
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

LUIGI SPERTI, EUGENIO RIVA SANSEVERINO

**Analisi laminare dell'attività unitaria e dei potenziali
evocati nel settore CA3 dell'ippocampo
dall'attivazione delle fibre commissurali
interippocampiche**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.5, p. 697-702.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_5_697_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 laminare dell'attività unitaria e dei potenziali evocati nel settore CA3 dell'ippocampo dall'attivazione delle fibre commissurali interippocampiche* (*). Nota di LUIGI SPERTI e EUGENIO RIVA SANSEVERINO, presentata (**) dal Socio G. C. PUPILLI.

La struttura istologica relativamente semplice e caratterizzata da una chiara segregazione laminare dei pericari neuronici e dei prolungamenti dendritici basale e apicale, come anche la ben conosciuta organizzazione sinaptica dei sistemi intrinseci ed estrinseci afferenti [Koelliker⁽¹⁾, Cajal⁽²⁾, Lorente de Nó⁽³⁾, Blackstad⁽⁴⁾] realizzano nell'ippocampo condizioni opportune per lo studio delle proprietà degli elementi corticali e della parte che i diversi segmenti del neurone (soma, dendrite basale, dendrite apicale) e le relative connessioni sinaptiche hanno nel processo di formazione dei potenziali evocati e nella genesi dell'attività spontanea.

La presente Nota concerne: *a)* l'analisi laminare dei potenziali evocati nel settore CA3 dell'ippocampo⁽³⁾ dall'attività delle fibre commissurali interippocampiche che terminano, in questo settore, nello strato dei dendriti basali⁽⁴⁾ e ne rendono possibile l'attivazione selettiva [Andersen^(5,6)]; *b)* l'analisi laminare dell'attività unitaria spontanea ed evocata.

Gli esperimenti sono stati eseguiti su preparati «cerveau isolé» di Gatto. La superficie ventricolare dell'ippocampo veniva esposta bilateralmente e protetta con liquido di Ringer ovvero paraffina liquida, a 38°C. Solo in alcuni casi il preparato è stato immobilizzato con succinilcolina (1 mg/kg per via intravenosa e successivamente 3-4 mg/kg per via intramuscolare) e soccorso con respirazione artificiale a pressione positiva. Elettrodi stimolanti bipolari venivano posti sulla superficie dell'*alveus* in prossimità del confine con la *fimbria*, in corrispondenza della porzione iniziale del settore CA3 dell'ippocampo dorsale ovvero ventrale, ed i potenziali evocati venivano derivati dai punti corrispondenti dell'ippocampo contralaterale con un macroelettrodo di superficie ed un microelettrodo (filo di platino di 22 μ , incluso in vetro 0,5-2 M Ω ; micropipette di 3-10 μ , riempite con NaCl 2-4 M,

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

(**) Nella seduta del 9 maggio 1964.

(1) A. KOELLIKER, *Handbuch der Gewebelehre des Menschen*, Bd. II, p. 874. Leipzig, W. Engelmann (1896).

(2) S. RAMON Y CAJAL, *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris, A. Maloin (1911).

(3) R. LORENTE DE NÓ, « J. Psychol. Neurol. (Leipzig) », XLVI, 113 (1934).

(4) T. BLACKSTAD, « J. comp. Neurol. », CV, 417 (1956).

(5) P. ANDERSEN, « Acta physiol. scand. », XLVII, 63 (1959).

(6) P. ANDERSEN, « Acta physiol. scand. », XLVIII, 209 (1960).

1-5 M Ω) che veniva fatto penetrare progressivamente in profondità. Per la derivazione dell'attività unitaria sono stati usati anche microelettrodi di tungsteno [Hubel ⁽⁷⁾] aventi resistenza di 7-30 M Ω . I potenziali, derivati con il metodo monopolare in riferimento ad un elettrodo indifferente, posto nello spessore dell'osso frontale, venivano preamplificati (accoppiamento RC) e registrati fotograficamente da un oscilloscopio a doppia traccia. Uno stadio in *cathode follower* veniva usato, all'ingresso, nel circuito del microelettrodo, accoppiato, nella derivazione dell'attività unitaria, ad un condensatore della capacità di 0,005-0,001 μ F.

In relazione con le caratteristiche geometriche dell'ippocampo il microelettrodo veniva fatto penetrare nella corteccia in tutta prossimità del macroelettrodo, secondo un raggio comune alle due curvature della superficie, in modo che il tragitto della punta fosse quanto più possibile parallelo all'asse dei neuroni dello *stratum pyramidale*. La traccia della penetrazione veniva marcata con microelettrolisi, a diverse profondità, e controllata istologicamente.

Il potenziale evocato nel settore CA₃ dell'ippocampo dalla stimolazione di punti simmetrici della formazione contralaterale consiste, in corrispondenza della superficie ventricolare, in un'onda lenta negativa della durata di 12-40 msec, preceduta da una rapida (3-5 msec) deflessione difasica positiva-negativa [cfr. ⁽⁶⁾] e seguita, seppure non costantemente, da due onde lente, una positiva ed una negativa, di ampiezza e durata variabili (fig. 1). La latenza di questo potenziale evocato è dell'ordine dei 4-6 msec e dipende dalla posizione dei punti esplorati sulla superficie dorso-ventrale dell'ippocampo. Nei preparati con buona eccitabilità della corteccia l'onda lenta negativa presenta, in certe condizioni (stimolazione sopraliminare, stimolazione ripetitiva 0,3-6/sec, potenziamento post-tetanic), una deflessione negativa rapida (3-6 msec) sovrapposta, accompagnata dalla comparsa o dall'accentuazione della successiva onda positiva, e meno costantemente anche di quella negativa (fig. 1 D-F). Mentre la deflessione rapida iniziale e l'onda lenta negativa hanno la stessa soglia, la deflessione rapida sovrapposta a questa presenta una soglia più elevata [fig. 1 G; cfr. anche Andersen ⁽⁶⁾].

Le varie componenti di questo potenziale evocato mostrano, negli strati sottostanti alla superficie ventricolare, modificazioni caratteristiche (fig. 2). La componente rapida iniziale, difasica, non modifica la sua forma ed è derivabile limitatamente all'*alveus* e allo *s. oriens*. L'onda lenta negativa raggiunge la sua massima ampiezza nello *s. oriens*, che contiene le ramificazioni dei dendriti basali dei neuroni dello *s. pyramidale*, diventando positiva ed aumentando la sua ampiezza nello *s. radiatum*, che contiene lo stelo e le prime ramificazioni dei dendriti apicali, fino a raggiungere un massimo nello *s. moleculare*, a livello delle ramificazioni terminali dei dendriti apicali. La deflessione rapida, sovrapposta all'onda lenta, raggiunge la sua massima ampiezza a profondità corrispondenti allo *s. pyramidale*, dove si accentua, o si fa più

(7) D. H. HUBEL, « Science », CXXV, 549 (1957).

chiaramente manifesta, una componente rapida positiva che la rende difasica, negativa-positiva, ed è derivabile per profondità variabile nello *s. radiatum* e nello *s. moleculare*, con polarità immutata. La sua ampiezza solitamente decresce piuttosto bruscamente nello *s. radiatum*, mentre la sua latenza aumenta. Le successive onde lente positiva e negativa non presentano un profilo laminare costante: la prima ha spesso un massimo a livello dello *s. pyramidale*, dove ha anche latenza minore, e va poi progressivamente decrescendo d'ampiezza, in maniera variabile, negli *s. radiatum* e *moleculare*; la seconda

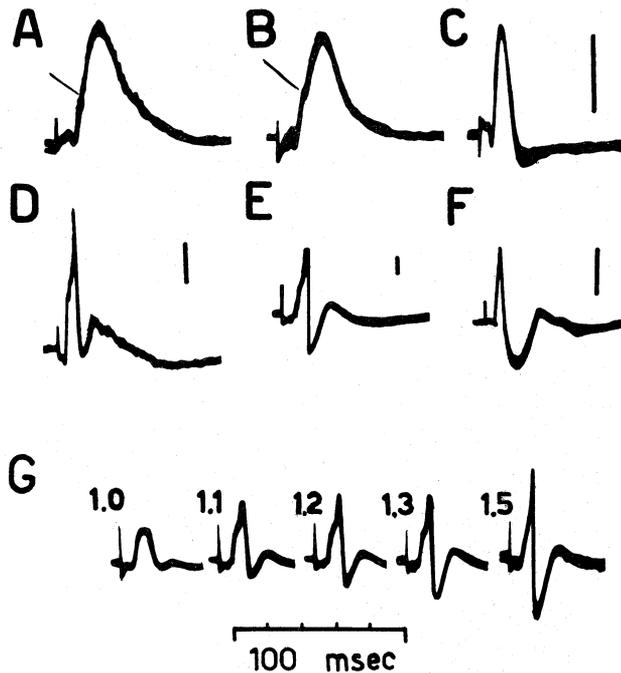


Fig. 1.

A-F: morfologia del potenziale evocato sulla superficie ventricolare del settore CA₃ dell'ippocampo dalla stimolazione di punti simmetrici della formazione contralaterale. L'inizio dell'onda lenta negativa dalla iniziale deflessione rapida difasica è indicato in A e B. G: potenziali evocati da stimoli di intensità progressivamente crescente espressa come multiplo della intensità liminare per l'onda lenta negativa, nel caso di cui alla lettera E. I singoli fotogrammi risultano dalla sovrapposizione di 4 o 5 tracce. Taratura: 0,5 mV.

presenta un massimo a livello dello *s. oriens* e decresce poi rapidamente in ampiezza, anch'essa in maniera variabile, nello *s. pyramidale* e nello *s. radiatum*.

In alcuni casi la comparsa della deflessione rapida sovrammessa all'onda lenta negativa in risposta a singole *volées* afferenti commissurali appare legata alla presenza di due frazioni ben distinguibili (già in corrispondenza della superficie) nel braccio ascendente dell'onda lenta negativa, la deflessione rapida prendendo origine al colmo della seconda frazione. Queste due frazioni presentano entrambe un profilo laminare dipolare, però con diversa estensione e con differenti livelli di massimi di ampiezza e isopotenziali: quella di minor

latenza presenta un massimo di ampiezza a livelli corrispondenti alla zona più profonda dello *s. oriens* e la linea isopotenziale al confine dello *s. pyramidale* con lo *s. radiatum*, estendendosi agli *s. radiatum* e *moleculare*; quella di maggior latenza ha massimi di ampiezza a profondità corrispondenti alla parte più superficiale dello *s. oriens*, linea isopotenziale in vicinanza dello *s. pyramidale* e un campo dipolare limitato allo *s. oriens* e allo *s. pyramidale*.

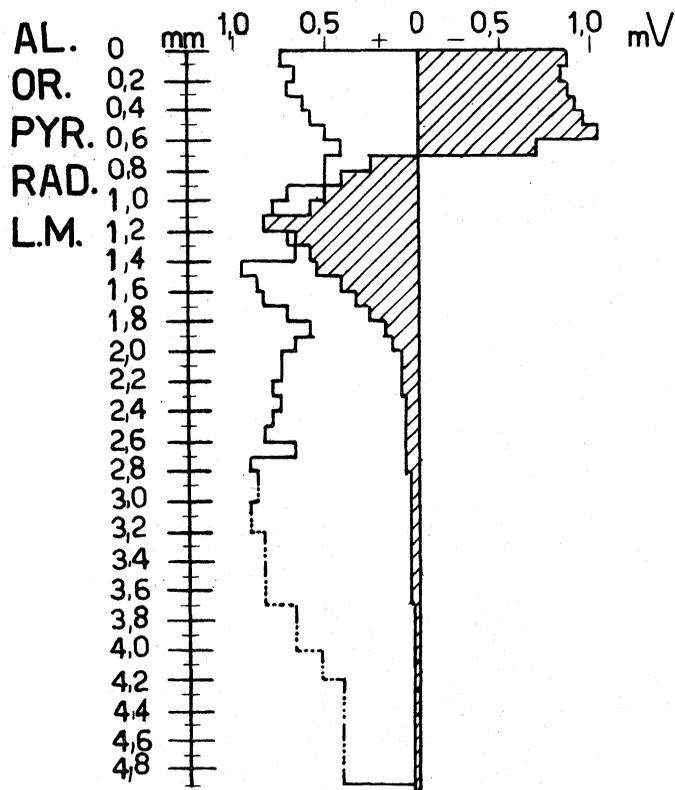


Fig. 2. - Rappresentazione diagrammatica delle modificazioni d'ampiezza dell'onda lenta negativa (area tratteggiata) e della successiva onda positiva (area non tratteggiata) del potenziale commissurale del settore CA3 dell'ippocampo, negli strati sottostanti alla superficie ventricolare.

La punta del microelettrodo attraversa successivamente la corteccia dell'ippocampo (0-1,3 mm), la fascia dentata (1,3-3,6 mm) la parte laterale del genicolato mediale. Gli strati dell'ippocampo sono indicati a lato della profondità.

AL. = *alveus*, OR. = *s. oriens*, PYR. = *s. pyramidale*, RAD. = *s. radiatum*. L.M. = *s. lacunosum-moleculare*.

Attività unitaria spontanea è derivabile alle profondità corrispondenti allo *s. oriens* e allo *s. pyramidale* nei preparati che manifestano una buona o notevole eccitabilità corticale, giudicata quest'ultima sul fondamento della presenza di attività spontanea di superficie e della tendenza a rispondere a salve d'impulsi afferenti commissurali, singole oppure ripetute a bassa fre-

quenza (0,5–6/sec), con potenziali evocati seguiti da scariche postume ovvero con attività epilettica. Gli *spikes* unitari sono di norma negativi o difasici, negativi-positivi, e si presentano frequentemente in *bursts* regolarmente spazati, senza apparenti relazioni con l'attività spontanea di superficie [cfr. anche Gloor, Sperti e Vera ⁽⁸⁾]; solo occasionalmente, e in uscita dallo *s. pyramidale*, si derivano *spikes* o gruppi di *spikes* unitari, di polarità positiva o difasica positiva-negativa. L'arrivo di *volées* afferenti commissurali provoca la comparsa di scariche unitarie in fase con l'onda lenta negativa del potenziale evocato; tali scariche assumono un aspetto più sincronizzato (più unità sovrapposte) in fase con la deflessione rapida negativa sovrapposta all'onda lenta. Queste scariche, rappresentate per lo più dall'attività di unità dapprima silenziose, osservandosi solo raramente il *driving* di unità spontaneamente attive, cessano con l'iniziare della componente lenta dell'onda positiva. Le scariche unitarie che accompagnano l'onda lenta negativa e la deflessione rapida sovrapposta sono presenti anche in assenza di attività unitaria spontanea. Esse di norma compaiono, ovvero aumentano di intensità, in fase con i potenziali evocati mediante la stimolazione ripetitiva a bassa frequenza (0,3–6/sec). Questi ultimi potenziali presentano un aumento di ampiezza dell'onda lenta negativa e la comparsa, ovvero l'aumento di ampiezza, della deflessione rapida negativa sovrapposta. La stimolazione di frequenza più elevata (10–25/sec) provoca un aumento della scarica unitaria «in fase» durante i primi potenziali evocati, seguita da silenzio, a carico tanto delle unità reclutate dalla stimolazione quanto di quelle attive spontaneamente, che riprendono poi a scaricare nel successivo periodo di potenziamento post-tetanico.

La iniziale deflessione rapida positiva-negativa ha, secondo Andersen ⁽⁶⁾, proprietà che la fanno ritenere l'espressione della conduzione degli impulsi afferenti nelle fibre commissurali; e il suo comportamento laminare [cfr. anche ⁽⁶⁾] nella corteccia dell'ippocampo è in accordo con l'ipotesi che essa rappresenti l'attività pre-sinaptica commissurale. L'onda lenta negativa ha invece le caratteristiche in parte di un potenziale post-sinaptico eccitatorio dei dendriti basali e in parte di una scarica post-sinaptica dei neuroni del settore CA₃ [Andersen ⁽⁶⁾]; la distribuzione dei massimi di ampiezza e il profilo dipolare di quest'onda lungo l'asse dei neuroni dello *s. pyramidale* sono in accordo con quelli di un potenziale eccitatorio post-sinaptico generato in forma di onda stazionaria a livello dei dendriti basali e probabilmente anche del soma di questi neuroni: l'attività unitaria «in fase», derivabile dallo *s. pyramidale*, rappresenta quindi probabilmente la scarica post-sinaptica dei neuroni di questo strato. La deflessione rapida negativa sovrapposta all'onda lenta rappresenta probabilmente la scarica post-sinaptica sincrona dei neuroni del settore CA₃ [Andersen ⁽⁶⁾], e l'attività unitaria che accompagna a livello dello *s. pyramidale* la deflessione rapida negativa sembra confermare questa interpretazione; il profilo laminare della deflessione rapida è inoltre

(8) P. GLOOR, L. SPERTI e C. VERA, «Electroenceph. clin. Neurophysiol.», XV, 379 (1963).

in accordo con una più o meno estesa invasione antidromica dei dendriti apicali. La mancanza di elementi (differenze di fase negli strati successivi) che depongano per una conduzione ortodromica della seconda frazione dell'onda lenta negativa, la presenza di scariche unitarie «in fase» durante tutta l'onda lenta negativa e le apparenti relazioni causali tra la seconda frazione, se presente, e la formazione della deflessione rapida sovrapposta, rendono ragionevole l'ipotesi che si tratti di due campi dipolari costituiti da onde stazionarie generate, in successione causale, in due differenti strutture: di un potenziale post-sinaptico eccitatorio dei dendriti basali dei neuroni dello *s. pyramidale* e, rispettivamente, di un potenziale post-sinaptico eccitatorio e della scarica post-sinaptica di neuroni dello *s. oriens*, i cui assoni siano in connessione sinaptica con il soma dei neuroni dello *s. pyramidale*. Tali neuroni potrebbero essere rappresentati dalle cellule orizzontali a canestro dello *s. oriens* [Cajal ⁽²⁾, Lorente de Nó ⁽³⁾], le quali hanno dendriti contenuti nello *s. oriens* e contribuiscono, con molte collaterali dell'assone, al plesso dello *s. pyramidale*. La comparsa di una deflessione rapida positiva in corrispondenza con il massimo di ampiezza della deflessione rapida negativa, a livello dello *s. pyramidale*, e la frequente riduzione o arresto, in fase con la componente lenta dell'onda positiva, dell'attività unitaria spontanea o evocata fanno ritenere probabile che l'onda positiva rappresenti in parte un fenomeno di conduzione iniziato a livello dello *s. pyramidale* e in parte un potenziale post-sinaptico inibitorio dei neuroni di questo strato. In favore di questa ipotesi stanno anche le osservazioni di Kandel, Spencer e Brinley ⁽⁹⁾ e quelle di Andersen, Eccles e Løyning ⁽¹⁰⁾. L'onda lenta negativa che costituisce la parte terminale del potenziale evocato, ha una distribuzione laminare non dipolare, limitata agli strati più superficiali della corteccia, e potrebbe verosimilmente rappresentare l'attività di neuroni non geometricamente orientati, ad assone breve, dello *s. oriens* ⁽³⁾, attivati secondariamente.

Dall'insieme di questi risultati appare probabile che l'arrivo di impulsi lungo le vie commissurali afferenti genera, nei neuroni del settore CA3, un potenziale post-sinaptico eccitatorio dei dendriti basali e probabilmente del soma che, in forma di onda stazionaria, stabilisce un campo di potenziale dipolare, esteso a tutto il neurone, il quale campo determina la scarica neuro-nica post-sinaptica con invasione antidromica del dendrite apicale.

(9) E. R. KANDEL, W. A. SPENCER a. F. J. BRINLEY, « J. Neurophysiol. », XXIV, 225 (1961).

(10) P. ANDERSEN, J. C. ECCLES a. Y. LØYNING, « Nature », CXCVIII, 540 (1963).