

NUOVI APPROCCI METODOLOGICI PER L'ANALISI ULTRASTRUTTURALE DI NEURONI E SINAPSI

Maura FRANCOLINI

Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale (BIOMETRA)

Università degli Studi di Milano

Via L. Vanvitelli, 32 – 20129 Milano

Difetti nella formazione, maturazione o funzionamento delle sinapsi nel Sistema Nervoso Centrale (SNC) durante lo sviluppo causano ritardi nell'apprendimento e nella memoria che sono la caratteristica di alcune condizioni patologiche quali autismo, e disabilità intellettiva. La disabilità intellettiva legata al cromosoma X (*X-linked intellectual disability* - XLID) è una condizione molto eterogenea la cui insorgenza è associata a mutazioni di geni presenti sul cromosoma X. Più della metà dei geni mutati nei pazienti XLID codifica per proteine sinaptiche, responsabili del riarrangiamento del citoscheletro di actina, plasticità sinaptica, formazione della sinapsi, trasmissione nervosa. Tuttavia in molti casi il ruolo preciso di questi geni rimane ancora oscuro.

Uno dei geni le cui mutazioni sono responsabili di alcune forme di XLID è TM4SF2 (*Transmembrane 4 Superfamily 2*) che codifica per TSPAN7 (*Tetraspanina 7*), un membro della famiglia delle tetraspanine. In neuroni ippocampali *in vitro*, TSPAN7 promuove l'emissione di filopodi e la formazione di spine dendritiche ed è inoltre necessario per garantire la stabilità delle spine e la trasmissione sinaptica. TSPAN7 è un partner di PICK1 (*Protein Interacting with C Kinase 1*) e regola l'associazione di PICK1 con i recettori per il glutammato di tipo AMPA, controllandone il traffico^{1,2}. Sono stati generati dei topi knock-out per TSPAN7 al fine di caratterizzare gli effetti della mancanza della proteina sull'anatomia di alcune aree del SNC (ippocampo e corteccia), ed in particolare gli effetti sulla struttura delle sinapsi eccitatorie ed inibitorie della regione CA1 dell'ippocampo.

Attraverso l'uso di diverse tecniche di indagine ultrastrutturale (qui illustrate nel dettaglio), sono state messe in evidenza differenze importanti nella architettura della spina dendritica e nel numero delle sinapsi eccitatorie ippocampali mentre il terminale presinaptico non risente in maniera evidente della mancata espressione di TSPAN7. Allo stesso modo, ad oggi, non sono stati messi in evidenza fenotipi anomali associati alle varicosità GABAergiche nelle stesse aree. Questa specificità di effetto a carico delle spine eccitatorie è supportata dai risultati dei saggi biochimici volti ad evidenziare differenze dei livelli di espressione di markers pre- e postsinaptici eccitatori ed inibitori e da misurazioni di ampiezza e frequenza delle correnti postsinaptiche eccitatorie spontanee (mEPSCs – *miniature excitatory postsynaptic currents*).

ESSENTIAL BIBLIOGRAPHY:

1. Bassani S et al., *Neuron* Vol. 73, pp. 1143-1158, (2012)

2. Bassani S et al., *Neuroscientist*. 2013 Oct;19(5):541-52. doi: 10.1177/1073858413493972.