
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

RUGGERO CORAZZA, ETTORE FADIGA, PIER LUIGI
PARMEGGIANI

**Analisi comparativa delle risposte postsinaptiche
provocate dalla stimolazione iterativa della
piramide in motoneuroni appartenenti a vari gruppi
funzionali, nel Gatto**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 34 (1963), n.1, p. 68-74.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_34_1_68_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. — *Analisi comparativa delle risposte postsinaptiche provocate dalla stimolazione iterativa della piramide in motoneuroni appartenenti a vari gruppi funzionali, nel Gatto* ^(*). Nota di RUGGERO CORAZZA ^(**), ETTORE FADIGA e PIER LUIGI PARMEGGIANI, presentata ^(***) dal Socio G. C. PUPILLI.

Differenze nella soglia degli effetti motori ottenibili mediante la tetanizzazione del fascio piramidale in muscoli di significato funzionale diverso, così come prevalenze regionali nel *deficit* motorio che fa séguito alla sezione isolata del fascio stesso, sono state accertate da tempo nel Gatto e nella Scimmia [Brookhart ⁽¹⁾, Tower ⁽²⁾]. Nel proseguire una serie di ricerche eseguite con tecnica intracellulare a fine di studiare le risposte di singoli motoneuroni del midollo cervicale di Gatto alla stimolazione iterativa della piramide bulbare [cfr. Corazza, Fadiga e Parmeggiani ⁽³⁾], abbiamo potuto raccogliere dati che tra l'altro riguardano unità di diverso significato funzionale, e che ci sembra opportuno riferire.

Le osservazioni sono state effettuate su animali in narcosi barbiturica; l'intervento preparatorio (pentobarbital, 25 mg/kg i. p.) e le condizioni tecniche possono riassumersi come segue. Incannulata la trachea e una V. femorale, si applicavano eccitatori bipolari a permanenza al capo centrale dei NN. ulnare e mediano, che venivano isolati e recisi a livello del cavo ascellare, un poco a valle della loro emergenza dal plesso. Allo stesso livello si isolava il N. radiale, procedendo in modo da separare i fascicoli preposti alla innervazione dei MM. tricipite ed anconeo da quelli diretti ai muscoli estensori distali e al M. supinatore: i monconi centrali che risultavano dalla recisione dei suddetti fascicoli erano montati su due distinti eccitatori, il che rendeva possibile la stimolazione separata delle fibre radiali prossimali e di quelle distali. La preparazione proseguiva con la craniotomia sopravvermiana e con la messa allo scoperto del midollo spinale, che si effettuava mediante laminectomia bilaterale per il tratto compreso fra C₃ e T₂: aperto il sacco durale, veniva allestito un "pozzetto" sollevando i lembi della ferita cutanea; tale pozzetto era riempito con olio di vaselina, che si manteneva alla temperatura di 37°-38° C per tutta la durata dell'esperimento. Al ter-

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

(**) Ricercatore proveniente dall'Istituto di Fisiologia umana dell'Università di Parma.

(***) Nella seduta dell'11 gennaio 1963.

(1) J. M. BROOKHART, « Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis. », XXX, 157 (1952).

(2) S. S. TOWER, « Brain », LXIII, 36 (1940).

(3) R. CORAZZA, E. FADIGA e P. L. PARMEGGIANI, « Boll. Soc. it. Biol. sper. », XXXVII,

mine dell'intervento si montava l'animale nell'apparecchio stereotassico, curando particolarmente la rigida fissazione della colonna, si somministrava ancora pentobarbital in dose di mantenimento (10 mg/kg i. v.) e si procedeva alla curarizzazione dell'animale con Flaxedil (5 mg/kg i. v.). Subito dopo s'iniziava la respirazione artificiale.

La stimolazione del fascio piramidale era eseguita con tecnica bipolare mediante impulsi rettangolari (0,1-1 msec; 1-15 V) isolati o raggruppati in treni (500 Hz) di durata crescente. Gli elettrodi di stimolazione, costituiti da sottili aghi di acciaio isolati fuorché in punta e separati tra loro da una distanza di 0,7 mm, erano posti *in situ* infiggendoli attraverso il verme cerebellare in modo che le loro punte penetrassero nel fascio piramidale cranialmente alla decussazione. Si riteneva buona la localizzazione degli elettrodi quando dal *dorsum* del midollo (primi segmenti cervicali) poteva registrarsi con macroelettrodi di Ag-AgCl la tipica risposta specificamente attribuita da Lance (4) all'attivazione del fascio piramidale; inoltre, quando tale risposta scompariva o si attenuava fortemente per minimi spostamenti in direzione dorsale degli elettrodi stimolanti ovvero per l'inversione del senso della corrente eccitatrice; un controllo definitivo era effettuato alla fine degli esperimenti, mediante l'osservazione microscopica di sezioni seriate del bulbo, colorate coi metodi di Nissl e di Weil. Dopo avere accertato, mediante altre registrazioni macroelettrodiche eseguite dal *dorsum* ai livelli opportuni, che la stimolazione dei nervi isolati a livello del cavo ascellare era efficace, si poneva termine alla fase preparatoria sezionando le radici dorsali a livello del segmento scelto per la esplorazione intramidollare e dei due segmenti ad esso adiacenti; in alcuni casi venivano anche infissi nella teca cranica elettrodi a vite, a fine di poter registrare l'elettroencefalogramma durante il corso delle prove e disporre così di elementi di valutazione circa a profondità della narcosi e in genere lo stato funzionale dei centri encefalici (5).

Per le derivazioni intracellulari abbiamo usato micropipette (diametro della punta < 1 μ ; resistenza 15-30 M Ω) riempite di soluzione 2 M di citrato potassico, adottando essenzialmente la tecnica proposta da Brock, Coombs e Eccles (6) e riassunta in lavori precedenti [Machne, Fadiga e Brookhart (7), Fadiga e Brookhart (8)], ai quali rinviamo anche per la descrizione dei circuiti di amplificazione e rivelazione. Il microelettrodo veniva sospinto nel corno anteriore del midollo per mezzo di un micromanipolatore idraulico (spostamento minimo misurabile: 1 μ), penetrando attraverso soluzioni di continuità effettuate nella pia madre del *dorsum* o della faccia laterale; gli

(4) J. W. LANCE, « J. Neurophysiol. », XVII, 252 (1954).

(5) I tracciati encefalografici registrati durante le osservazioni microelettrodiche mostrano una sincronizzazione diffusa dei ritmi corticali, con lieve tendenza allo *spindling*.

(6) L. G. BROCK, J. S. COOMBS a. J. C. ECCLES, « J. Physiol. », CXVII, 431 (1952).

(7) X. MACHNE, E. FADIGA a. J. M. BROOKHART, « J. Neurophysiol. », XXII, 483 (1959).

(8) E. FADIGA a. J. M. BROOKHART, « Amer. J. Physiol. », CXCVIII, 633 (1960).

elementi impalati erano riconosciuti come motoneuroni per la loro capacità di reagire all'eccitamento antidromico ⁽⁹⁾, provocato mediante stimoli che con la frequenza di 1/sec venivano applicati per tutta la durata delle esplorazioni al capo centrale del nervo corrispondente al *pool* preso in esame. Esaurito lo studio di ogni motoneurone, a fine di controllare il livello funzionale del preparato si registrava sempre la risposta macrolettrodica derivata dal *dorsum* per stimolazione piramidale.

Modificazioni del potenziale di riposo per effetto degli impulsi di origine piramidale ⁽¹⁰⁾ sono state notate in 90 dei 125 elementi identificati come motoneuroni e sopravvissuti al trauma prodotto dalla penetrazione dell'elettrodo: si tratta di elementi in grandissima maggioranza appartenenti al tipo α -fasico ⁽¹¹⁾, salvo i casi che verranno specificati tra breve. Per quanto riguarda le caratteristiche generali degli effetti da noi studiati, rimandiamo alla Nota citata all'inizio dell'esposizione ⁽⁹⁾, giacché il proseguimento dell'indagine ha permesso di riconoscere le stesse caratteristiche anche nel più vasto complesso di unità successivamente analizzato. Qui ricordiamo soltanto che: (a) si tratta di reazioni postsinaptiche complesse di tipo eccitatorio (69 unità: fig. 1 A), misto (16 unità: fig. 1 B) o inibitorio (5 unità: fig. 1 C); (b) tali reazioni si ottengono solo ricorrendo alla stimolazione iterativa; (c) esse sono registrabili indifferentemente da unità flessorie od estensorie. Esponiamo invece partitamente i risultati dell'analisi comparativa delle risposte ottenute da motoneuroni α -fasici appartenenti a *pools* di diverso significato funzionale ed inoltre i dati desunti dallo studio di alcune unità del tipo α -tonico ⁽¹¹⁾ e del tipo γ [Eccles, Eccles, Iggo e Lundberg ⁽¹²⁾].

Quanto al primo punto, si tratta di un'indagine compiuta su una popolazione di 53 motoneuroni, di cui 46 (e cioè l'86%) reagivano alla salva piramidale con potenziali postsinaptici eccitatori: per stimoli massimali, la depolarizzazione così provocata ha raggiunto la soglia di scarica in 26 unità,

(9) J. C. ECCLES, R. M. ECCLES a. A. LUNDBERG, « J. Physiol. », CXXXVII, 22 (1957).

(10) Sono stati effettuati esperimenti di controllo per accertare se l'attivazione dei circuiti corticali, provocata in via antidromica [od eventualmente anche ortodromica: cfr. BRODAL e WALBERG, « Arch. Neurol. Psychiat. », LXVIII, 755 (1952); BRODAL e KAADA, « J. Neurophysiol. », XVI, 567 (1953); cfr. per altro PATTON e AMASSIAN, « Amer. J. Physiol. », CLXXXIII, 650 (1955) e anche BUSER e ASCHER, « Arch. ital. Biol. », XCVIII, 123 (1960)] dalla stimolazione della piramide bulbare nel preparato con nevrasse integro, possa costituire un fattore rilevante nel determinare le caratteristiche delle risposte da noi studiate: a tal fine, dopo aver registrato le risposte di alcune unità, è stata eseguita la transcisione del nevrasse a livello intercollicolare, continuando poi le osservazioni sul preparato decerebrato. Prescindendo da lievi differenze di dettaglio che verranno illustrate nel lavoro *in extenso*, si può dire che le risposte ottenute da unità di animali decerebrati sono state essenzialmente identiche a quelle raccolte dalle unità dei preparati col nevrasse integro.

(11) L'attribuzione è avvenuta secondo i criteri indicati da ECCLES, ECCLES e LUNDBERG [« J. Physiol. », CXLII, 275 (1958)] e fondati sulla durata della iperpolarizzazione postuma.

(12) J. C. ECCLES, R. M. ECCLES, A. IGGO a. A. LUNDBERG, « Acta physiol. scand. », L, 32 (1960).

vale a dire nel 55% della popolazione attivata. Tale percentuale si fa sensibilmente diversa se è calcolata separatamente per i motoneuroni estensori e per quelli flessori: nel primo caso essa scende al 46%, mentre nel secondo

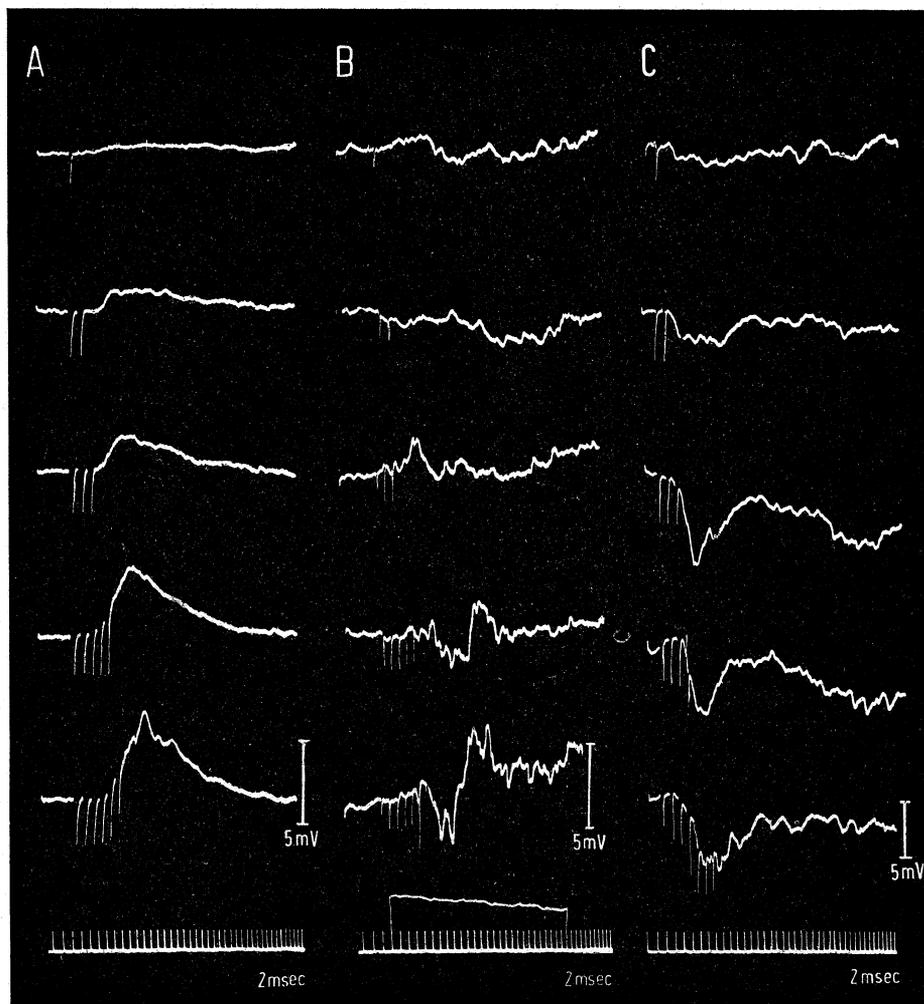


Fig. 1. - Risposte intracellulari ottenute, nel midollo cervicale di Gatto, da tre motoneuroni α -fasici per effetto della stimolazione iterativa (500 Hz) della piramide bulbare, stimolazione eseguita con scariche di durata crescente.

A (motoneurone radiale), risposte eccitatorie; B (motoneurone ulnare), risposte miste; C (motoneurone radiale), risposte inibitorie. Gli impulsi che costituiscono i treni hanno intensità massimale e durata pari a 0,5 msec. Si noti che la risposta motoneuronica compare solo per treni di una certa lunghezza e si osservi l'andamento complesso del potenziale postsinaptico da essi provocato. In questa figura e in quella successiva, le calibrazioni indicate in corrispondenza dell'ultimo elettrogramma di ciascuna colonna valgono per tutti i tracciati della stessa colonna; la deflessione del tracciato verso l'alto indica diminuzione del livello di polarizzazione della membrana. Il decremento dell'onda sovrapposta alla calibratura dei tempi della colonna B dà la misura della distorsione prodotta dal circuito di amplificazione (collegamento R-C) su un'onda rettangolare di uguale durata.

raggiunge quasi il 70%. Inoltre, la durata liminale media dei treni d'impulsi massimali che provocano risposte a punta, è di 13,2 msec (7-8 shocks a 500 Hz) per i motoneuroni estensori, mentre per le unità flessorie lo stesso pa-

rametro corrisponde a 8 msec (5 *shocks* a 500 Hz). Giacché i valori medi ⁽¹³⁾ del potenziale di membrana a riposo non differiscono in modo significativo nei due gruppi (mV $63,8 \pm 2,5$ per i flessori; mV $62,4 \pm 1,2$ per gli estensori), l'asimmetria da noi osservata potrebbe essere attribuita a una diversa « potenza » dell'influsso esercitato dalla via piramidale sui motoneuroni che svolgono l'una ovvero l'altra funzione, secondo una ipotesi che dai lavori citati all'inizio ^(1,2) risulta essere, nell'aspetto generale, del tutto accettabile. Per quel che concerne gli specifici gruppi motoneuronici considerati, tra i risultati degli stessi lavori e il tipo di asimmetria rilevabile nella nostra popolazione manca tuttavia l'accordo, giacché tanto secondo le ricerche di Brookhart ⁽¹⁾ quanto secondo quelle di Tower ⁽²⁾ il *drive* piramidale palesa una prevalenza distale, mentre conforme alla nostra analisi la prevalenza sarebbe flessoria. Lo studio dei potenziali postsinaptici eccitatori provocati nel campione in esame dalla stimolazione iterativa della piramide fornisce qualche elemento riguardo al meccanismo mediante il quale l'asimmetria si manifesta e, come vedremo, consente di accertare i possibili motivi della discordanza testé rilevata.

Innanzitutto facciamo presente che la maggiore facilità della scarica flessoria del nostro campione non si può spiegare ammettendo che l'ampiezza della depolarizzazione indotta da treni piramidali di valore soglia sia negli elementi flessori maggiore che negli estensori. La « azione sinaptica minima » [cfr. Landgren, Phillips e Porter ⁽¹⁴⁾] rilevabile nella popolazione da noi analizzata è infatti espressa da valori medi di ampiezza che sono per i due gruppi di motoneuroni praticamente uguali tra loro (rispettivamente mV $1,13 \pm 0,12$ e mV $1,21 \pm 0,09$ per gli estensori e i flessori).

Il calcolo della pendenza media del fronte di depolarizzazione massimale provocata dai treni piramidali negli elementi dei due gruppi dà invece evidenza ad alcune peculiarità che meritano di essere considerate. Espresso in V/sec, per tutti i motoneuroni attivati il valore di detta pendenza corrisponde a $0,199 \pm 0,016$. Esso è pari a $0,180 \pm 0,027$ per i soli motoneuroni estensori, ed equivale a $0,210 \pm 0,024$ se lo si riferisce solo a quelli flessori: com'è anche desumibile dalla larga sovrapposizione delle aree dei due errori *standard*, la significatività di questa differenza non è tuttavia convalidata dalla elaborazione statistica. Avendo presente che i motoneuroni flessori da noi esaminati hanno tutti una distribuzione distale, giacché i loro assoni entrano nei NN. ulnare e mediano, abbiamo paragonato la pendenza media dei loro fronti di depolarizzazione massimale con quella desunta non da tutti i motoneuroni estensori ma solo dagli estensori distali. Quest'ultimo valore è pari a $0,192 \pm 0,043$ V/sec: la differenza è ancora minore della precedente e in modo analogo non è statisticamente significativa. Una differenza assai più netta si ottiene invece ponendo a raffronto la media calcolata per gli estensori distali con quella che si riferisce agli estensori prossimali e che cor-

(13) Tutte le medie verranno riportate indicando il rispettivo errore *standard*.

(14) S. LANDGREN, G. C. PHILLIPS e R. PORTER, « J. Physiol. », CLXI, 91 (1962).

risponde a $0,150 \pm 0,026$ V/sec: la prevalenza distale che per il *drive* piramidale può arguirsi da questo confronto è conforme ai risultati delle osservazioni eseguite dagli AA. citati più sopra^(1,2). Sul fondamento dell'analisi intracellulare essa può dunque ritenersi la conseguenza di una più scarsa capacità di sommazione temporale a livello dei *relais* interneuronici che sono

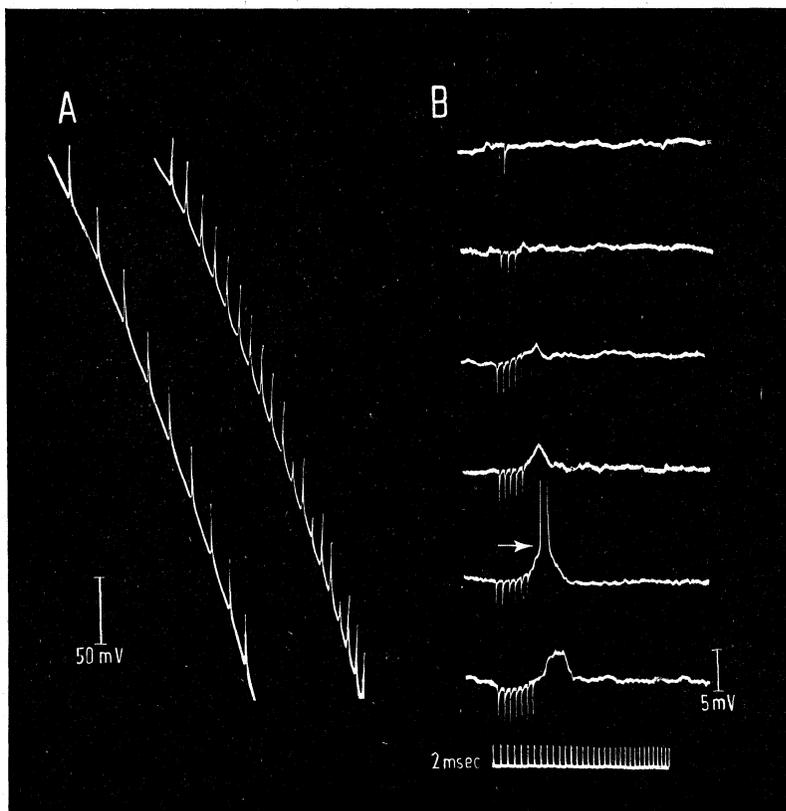


Fig. 2. — Risposte intracellulari ottenute nel midollo cervicale di Gatto, da un elemento identificabile come γ -motoneurone del *pool* radiale prossimale.

A, effetti della stimolazione antidromica iterativa, eseguita rispettivamente a 50 e 100 Hz; B, risposte alla stimolazione iterativa (500 Hz) della piramide bulbare, eseguita con scariche di lunghezza crescente e costituite da impulsi massimali (durata: 0,5 msec). Si osservi: a) la scarsa ampiezza degli *spikes* e la quasi totale mancanza degli effetti della inibizione ricorrente in A; b) la latenza relativamente breve dei potenziali postsinaptici di origine piramidale in B, potenziali che nel penultimo tracciato della serie superano la soglia di scarica. Si noti che per gli elettrogrammi riprodotti in B è stata usata un'amplificazione maggiore di quella usata per A. La calibrazione dei tempi per i grafici in A, ripresi su pellicola in movimento, può desumersi dagli'intervalli tra uno *spike* e il successivo. A, registrazioni ad accoppiamento diretto; B, registrazioni ad accoppiamento a resistenza-capacità (costante di tempo uguale a quella della figura precedente).

connessi coi motoneuroni estensori prossimali e sono eccitabili per attivazione della piramide. Sarebbe infatti arbitrario, rispetto alle nozioni finora acquisite, prospettare l'ipotesi che la peculiare lentezza con cui detta attivazione depolarizza elementi α -fasici di *pools* connessi con muscoli a funzione eminentemente posturale (come gli estensori prossimali) possa dipendere da specifiche caratteristiche della membrana degli elementi stessi⁽¹⁵⁾.

(15) J. C. ECCLES, R. M. ECCLES a. A. LUNDBERG, « J. Physiol. », CXXXVII, 22 (1957).

Il fattore ora considerato potrebbe essere la sola causa della distribuzione asimmetrica delle risposte a punta nei nostri campioni estensorio (unità prossimali e distali) e flessorio (unità distali); ma un altro confronto che si può eseguire utilizzando i dati esposti, suggerisce come l'asimmetria da noi rilevata sia da riferirsi anche a una generica prevalenza flessoria del controllo piramidale. Raffrontando tra loro le varie pendenze dei fronti di depolarizzazione, la differenza che si osserva tra il valore calcolato per i motoneuroni flessori distali e quello ottenuto per gli estensori prossimali (rispettivamente $0,210 \pm 0,024$ e $0,150 \pm 0,026$) è di $0,60V/sec$: essa è più grande di quella rilevata tra le due suddivisioni del gruppo estensorio ed è significativa con la probabilità del 90%. Si può pensare che non si tratti di un caso, giacché anche da osservazioni eseguite con altro indirizzo da Granit, Pompeiano e Waltman ⁽¹⁶⁾ risulta che la stimolazione piramidale provoca risposte nei muscoli flessori assai più facilmente che negli estensori. E del resto Lundberg e Vorhoeve ⁽¹⁷⁾ hanno dimostrato come i riflessi spinali flessori siano suscettibili di facilitazione piramidale assai più di quelli estensori.

I risultati che abbiamo riferiti concernono, come si è detto, osservazioni raccolte dallo studio di unità che secondo i criteri di Eccles, Eccles e Lundberg ⁽¹¹⁾ possono identificarsi come motoneuroni del tipo α -fasico. Durante i nostri esperimenti, tuttavia, abbiamo potuto registrare anche l'attività di motoneuroni il cui *spike* era seguito da una fase di iperpolarizzazione assai prolungata, e che sul fondamento degli stessi criteri ⁽¹¹⁾ sono quindi riferibili al gruppo α -tonico. Quantunque il loro numero sia troppo esiguo per consentire un'analisi del tipo di quella ora riportata, nell'aspetto generale si può dire che anche questi elementi sono guidati dagli impulsi piramidali, i quali vi provocano risposte qualitativamente non dissimili da quelle descritte per i motoneuroni α -fasici. Più raramente, abbiamo anche derivato da unità attivabili dalla via piramidale, le quali seguivano con facilità il ritmo di scarica loro imposto dalla stimolazione antidromica iterativa ad alta frequenza, presentavano un potenziale di riposo piuttosto basso e sopravvivevano alla penetrazione dell'elettrodo per un tempo assai breve: secondo Eccles *et alii* ⁽¹²⁾ verosimilmente esse sono dunque da ascrivere al gruppo dei motoneuroni γ . Alcuni esempi di risposte ottenute da una di queste unità per effetto dell'attivazione piramidale provocata con salve di lunghezza crescente sono riportati nella fig. 2: si noti che la latenza di dette reazioni è paragonabile a quella delle più precoci risposte ottenute stimolando in modo corrispondente gli elementi α . Il che è in accordo con quanto al presente si ammette intorno alla possibilità di un'attivazione rapida del sistema γ per parte del tratto cortico-spinale [Granit e Kaada ⁽¹⁸⁾, Granit *et alii* ⁽¹⁶⁾, cfr. anche Granit ⁽¹⁹⁾] e di tale possibilità fornisce la documentazione diretta a livello del soma cellulare.

(16) R. GRANIT, O. POMPEIANO a. B. WALTMAN, « J. Physiol. », CXLVII, 385 (1959).

(17) A. LUNDBERG a. P. E. VORHOEVE, « Experientia », XVII, 46 (1961).

(18) R. GRANIT a. B. KAADAA, « Acta physiol. scand. », XXVII, 130 (1952).

(19) R. GRANIT, *Receptors and sensory perception*. New Haven, Yale University Press, 1955, p. 257.