
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ETTORE FADIGA, LUCIO SEGATA

La risposta della corteccia cerebellare isolata alla stimolazione elettrica

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.4, p.
534-539.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_4_534_0

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Fisiologia. — *La risposta della corteccia cerebellare isolata alla stimolazione elettrica* ⁽¹⁾. Nota di ETTORE FADIGA e LUCIO SEGATA, presentata ^(**) dal Socio G. C. PUPILLI.

Le caratteristiche presentate dall'attività elettrica spontanea della corteccia cerebellare, dopo la interruzione completa delle connessioni nervose tra la corteccia stessa e le restanti parti del nevrasso, sono state recentemente studiate da Crepax e Infantellina ⁽¹⁾, che hanno potuto accertare come il preparato di lembo isolato (*slab*) corticocerebellare sia sede di un ritmo pulsatorio autonomo fondamentalmente simile a quello della corteccia dell'organo integro. Ci è parso che un'indagine effettuata sullo stesso preparato e concernente l'attività elettrica evocata potesse essere utile per meglio conoscere le proprietà reattive degli aggregati neuronici della corteccia del cervelletto, proprietà che possono analizzarsi convenientemente solo dopo la soppressione delle eventuali influenze modificatrici di origine estrinseca [cfr. Purpura e Grundfest ⁽²⁾].

Gli esperimenti di cui riferiremo in questa Nota sono stati compiuti sul Gatto. La tecnica e i procedimenti seguiti durante le prove verranno esposti dettagliatamente nel lavoro *in extenso*; ci limitiamo in questa sede a ricordare solo i punti salienti. Dopo avere decerebrato l'animale a livello intercollicolare e in narcosi eterica, si sospendeva la somministrazione dell'etere e si continuava l'intervento preparatorio procedendo all'isolamento di un lembo della corteccia vermiana tra la *fissura prima* e la *fissura posterior superior* ⁽³⁾, secondo il metodo proposto da Crepax e Infantellina nel lavoro dianzi citato ⁽¹⁾. Il lembo così ottenuto era completamente separato dal circostante tessuto nervoso (il che era comprovato, al termine dell'esperimento, mediante il controllo anatomico) e a un dipresso misurava mm 15 in senso rostro-caudale e mm 10 in larghezza; esso era nutrito attraverso il circolo piaie, che si aveva cura di rispettare durante la preparazione. L'intervento si concludeva sollevando i lembi cutanei della ferita operatoria e fissandoli ad un largo anello metallico in modo da ottenere un « pozzetto » che veniva riempito di olio di vaselina, la cui temperatura era mantenuta a 37°-38°C per tutta la durata dell'esperimento.

(*) Lavoro eseguito, col sussidio del Consiglio Nazionale delle Ricerche, nell'Istituto di Fisiologia umana dell'Università di Bologna.

(**) Nella seduta del 14 aprile 1962.

(1) P. CREPAX e F. INFANTELLINA, « Arch. Sci. biol. », XLI, 57 (1957).

(2) P. D. PURPURA a. H. GRUNDFEST, « J. Neurophysiol. », XIX, 573 (1957); XX, 494 (1957).

(3) La nomenclatura seguita è quella di LARSELL [« J. comp. Neurol. », XCIX, 135 (1957)].

Venivano poi applicati su una lamella del lembo gli eccitatori bipolari per la stimolazione diretta (stimolatore Grass S4B; singoli impulsi rettangolari di V 1-15 e msec 0,2-0,5), disponendoli in modo che la linea congiungente i due poli fosse perpendicolare all'asse maggiore della lamella stessa. Sono stati usati due tipi di eccitatori, diversi tra loro per la resistenza (5000 e 20000 Ω) e la distanza interpolare (1 e 0,5 mm), e costituiti da elettrodi rispettivamente di argento (diametro: 0,5 mm) e di platino (diametro: 30 μ). La derivazione dei potenziali è stata eseguita tanto dalla superficie quanto dalla profondità della corteccia, con tecnica monopolare. Nel primo caso si usavano fili

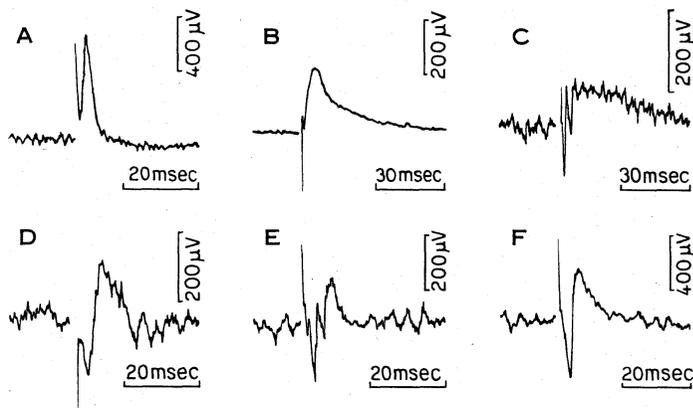


Fig. 1. - Risposte ottenute dalla superficie del lembo isolato di corteccia cerebellare di Gatto per effetto della stimolazione elettrica diretta.

Si osservino in A e B esempi di risposte monofasiche negative di diversa durata; in D, E e F, esempi di risposte bifasiche; in C, una risposta monofasica preceduta da un rapido potenziale a punta. In questa figura e nelle successive, la polarità negativa è espressa dalla deflessione del tracciato verso l'alto.

di argento clorurato (diametro: 0,5 mm) a punta smussa, nel secondo elettrodi isolati di platino (diametro: 30 μ) del tipo comunemente impiegato in questo laboratorio [Fadiga, Pupilli e von Berger⁽⁴⁾], guidati da un micromanipolatore; gli elettrodi di stimolazione e quelli di derivazione erano montati sopra supporti a cremagliera, spostabili in ogni senso. Le osservazioni sono state compiute con un oscillografo Du Mont mod. 321, previa amplificazione dei segnali mediante un apparecchio Grass mod. P5. I tracciati catodici sono stati fotografati su carta ferma, usando un fotochimografo Grass mod. C4C.

Si è visto che nei preparati ben riusciti (attività elettrica spontanea maggiore di 40-50 μ V) la stimolazione diretta provoca la comparsa di potenziali evocati chiaramente riconoscibili (fig. 1). La descrizione che segue si riferisce a derivazioni eseguite a distanze di 1-2 mm dalla sede di applicazione dello stimolo: nonostante la considerevole variabilità individuale quanto ad ampiezza, durata e forma, si può dire che le risposte presentano un andamento

(4) E. FADIGA, G. C. PUPILLI e G. P. VON BERGER, « Arch. Sci. biol. », XL, 541 (1956).

monofasico ovvero bifasico. Le prime d'ordinario si osservano per stimolazioni eseguite con gli elettrodi di diametro e distanza interpolare minori, le altre per stimolazioni effettuate con gli elettrodi di maggiori dimensioni.

Le risposte monofasiche (fig. 1, A e B) hanno polarità superficie-negativa e soglia pari a 3-4 V, per impulsi della durata di 0,2-0,3 msec; l'artefatto provocato dallo stimolo impedisce di rilevare dai tracciati la durata esatta della latenza. Si tratta di oscillazioni di durata assai variabile, potendosi di questo parametro osservare tutti i valori intermedi tra un minimo di 8-10 msec e un massimo di 30-40 msec. Le risposte più lente presentano un'ampiezza di 200-250 μV , s'iniziano e giungono al picco in modo relativamente brusco, ma presentano un caratteristico decremento graduale e prolungato; in quelle rapide, che possono anche superare i 500 μV , le fasi ascendente e discendente sono al contrario di durata circa uguale. Le oscillazioni in esame sono talora seguite da una lenta onda di positività [cfr. Fadiga, Pupilli e von Berger ⁽⁴⁾], che ha le caratteristiche formali dei potenziali postumi e la cui comparsa è tanto più frequente quanto più rapida è la risposta; una rapidissima variazione di potenziale bifasica, con inizio positivo e della durata di 2-3 msec, a volte precede le oscillazioni stesse (fig. 1 C).

Esempi di reazioni bifasiche sono riprodotti nella fig. 1, D-F. La loro soglia corrisponde a circa il doppio di quella delle reazioni negative; come nel caso delle risposte monofasiche, la notevole ampiezza e durata dell'artefatto provocato dallo stimolo impedisce di rilevare la durata esatta della latenza. La prima fase è sempre positiva e si protrae per 5-10 msec, mentre la successiva, di segno opposto, spesso supera i 10 msec; per stimoli massimali, l'ampiezza della risposta (calcolata *peak-to-peak*) è in genere di 400-500 μV e talora anche maggiore. Naturalmente si notano estese variazioni individuali: assai spesso la componente negativa è seguita da un'onda positiva lenta, analoga a quella che talora fa séguito alla risposta negativa monofasica; altre volte il contorno della medesima componente è complicato da onde secondarie (fig. 1, D e E). Di vari altri aspetti particolari, che per altro non mascherano il fondamentale andamento bifasico della risposta, verrà detto nel lavoro *in extenso*.

Come si è fatto rilevare, i dati ora riferiti risultano da derivazioni eseguite alla distanza di 1-2 mm dalla sede di applicazione dello stimolo. Essi sono stati raccolti per accertare i caratteri morfologici generali delle risposte; con altri esperimenti abbiamo voluto indagare come nel lembo cerebellare isolato si propaghi l'eccitamento, di cui le risposte stesse sono espressione.

Per quanto concerne l'estensione della superficie corticale attivata, spostando convenientemente l'elettrodo di derivazione rispetto a quelli di stimolazione si è visto che impulsi anche massimali non alterano l'attività elettrica spontanea delle lamelle adiacenti a quella direttamente stimolata, l'eccitamento propagandosi solo nell'ambito di quest'ultima. Quando si allontanano tra loro gli elettrodi con lo spostare quello di derivazione lungo l'asse maggiore della lamella stessa (fig. 2), si osserva come tale propagazione si effettui per distanze piuttosto piccole: anche usando stimoli massimali, la risposta bifa-

sica scompare nelle derivazioni eseguite a più di 5 mm dalla sede di applicazione dello stimolo (fig. 2 A), e quella monofasica manca completamente a 3-4 mm (fig. 2 B). La differenza riscontrata tra le massime distanze di propagazione intracorticale dei due tipi di risposta è esigua, ma si rileva con grande costanza.

Che i due tipi di risposte derivate dal lembo isolato corticocerebellare sottendono due diversi modi di attivazione dei circuiti corticali, è ovvio. Mediante esperimenti di derivazione profonda (fig. 3) abbiamo voluto definire più specificamente in che consista tale differenza, e quale sia l'evoluzione tem-



Fig. 2. - Estensione dell'attivazione rilevabile alla superficie di una lamella direttamente stimolata, nel lembo corticocerebellare isolato di Gatto.

In A e in B sono riprodotte due serie di risposte, rispettivamente bifasiche e monofasiche, provocate da stimoli massimali e derivate lungo l'asse maggiore della lamella da punti situati a mm 1, 2, 3 e 4 dalla sede di stimolazione (da sinistra a destra della figura): si noti la minore distanza alla quale si propaga l'eccitamento corrispondente alla risposta monofasica. L'amplificazione è la medesima in tutti i tracciati.

porale dell'eccitamento in atto nei due casi. Se si approfonda l'elettrodo nello spessore della lamella stimolata, in modo da derivare da punti situati sulla normale alla superficie, le risposte registrate mutano progressivamente i loro caratteri a mano a mano che l'elettrodo si allontana dalla superficie stessa. Dall'esame dei grafici ottenuti e dai controlli istologici eseguiti sui pezzi anatomici fissati al termine di ciascun esperimento risulta quanto segue.

La risposta bifasica (fig. 3 A) rimane presso che immutata rispetto a quella di superficie finché l'elettrodo si trova a profondità minori di 300 μ circa, corrispondenti allo spessore osservato per lo strato molecolare. Approfondando ulteriormente l'elettrodo, prima dell'onda positiva si manifesta una punta negativa, che aumenta in modo graduale di ampiezza e di durata: nello strato granuloso questo accidente è più ampio della componente superficie-positiva e si protrae per gran parte del tempo che nei tracciati superficiali corrisponde alla componente stessa; esso è seguito da una positività, che è massima quando si manifesta la componente negativa della risposta superficiale. La reazione derivata dallo strato granuloso (fig. 3 A, — 400 μ)

si conclude con un'onda negativa più lenta delle altre componenti; tale onda ha la massima ampiezza, quando la componente negativa superficiale va declinando, ed imprime alla risposta profonda un andamento chiaramente trifasico.

Quanto alla risposta monofasica negativa, in profondità si sono osservate modificazioni il cui andamento dipende dal voltaggio e dalla durata delle oscillazioni di superficie. Schematicamente, possono distinguersi due tipi di evo-

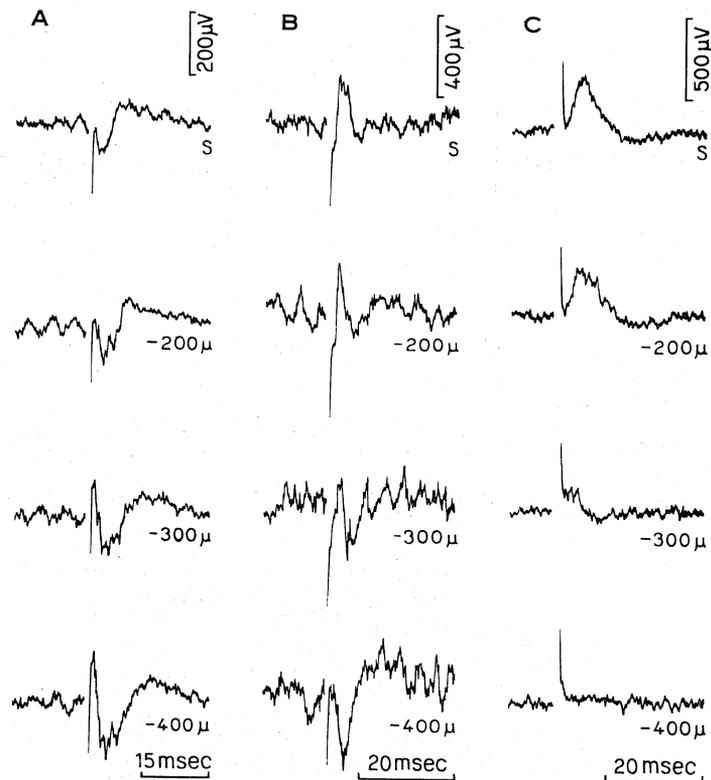


Fig. 3. - Risposte alla stimolazione elettrica registrate dal lembo corticocerebellare isolato di Gatto, prima e durante la penetrazione in profondità dell'elettrodo di derivazione.

In A si osserva l'evoluzione della risposta bifasica, dalla superficie (S) alla profondità di 400 μ ; in B e C sono riprodotte serie analoghe, rispettivamente per la risposta monofasica rapida e per quella lenta. Si rilevano le modificazioni di ampiezza, forma e segno, alle quali vanno incontro le tre risposte durante la penetrazione dell'elettrodo. La calibrazione dei tempi e dei voltaggi è la medesima per tutte le risposte di una serie.

luzione: quello delle reazioni di più breve durata e di maggiore voltaggio e quello proprio delle risposte più lente e meno ampie. Nel primo caso (fig. 3 B) via via che l'elettrodo si approfonda, la risposta va incontro ad un progressivo aumento di ampiezza e s'inverte bruscamente di polarità non appena la punta esplorante è penetrata nello strato dei granuli; a questo livello (fig. 3 B,

— 400 μ) si osserva spesso un andamento bifasico in quanto che l'onda positiva, conseguenza dell'inversione, può essere seguita da un'oscillazione negativa più lenta e meno ampia. Nel secondo caso (fig. 3 C), la risposta diminuisce di ampiezza con l'approfondare l'elettrodo e in genere scompare quando l'elettrodo medesimo penetra nello strato granuloso (fig. 3 C, —400 μ); nelle porzioni più profonde di detto strato la risposta talora compare di nuovo, sotto forma di una oscillazione di andamento analogo a quello della reazione superficiale, ma di ampiezza assai minore e di polarità opposta.

Le sole caratteristiche morfologiche dei potenziali di superficie consentono agevolmente di riferire le oscillazioni monofasiche negative all'attivazione degli strati del lembo più prossimi all'elettrodo derivante, a differenza delle risposte bifasiche, in cui la presenza di un'oscillazione positiva postula anche l'attivazione di neuroni appartenenti a strati più lontani dall'elettrodo stesso ⁽⁵⁾. I dati della esplorazione profonda convalidano questa interpretazione generica, e consentono di localizzare nello strato dei granuli il *sink* di corrente che corrisponde alla fase positiva della risposta bifasica di superficie. Essi chiariscono inoltre vari altri aspetti che necessariamente sfuggono alla semplice analisi formale: riservandoci di svolgere compiutamente la discussione nel lavoro *in extenso*, facciamo notare come i risultati ottenuti attestino che esiste una grande differenza tra il significato delle risposte monofasiche rapide e quello delle più lente. Per le prime, il cospicuo *source* granulare e la negatività che spesso gli fa séguito suggeriscono infatti l'attivazione del soma e degli assoni stessi degli elementi purkinjani con scariche « tutto o nulla », in modo non dissimile da quello documentato da Dow ⁽⁶⁾ per la corteccia cerebellare integra. Nel caso delle seconde, il rapido decremento di ampiezza rilevabile non appena l'elettrodo è stato sospinto sotto la superficie e la mancanza di un chiaro e costante *source* profondo fanno piuttosto pensare all'attivazione locale di elementi dello strato molecolare (espansioni dendritiche delle cellule di Purkinje ?), senza che intervengano i meccanismi della conduzione nervea autorigenativa. È singolare il fatto che queste ultime risposte non siano state osservate nella corteccia dell'organo integro [cfr. Dow ⁽⁶⁾], dove secondo Purpura e Grundfest ⁽²⁾ sarebbe in atto, per il blocco di molte sinapsi inibitorie, una condizione più favorevole alla invasione dei corpi cellulari.

(5) Si ricordi a questo proposito che in genere le risposte bifasiche si ottengono stimolando il preparato con elettrodi di bassa resistenza e di grande distanza interpolare: si tratta, evidentemente, di una condizione che favorisce l'eccitamento diretto di un volume di tessuto maggiore di quello attivabile coi sottili elettrodi impiegati per provocare le risposte monofasiche.

(6) R. S. DOW, « J. Neurophysiol. », XII, 245 (1949).