
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALBERTO STEFANELLI

**Il significato morfologico delle sinapsi
interneuroniche desunto da ricerche di microscopia
elettronica sui neuroni di Mauthner dei Pesci**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.1, p. 31–36.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_1_31_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/>

Biologia. — *Il significato morfologico delle sinapsi interneuroniche desunto da ricerche di microscopia elettronica sui neuroni di Mauthner dei Pesci* (*). Nota (**) del Corrisp. ALBERTO STEFANELLI.

Nel corso di ricerche sul differenziamento dei neuroni di Mauthner di un Teleosteo (*Brachydanio rerio*), con la collaborazione della dott. S. Caravita, di cui un primo contributo è in corso di stampa [1], ho potuto osservare delle peculiarità di struttura delle sinapsi in evoluzione, con l'ausilio della microscopia elettronica, che ritengo valide per una messa a punto sul significato morfologico delle sinapsi interneuroniche in generale.

Le mie conclusioni che qui sinteticamente espongo sono anche il risultato di considerazioni sulla struttura dei desmosomi e delle sinapsi quali sono desumibili dalla ampia letteratura e dalle osservazioni dirette fatte nel nostro laboratorio da Bertolini [2] sui desmosomi gliali del midollo spinale di Rana, da Srebro [3] sul midollo rigenerato di Tritone e da Caravita e Gibertini sui desmosomi cardiaci di Pollo (in corso di stesura).

Durante la correzione delle bozze del lavoro citato [1] sono apparsi nel fascicolo di ottobre 1963 della rivista « Cell Biology » due lavori di Robertson e coll. [4] e Robertson [5] sulla ultrastruttura delle sinapsi mauthneriane di *Carassius auratus* adulto. Mentre noi abbiamo posta la nostra attenzione soprattutto sulla massa sinaptica periassonica (*axon cap*) mettendo in luce chiarissimi meccanismi sinaptici con funzione inibitoria (in accordo con i recenti dati fisiologici di Furakawa e Furshpan [6, 7]), Robertson e coll. si sono occupati maggiormente delle grandi sinapsi a clava (*ending clubs*) formate dalle fibre dell'ottavo paio sul dendrite mauthneriano laterale. Le strutture illustrate da questi Autori per le clave corrispondono ad immagini da noi ottenute ma non ancora pubblicate; ma, come vedremo, la interpretazione fatta da Robertson [5] ci sembra accettabile solo in parte.

Il significato morfologico della sinapsi interneuronica, quale appare strutturalmente al microscopio elettronico, risulta chiarito se si riconosce ai desmosomi, o *nodi di Bizzozzero*, non solo la funzione meccanica di punti di saldatura tra le cellule e di attacco di strutture citoplasmatiche fibrillari, ma soprattutto la funzione di *punti attivi* di contatto e di interazione e mediazione biochimica tra le cellule associate. Sono molti gli argomenti in favore di questo concetto (che è una estensione ai desmosomi di quello espresso da P. Weiss [8] a proposito dei *bobbins* o rocchetti che si osservano tra le cellule epidermiche e la membrana basale), ma la stessa struttura

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata « Battista Grassi » della Università di Roma e nel Centro di Neuroembriologia del C.N.R., con i sussidi assegnati dal C.N.R. al Gruppo di Embriologia.

(**) Presentata nella seduta dell'11 gennaio 1964.

rispecchia questo significato funzionale; la distanza delle membrane desmosomiali che è maggiore della distanza delle membrane delle cellule contigue in altri punti (di circa 200-250 Å contro 60-100 Å), la peculiare organizzazione della sostanza extracellulare interlemmale in lamelle parallele alle superfici cellulari e in bastoncelli disposti trasversalmente come una sottile striatura; e in fine l'accumulo di materiale denso nel citoplasma delle cellule contigue ai lati delle membrane desmosomiche anche nei casi in cui non vi siano peculiari convergenze fibrillari.

Studiando la evoluzione, nel differenziamento, delle sinapsi del neurone di Mauthner si può constatare come esse inizino con una struttura simmetrica simile a quella dei desmosomi. La fig. A della Tav. I mostra tipici desmosomi tra le cellule gliali della regione bulbare di *Brachydanio* di 5 giorni dallo sgusciamiento per un confronto con le sinapsi «desmosomoidi» delle figure B, C e D, G, I della Tav. II. Sono in effetti strutture in tutto simili ai desmosomi embrionali, simmetriche, con forte opacità delle membrane affacciate, con spazio interlemmale (*cleft*) più largo (≈ 250 Å) del normale spazio tra le cellule (≈ 100 Å), con sostanza opaca finemente fibrosa sia nel citoplasma del lato afferente (bottone o clava) sia di quello efferente (cellula o dendrite). Nello spazio interlemmale si osserva spesso una struttura striata trasversale, come in molti desmosomi, che rappresenta un preludio degli elementi interlemmali descritti nelle sinapsi (van der Loos [9]), come si può osservare nella fig. D, E, I.

Le prime vescicole presinaptiche appaiono rade e disseminate; poi si vanno concentrando contro la membrana presinaptica. La sostanza opaca presinaptica diminuisce, in parte mascherata dalle vescicole, mentre aumenta la sostanza opaca postsinaptica che assume il valore di *organello sinaptico* (Tav. I: B, C, D, E, s).

Così il desmosoma primitivo (o struttura «desmosomoide»), con l'accentuarsi delle sue proprietà di mediazione chimica, assume la organizzazione di sinapsi con la tipica configurazione asimmetrica rispetto al piano di contatto (De Robertis e Bennet 1954, Palay 1956, 1958, ecc.). Queste trasformazioni si osservano non solo nei primissimi stadi di sviluppo larvale studiati (5 giorni dallo sgusciamiento) ma anche in avannotti di 50 giorni in relazione col procedere del differenziamento nervoso. La prevalenza di strutture desmosomoidi negli stadi più giovani è un'altra prova in appoggio a questa concezione.

Nei bottoni terminali (*ending feet* o *boutons terminaux*), sia grandi, in rapporto con il corpo cellulare e i dendriti, sia piccoli dell'*axon cap*, in rapporto con la regione di emergenza del neurite, si hanno spesso brevi digitazioni dilatate prodotte dalla parte postsinaptica così che sulla superficie del bottone si formano delle vere «abbottonature» (tipo bottone automatico) come è ben visibile nelle fig. F, G della Tav. II (sb); le vescicole presinaptiche allora si affollano attorno a queste digitazioni. In molti casi contro la membrana postsinaptica si accostano cisterne appiattite del reticolo endoplasmico (Tav. II, E, re, H). Il *cleft* sinaptico appare più ampio nelle sinapsi

più ricche di vescicole; la sostanza opaca presinaptica è invece più evidente nelle sinapsi povere di vescicole.

È stato descritto in molti casi sui bordi del « disco sinaptico » un « restringimento » del *cleft* che dai 200 Å di media può ridursi a 40 Å, creando uno spazio che è circa la metà del normale spazio tra le cellule adiacenti.

Sono state descritte anche sinapsi doppie, separate da uno spazio con *cleft* ristretto, definite da van der Loos (1963) [9] *sinapsi bigemine*. Dagli esempi che si possono ritrovare anche tra i bottoni sinaptici mauthneriani (Tav. II, fig. H) si tratta in effetti di un sol disco sinaptico nel cui centro si è formata un'area più o meno circolare di restringimento del *cleft* e che in sezione appare appunto come una sinapsi doppia (fig. 1).

Nelle grandi sinapsi rappresentate dalle clava (*ending clubs*) si può osservare come in più punti del disco sinaptico vi sia una ulteriore riduzione del *cleft* per cui le membrane opposte vengono in intimo contatto, con stretta

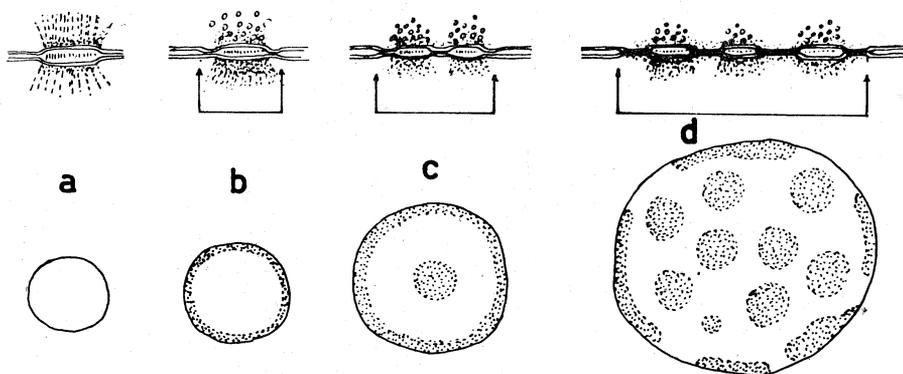


Fig. 1. — Schema in sezione e di fronte di un desmosoma (a) e di sinapsi semplice (disco sinaptico) (b), di sinapsi bigemina (c), di dinapsi poligemina (clava sinaptica) (d).

unione delle superfici esterne; si formano così sistemi a tre strati densi comprendenti due strati meno densi. Come ha illustrato Robertson [5] queste strutture appaiono finemente striate trasversalmente; viste in superficie presentano un fine disegno esagonale.

Secondo Robertson queste aree di intima unione delle membrane sarebbero identificabili con i dischi sinaptici mentre le zone tra questi sarebbero zone « desmosomoidi » senza funzione sinaptica, attribuendo ai « dischi » la funzione di trasmissione diretta dell'eccitamento elettrico. Dalle osservazioni da noi compiute sulle larve di *Brachydanio* riteniamo che la interpretazione debba essere diversa. È infatti da considerarsi tutta la zona di contatto della clava con il dendrite mauthneriano come *un unico gigante disco sinaptico* in cui si sono formate numerose zone più o meno circolari di « restringimento » del *cleft* e di intima unione delle membrane adiacenti definibili come *placche sinaptiche*, mentre le così dette « zone desmosomoidi » rappresentano la parte sinaptica tipica di attiva mediazione chimica come nei casi

più consueti. La fig. 2 mostra schematicamente questa interpretazione. Possiamo pensare, con Robertson, che le placche che costituiscono un sistema membranoso unitario, seppure complesso, possono servire per una trasmissione elettrica diretta. Secondo Robertson la struttura trasversale delle placche (vedi inserto nella fig. I della Tav. II) è in favore di questa concezione, rappresentando un orientamento di particelle « trasportatrici di elettroni », secondo il concetto recente di Fernández-Morán [10]. Va tuttavia ricordato come questo orientamento trasverso sia una manifestazione morfologica che si osserva spesso tra membrane strettamente unite per effetto dell'orientamento macromolecolare che viene suscitato dall'intimo contatto.

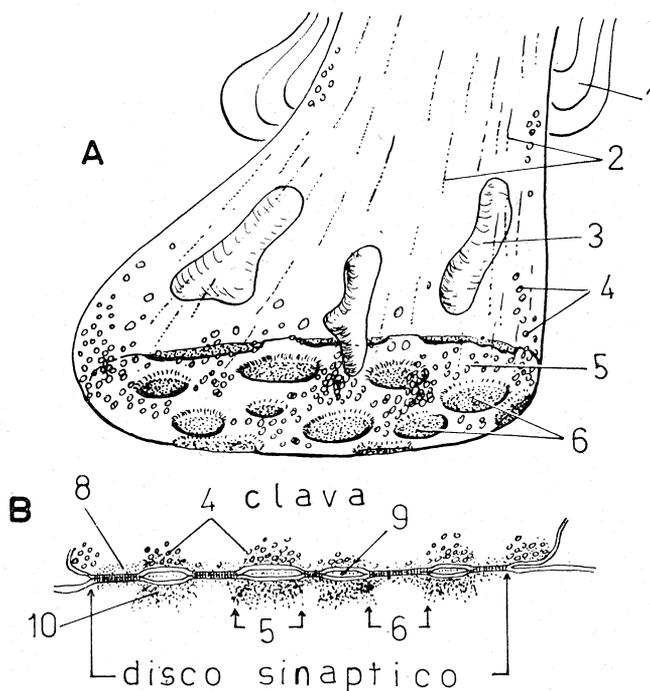


Fig. 2. - Schema di una clava sinaptica. A) Ricostruzione prospettica; B) Sezione in cui si notano le zone *desmosomoidi* (5) e le *placche sinaptiche* (6).

1) mielina; 2) neurofilamenti; 3) mitocondri; 4) vescicole presinaptiche; 5) « regione desmosomoide »; 6) placche sinaptiche; 7) spazio intercellulare; 8) sostanza opaca presinaptica; 9) *synaptic cleft*; 10) sostanza opaca post-sinaptica (organello sinaptico).

La presenza di una maggiore estensione della sostanza postsinaptica in relazione con le zone « desmosomoidi » e la presenza delle vescicole presinaptiche anche esse in rapporto solo con queste zone, sono aspetti favorevoli al concetto di questa doppia funzionalità delle sinapsi a clava nella trasmissione dell'eccitamento nervoso. La sinapsi a clava è pertanto da interpretarsi come un unico disco sinaptico, poligemino, in cui zone chimicamente attive con struttura tipica si alternano con zone adatte alla trasmissione elettrica diretta. Questo dato morfologico si accorda con la recente osserva-

zione di Furshpan (che desumo dal lavoro di Robertson) di una evidenza elettrofisiologica di trasmissione diretta, elettrica, tra le fibre del nervo ottavo e la cellula di Mauthner attraverso le clave terminali. Si può, come ipotesi di lavoro, supporre che l'ampiezza dei due territori vari con il diverso bisogno funzionale.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] A. STEFANELLI e S. CARAVITA, *Ultrastruttura dei sistemi sinaptici dei neuroni di Mauthner di un Teleosteo* (Brachydanio rerio), «Z. Zellf.» (in corso di stampa; in redazione il 2 agosto 1963).
- [2] B. BERTOLINI, *Meccanismi di connessione tra cellule nel midollo spinale della Rana*, «Rend. Acc. Naz. Lincei», vol. XXXIV, 717-722 (1963).
- [3] ZBIGNIEW SREBRO, *Alcune osservazioni sullo sviluppo delle sinapsi e dell'attività colinesterasica nel midollo spinale rigenerante del Tritone*, «Rend. Acc. Naz. Lincei», vol. XXXIII, 505-508 (1963).
- [4] D. ROBERTSON, T. BODENHEIMER e D. STAGE, *The ultrastructure of Mauthner cell synapses and nodes in goldfish brain*, «Cell Biol.», 19, 159-199 (1963).
- [5] D. ROBERTSON, *The occurrence of a subunit pattern in the unit membranes of club endings in Mauthner cell synapses in goldfish brains*, «Cell Biol.», 19, 201-221 (1963).
- [6] E. FURSHPAN e T. FURAKAWA, *Intracellular and extracellular responses of the general regions of the Mauthner cell of the goldfish*, «J. Neurophysiol.», 25, 732 (1962).
- [7] T. FURAKAWA e E. J. FURSHPAN, *Two inhibitory mechanisms in the Mauthner neurons of goldfish*, «J. Neurophysiol.», 26, 140 (1963).
- [8] P. WEISS, *Cell contact*, «Int. Rev. Cytol.», VII, 391-423 (1958).
- [9] H. VAN DER LOOS, *Fine structure of synapses in the cerebral cortex*, «Z. Zellf.», 60, 815-825 (1963).
- [10] M. FERNÁNDEZ-MORÁN, *Subunit organization of mitochondrial membranes*, «Science», 140, 381 (1963).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I.

Le fotografie elettroniche di questa tavola come della successiva sono state ottenute con microscopio Hitachi H II su materiale fissato in Millonig 0,2 molare, incluso in metacrilato e contrastato con piombo secondo Karnovski. I segmenti sui bordi dei fotogrammi rappresentano un micron. Embrioni e larve del teleosteo Brachydanio rerio.

Con 1 sono indicati i territori presinaptici e con 2 quelli postsinaptici.

c) centriolo, cG) corpo di Golgi, d) desmosomi, ei) elementi intrasinaptici, f) flagello, m) mitocondri, mi) mielina, nf) neurofilamenti, p) placche sinaptiche, r) ribosomi, re) reticolo endoplasmico, s) sinapsi, sc) *synaptic cleft*, sb) sinapsi a bottone, sd) sinapsi desmosomoidi, spo) sostanza opaca postsinaptica, spr) sostanza opaca presinaptica.

A) Elementi gliali ependimali del rombencefalo di embrione a 5 giorni dallo sguisciamento. Notare i diversi desmosomi per il confronto con le sinapsi delle figure successive. B) Sinapsi di bottoni sul dendrite laterale mauthneriano in diversa fase di differenziazione

(5 giorni dallo sgusciamento). C) D) E) Diverse condizioni di differenziamento delle sinapsi di avannotti di 50 giorni dallo sgusciamento. Notare il graduale affollarsi delle vescicole presinaptiche (v) nelle zone sinaptiche (s).

TAVOLA II.

Valgono per questa tavola le indicazioni della tavola precedente.

F) G) Esempi di sinapsi « abbottonate » in larve di 50 giorni. Notare l'affollamento delle vescicole presinaptiche attorno alla digitazione postsinaptica. H) Alcune sinapsi semplici nella regione dell'*axon cap* e un bottone a sinapsi duplice. I) Clava sinaptica in avannotto di 50 giorni. Notare l'esteso disco sinaptico in cui si alternano le placche (p) con le zone desmosomoidi (sd).

Nell'inserito (nell'angolo basso a sinistra) notare un maggior ingrandimento di una placca che mostra la struttura striata ($\times 100.000$).

