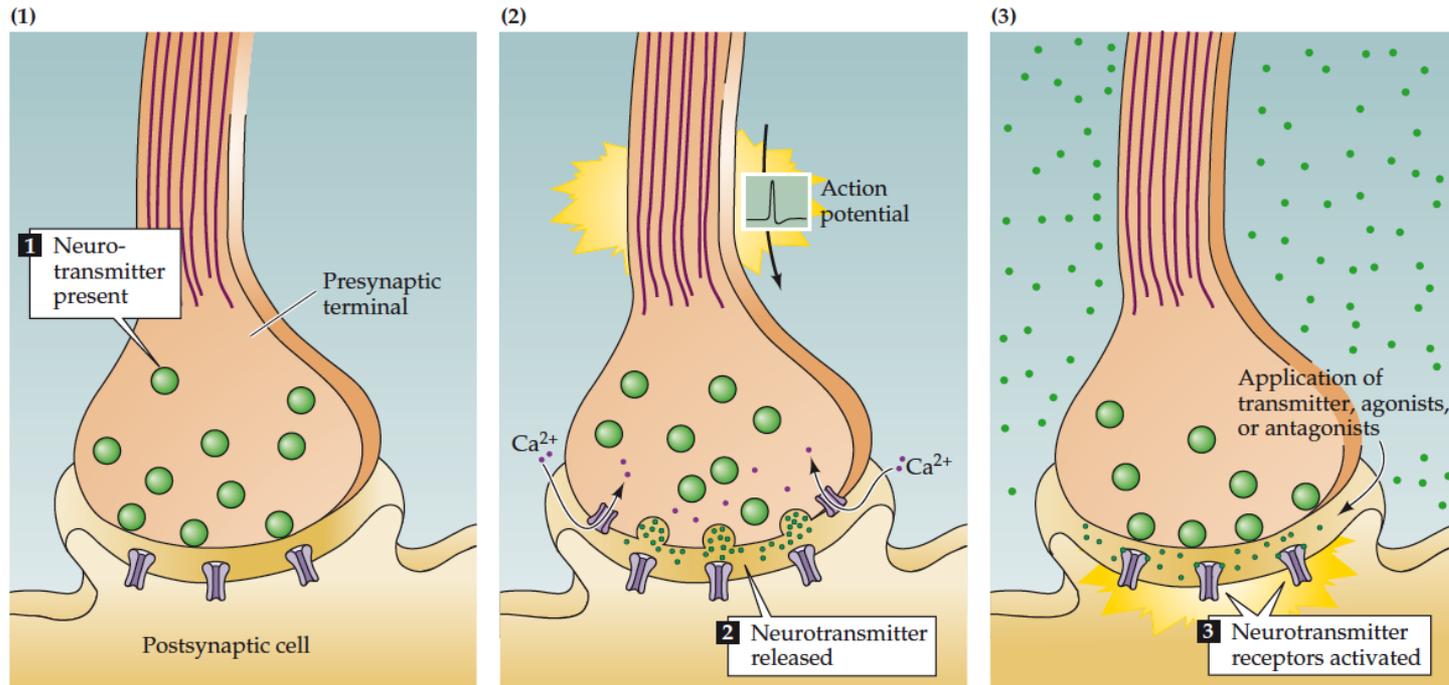
Los efectos de un neurotransmisor son transitorios y duran entre milisegundos y minutos. Pero puede provocar cambios a largo plazo (horas-días)

Criterios de inclusión de una sustancia para que sea considerada un neurotransmisor

- 1) Es sintetizada en la neurona.
- 2) Está presente en la terminal presináptica y se libera en cantidad suficiente como para ejercer una acción definida en la neurona postsináptica u órgano efector.
- 3) Cuando se administra desde el exterior (como fármaco) en concentraciones razonables, imita exactamente la acción del transmisor de liberación endógena.
- 4) Existe un mecanismo específico para eliminarla de su lugar de acción (la hendidura sináptica).

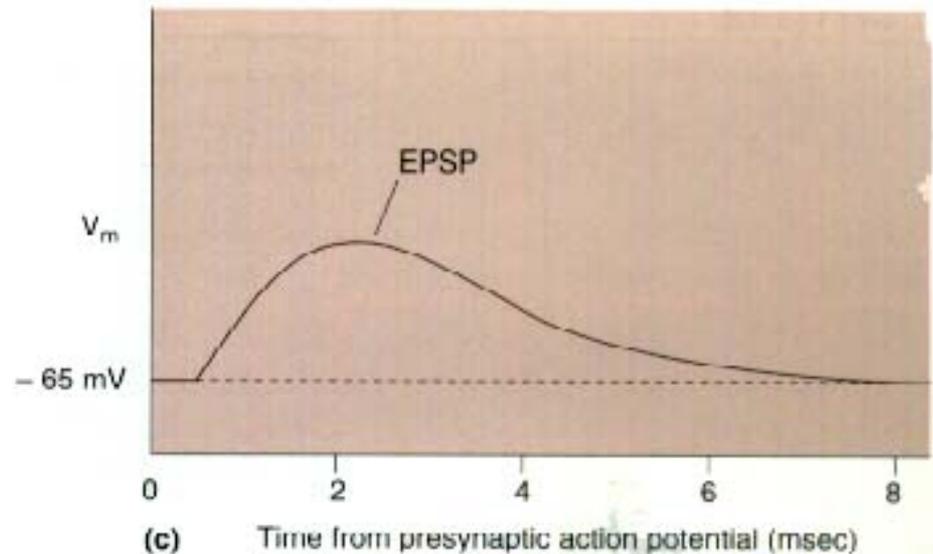
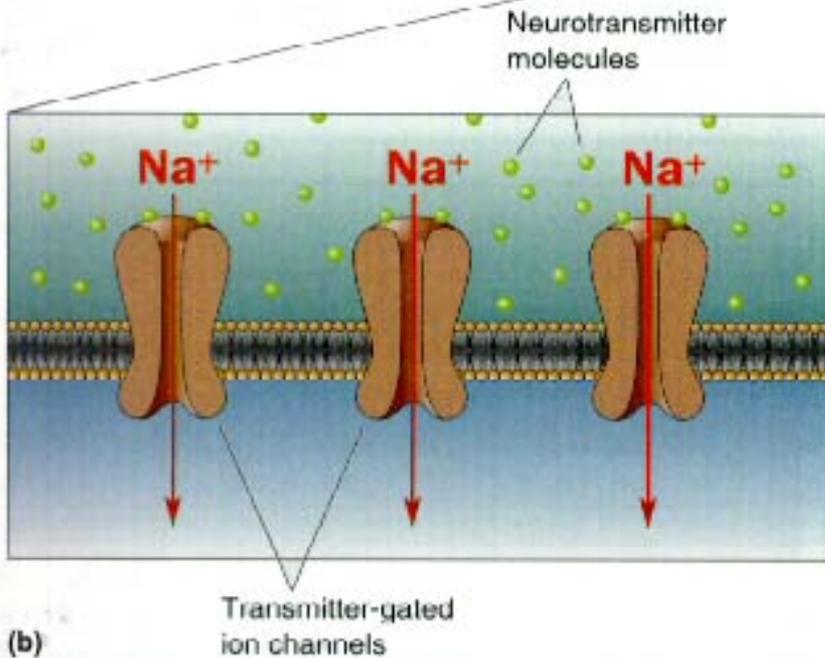
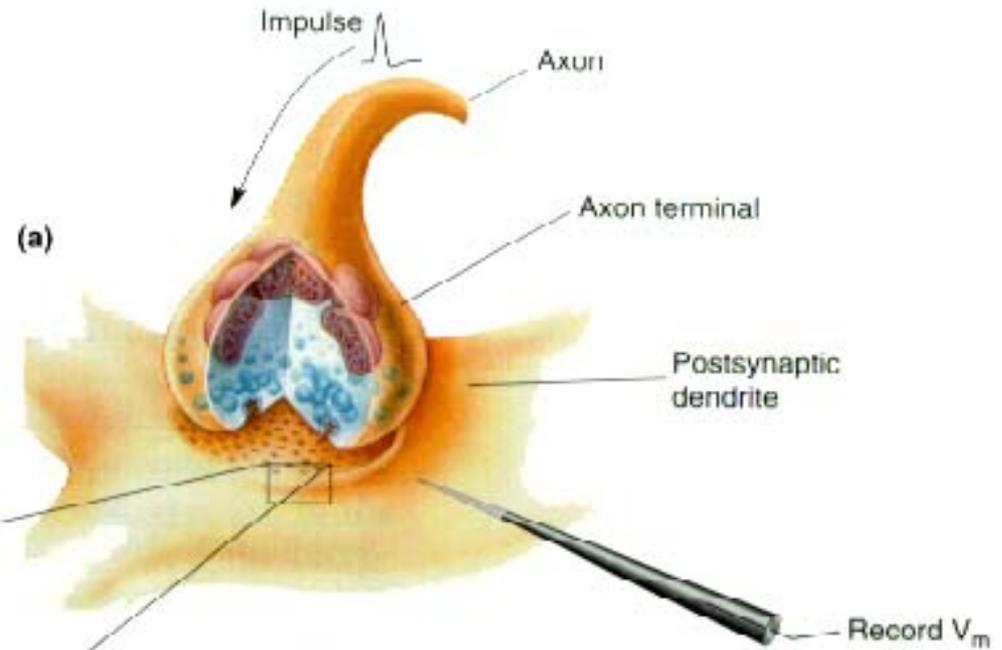
Neurotransmisor

- a) Debe estar presente en la neurona pre sináptica
- b) La sustancia debe ser liberada en respuesta a la despolarización de la neurona pre sináptica, su liberación debe ser dependiente de calcio
- c) La célula postsináptica debe tener receptores específicos para la sustancia liberada.

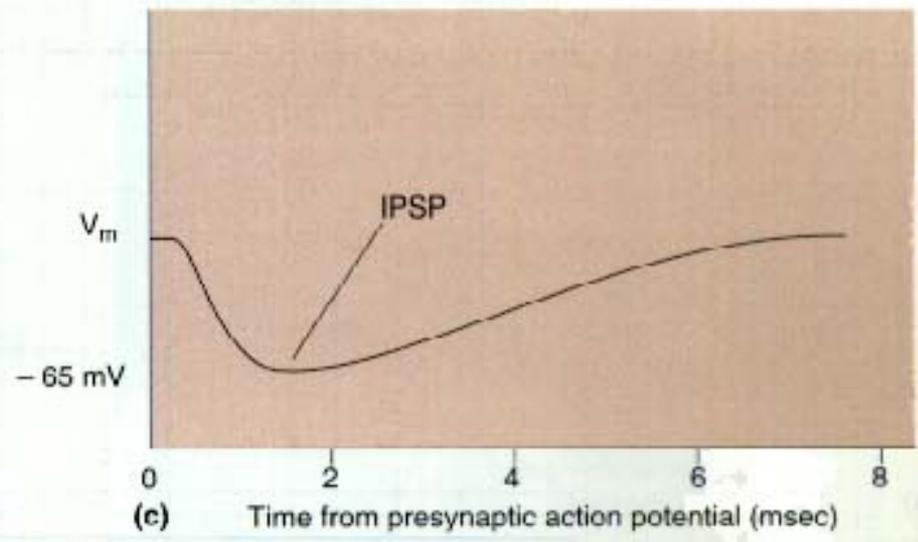
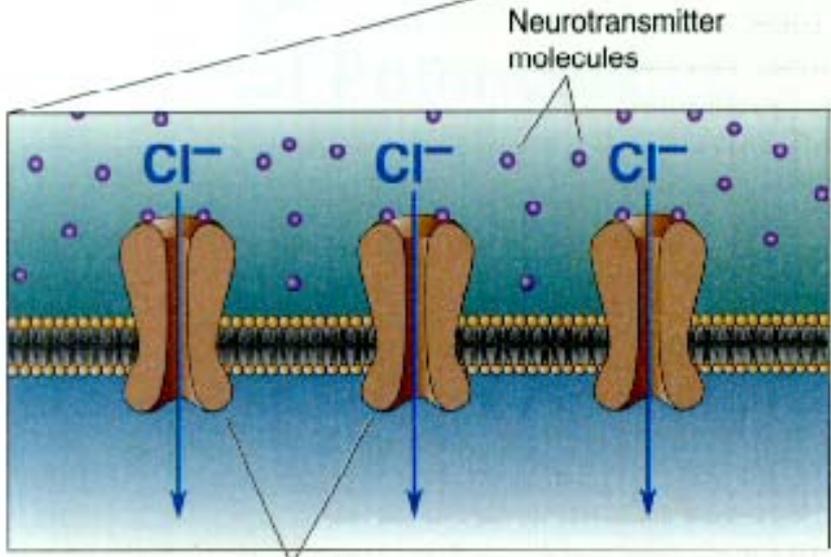
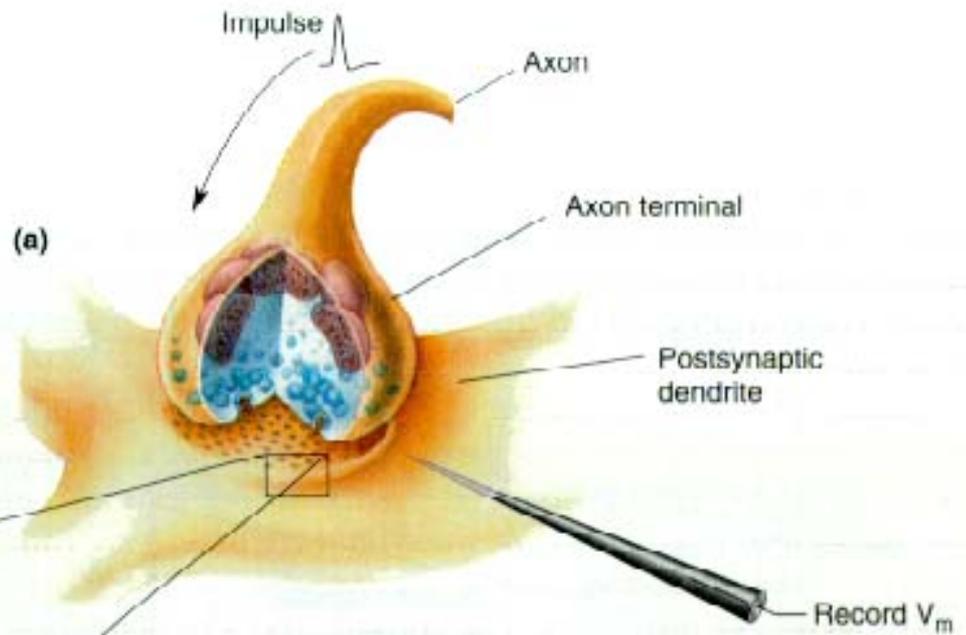


Sinapsis excitatoria (EPSP)

La liberación de una señal química en una sinapsis provoca un cambio en el potencial de membrana de la célula post-sináptica. Los mediadores de esta respuesta son receptores que actúan como canales iónicos o están asociados a canales iónicos.



Sinapsis inhibitorias (IPSP)



(b)

(c)

Neurotransmisores



Neurotransmisores de acción rápida:

- Moléculas pequeñas.
- Respuestas inmediatas del sistema nervioso principalmente en cerebro y las señales motoras a los músculos

Neurotransmisores de acción lenta:

- Moléculas de mayor tamaño.
- Neuropeptidos
- Efectos mas prolongados ej: cambio en el número de canales iónicos, número de sinapsis

Neurotransmisores de acción rápida

Grupo I:

Acetilcolina

Grupo II: Aminas

Norepinefrina

Dopamina

Serotonina

Histamina

Grupo III: Aminoácidos

Ácido gama-aminobutírico (GABA)

Glicina

Glutamato

Aspartato

Grupo IV:

Oxido Nítrico

Neurotransmisores de acción lenta:

Hormonas liberadas por el Hipotálamo:

Tiropropina, hormona luteinizante,
Somatostatina

Péptidos Hormonales:

ACTH, prolactina, vasopresina, etc

Péptidos de acción sobre el intestino y el encéfalo

Procedentes de otros tejidos:

Angiotensina II, calcitonina, etc

Los NT actúan sobre 2 tipos de receptores postsinápticos



- Canales iónicos activados por ligando o Ionotrópicos (transmisión rápida)

glutamato

glicina

GABA_A

acetilcolina (nicotínico)

- Receptores Metabotrópicos (transmisión lenta, neuromodulación)

norepinefrina

GABA_B

serotonina

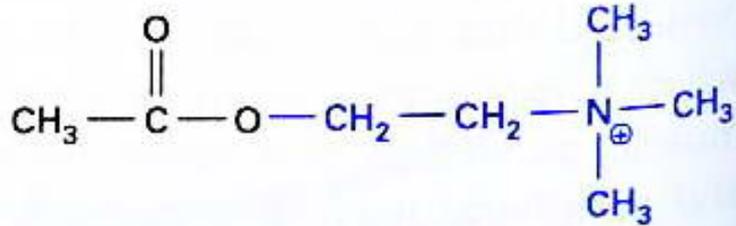
dopamina

acetilcolina (muscarínico)

purinérgico (adenosina)

Sistema Colinérgico

Acetilcolina (ACh)



Acetylcholine

Esta presente en el SNC y en el SNP.

Es sintetizada por a partir de Acetil CoA que es un producto del ciclo de Krebs y colina que se obtiene desde la dieta.

Es el NT que participa en la unión neuromuscular, entre neuronas y todos los tipos de músculo (esquelético, liso y cardiaco), por lo tanto es el responsable de la contracción muscular.

Aminas Biogénicas Transmisoras

Grupo II: Aminas

Norepinefrina

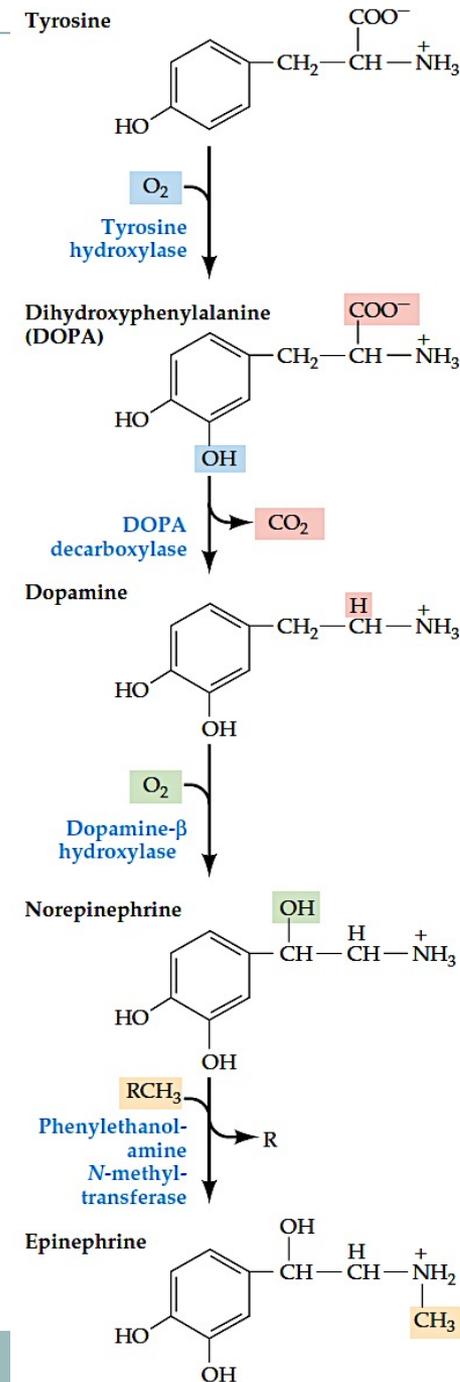
Dopamina

Serotonina

Histamina

Este grupo comprende a las catecolaminas y la serotonina.

Todas las catecolaminas transmisoras (dopamina, noradrenalina y adrenalina) son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina.



Grupo III: Aminoácidos

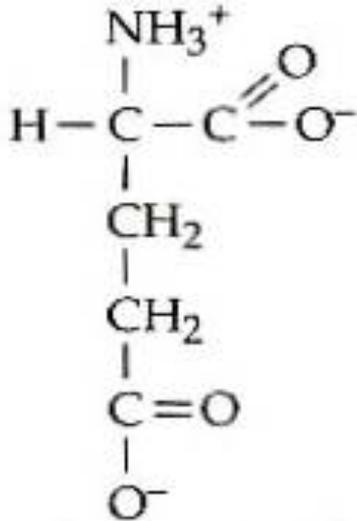
Ácido gama-aminobutírico (GABA)

Glicina

Glutamato

Aspartato

Glutamato



**Acidic amino acid
(Glutamic acid)**

El glutamato es el NT más común en el SNC

Se produce a partir de α -cetoglutarato.

El glutamato es excitador en los receptores ionotrópicos y regulador en los metabotrópicos

Es captado en la hendidura sináptica tanto por neuronas como por astrocitos.

RECEPTORES DE GLUTAMATO

Neurotransmitter:

Glutamate

Agonists:

AMPA

NMDA

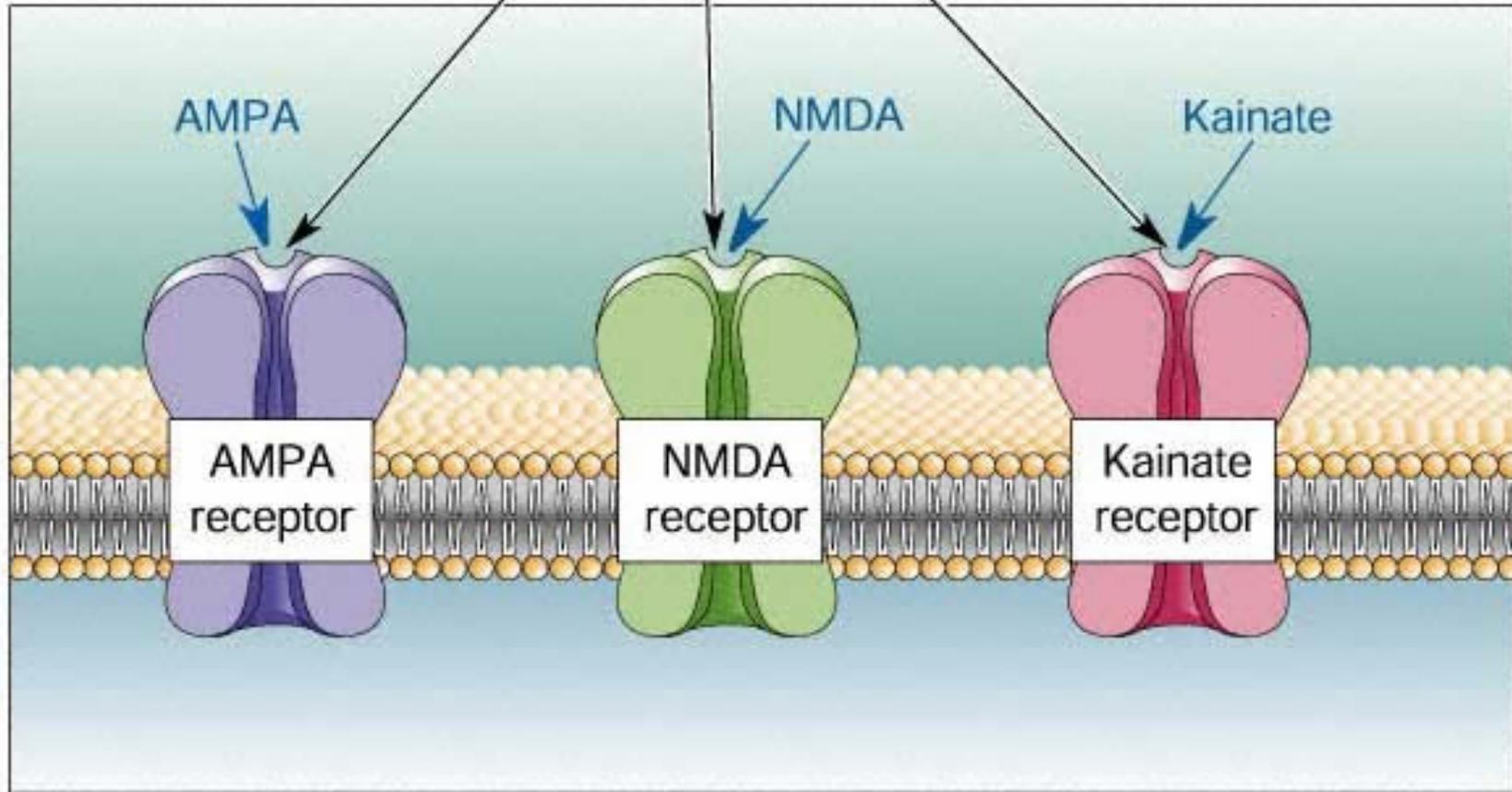
Kainate

Receptors:

AMPA
receptor

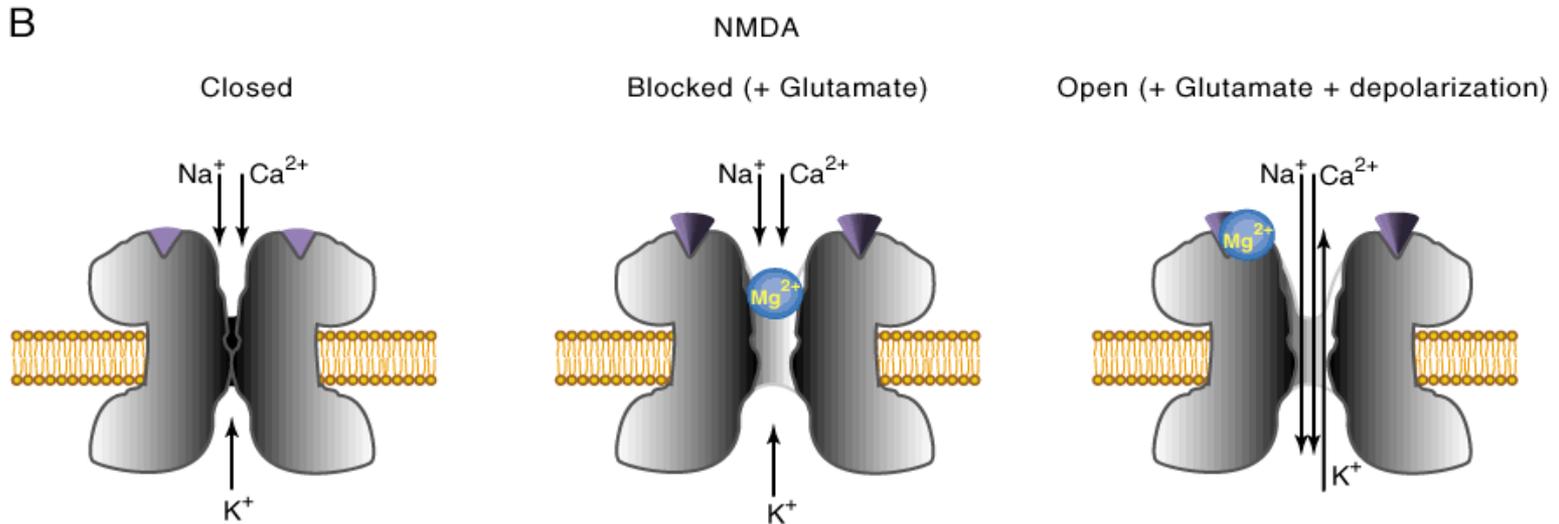
NMDA
receptor

Kainate
receptor

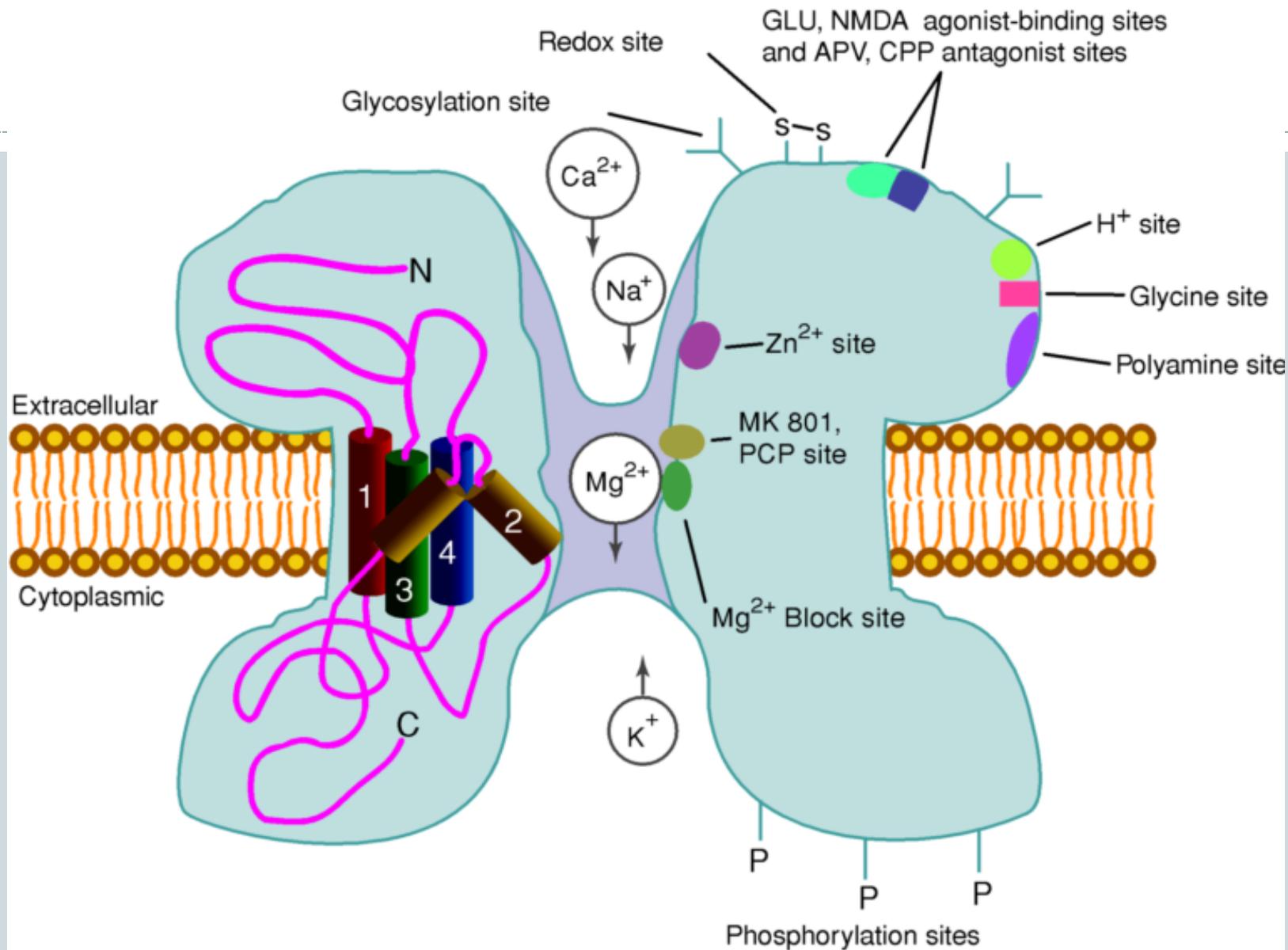


Tres tipos de receptores **ionotrópicos** para Glutamato.

- Los **NMDA** se bloquean por APV (ácido 2-amino-5-fosfonovalérico). Estos receptores son canales catiónicos de alta conductancia (50pS) que son permeables tanto a Ca^{2+} como a Na^+ y a K^+ . Estos canales necesitan glicina extracelular para su funcionamiento, su apertura depende tanto del potencial de membrana como del la unión del transmisor químico.



Al potencial de membrana de reposo (-65mV) el Mg^{2+} se une fuertemente al canal, pero cuando la membrana se despolariza el Mg^{2+} es expulsado del canal por repulsión electrostática.



RECEPTORES DE GLUTAMATO

Neurotransmitter:

Glutamate

Agonists:

AMPA

NMDA

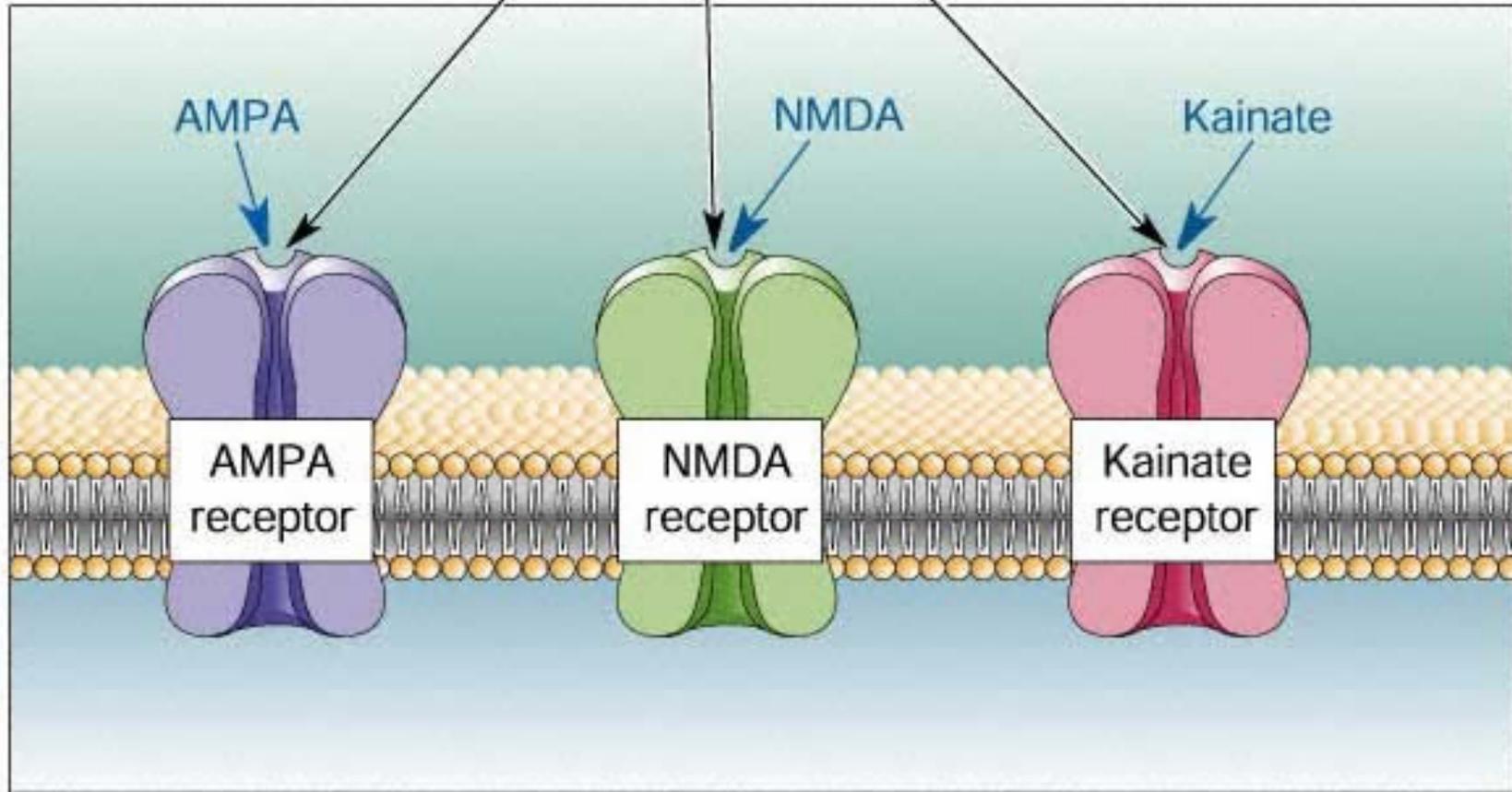
Kainate

Receptors:

AMPA
receptor

NMDA
receptor

Kainate
receptor

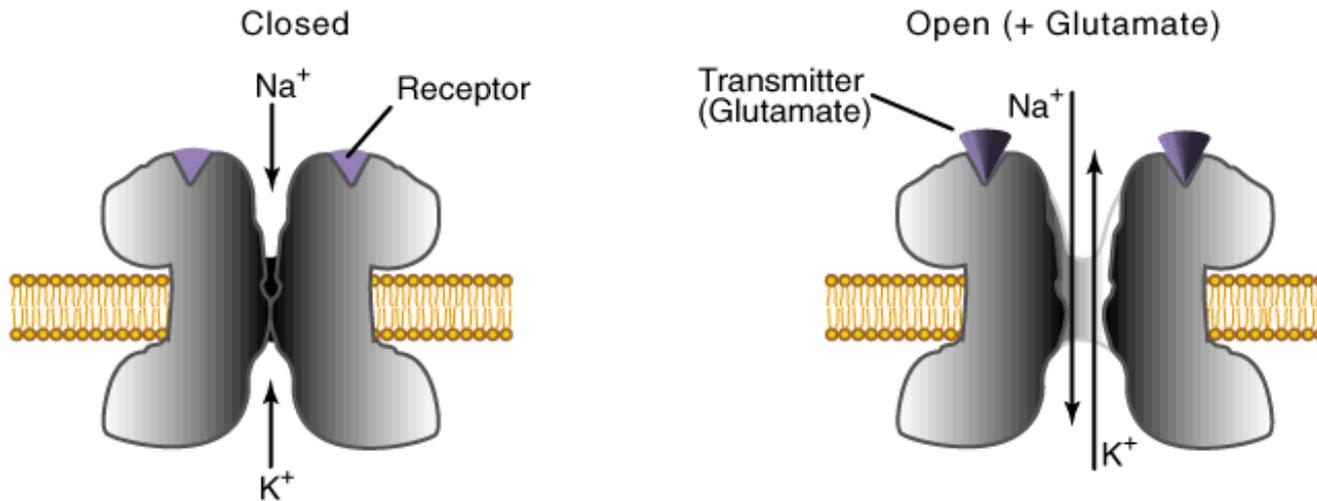


Tres tipos de receptores **ionotrópicos** para Glutamato.

- Los receptores **AMPA** y **KAINATO** no son afectados por APV pero si por CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona), es por eso que son llamados no-NMDA.
- Activan canales catiónicos con conductancias relativamente bajas ($\ll 20\text{pS}$), que son permeables tanto a Na^+ como a K^+ pero no a Ca^{2+} .

A

Non-NMDA



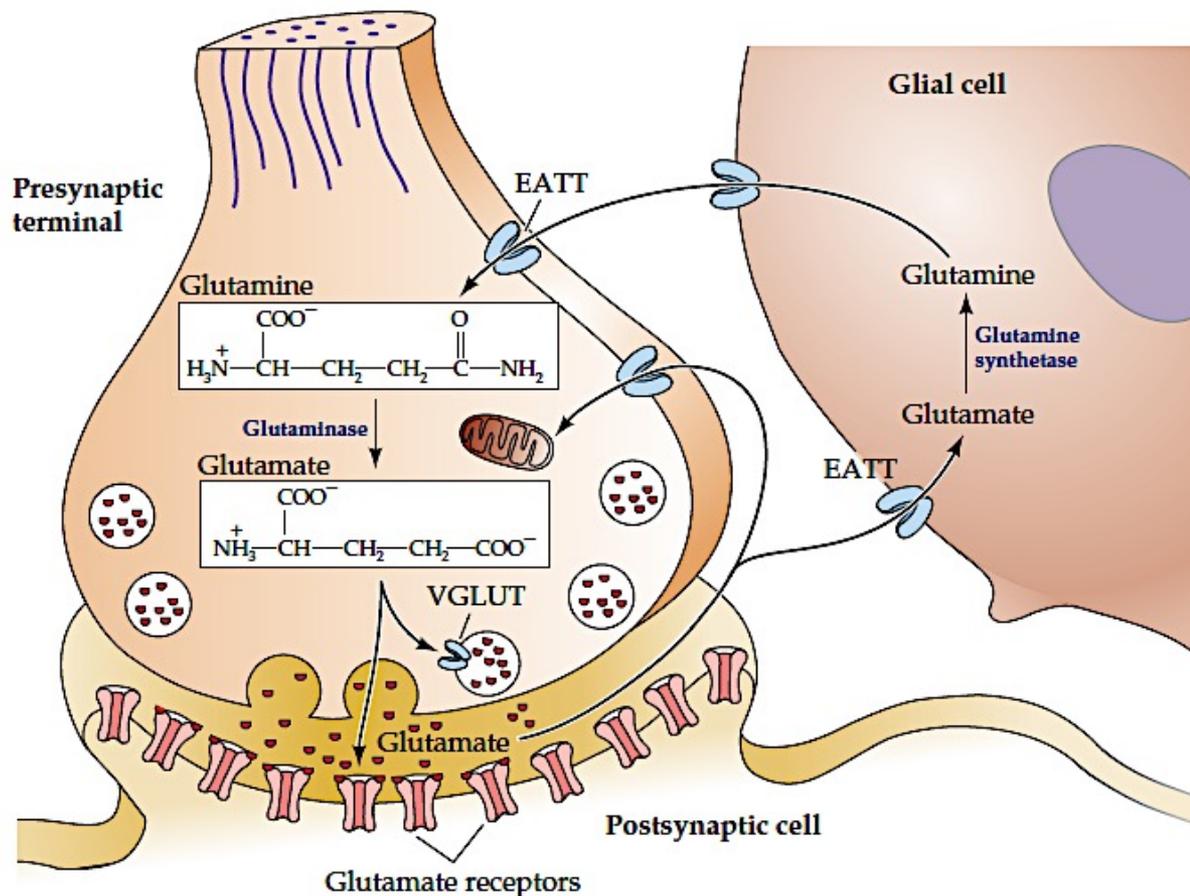
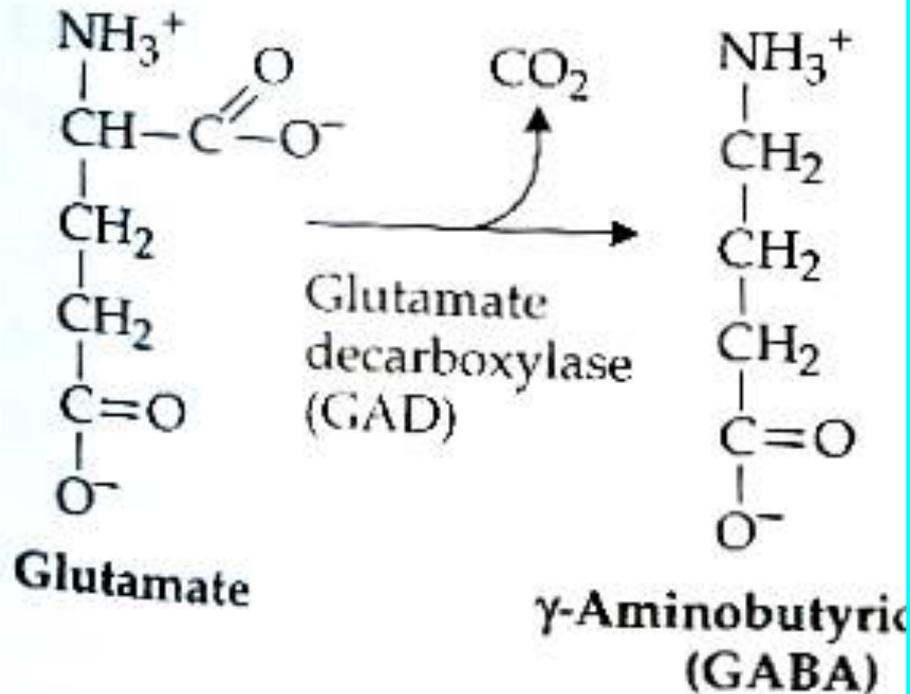


Figure 6.6 Glutamate synthesis and cycling between neurons and glia. The action of glutamate released into the synaptic cleft is terminated by uptake into neurons and surrounding glial cells via specific transporters. Within the nerve terminal, the glutamine released by glial cells and taken up by neurons is converted back to glutamate. Glutamate is transported into cells via excitatory amino acid transporters (EATTs) and loaded into synaptic vesicles via vesicular glutamate transporters (VGLUT).

GABA (ácido γ -aminobutírico)



Está presente en grandes concentraciones en todo el SNC, también es detectable en otros tejidos como el páncreas y la glándula suprarrenal.

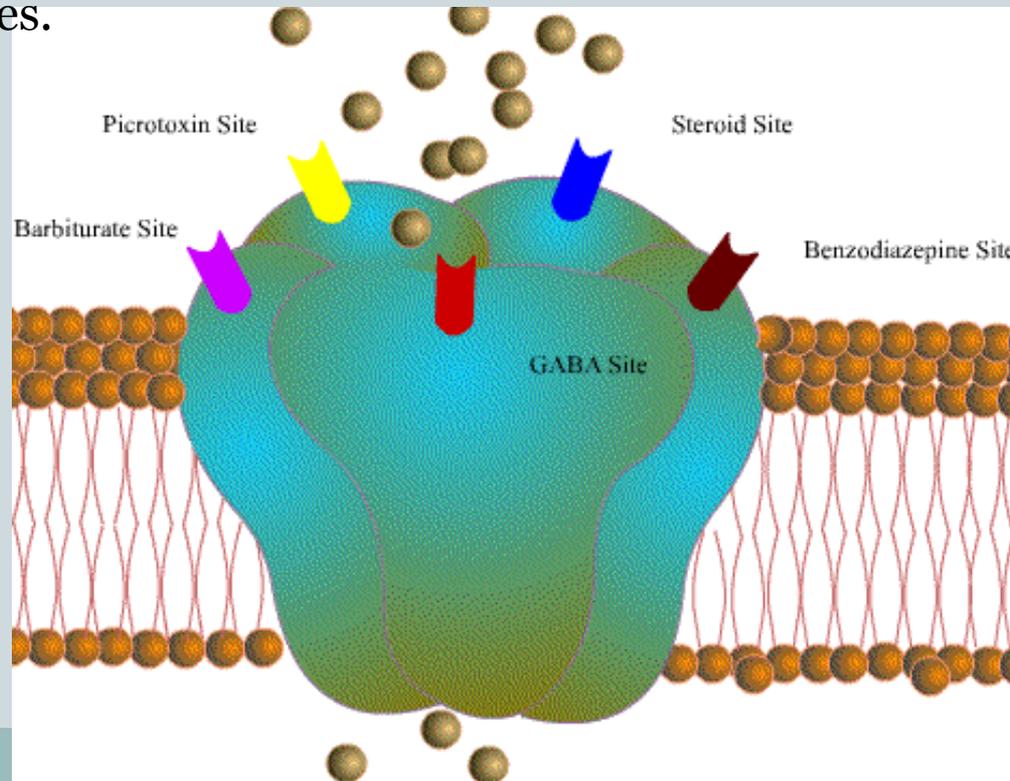
En el encéfalo GABA es el principal NT inhibitorio, lo mismo ocurre en interneuronas de la medula espinal.

RECEPTOR GABA



GABA actúa sobre receptores GABA A y GABA B.

Están compuestos por 5 subunidades (2α , 2β y 1γ) y están estructuralmente relacionados a los receptores de ACh. Los aminoácidos que forman el poro están estratégicamente dispuestos para formar un anillo de cargas positivas que permite seleccionar aniones.





GABA_A: Receptor ionotrópico que activa un canal de Cl⁻. Entrada de iones Cl⁻ que HIPERPOLARIZA a la célula

GABA_B: Receptor metabotrópico que activa una cascada de segundos mensajeros que activan un canal de K⁺.

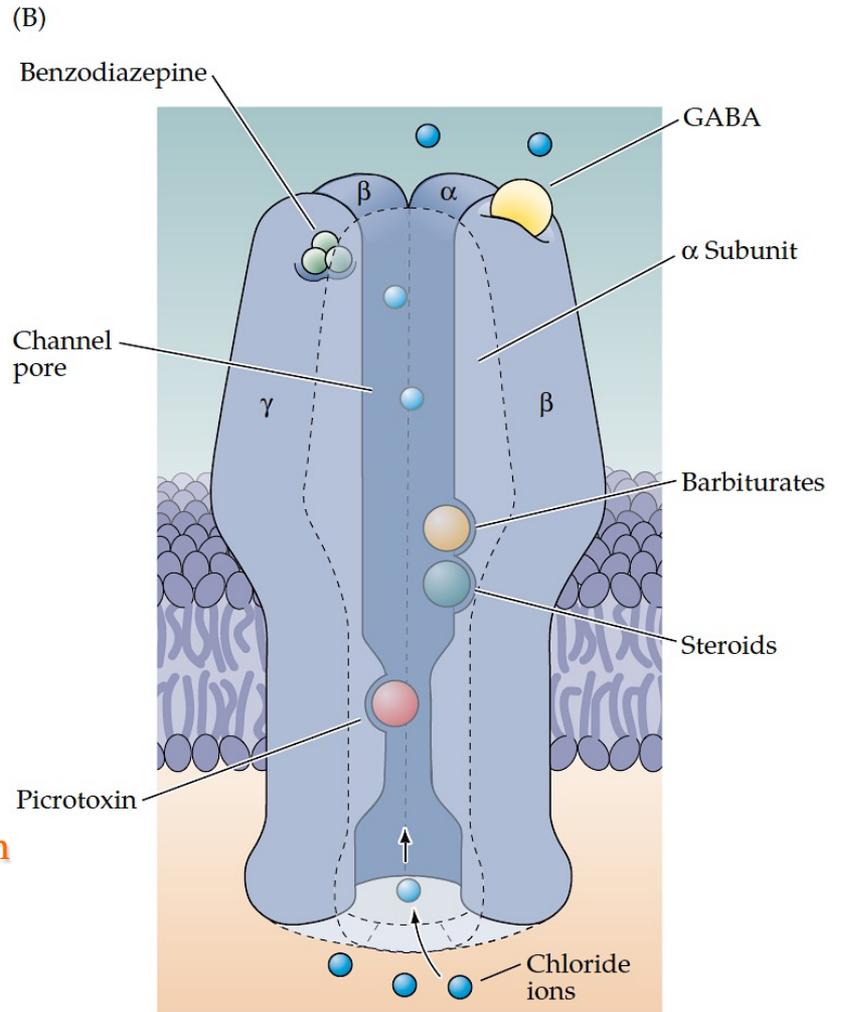
El canal activado por GABA es blanco de tres clases de fármacos que son clínicamente importantes y son objeto de abuso: Las **Benzodiazepinas**, los **barbituricos** y el **alcohol**.

Benzodiazepinas: calman la ansiedad y relajan la musculatura (Diazepam, lorazepam, clonazepam).

Barbituricos: hipnóticos entre los que se encuentran en fenobarbital y el secobarbital.

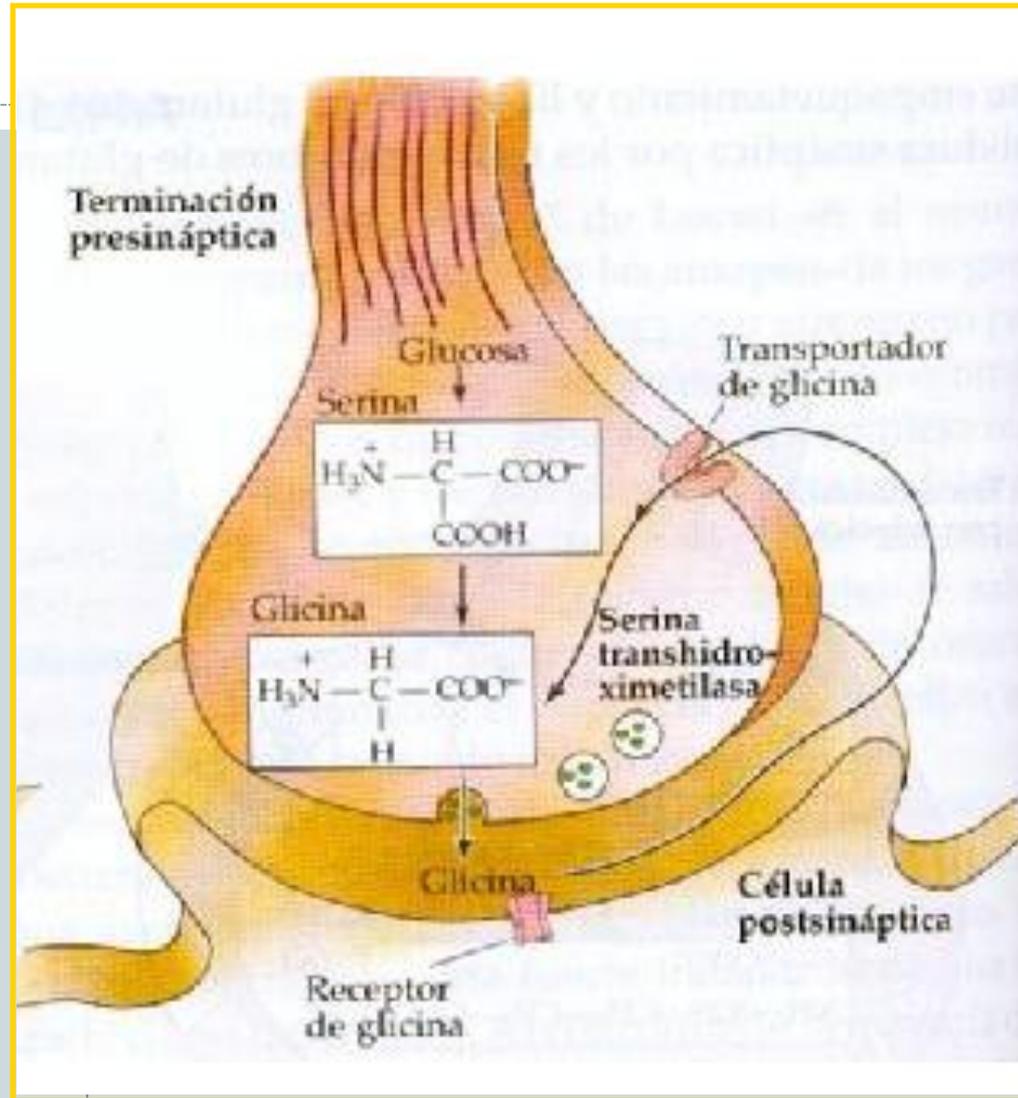
Picrotoxina:

GABA, benzodiazepinas, barbituricos y alcohol actúan en lugares diferentes para aumentar la apertura del canal de Cl⁻ y realizar la transmisión sináptica inhibitoria.

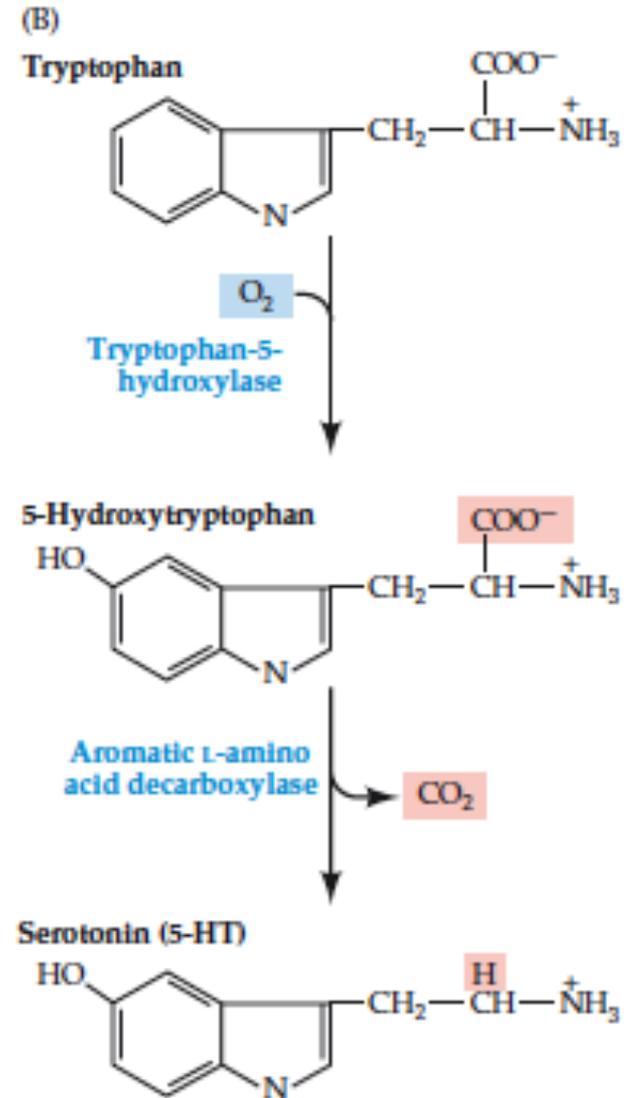


Glicina

- Es el principal transmisor de las interneuronas inhibitoras en la medula espinal y se sintetiza a partir de serina.
- Es un transmisor inhibitor menos frecuente, activa receptores ionotrópicos que activan canales de Cl^- .
- El receptor de Glicina esta estructuralmente relacionado a los receptores nicotínicos de ACh, esta compuesto por tres subunidades α y dos β . La glicina se une a las subunidades α .

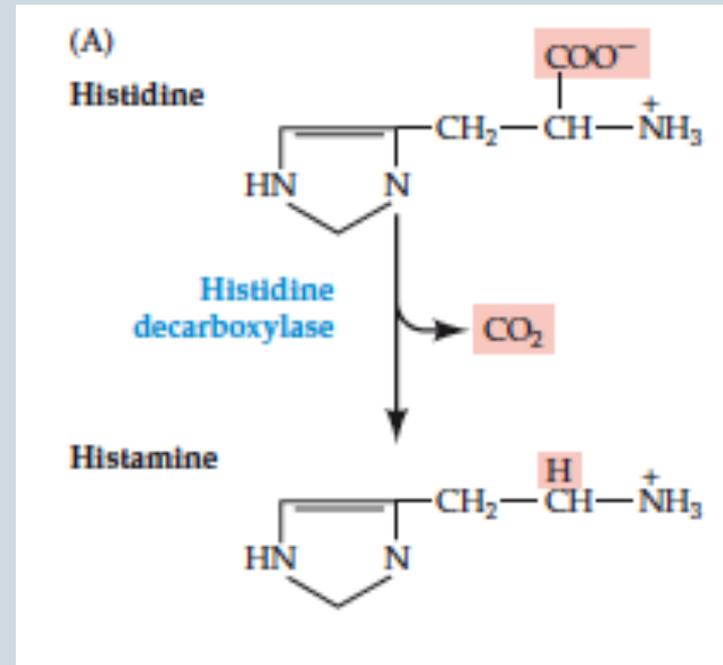


- La **SEROTONINA**, o 5-hidroxitriptamina (5-HT).
- Se encuentra principalmente en grupos de neuronas en la región del rafe de la protuberancia y el tallo cerebral superior, que tienen proyecciones generalizadas hacia el cerebro anterior y regulan el sueño y la vigilia
- 5-HT ocupa un lugar de importancia en neurofarmacología
- La 5-HT se sintetiza a partir del aminoácido **triptófano**, se adquiere por la dieta. La hidroxilación del triptófano ocurre por medio de una reacción catalizada por la enzima triptófano-5-hidroxilasa (paso limitante de la velocidad para la síntesis de 5-HT).



HISTAMINA

- Procede del aminoácido esencial histidina.
- Se concentra en el hipotálamo, uno de los centros de regulación de la secreción hormonal.
- Se conocen dos tipos de receptores histaminérgicos, los H1 y los H2 que son antagonistas de muchos antidepresivos.
- Las neuronas histaminérgicas controlan el estado de vigilancia.



ATP y Adenosina



- ATP y sus productos de degradación actúan como transmisores en algunas sinapsis.
- Este tipo de transmisión se llama transmisión purinérgica.
- Es especialmente importante en la producción del dolor.

Muchas otras moléculas actúan en las sinapsis químicas



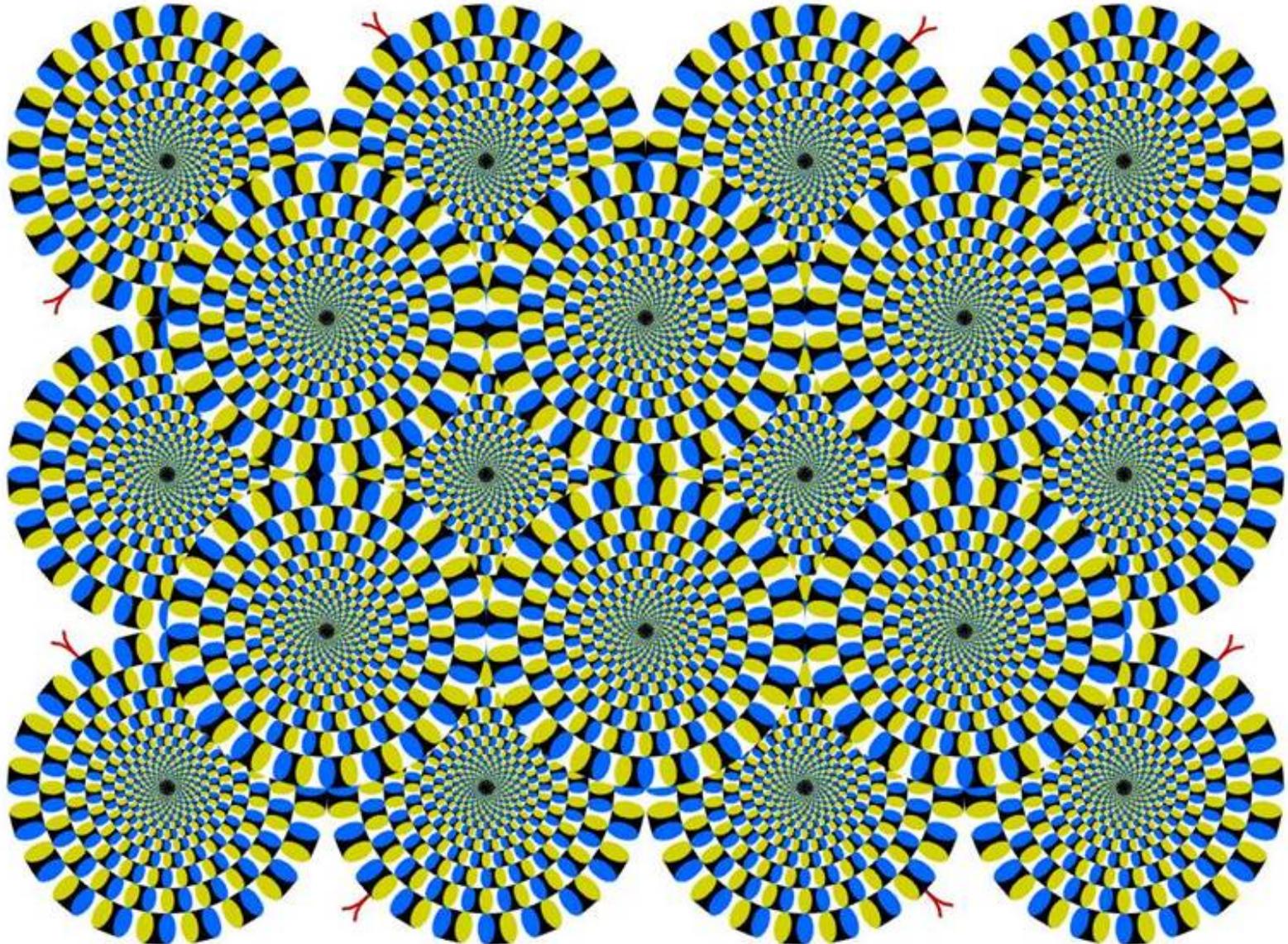
- Drogas que actúan en la sinapsis y pueden aumentar o disminuir el efecto de un transmisor
 - Cafeína (efecto inhibitorio/ activador)
 - Nicotina (efecto activador)
 - Alcohol (inhibitorio)



Benjamin Cummings

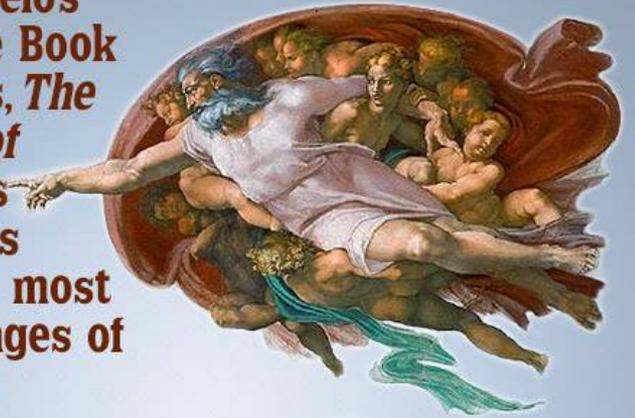
Todos los círculos girán?

Mira detenidamente cada círculo separadamente y veras que no se mueven...





Michelangelo's ode to the Book of Genesis, *The Creation of Adam*, has endured as one of the most iconic images of humanity.



But if you look closely at it, you'll see a surprisingly accurate cross-section of the human brain.

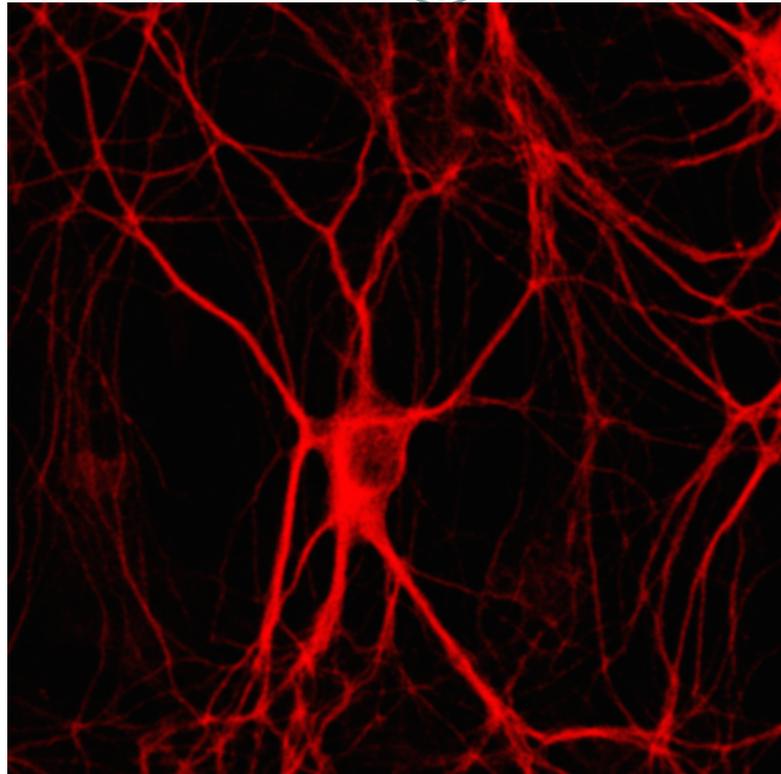


CRACKED

Cada gesto que hago es ciego y sin rumbo ", se lamentó en un poema escrito en 1509, y concluyó:" No estoy en el lugar correcto, no soy pintor ".

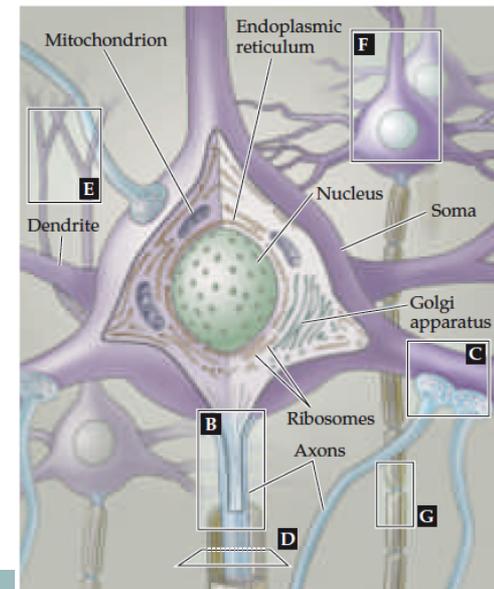
Transducción de señales en plasticidad sináptica

48



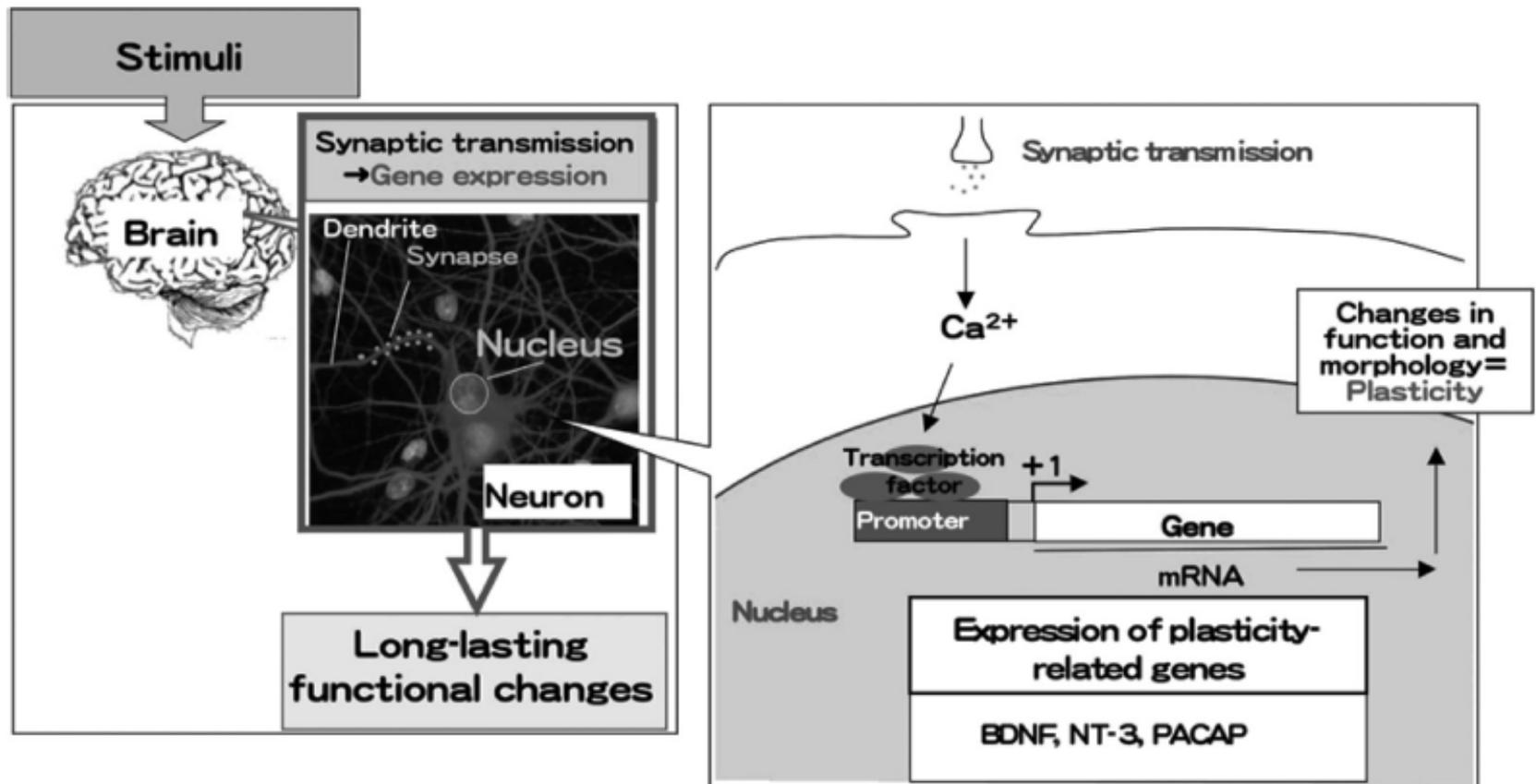
Cómo funciona molecularmente la sinapsis?

- El funcionamiento coordinado de las señales neuronales permite la realización de actividades complejas, como aprender, memorizar y recordar lo aprendido.



La actividad sináptica inicia procesos bioquímicos entre ellos se incluyen: formación de memorias, incrementos en la sobrevivencia neuronal, desarrollo de dolor crónico y adicción.

Virtualmente, toda la actividad inducida requiere a largo plazo de funciones cerebrales adaptativas que permitan el dialogo entre las **sinapsis y el núcleo**, lo que resultará finalmente en cambios en la **expresión génica**.



Kandel, Schwartz y Jessell (1995); Dale Purves, Augustine y otros (2000)

postularon:



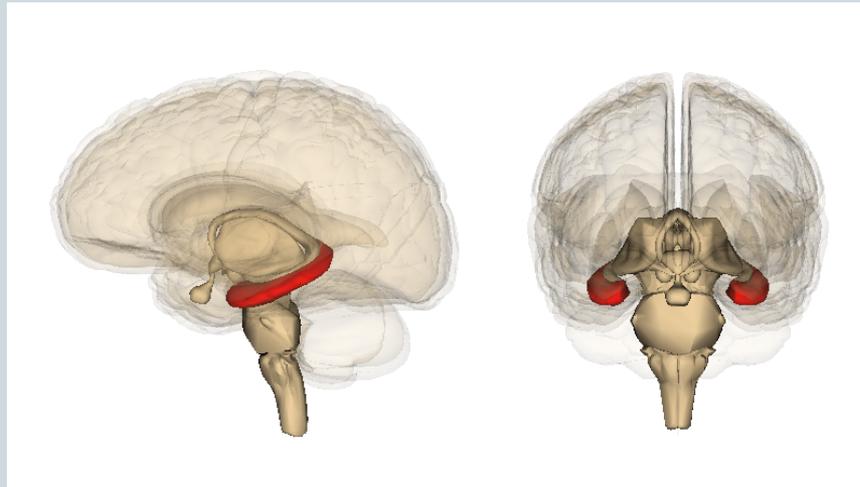
- Memoria es la retención o almacenaje de información en el cerebro.
- Las funciones de la memoria pueden localizarse en regiones específicas del cerebro.

Un objetivo importante de la investigación es descubrir cuáles son los estadios en la formación de la memoria.

Lóbulo temporal medial

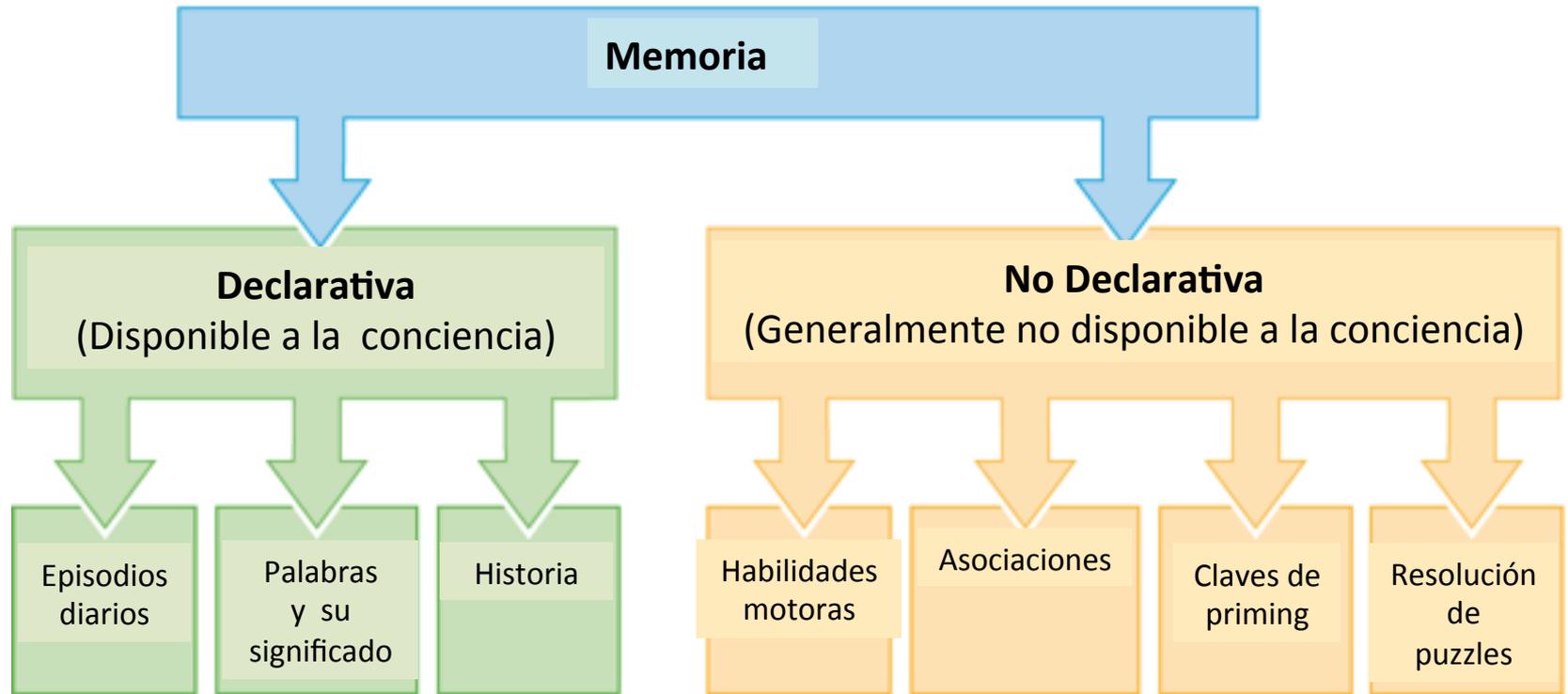


- Incluye estructuras como la región hipocampal (**hipocampo**), la corteza perirrinal, entorrinal y parahipocampal.
- Estas estructuras y su conexión con la corteza cerebral se han relacionado con la **memoria**.



«Hippocampus image» de Images are generated by Life Science Databases(LSDB). –
from Anatomography, website maintained by Life Science Databases(LSDB).

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hippocampus_image.png#/media/File:Hippocampus_image.png



Memoria declarativa:

Almacena acontecimientos del mundo y personales que, para que sean recordados, deben ser evocados conscientemente.



Memoria No declarativa:

Esta memoria almacena un repertorio de destrezas, habilidades y aprendizajes, ya sean cognitivos o motores como por ejemplo cómo manejar un auto, lavarse los dientes, hacer un cálculo, etc.)

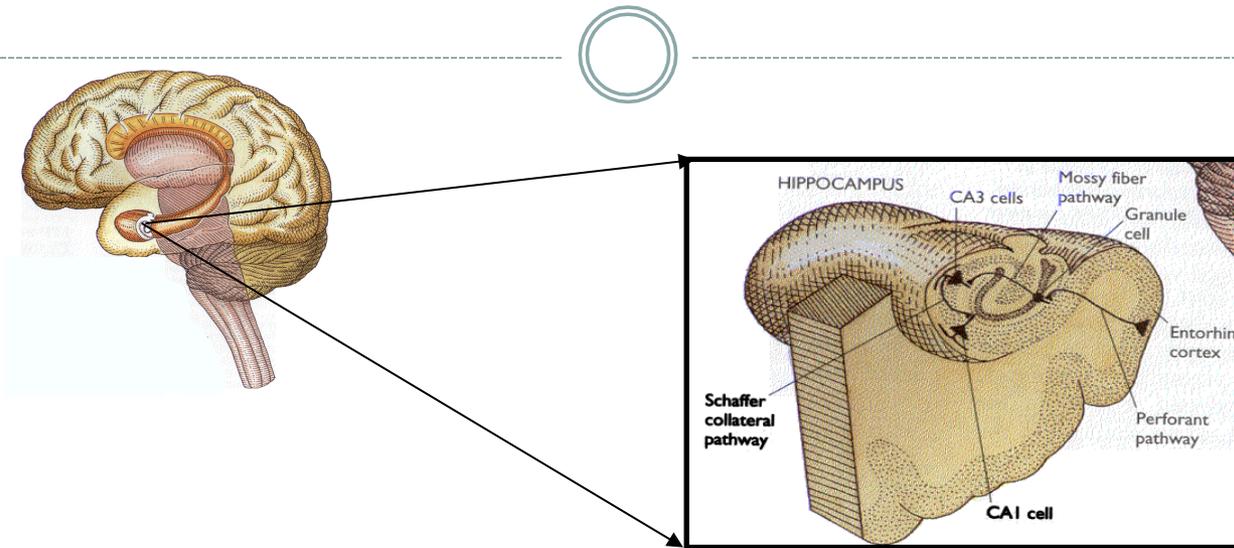


¿Dónde se encuentra la **memoria**?



Se ha propuesto que en el **Hipocampo** reside la memoria espacial, la memoria de reconocimiento y de trabajo. Siendo la **CORTEZA CEREBRAL** donde finalmente residen la mayoría de las funciones de memoria de nuestro cerebro.

Plasticidad sináptica: Hipocampo memoria espacial



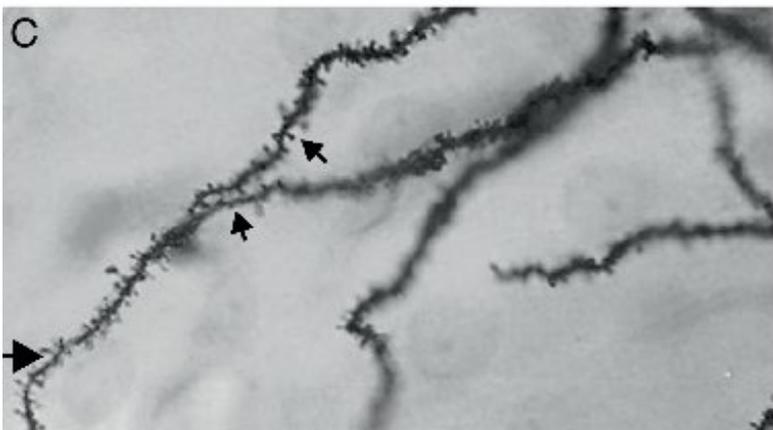
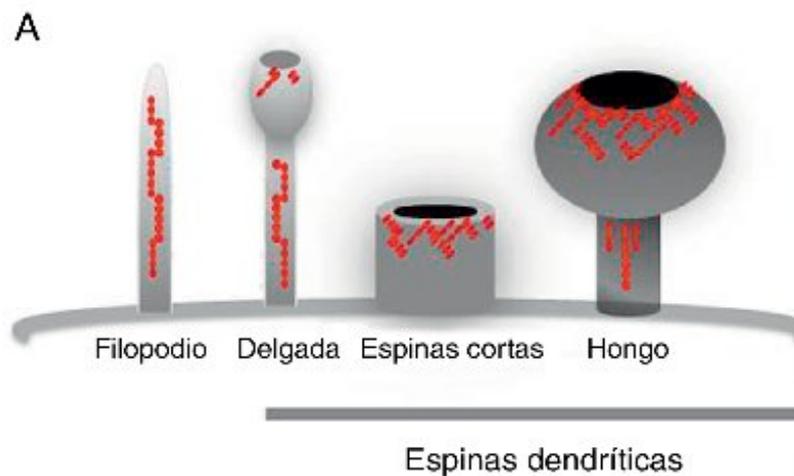
- Los cambios dependientes de actividad en las neuronas, así como los procesos involucrados en el aprendizaje y memoria, afectan una amplia variedad de mecanismos subcelulares, los que involucran el **establecimiento de nuevas sinapsis** o un **remodelamiento de las sinapsis** existentes que hace más eficaz la transmisión (Bailey and Kandel, 1993).

Plasticidad sináptica

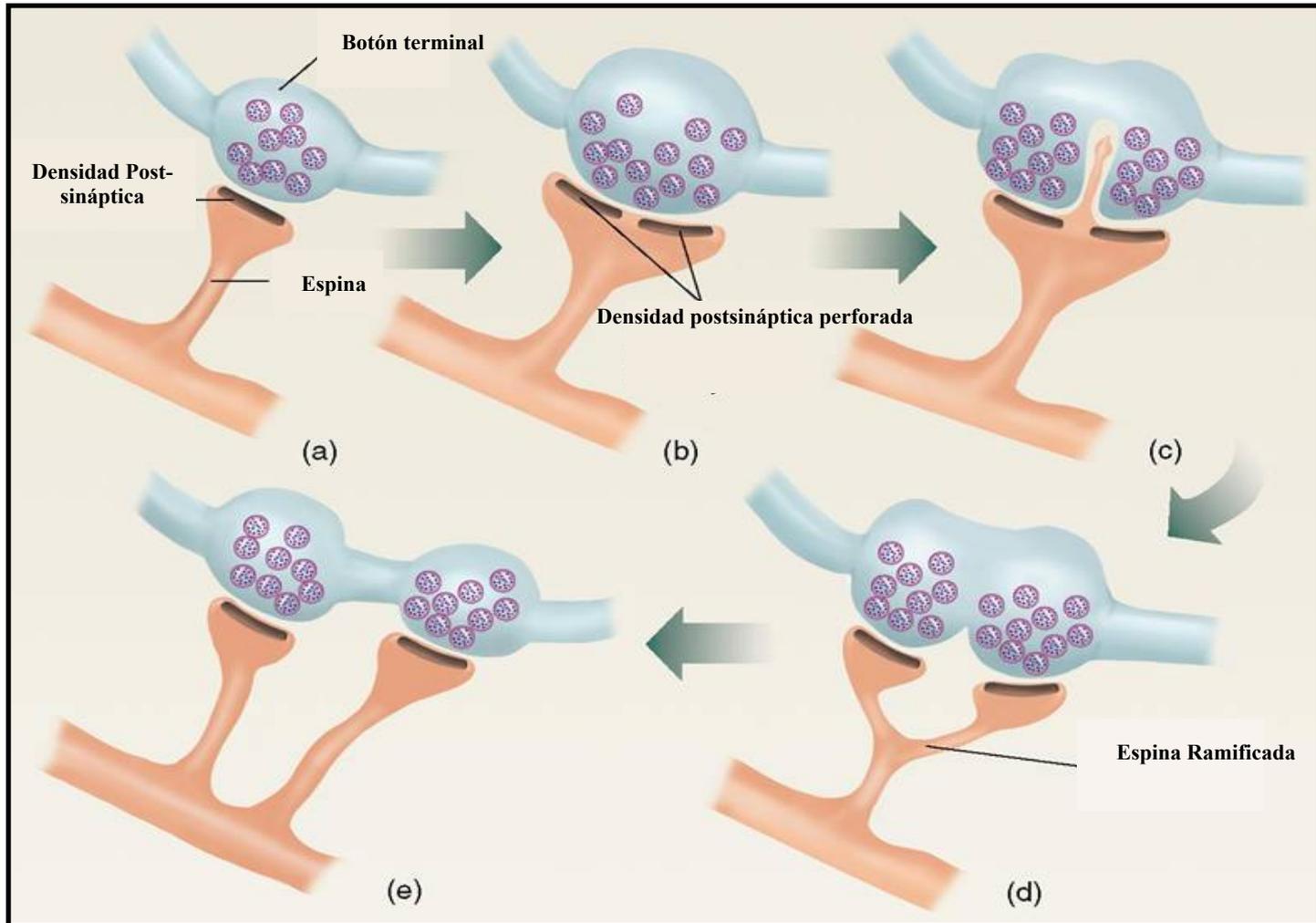
58

- Involucra los cambios que experimenta la eficiencia de la transmisión sináptica en respuesta a la actividad neuronal. Esta se ha desarrollado principalmente en estudios relacionados con la memoria y el aprendizaje.
(Okano et al., 2000; Kandel, 2001)
- Las modificaciones que se han observado en la estructura sináptica sugieren que la memoria a largo plazo reside en el hipocampo, lo cual otorga un papel protagónico a esta región en la memoria espacial
(Ramirez-Amaya et al., 2001).

La **plasticidad** incluye cambios en la estructura sináptica, en la **distribución y el número de sinapsis**, por lo que se ha sugerido que en los cambios morfológicos residiría la formación de la memoria (Kandel et al., 2000).



Plasticidad sináptica



Cambios funcionales y estructurales en la sinapsis inducidos por actividad.

Plasticidad sináptica

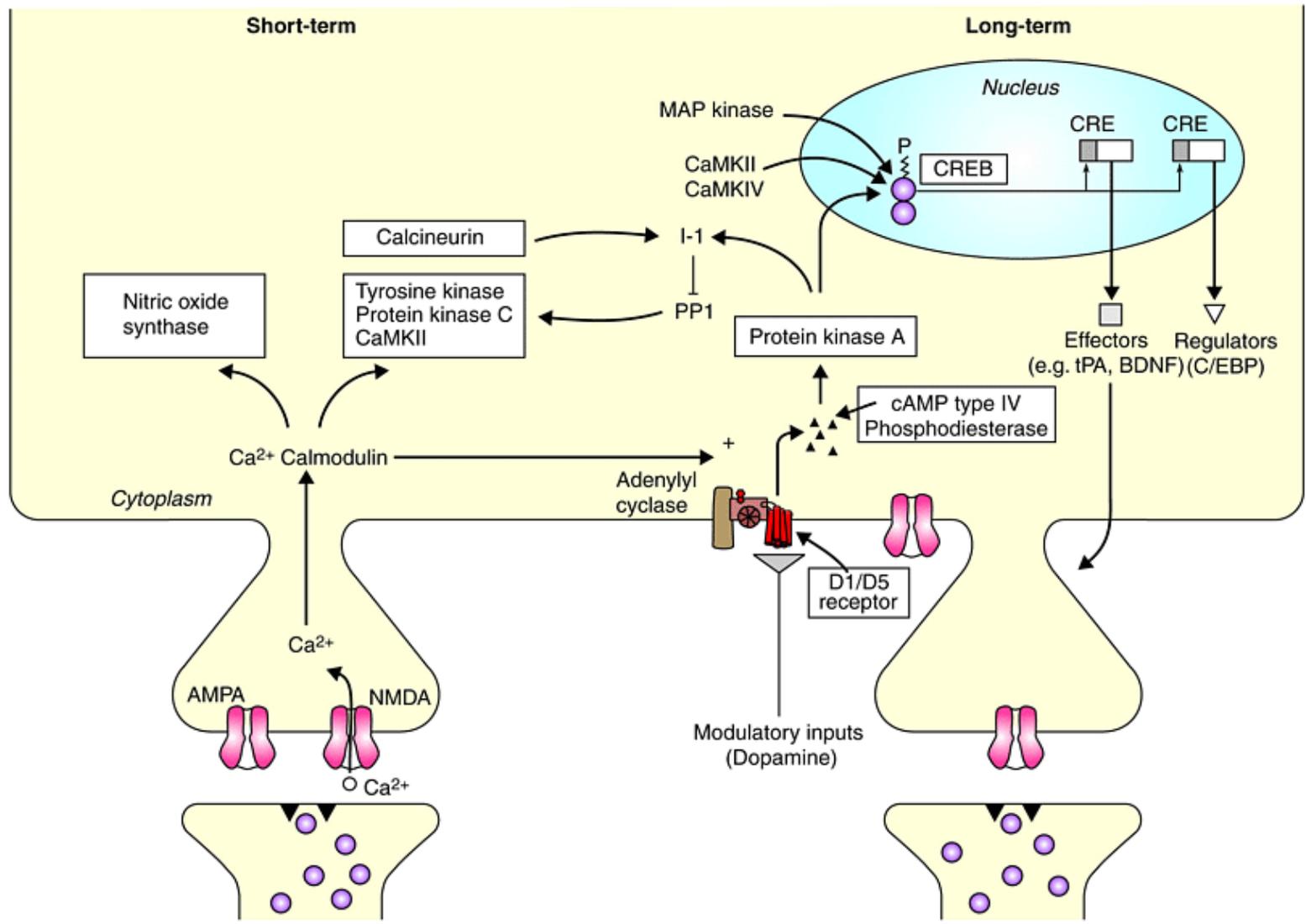
Cambios funcionales y estructurales en la sinapsis inducidos por actividad neuronal

Cambios a Corto Plazo

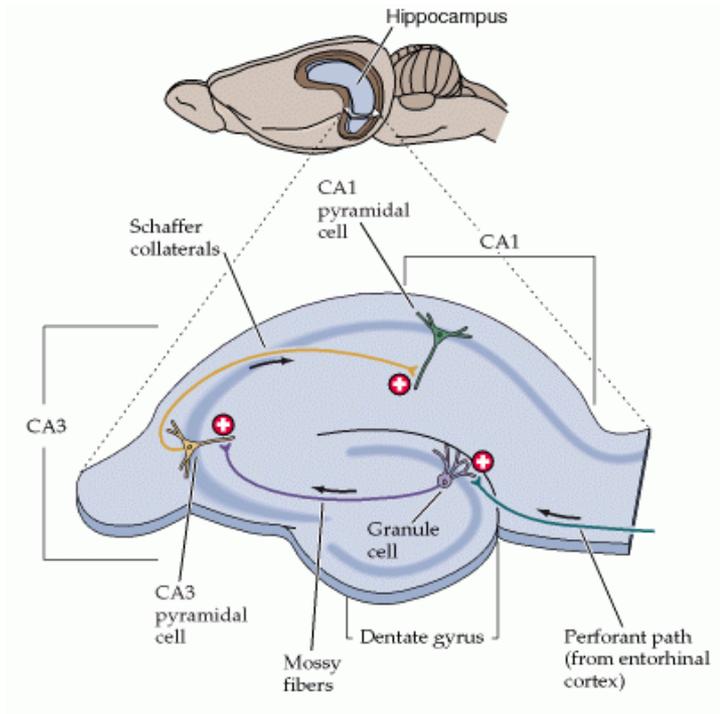
Cambios rápidos mediados por fosforilaciones e incrementos en el Ca^{2+} , No requiere síntesis de mRNA y proteínas.

Cambios a Largo Plazo

Cambios a largo plazo, requieren síntesis de mRNA y proteínas. Involucra cambios morfológicos

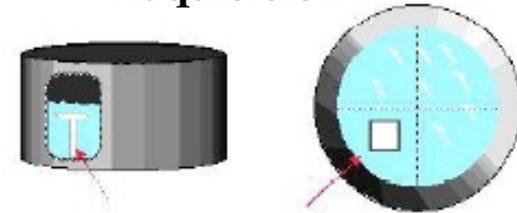


La Memoria es el mecanismo a través del cual se retiene el conocimiento adquirido.



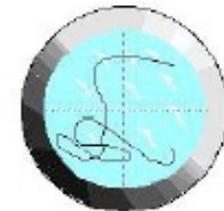
Laberinto acuático de Morris
Aprendizaje y memoria espacial

Adquisición



Plataforma acrílica

Prueba

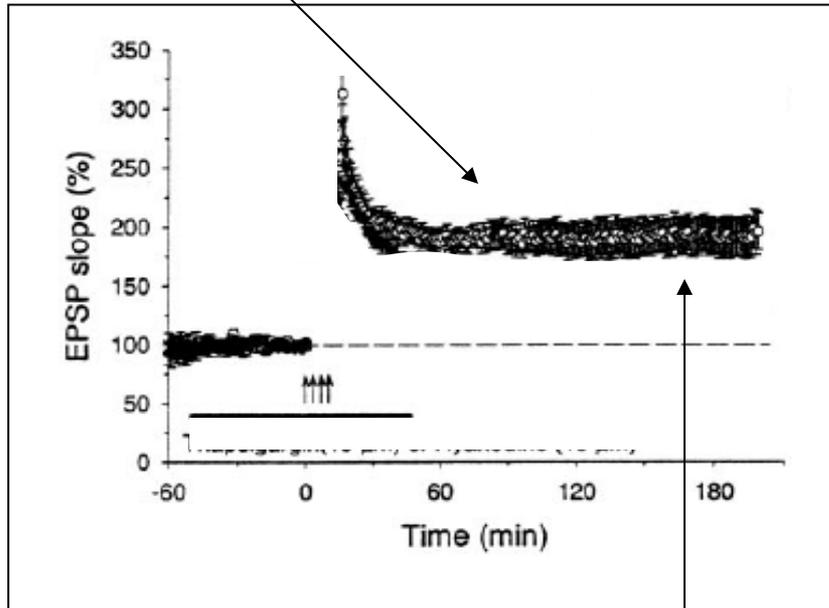


Potenciación a largo plazo (LTP)

La LTP se considera como el sustrato celular de la memoria y aprendizaje

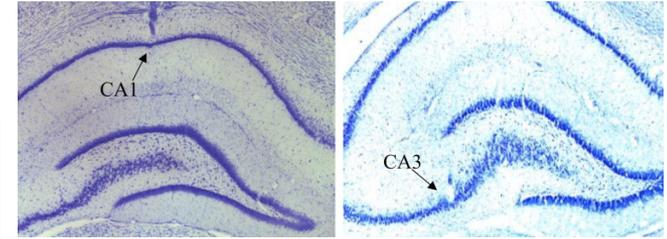
INDUCCIÓN

**Cambios rápidos mediados por fosforilaciones e incrementos en el Ca^{2+} ,
No requiere síntesis de mRNA y proteínas.**



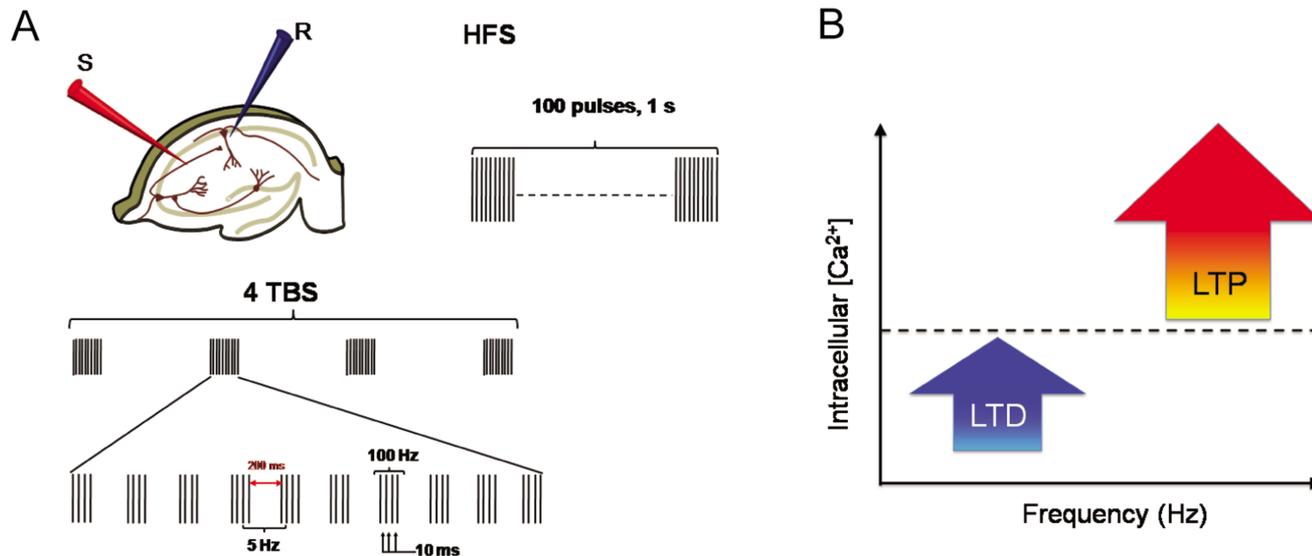
MANTENCIÓN

**Cambios a largo plazo,
requiere síntesis de mRNA y
proteínas.
Involucra cambios
morfológicos**



Plasticidad Sináptica :LTP

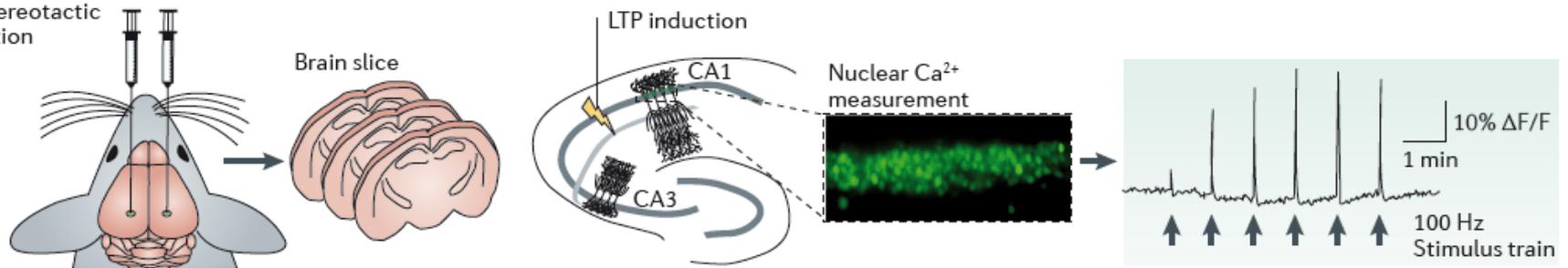
- Se puede manifestar como un aumento o una disminución de la eficacia sináptica, que se denominan potenciación de largo plazo (long-term potentiation: LTP) o depresión de largo plazo (long-term depression: LTD)



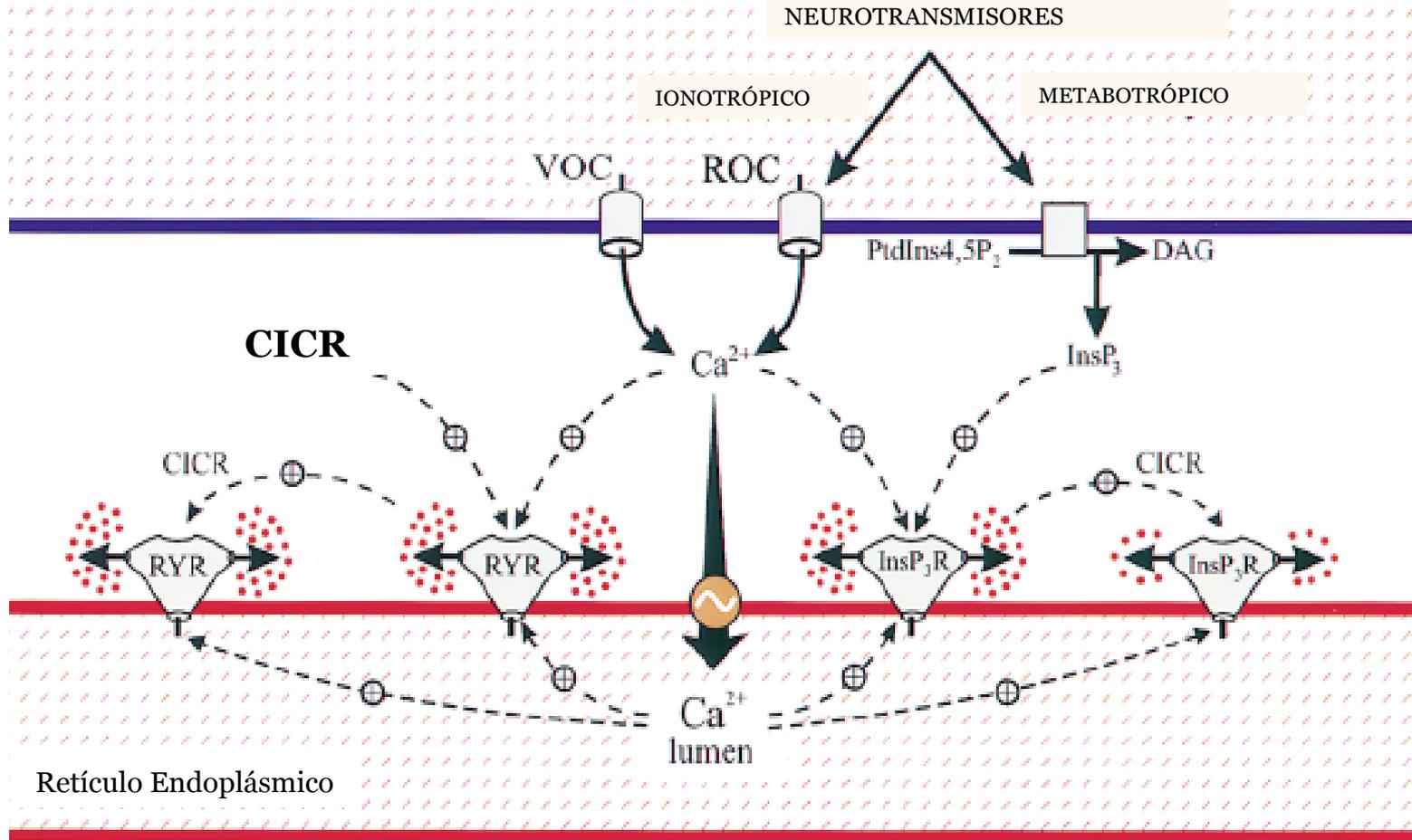
- La modificación post traduccional de proteínas—fosforilación o defosforilación de residuos de serina y treonina — se considera esencial para iniciar y mantener LTP y LTD
- Las variaciones en el calcio postsináptico activan tanto proteínas quinasas como fosfatasas.
- Debido a la baja sensibilidad para calcio de proteínas quinasas, para activarlas y mediar efectos de largo plazo, y para propagar señales de calcio al núcleo, es necesario amplificar las señales de entrada de calcio que se producen por activación de R-NMDA, mediante el proceso de CICR.

a Mouse hippocampus: LTP

Gene transfer
via stereotactic
injection



RyR: Liberación de Ca^{2+} Inducida por Ca^{2+}



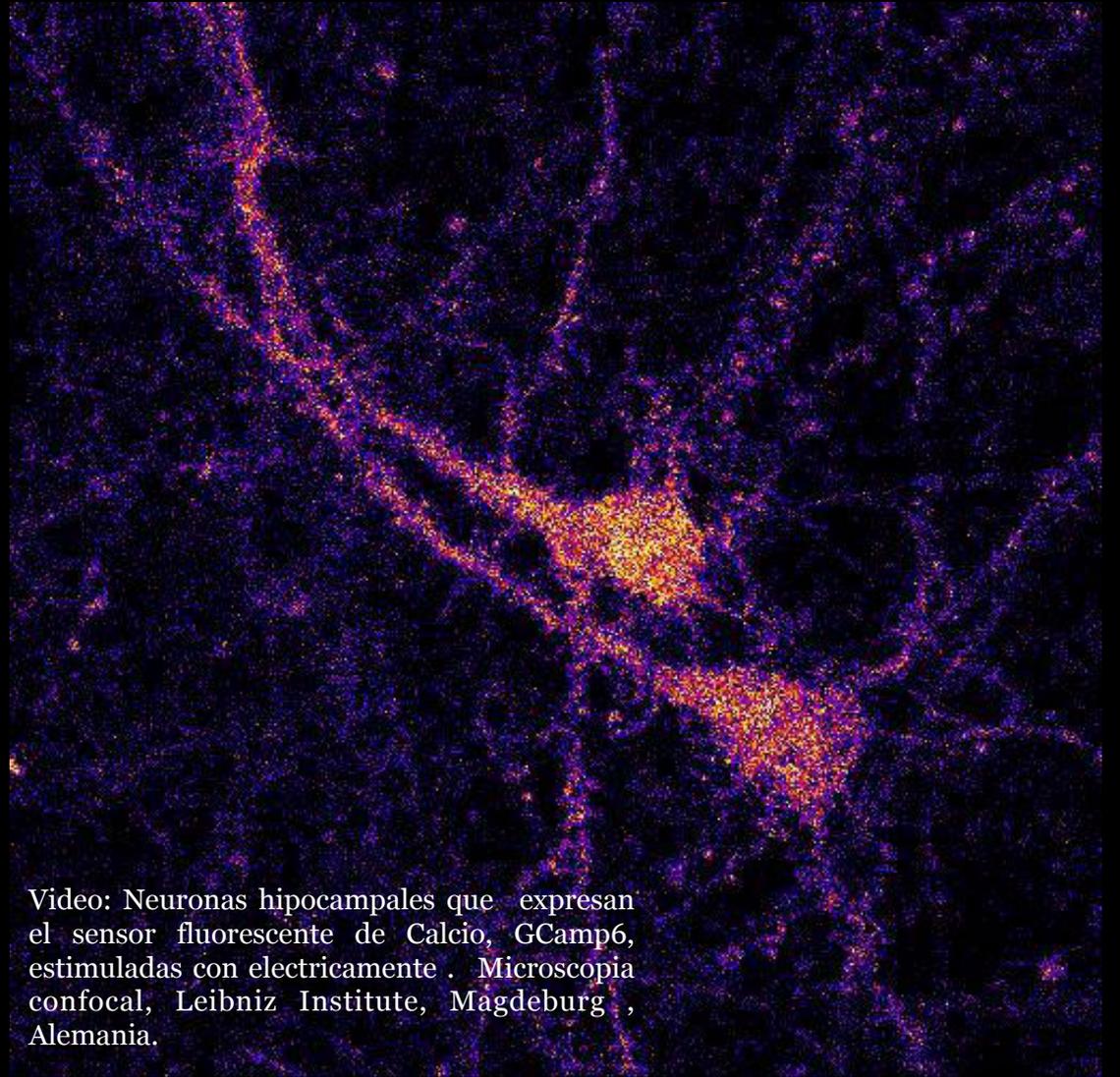
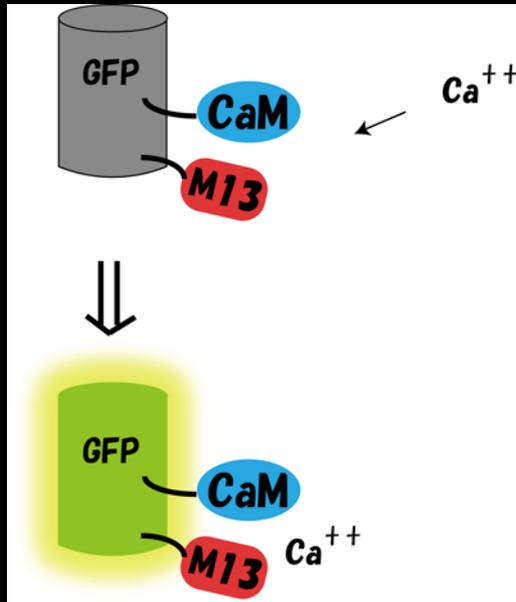
Endoplasmic reticulum

- 4 Subunidades - 5000 amino ácidos, 565 kDa, 3 isoforms: RyR1, RyR2 y RyR3
- RyR ▶ acoplamiento excitación-contracción (músculo), contracción cardíaca, secreción, fecundación, etc

- En Neuronas...

Uso de sensores de Calcio codificados genéticamente: Gcamp to study calcium signals

Aequorea victoria



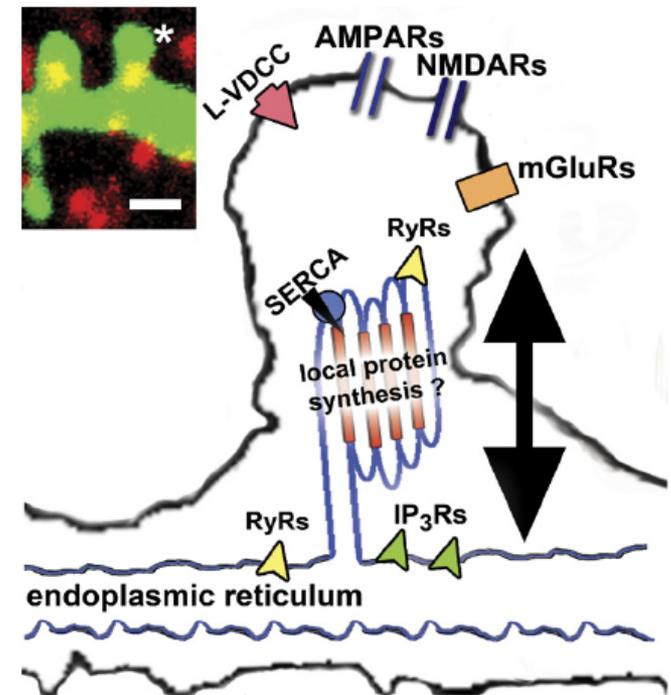
Video: Neuronas hipocampales que expresan el sensor fluorescente de Calcio, GCaMP6, estimuladas con electricamente. Microscopia confocal, Leibniz Institute, Magdeburg, Alemania.

RyR y plasticidad sináptica

- *RyR a través de CICR (Ca^{2+} induced Ca^{2+} release) participa en las elevaciones del Ca^{2+} en las espinas dendríticas* (Emptage et al., 1999)

- *Promueve la liberación de neurotransmisores* (Emptage et al., 2001).

- *Promueve la elongación de las espinas dendríticas al estimular su actividad con cafeína* (Korkotian & Segal 1999)



Jedlicka et al., 2008 | Behav Brain Res

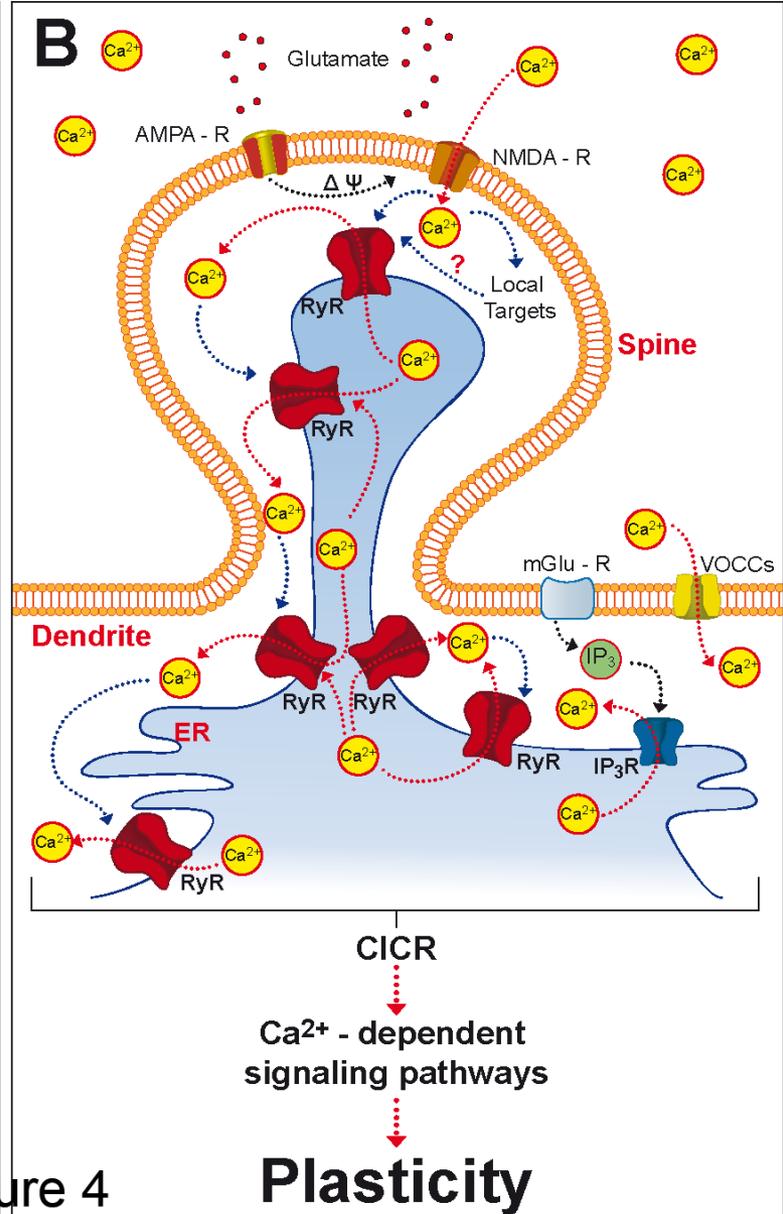
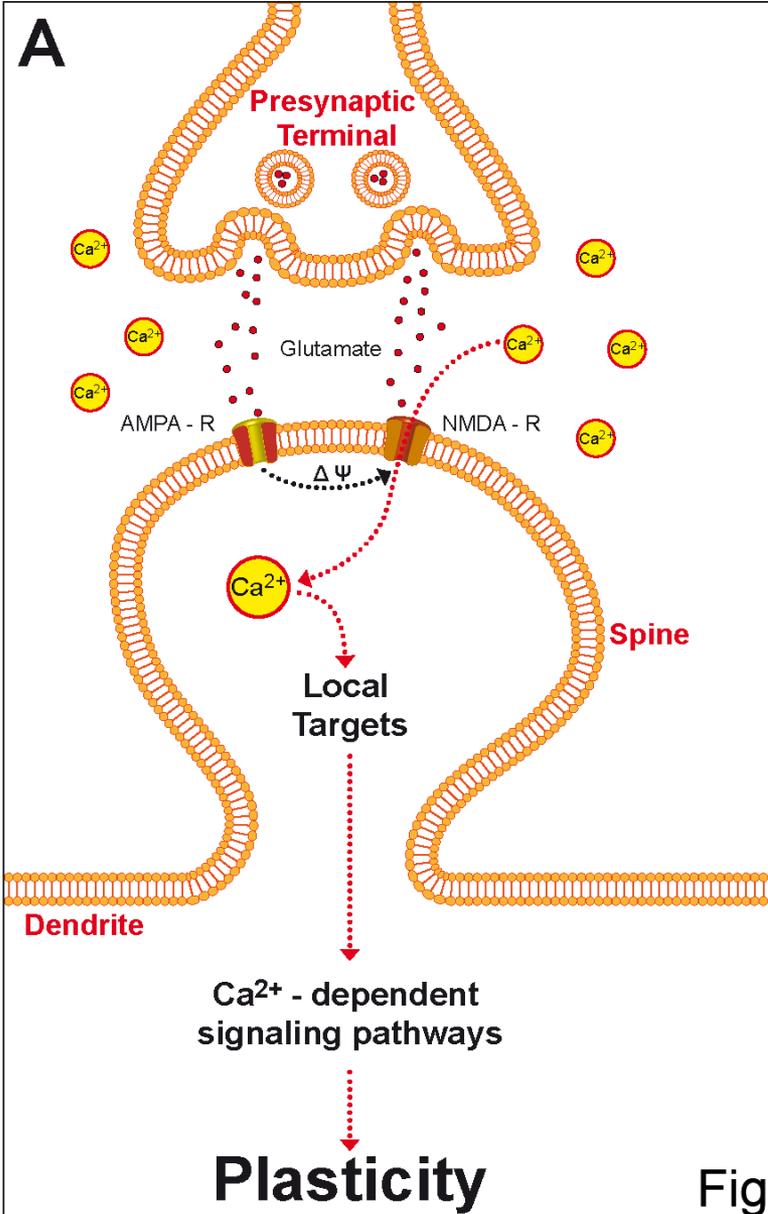
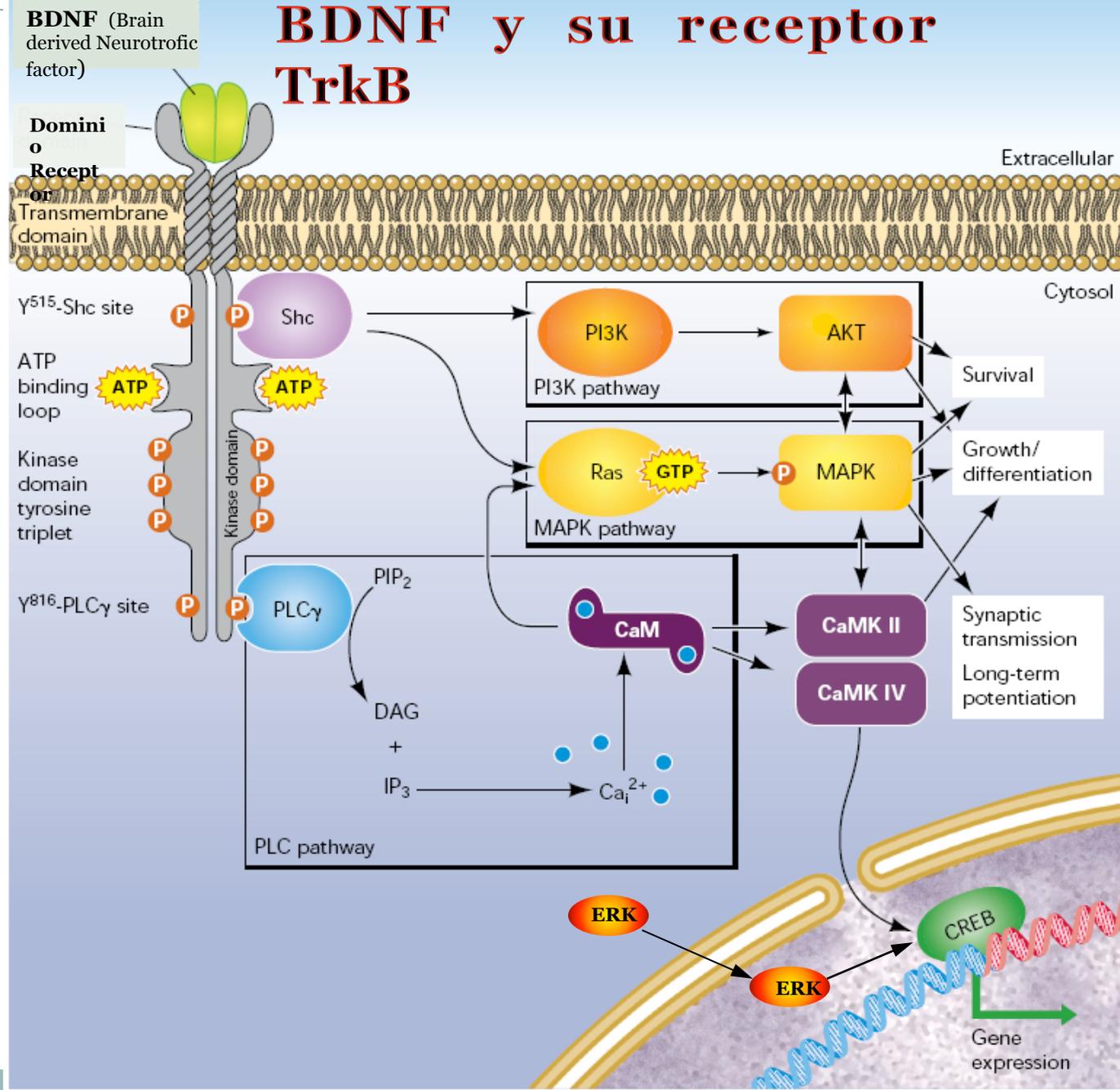


Figure 4

BDNF una
neurotrofina esencial
en la plasticidad
sináptica

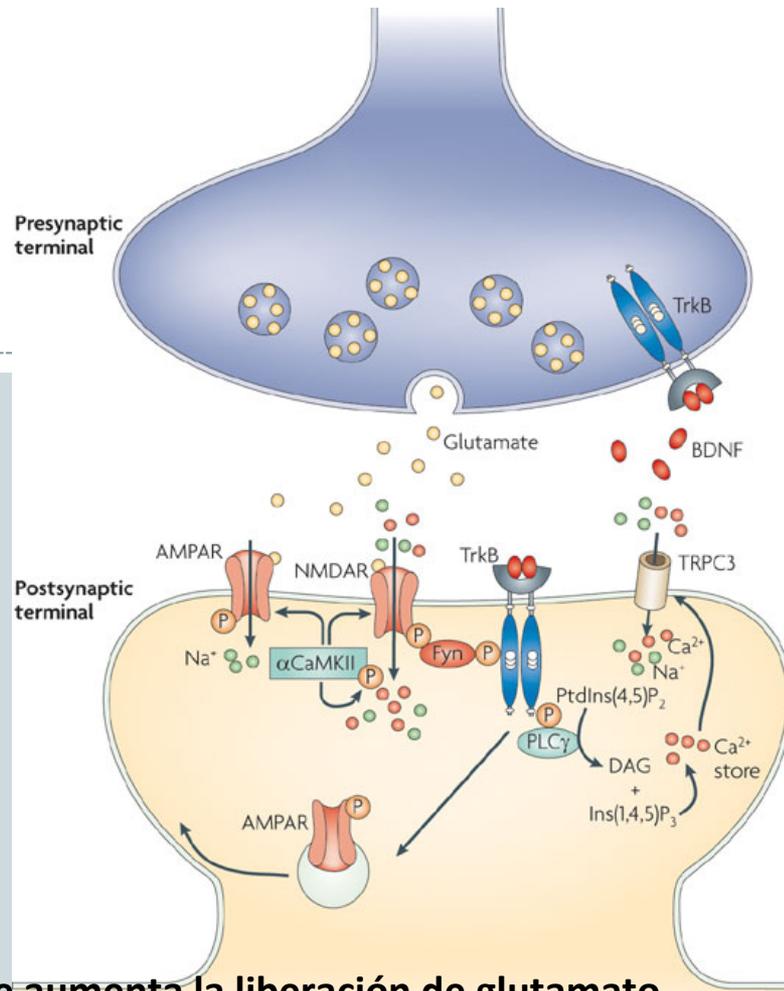


BDNF y su receptor TrkB



✓ Es esencial para los procesos de aprendizaje y memoria-----PLASTICIDAD SINÁPTICA

BDNF/TrkB modula la eficacia de la transmisión sináptica

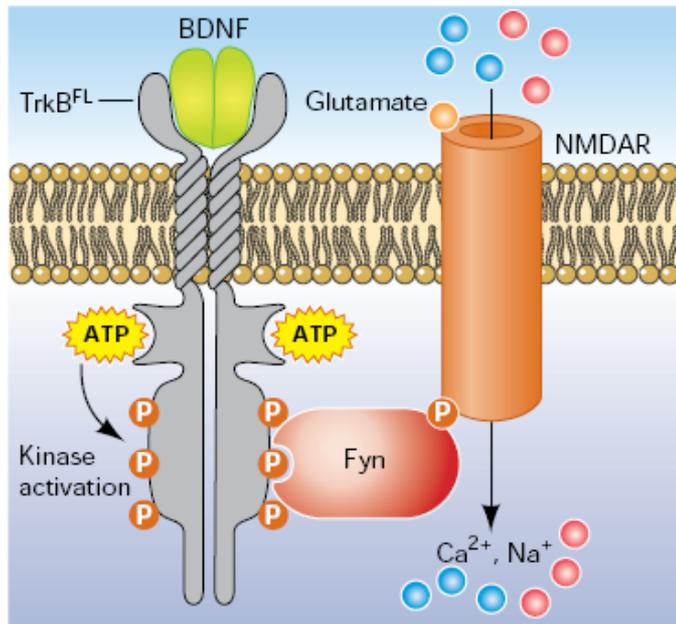


1. Pre sinápticamente aumenta la liberación de glutamato
2. Atenúa la fatiga sináptica (Xu et al., 2000)
3. Induce reclutamiento y activación de receptores NMDA y 4. AMPA a la membrana postsináptica

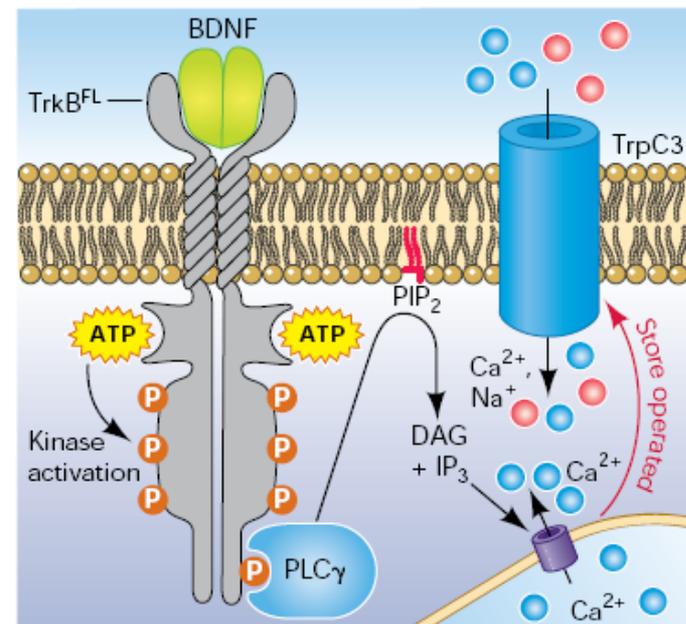
(Caldeira et al., 2007; Narisawa-Saito et al., 1999)

¿Que mensajeros
químicos **Ca²⁺** están
involucrados en la señal
de BDNF/TrkB?

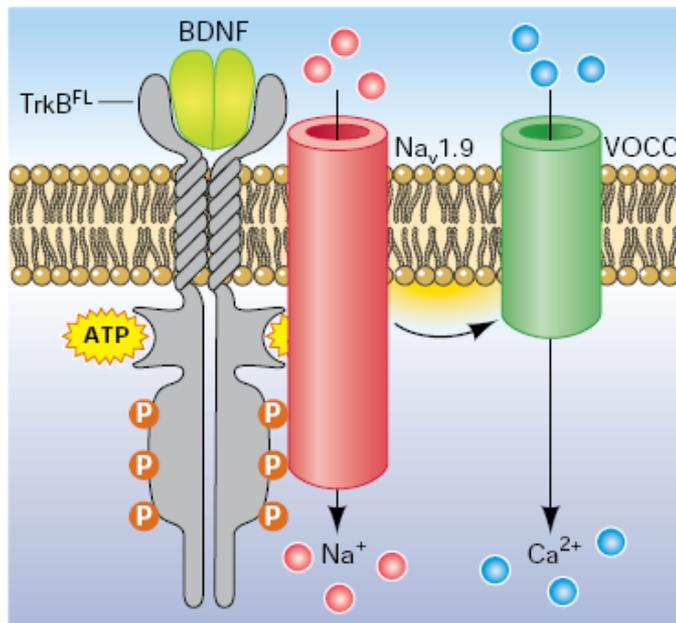
A BDNF-NMDAR interaction



B BDNF-mediated activation of TrpC3 channels



C BDNF-mediated activation of Na_v1.9



¿Cual es el papel de RyR en la señal río debajo de BDNF?

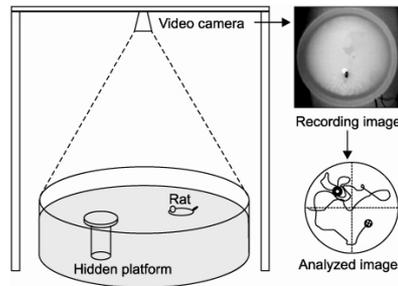
A detailed 3D rendering of a hippocampal neuron, showing its complex branching structure. The neuron is colored in shades of blue, purple, and yellow, with numerous small, green, spherical structures representing dendritic spines. The background is dark, making the neuron stand out.

❖ **BDNF induce aumentos en el número de espinas dendríticas en neuronas hipocampales.** Tyler and Pozzo-Miller, *J Neuroscience*, 2001;21(12):4249-4258

❖ **Incrementa la expresión de RNAm de proteínas sinápticas, entre ellas el RNAm de RyR2 en neuronas hipocampales**

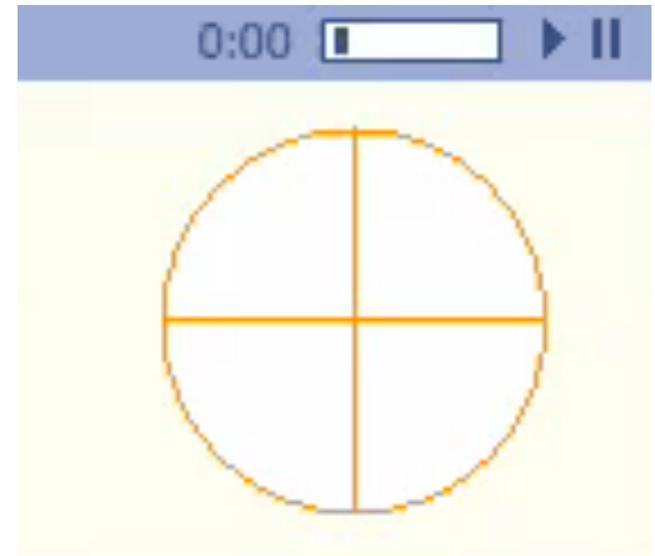
(Ring et al. *J Neurobiol*.66:361-77,2006.)

Paradigma de memoria espacial: Laberinto acuático de Morris (Morris water maze : MWZ)



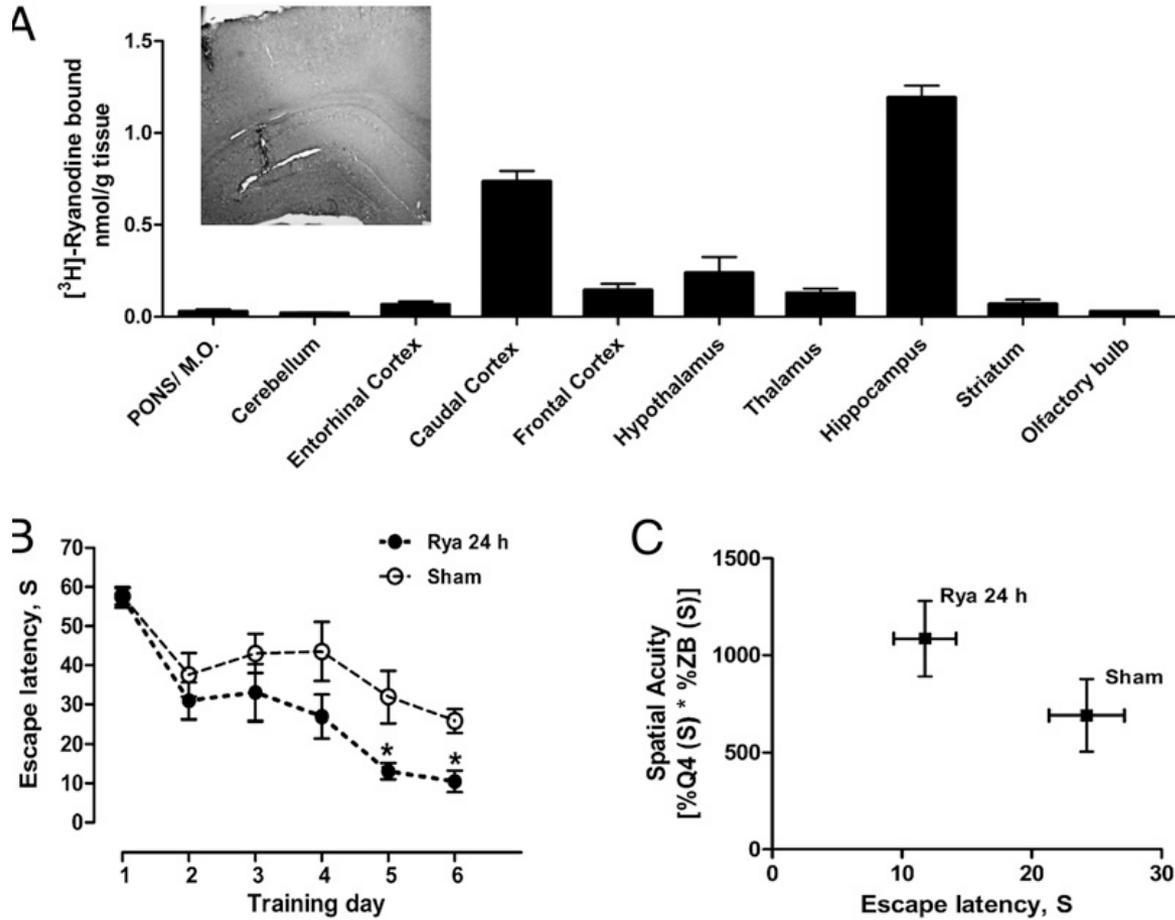
RyR y memoria

- *Luego de un proceso de aprendizaje espacial (Morris water maze) aumentan los niveles de mRNA y proteína RyR2 en el hipocampo de las ratas entrenadas (Zhao et al., 2000)*
- *La inhibición selectiva de la expresión de RyR2 and RyR3 daña el procesamiento de la memoria (Galeotti et al., 2008).*
- *RyR participa en la formación y consolidación de la memoria espacial (Haeger et al., 2009)*

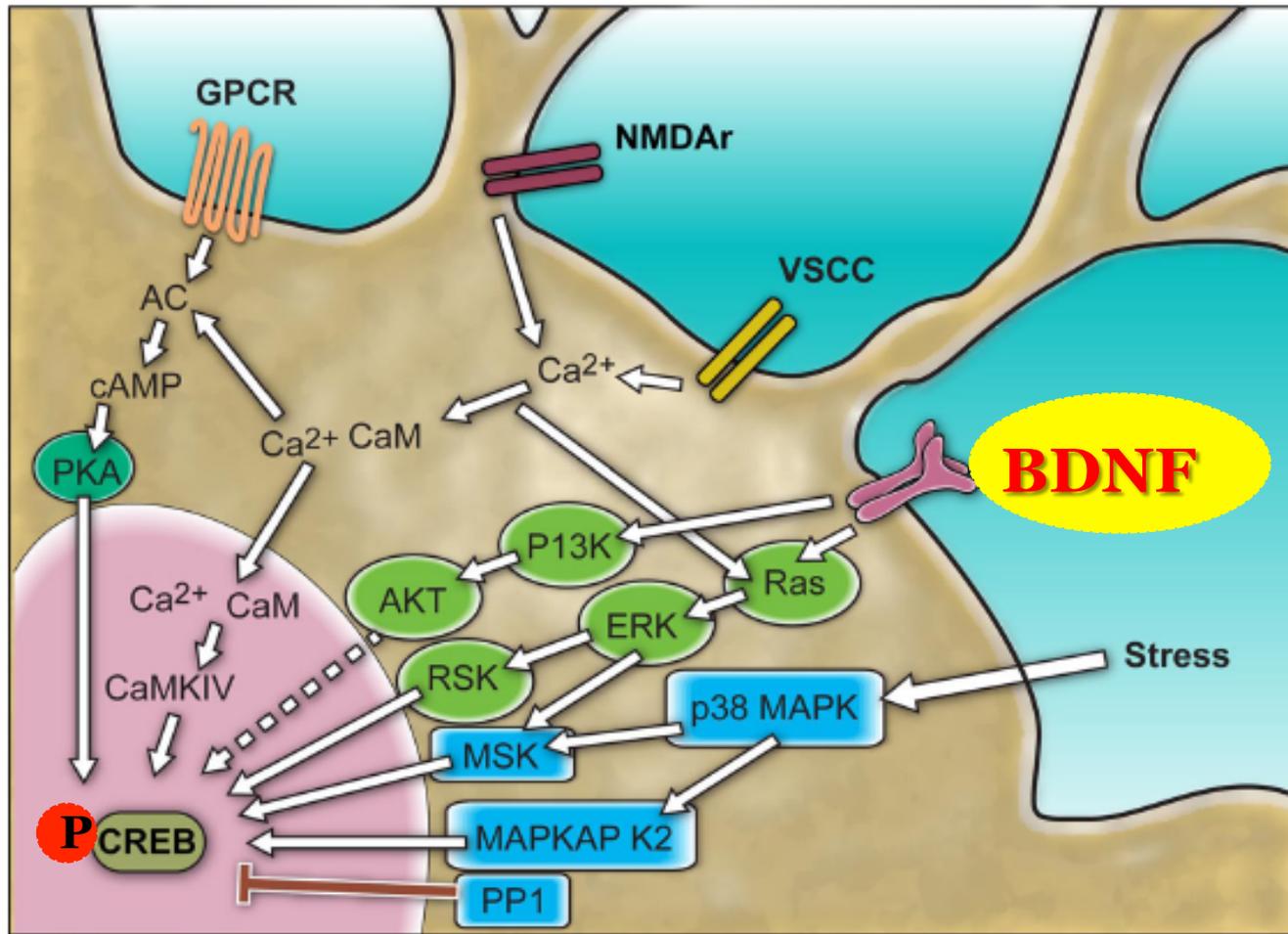


Laberinto acuático de morris

79

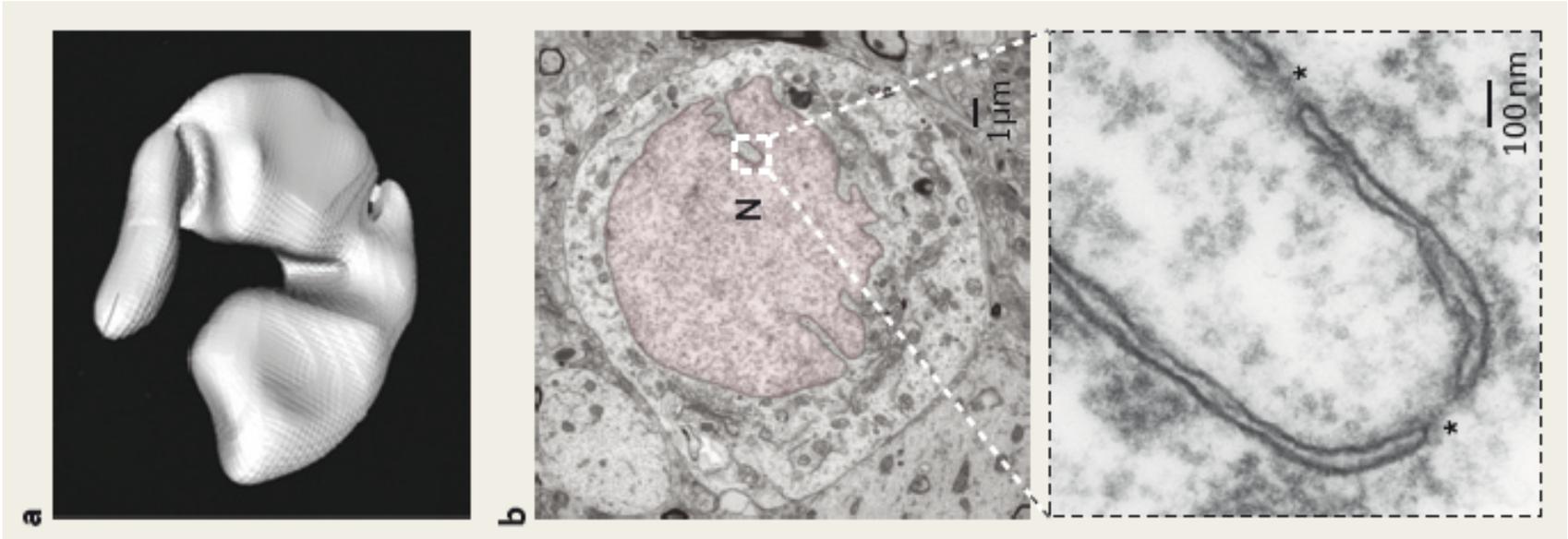


CREB se activa en respuesta a la estimulación con BDNF



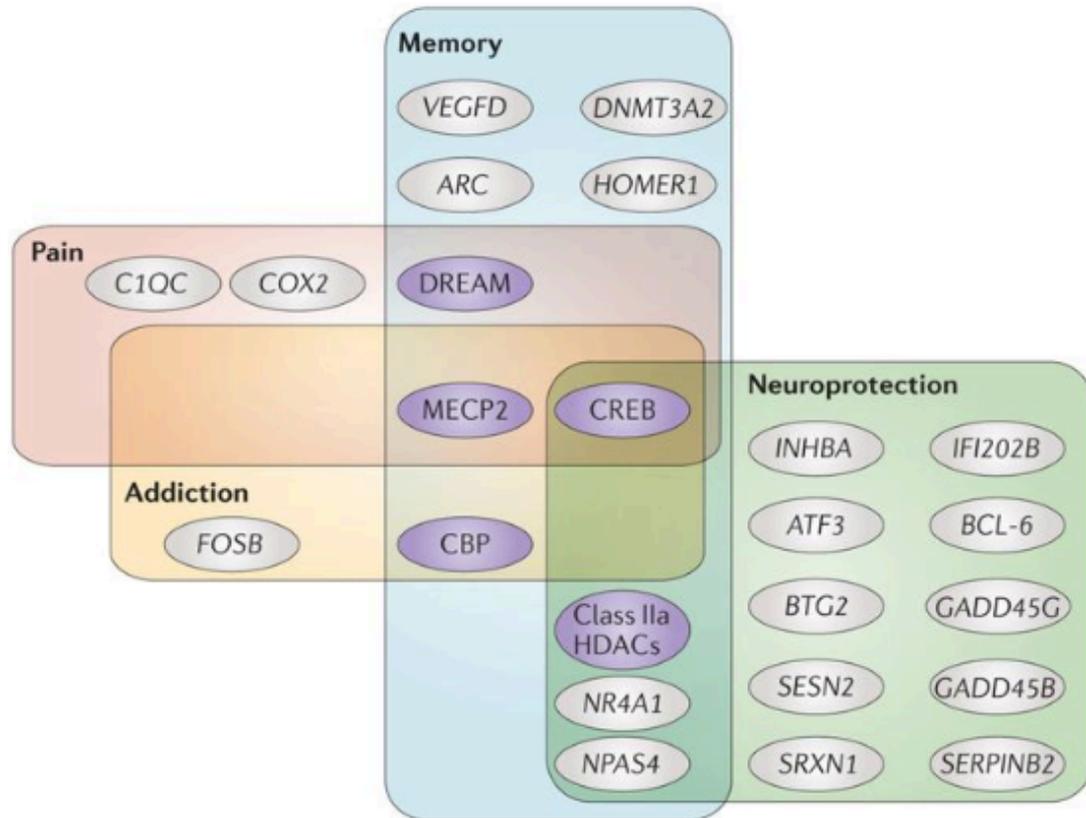
Ca²⁺ Nuclear

81



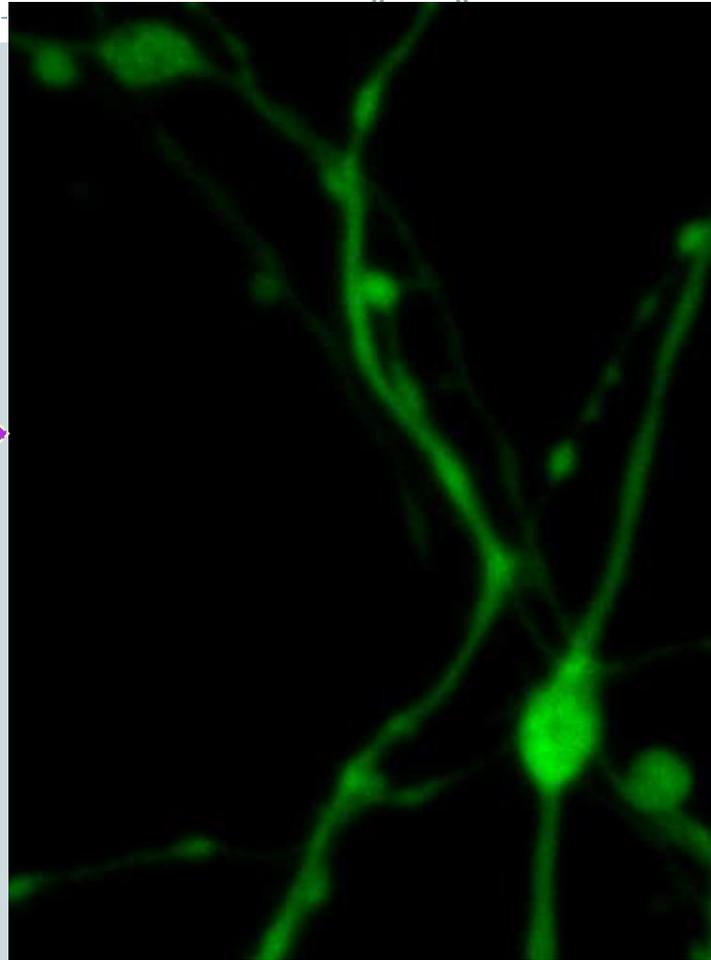
Se ha sugerido que el Ca²⁺ puede directamente ingresar al nucleoplasma desde el lumen del ER evitando el paso por el citoplasma. Esto ocurre debido a que el retículo endoplasmático (ER) es continuo con la envoltura nuclear.

Figure 4: Nuclear calcium-regulated transcriptional regulators control diverse forms of neuroadaptation.



Plasticidad estructural: Remodelamiento de las espinas dendríticas

Estímulo



**Microscopía
confocal**

- Z stack
- Deconvoluciones
- Proyección eje Z

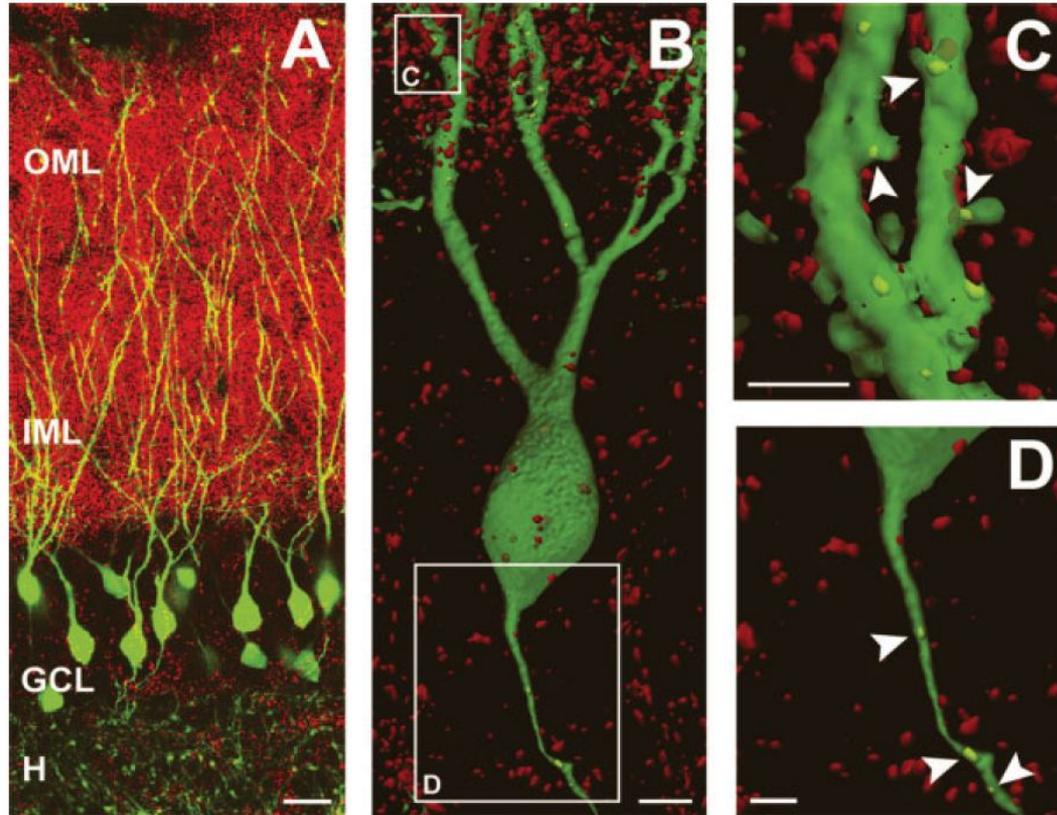
6 HORAS

Calceína - AM

Aparato espinoso (una especialización del RE en las espínas dendríticas)

Synaptopodin

Thy1-GFP



Synaptic plasticity at the interface of health and disease: New insights on the role of endoplasmic reticulum intracellular calcium stores

Synaptopodin

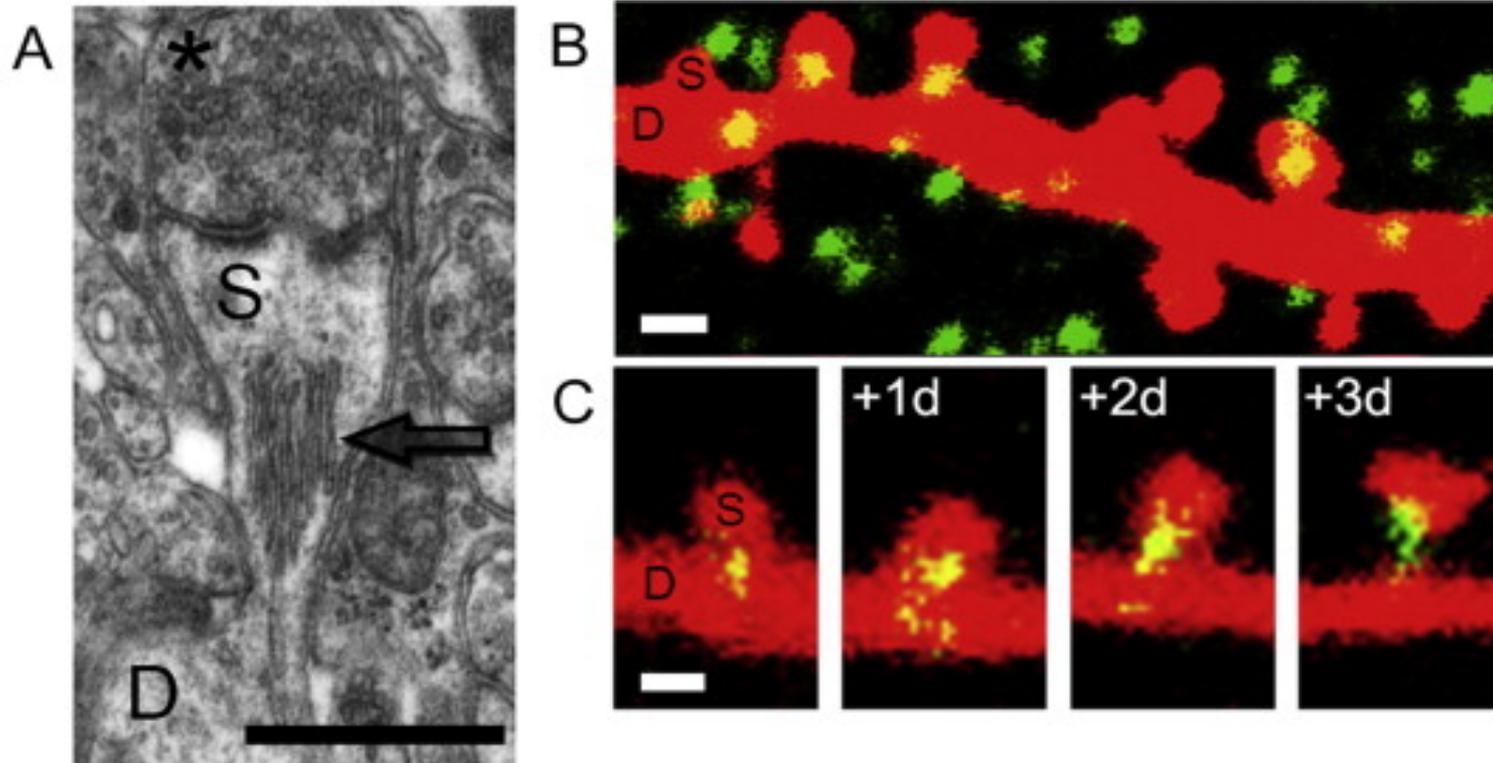
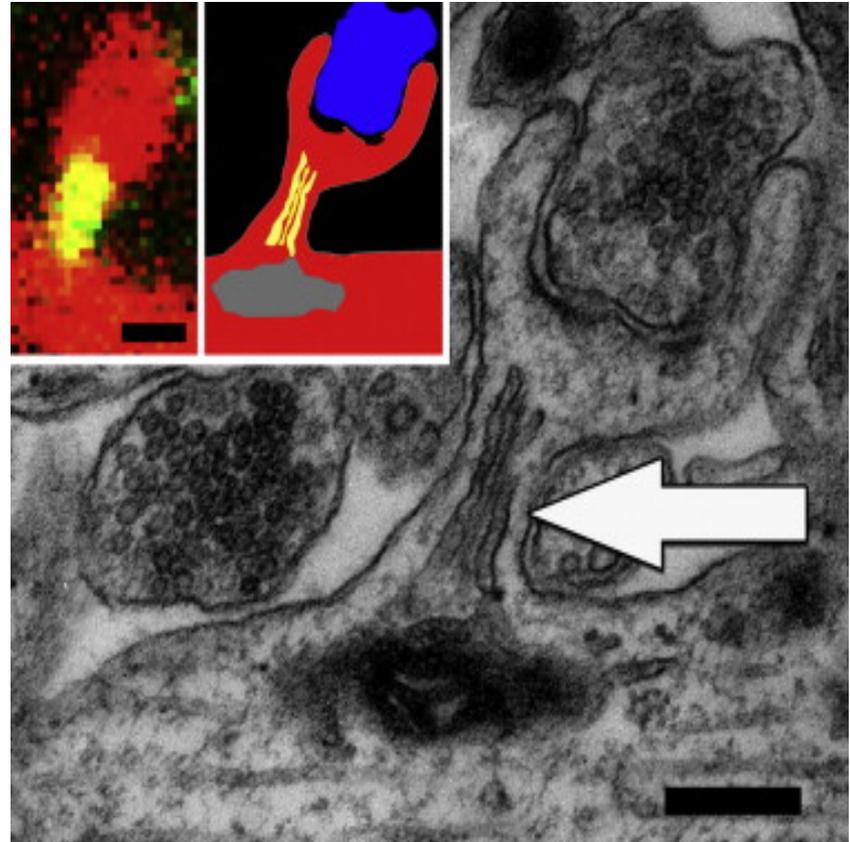


Fig. 2. The spine apparatus organelle (SA) plays an important role in the regulation of synaptic plasticity (A) Electron micrograph showing tightly stacked smooth endoplasmic reticulum laminated by dense material (arrow points at the SA in a dendritic spine of a dentate granule cell from a three-week old entorhino-hippocampal slice cultures; dendritic compartment indicated by 'D'; spine compartment indicated by 'S'; presynaptic compartment, asterisk). Scale bar = 500 nm.



**THE JOURNAL OF
COMPARATIVE
NEUROLOGY 418:164–181
(2000)**

Fig. 1. Synaptopodin (SP) is a marker of the spine apparatus organelle (SA). Electron micrograph of a SA (arrow) in the neck of a dendritic spine (in the outer molecular layer of dentate gyrus; three weeks old entorhino-hippocampal slice culture). The spine ap...

Andreas Vlachos

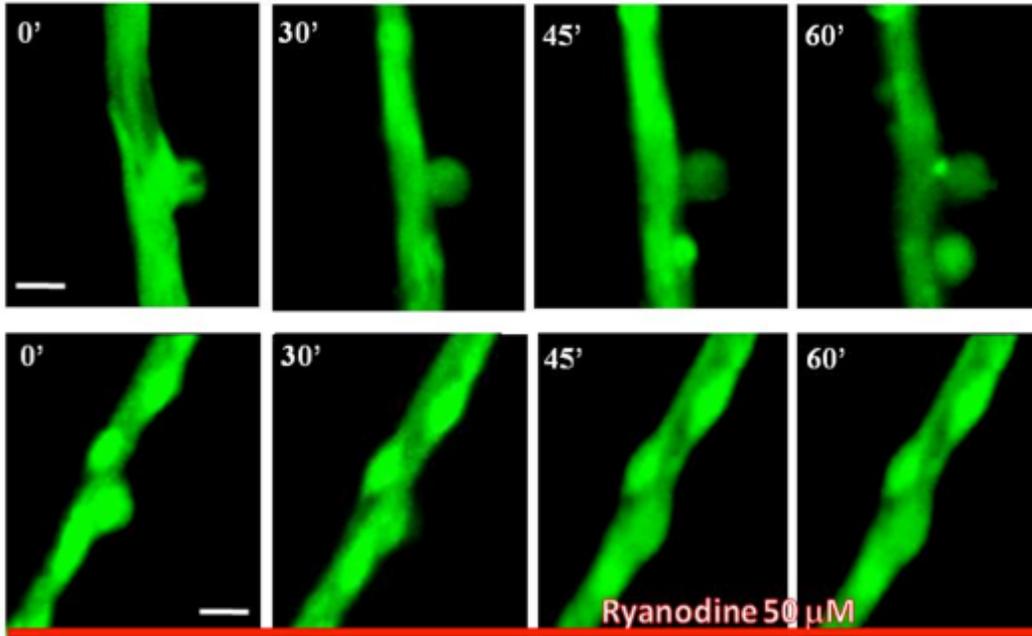
Synaptopodin and the spine apparatus organelle—Regulators of different forms of synaptic plasticity?

Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger, Volume 194, Issue 4, 2012, 317–320

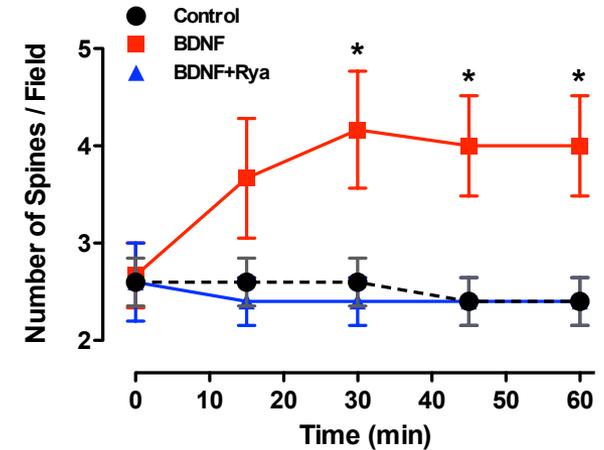
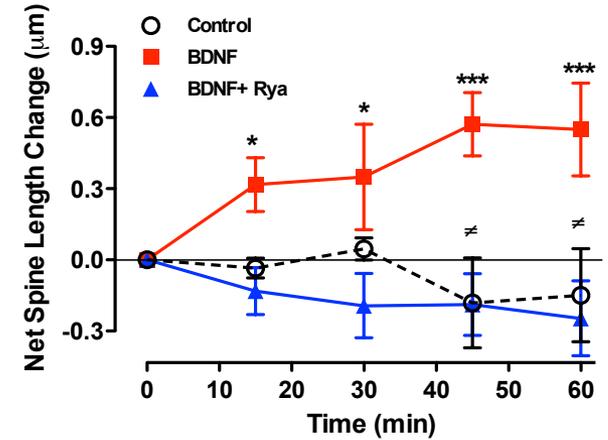
BDNF-induced spine remodeling requires RyR-mediated Ca²⁺ release.

Short term plasticity

BDNF 50 ng/ml



Neurons were loaded with calcein and in the confocal microscope, were stimulated with BDNF 50 ng/ml. Preincubation with ryanodine inhibited the spine remodeling induced by BDNF

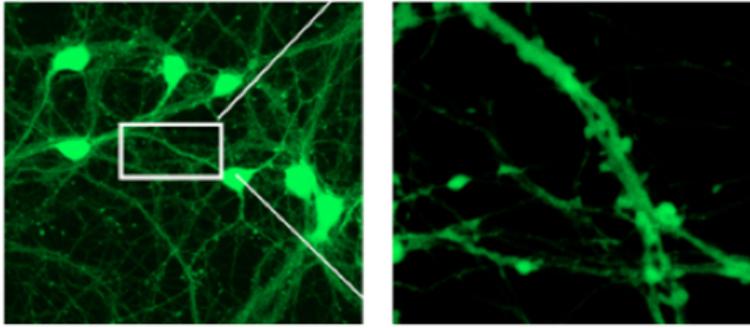


Scale bars, 2 μm.

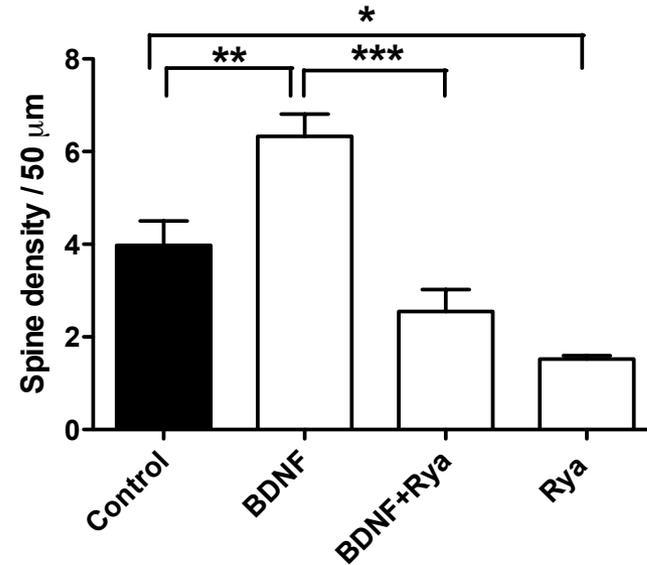
*P < 0.05 and ***P < 0.001

BDNF-induced spine remodeling requires RyR-mediated Ca²⁺ release.

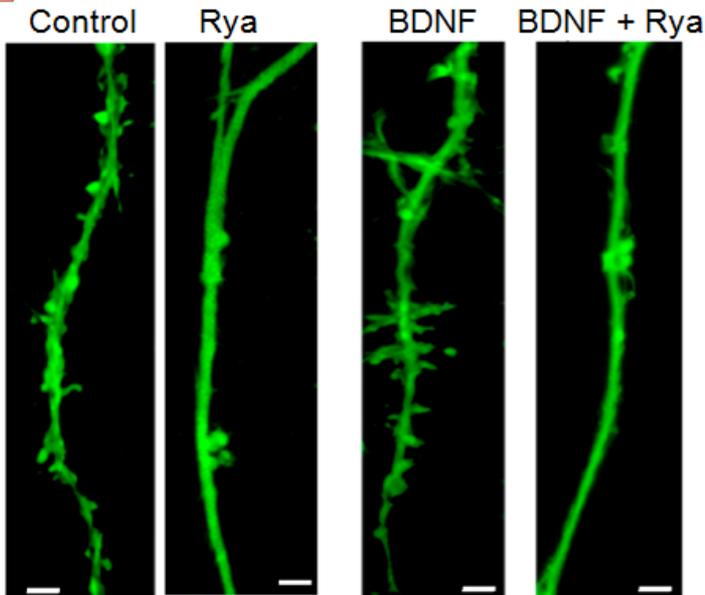
□



Long term plasticity, 6 h
BDNF



□

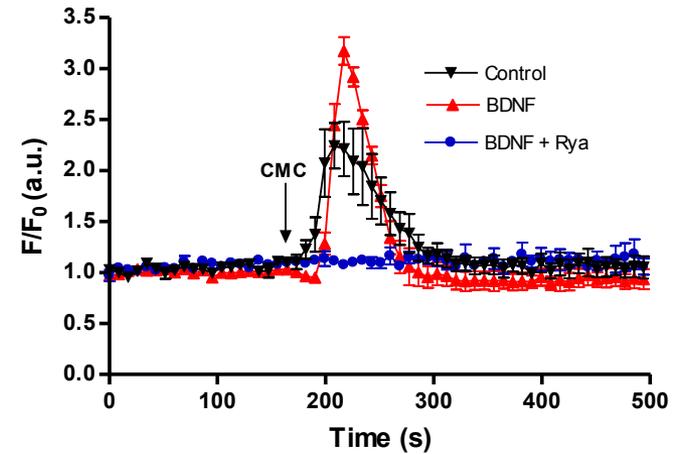
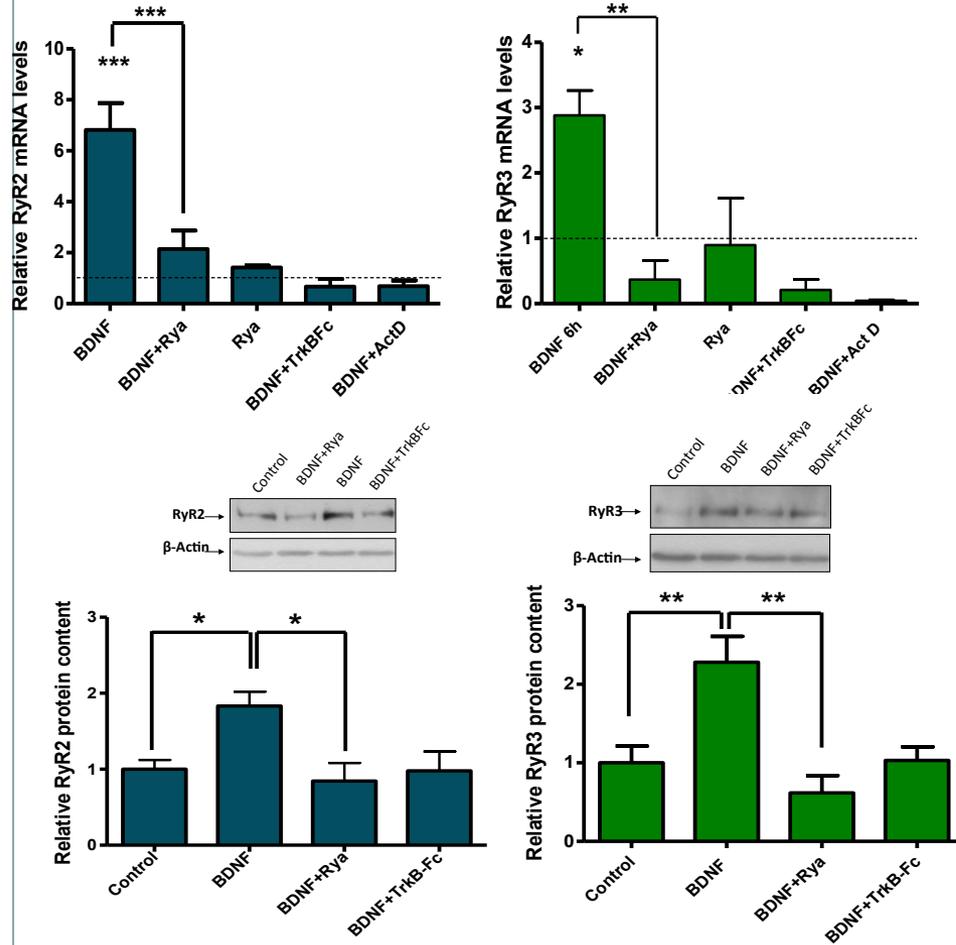


Neurons were stimulated 6 h with BDNF 50 ng/ml. And loaded with calcein. Preincubation and maintenance with ryanodine inhibited the spine remodeling induced by BDNF.

Scale barr, 2 μm .

*P < 0.05 and ***P < 0.001

BDNF Stimulates Hippocampal mRNA and protein Expression of the functional RyR2/RyR3



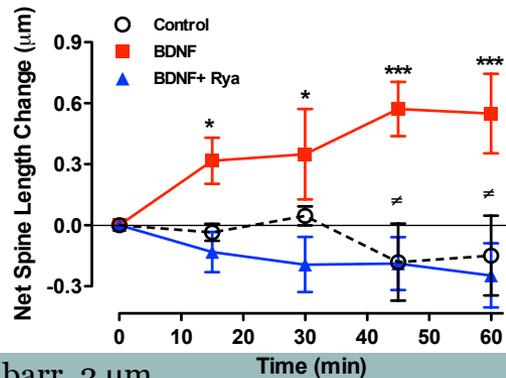
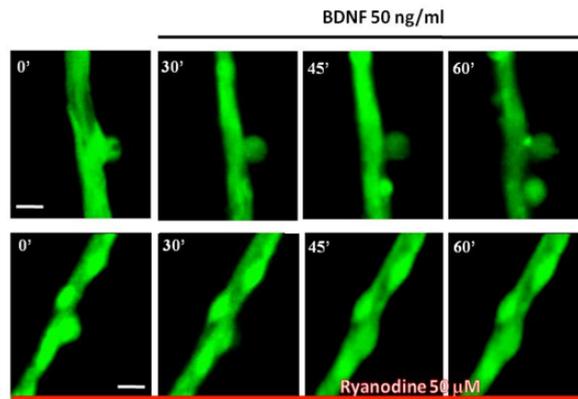
Calcium signals: Neurons were stimulated with BDNF or BDNF+Rya for 6 h. After that, neurons were loaded with Fluo 4 AM. The changes in the probe fluorescence were registered and quantified.

Involvement of ryanodine receptors in neurotrophin-induced hippocampal synaptic plasticity and spatial memory formation

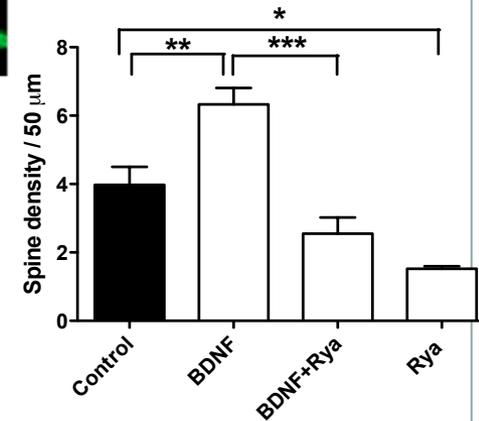
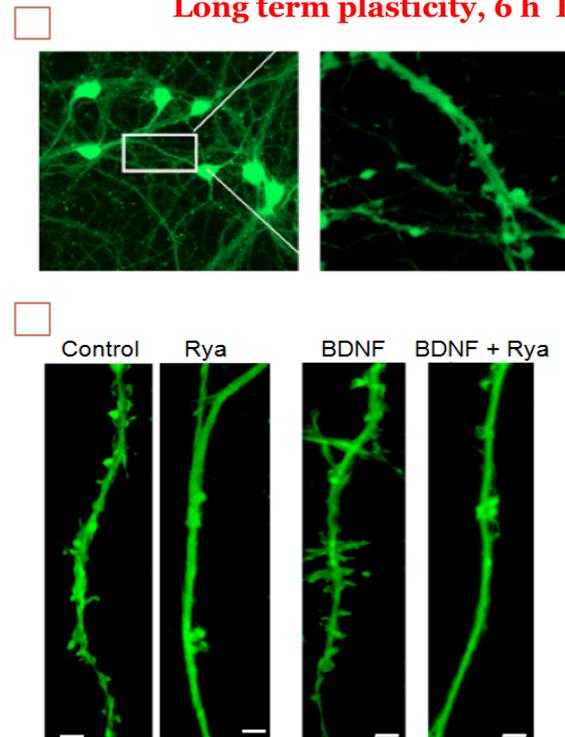
Tatiana Adasme^{a,1}, Paola Haeger^{a,1}, Andrea C. Paula-Lima^a, Italo Espinoza^a, M. Mercedes Casas-Alarcón^a, M. Angélica Carrasco^{a,b,2}, and Cecilia Hidalgo^{a,b,3}

^aCentro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, and ^bPrograma de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, 838-0453 Santiago, Chile

Short term plasticity



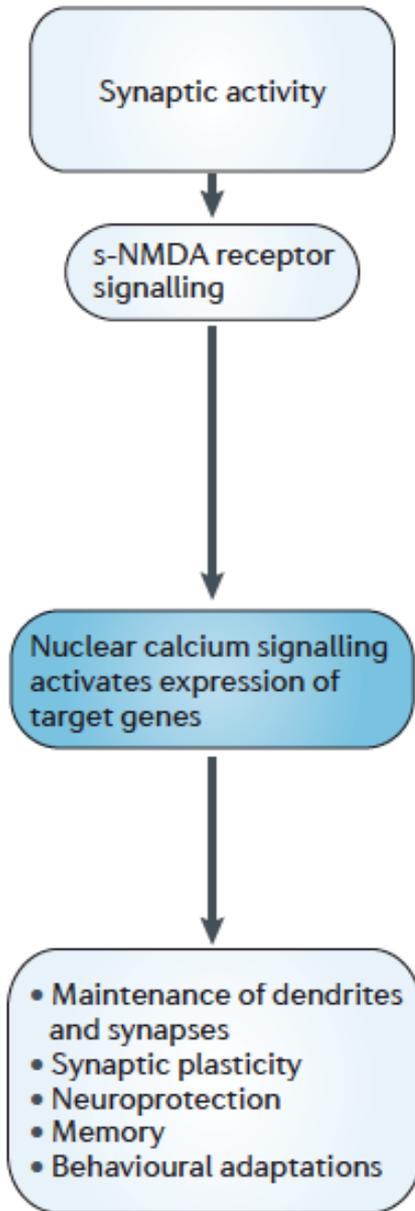
Long term plasticity, 6 h BDNF



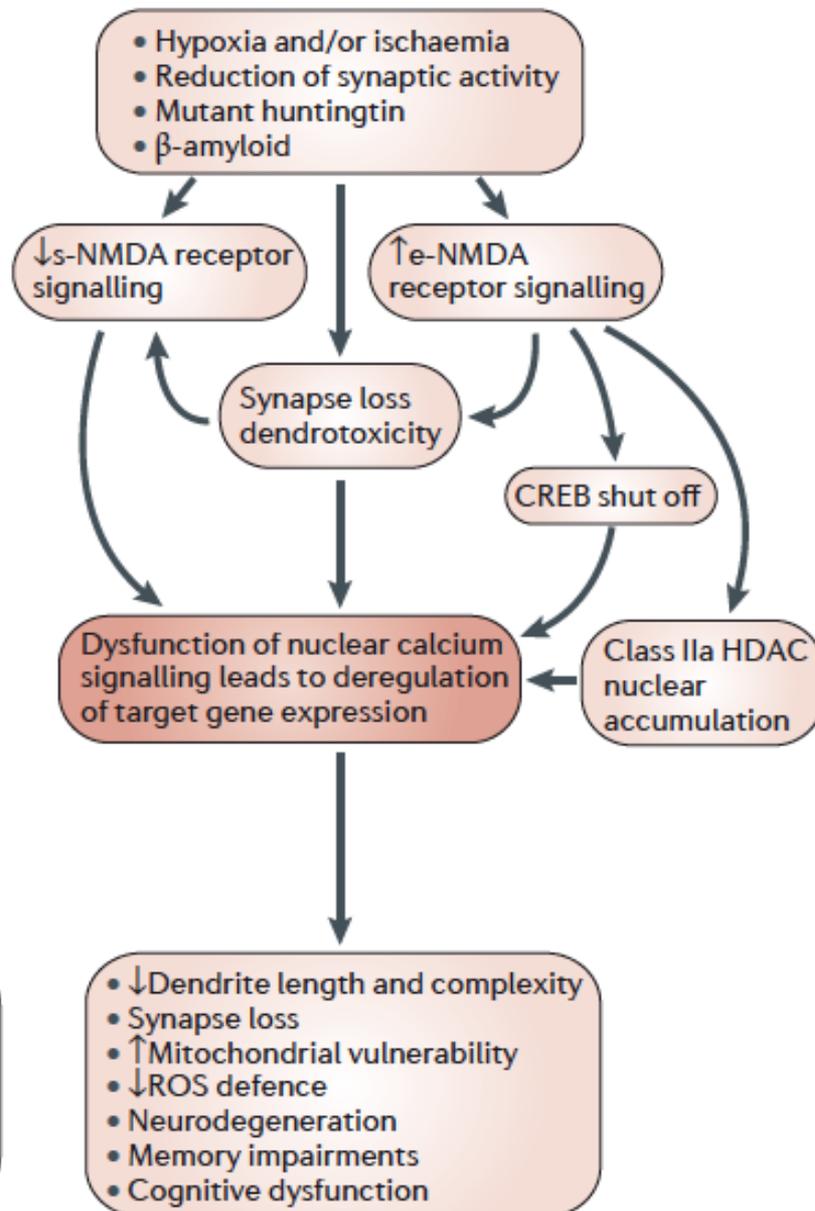
Scale barr, 2 μm.

*P < 0.05 and ***P < 0.001

Health

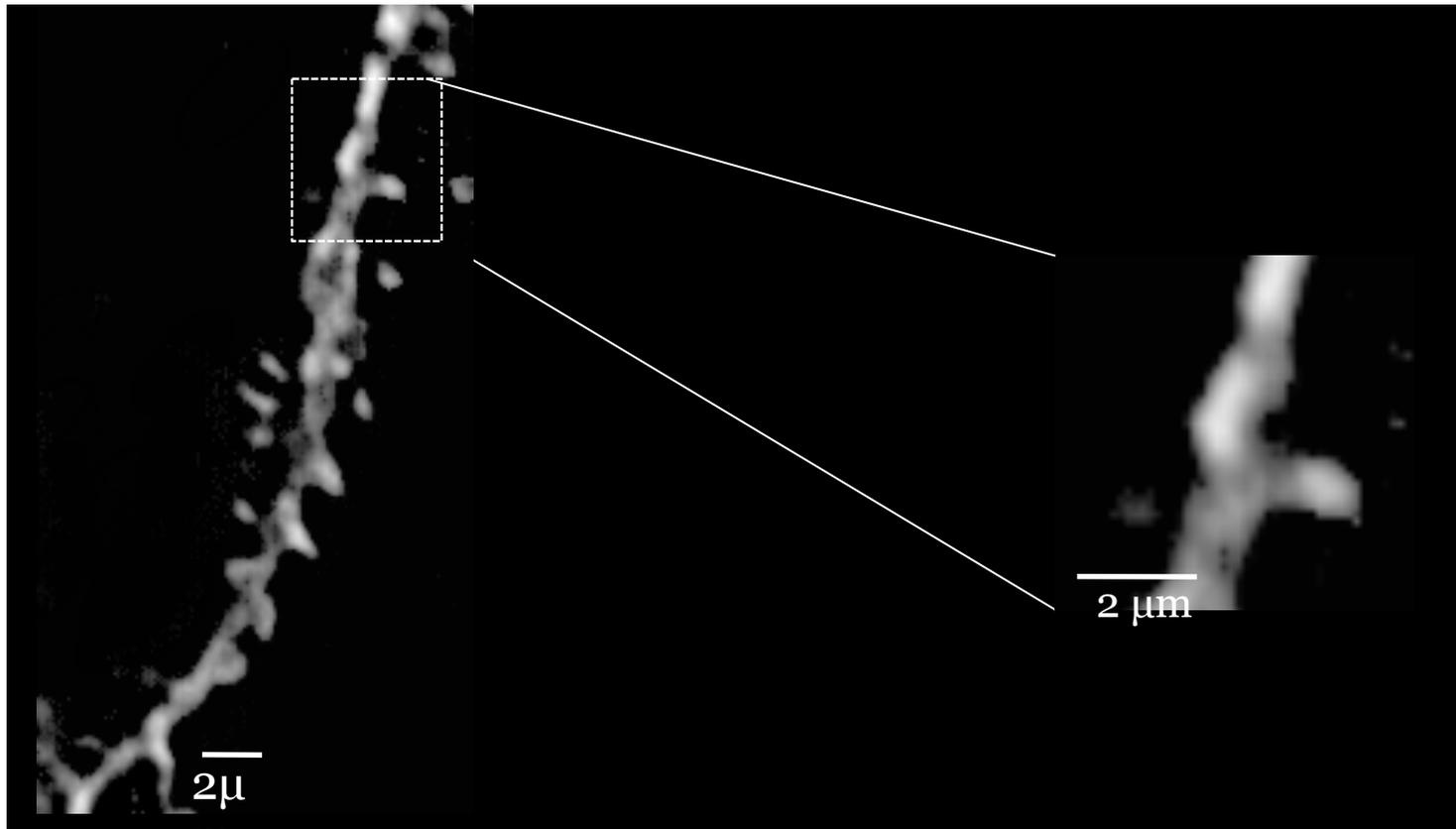


Disease



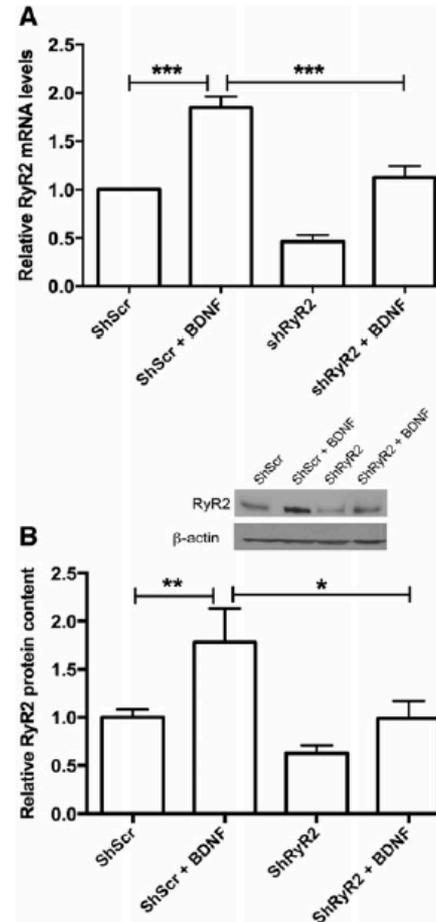
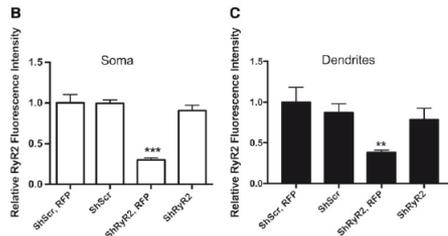
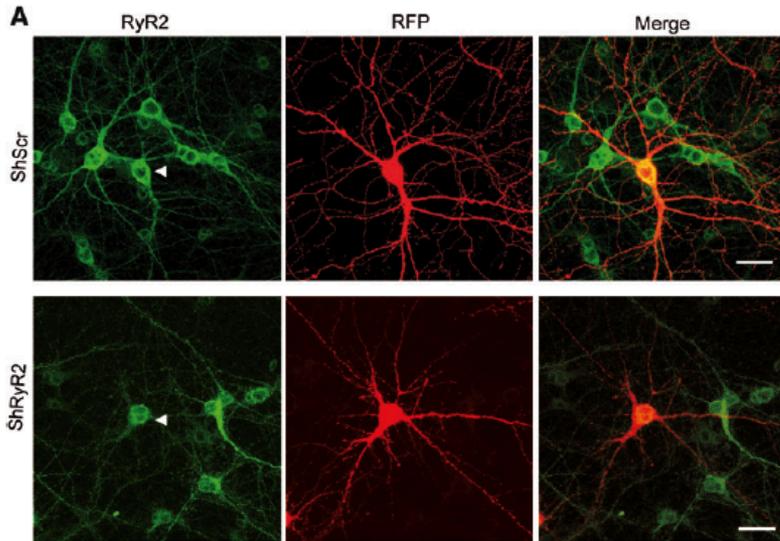
**Los ROS cumplen algún papel en
la señalización intracelular
inducida por BDNF?**

¿Cual de estas isoformas de RyR está implicada en la señalización intracelular que permite el remodelamiento de las espinas dendríticas que induce BDNF?



Calcium Release Mediated by Redox-Sensitive RyR2 Channels Has a Central Role in Hippocampal Structural Plasticity and Spatial Memory

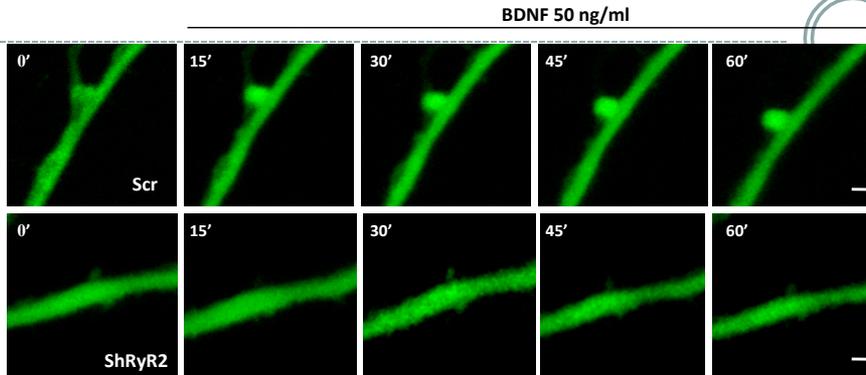
Jamileth Y. More^{1,*} Barbara A. Bruna^{1,*} Pedro E. Lobos¹ José L. Galaz¹ Paula L. Figueroa¹
 Silvia Namias¹ Gina L. Sánchez² Genaro C. Barrientos² José L. Valdés^{1,3} Andrea C. Paula-Lima^{1,4}
 Cecilia Hidalgo^{1,3,5} and Tatiana Adasme^{1,6}



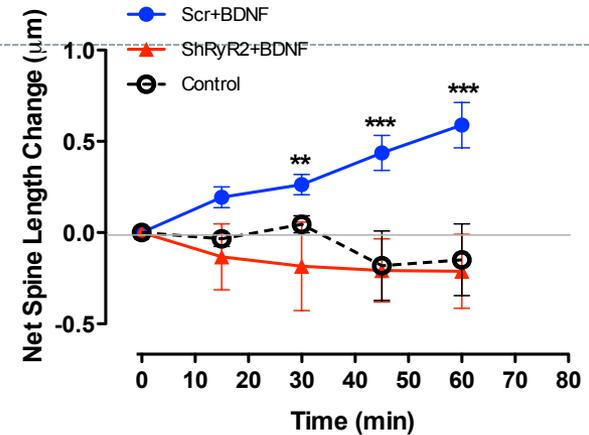
La actividad de RyR2 es necesaria para el remodelamiento de la espinas dendríticas

Short term plasticity

A)

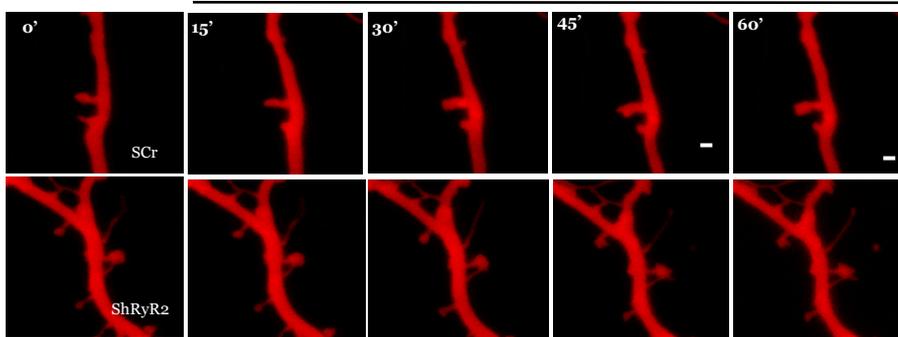


B)

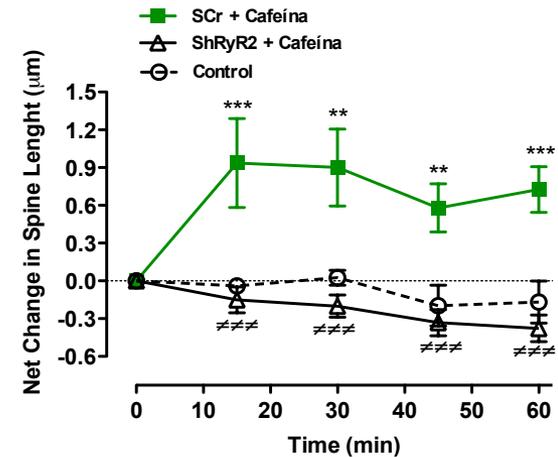


C)

Caffeine 10 mM



D)



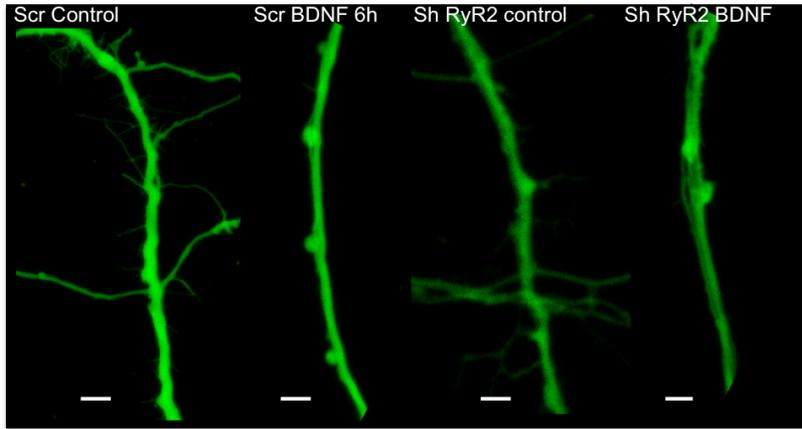
Scale bars, 2 µm.

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

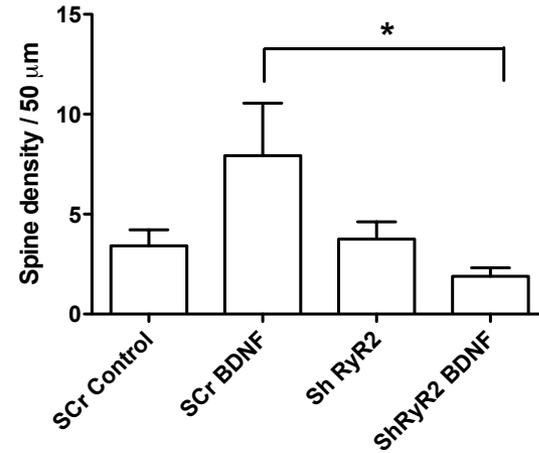
RyR2 DOWNREGULATION SUPPRESSES THE SPINE REMODELING INDUCED BY BDNF

Long-term plasticity

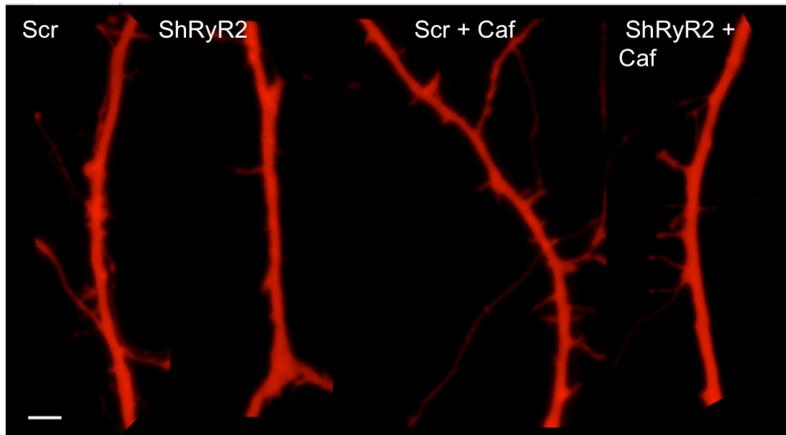
A)



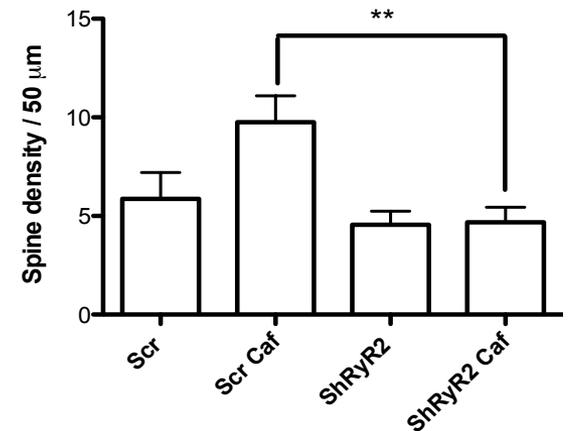
B)



C)



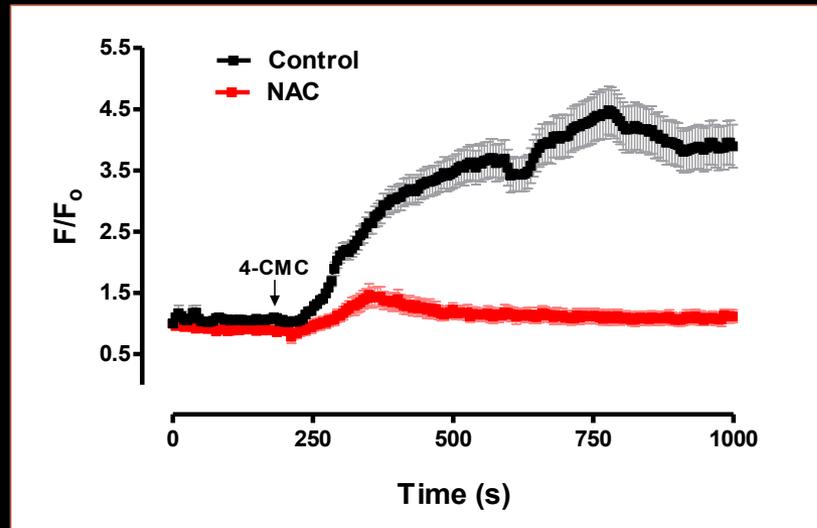
D)



Scale bars, 2 μm .

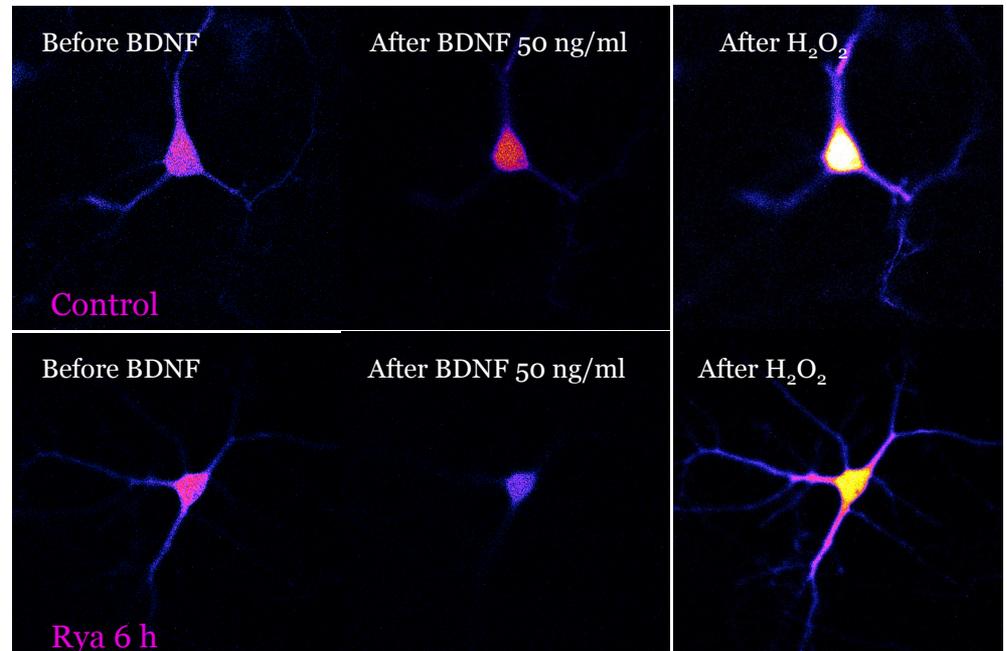
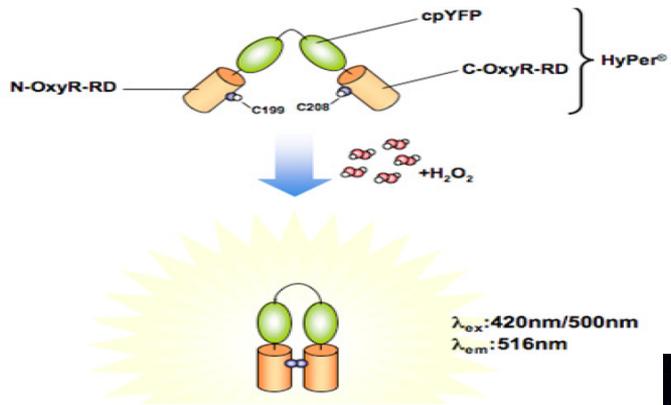
* $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$

RyR es un receptor/canal sensible a ROS



Neuronas hipocampales fueron pre-incubadas con N-acetyl cysteine (NAC), para reducir el ambiente celular, luego se cargaron con Fluo 4 AM y se estimulo la liberación de calcio mediada por

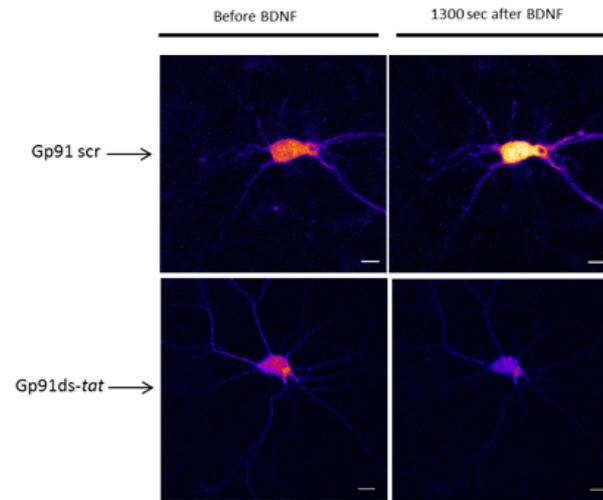
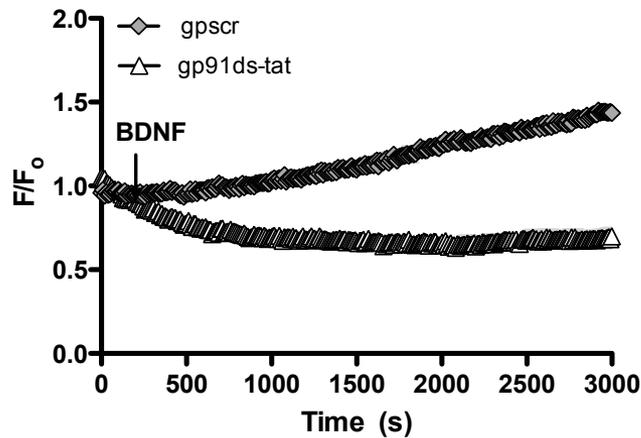
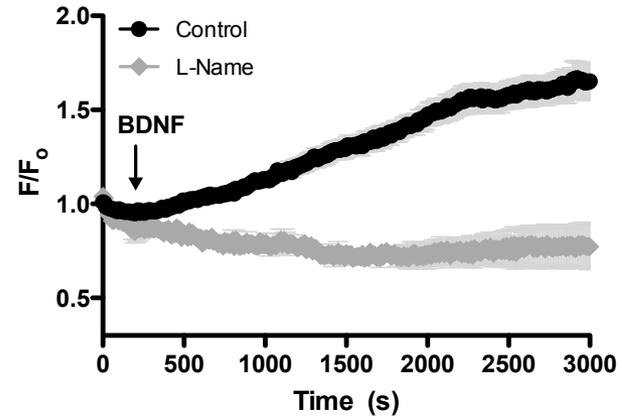
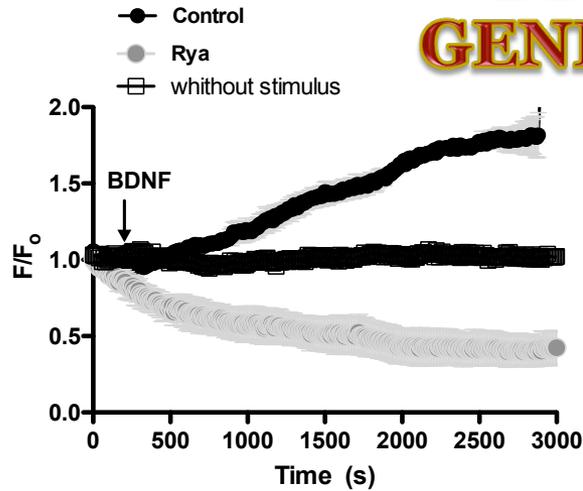
**NAC previene la liberación de Ca^{2+} desde ER
mediada por RyR**



Hyper-cito: el plasmidio codifica para la expresión de la proteína citoplasmática que posee una proteína fluorescente amarilla insertada dentro del dominio regulatorio de la proteína bacteriana OxyR. Esta proteína permite la detección selectiva de H₂O₂ en células vivas. Dröge et al, 2002.

Long. de onda de excitación 488 nm

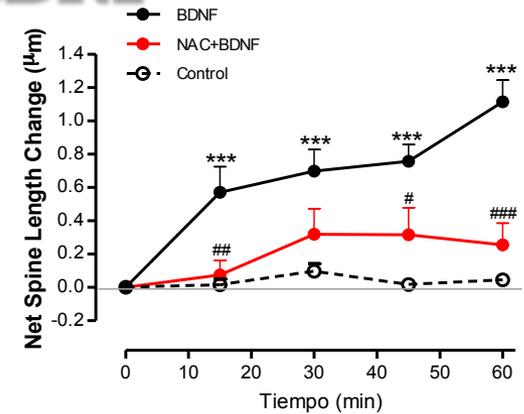
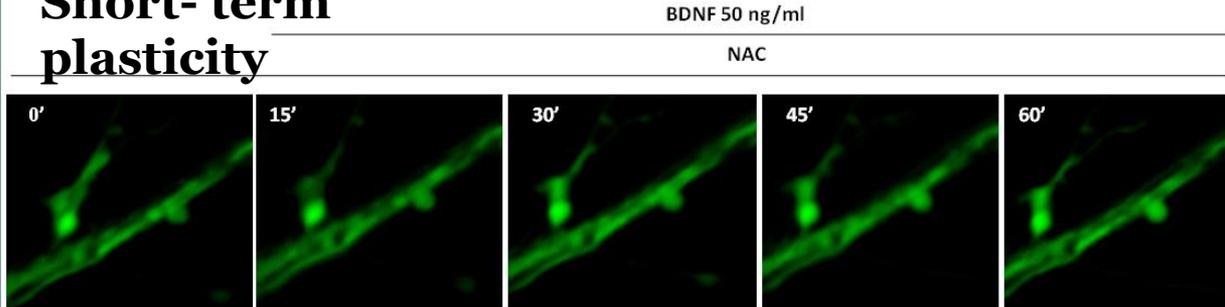
BDNF INDUCE LA GENERACIÓN DE ROS



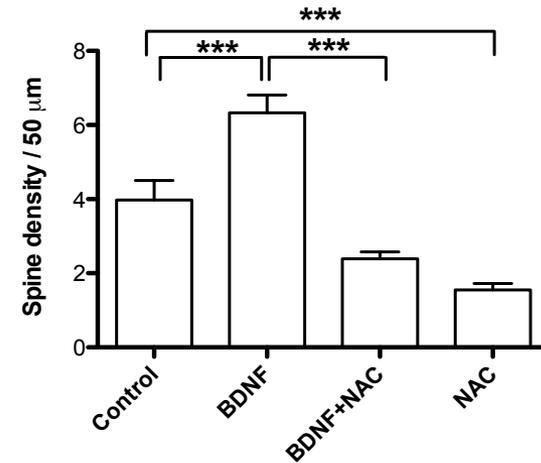
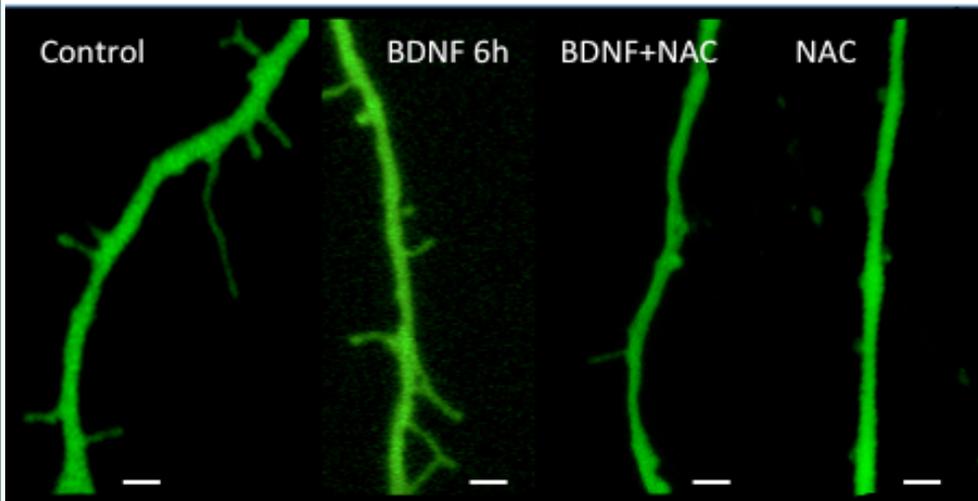
Neuronas fueron transfectada con la proteína sensora de ROS Hypercito protein, que permite monitorear y registrar los cambios en los niveles de H_2O_2 . La neuronas fueron preincubadas 1h con: ryanodina, L-NAME o gp91ds-tat. .

NAC previene el remodelamiento de espinas dendríticas que induce BDNF

Short-term plasticity



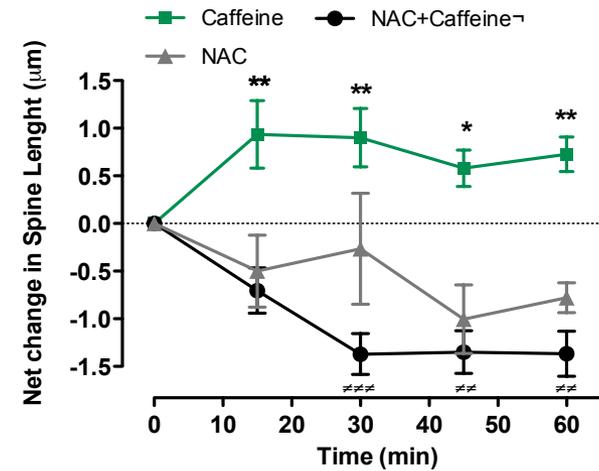
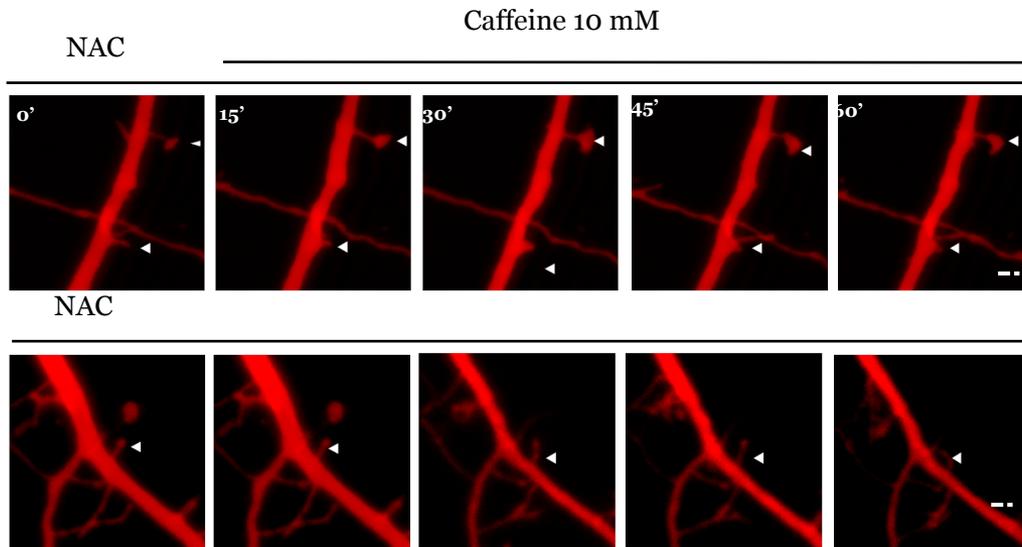
Long-term plasticity



Scale bars, 2 µm.

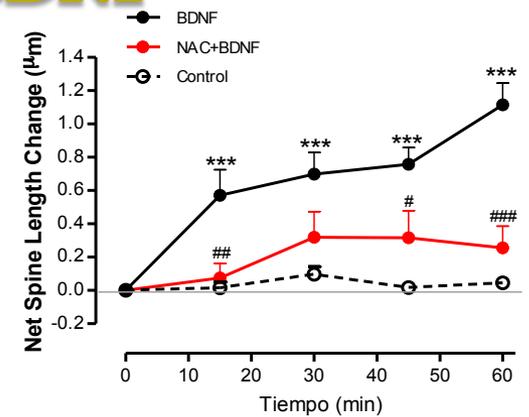
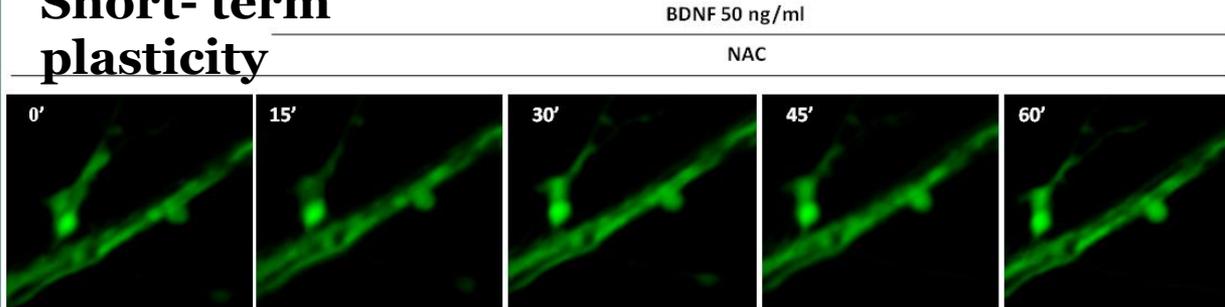
*P < 0.05 and ***P < 0.001

NAC previene el remodelamiento de espinas dendríticas que induce Cafeína

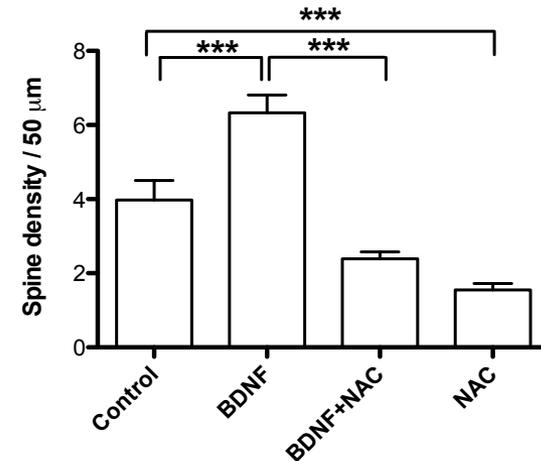
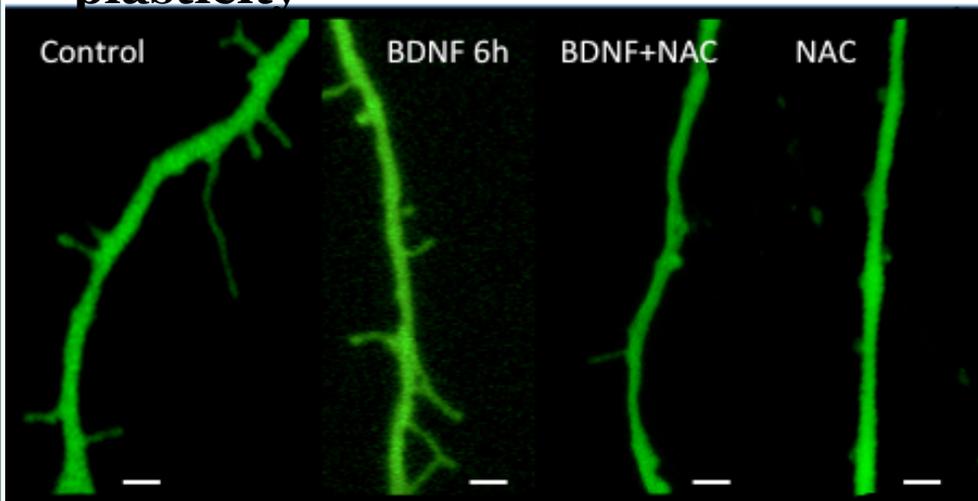


NAC previene el remodelamiento de espinas dendríticas que induce BDNF

Short-term plasticity



Long-term plasticity



Scale bars, 2 µm.

n= 5

*P < 0.05 and ***P < 0.001

BDNF: Nrf2 y PPAR α respuesta esta antioxidante

103

Aspirin binds to PPAR α to stimulate hippocampal plasticity and protect memory

Dhruv Patel^{a,1}, Avik Roy^{a,b,1}, Madhuchhanda Kundu^a, Malabendu Jana^{a,b}, Chi-Hao Luan^c, Frank J. Gonzalez^d, and Kalipada Pahan^{a,b,2}

Published in final edited form as:

Cell Rep. 2013 August 29; 4(4): 724–737. doi:10.1016/j.celrep.2013.07.028.

Regulation of CREB and hippocampal plasticity-related genes by peroxisome proliferator-activated receptor α

Avik Roy¹, Malabendu Jana¹, Grant T Corbett¹, Shilpa Ramaswari Frank J. Gonzalez², and Kalipada Pahan¹

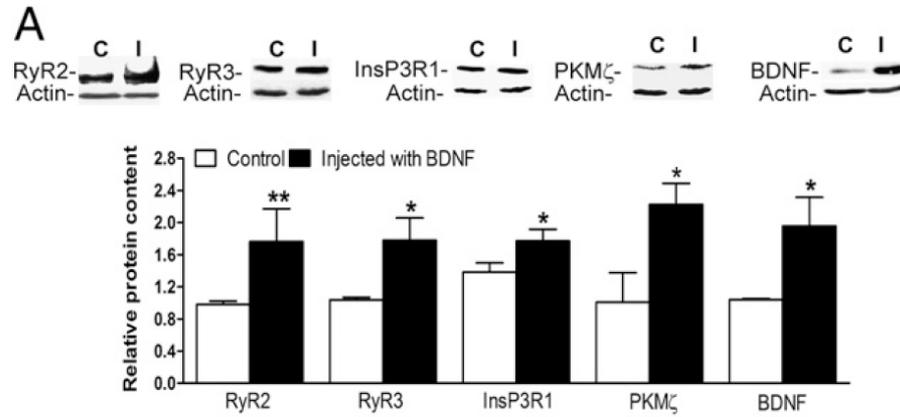
The Signaling Pathways Underlying BDNF-Induced Nrf2 Hippocampal Nuclear

Translocation Involve ROS, RyR-Mediated Ca²⁺ Signals, ERK and PI3K

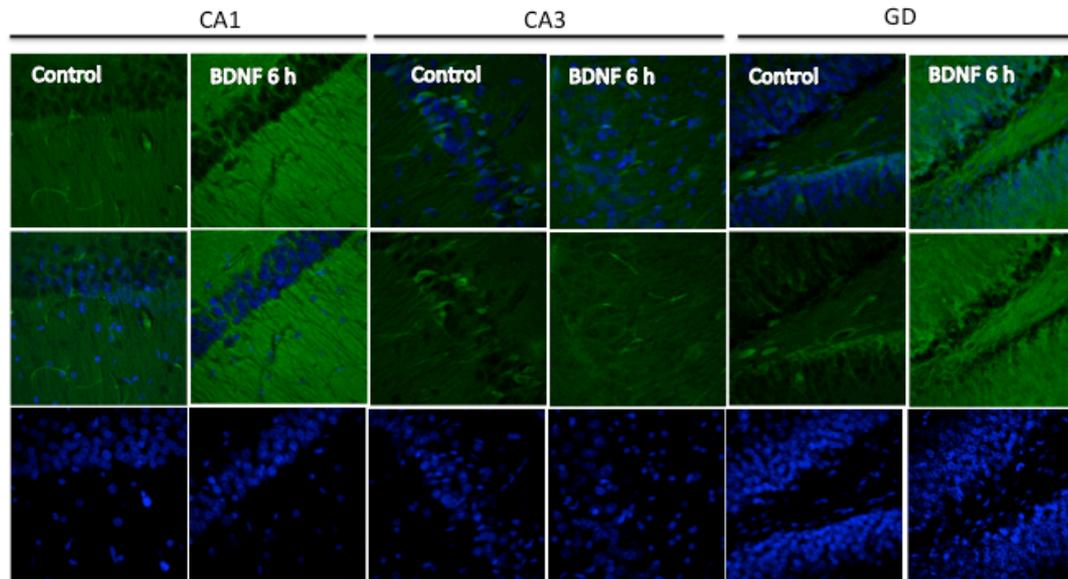
Bárbara Bruna¹, Pedro Lobos¹, Rodrigo Herrera-Molina^{2,3}, Cecilia Hidalgo^{1,4,5,6}, Andrea

Paula-Lima^{1,7}, Tatiana Adasme^{1,3}.

Intrahippocampal BDNF injection



Adasme, T., Haeger, P., et al. 2011. PNAS



Clase de señalización y plasticidad sináptica

105

Primera parte

- Sinapsis
- Transmisión sináptica
- Neurotransmisores

Plasticidad Sináptica

- Mecanismo de plasticidad (Citoplasmáticos, ER, nucleares).
- LTP
- Laberinto acuatico de Morris
- Plasticidad estructural

Bibliografía recomendada

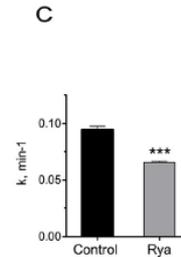
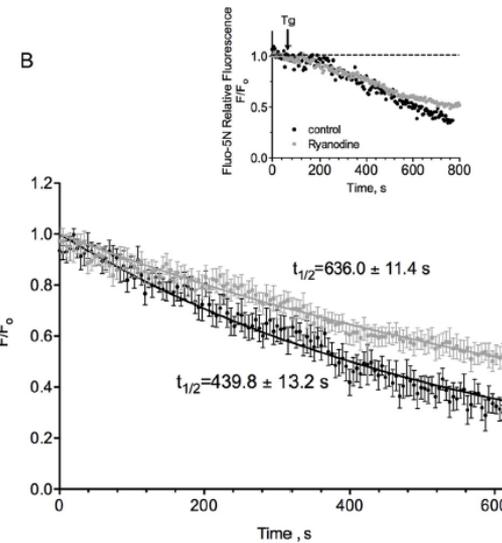
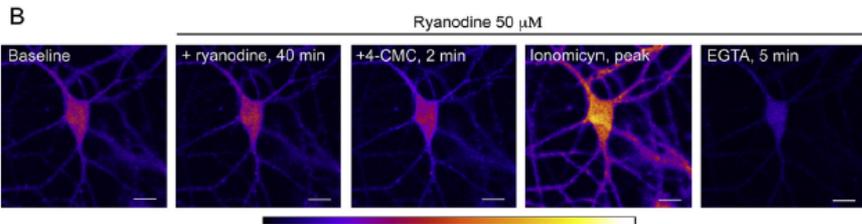
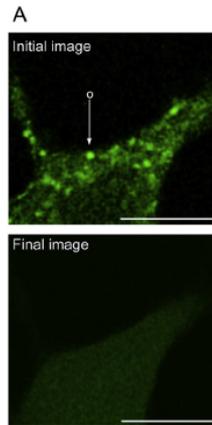
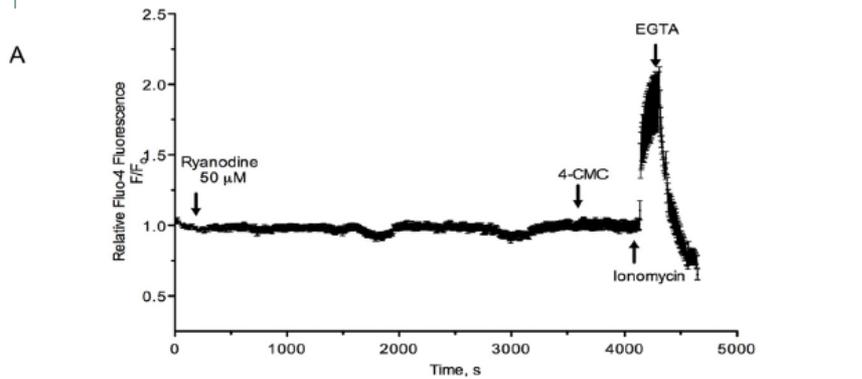
106

- Bailey CH, Kandel ER (1993) Structural changes accompanying memory storage. *Annu Rev Physiol* 55:397-426.
- Berridge MJ (1998) Neuronal calcium signaling. *Neuron* 21:13-26.
- Hidalgo C (2005) Cross talk between Ca²⁺ and redox signalling cascades in muscle and neurons through the combined activation of ryanodine receptors/Ca²⁺ release channels. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360:2237-2246.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses. *Biosci Rep* 21:565-611.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000) Principles of neural science, 4th Edition. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division.
- Citri & Malenka (2008) Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms *Neuropsychopharmacology REVIEWS* 33, 18–41
- Park & Poo (2013) Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neurosciences*, 14:7-23
- Adasme T, Haeger P, Paula-Lima AC, Espinoza I, Casas-Alarcón MM, Carrasco MA, Hidalgo C. (2011) Involvement of ryanodine receptors in neurotrophin-induced hippocampal synaptic plasticity and spatial memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15;108(7):3029-34.
- Paula-Lima, AC., Adasme, T., and Hidalgo C. . (2014) Contribution of Ca²⁺ release channels to hippocampal synaptic plasticity and spatial memory. Potential redox modulation. *Antioxidants & Redox Signaling. Review*. 21(6)892-914. DOI: 10.1089/ars.2013.5796.
- More, J., Bruna, B., Lobos, P., Galaz, J., Figueroa, P., Namias, S., Sanchez, G., Barrientos, G., Valdés, J., PaulaLima, AC., Hidalgo, C., Adasme, T. (2018) Ca²⁺ release mediated by redox-sensitive RyR2 channels has a central role in hippocampal structural plasticity and spatial memory. *Antioxidants & Redox Signaling*. PMID:29357673
- Bading, H. (2013) Nuclear calcium signalling in the regulation of brain function. 14:593-608



Inhibitory ryanodine prevents ryanodine receptor-mediated Ca^{2+} release without affecting endoplasmic reticulum Ca^{2+} content in primary hippocampal neurons

Tatiana Adasme ^a, Andrea Paula-Lima ^{a,b}, Cecilia Hidalgo ^{a,c,*}



Fluo 4, medio extracelular con Ca^{2+}

Fluo 5N, medio extracelular sin Ca^{2+}