
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ALBERTO STEFANELLI, SILVIA CARAVITA

**Sui dispositivi sinaptici delle cellule dei nuclei
ottavo-motori (tangenziali) di lampreda (Lampetra
pianeri)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 44 (1968), n.3, p. 455–462.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_44_3_455_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. — *Sui dispositivi sinaptici delle cellule dei nuclei ottavo-motori (tangenziali) di lampreda* (*Lampetra planeri*)^(*). Nota di ALBERTO STEFANELLI e SILVIA CARAVITA, presentata^(**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The ultrastructure of the synaptical apparatus of the cells of the « nuclei ottavomotori » of ammocoetes of *Lampetra planeri*, considered to be homologous to the tangential nuclei of Sauropsida, was examined. This apparatus is formed by the contact between the club-shaped expansion of the vestibular root fibres and the cells of the nuclei, that wrap them; furthermore numerous synaptical bags are present on the external surface of the cells and on their axon hillock.

On the extended surface of contact between the fiber and the cell there are numerous synaptical points or discs, intermingled with asynaptical zones.

The club is loaded by a great amount of presynaptic vesicles in its middle part, while many mitochondria are disposed on its periphery. Presynaptic vesicles are associated to many of the synaptical points, but not all of them are of this type, which could be termed as « chemically active ». In fact most of them show a desmosomoid appearance, since the membranes thickenings are symmetrical and no presynaptic vesicles are present. These contacts are interpreted as inactive points. There are other synaptical discs whose cleft is reduced, even if a complete obliteration of it, by fusion of the outer layers of the membranes, was never observed. This type of synaptical contact might be supposed to function by electrical transmission.

Among the peripheral synaptic bags were observed the following conditions: there are boutons presynaptic to the cell but postsynaptic to another fiber ending on them, and other ones, which are presynaptic to the cell and to another ending that makes itself a contact with the cell.

These morphological features can be interpreted as examples of presynaptic inhibition and sommation, though electrophysiological data are not available at present to prove or disprove this hypothesis.

Tretjakoff nel 1907 ha descritto in *Ammocoetes branchialis*, « cellule a fuso » costituenti nuclei ben circoscritti in rapporto con le fibre radicolari del nervo VIII. Questo Autore, e così anche Schilling (1907), considerarono questi neuroni peculiari dei Ciclostomi. Johnston (1910) ritenne invece questi nuclei omologhi al nucleo tangenziale descritto da Cajal nei Pesci (1908) e nel Pollo. In seguito, la presenza di un nucleo tangenziale nei Rettili fu accertata da Becçari (1911). Stefanelli nel 1933 e nel 1937 riprese in esame questi nuclei in Petromizonti adulti e descrisse le caratteristiche « sinapsi a cucchiaio »; queste sono formate dalle fibre radicolari vestibolari sui corpi ovoidali delle cellule che compongono i nuclei e danno origine con i loro neuriti ai tratti ottavo-motori, anteriore, medio e posteriore; l'Autore osservò inoltre che le

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata « G. B. Grassi » della Università di Roma e nel Centro di Neuroembriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 9 marzo 1968.

fibre radicolari vestibolari non si esaurivano nelle sinapsi, ma si prolungavano oltre queste con un prolungamento ultrasinaptico, che si perde nelle aree vestibolo-laterali. Questi nuclei sono solo in parte omologabili ai nuclei tangenziali, e furono definiti da Tretjakoff come nuclei *ottavo-motori*, per il decorso dei neuriti, che in parte salgono omolateralmente lungo il fascicolo longitudinale mediale, e, in parte, si decussano e scendono lungo i tratti bulbo-spinali.

Mentre nei Petromizonti sono riconoscibili quattro nuclei ben distinti, nei Sauropsidi essi formano un unico nucleo, impegnato con le fibre radicolari del vestibolare, di estensione limitata rispetto agli altri centri vestibolari.

L'evoluzione dei centri tangenziali nell'embrione di pollo è stata descritta da Visentini e Levi-Montalcini (1939).

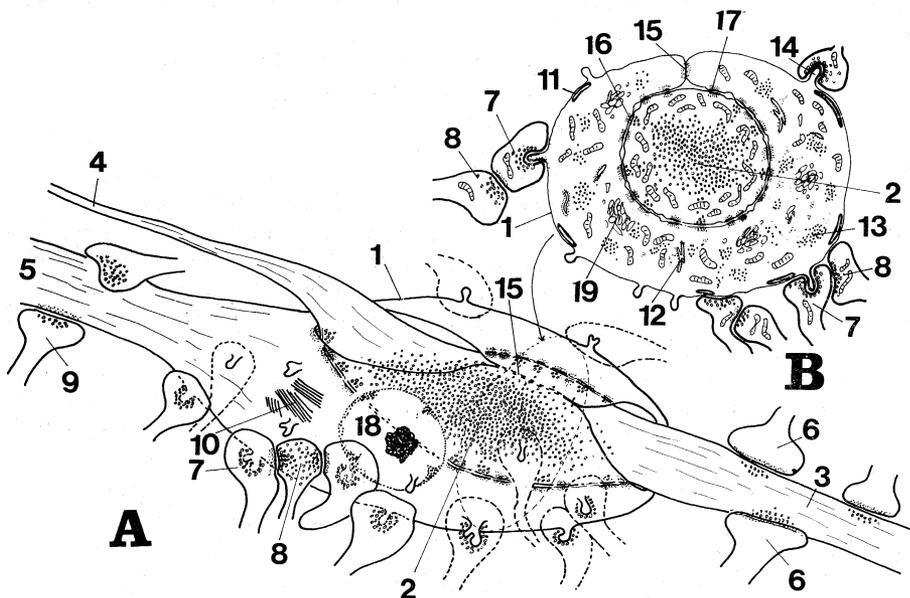


Fig. 1. - A - Disegno schematico dell'apparato sinaptico di una cellula ottavo-motoria di lampreda. B - Sezione trasversale secondo la linea tratteggiata in A.

1 - cellula ottavo-motoria; 2 - clava sinaptica della fibra radicolare vestibolare piena di vescicole presinaptiche; 3 - fibra vestibolare; 4 - prolungamento ultrasinaptico della fibra; 5 - neurite ottavo-motorio; 6 - piedi dendritici in rapporto sinaptico con la fibra vestibolare; 7 - bottoni sinaptici « a clip »; 8 - bottone sinaptico afferente ai bottoni « a clip »; 9 - bottone sinaptico afferente al neurite; 10 - apparato fibroso; 11 - cisterne postsinaptiche; 12 - reticolo endoplasmico; 13 - glicogeno; 14 - spina; 15 - autodesmosoma di chiusura dei lembi cellulari della cellula ottavo-motoria; 16 - punti sinaptici del tipo contraddistinto con *a*) nella fig. 3; 17 - punti del tipo *b*); 18 - nucleo con nucleolo; 19 - complesso di Golgi.

In un recente lavoro Hinojosa e Robertson (1967) hanno descritto la substruttura delle sinapsi « a cucchiaio » del nucleo tangenziale di pollo; questi Autori si proponevano di controllare se anche in questo caso, come nelle cellule di Mauthner, le fibre vestibolari formavano sinapsi di tipo elettrico; questo tipo di contatto sinaptico era stato illustrato infatti da diversi Autori nelle terminazioni a clava delle fibre vestibolari sul dendrite laterale delle cellule di Mauthner dei Pesci (Robertson e Bodenheimer, 1963; Robertson,

1963; Stefanelli e Caravita, 1963; Stefanelli, 1964). La conduzione elettrica di questo tipo di sinapsi è stata dimostrata da registrazioni elettro-fisiologiche (Furukawa e Furshpan, 1963; Furshpan e Furukawa, 1967). Sinapsi così dette elettriche erano già state descritte in Molluschi, Anellidi e Crostacei, e tutte hanno rivelato al microscopio elettronico le stesse caratteristiche morfologiche, cioè la oblitterazione dello spazio intersinaptico per la fusione dei foglietti esterni delle membrane pre- e post-sinaptica, e l'assenza delle vescicole presinaptiche (vedi Eccles, 1964 e Gray, 1966).

Anche nelle sinapsi a cucchiaio del nucleo tangenziale del pollo sono stati descritti punti di contatto interpretabili come punti a trasmissione elettrica.

Ci è sembrato interessante studiare il dispositivo sinaptico dei nuclei ottavo-motori dei Petromizonti, con una doppia finalità:

a) vedere se dal tipo sinaptico si potesse trarre qualche nuovo dato in favore della loro omologazione con i nuclei tangenziali;

b) controllare se anche nei Ciclostomi fosse rintracciabile un sistema sinaptico a conduzione elettrica nel complesso sinaptico specializzato che si viene a formare tra le cellule dei nuclei e le fibre vestibolari.

MATERIALI E METODI.

Ammoceti di *Lampetra planeri* della lunghezza di 14 cm sono stati impiegati come materiale. I cervelli sono stati fissati per qualche minuto *in situ* dopo essere stati messi allo scoperto e quindi sono stati ulteriormente dissezionati ed immersi nel fissativo per 1 h e mezza. OsO₄ 2% in tampone di Millonig 0,13M è stato usato come fissativo. L'inclusione è stata fatta in Araldite. La ricerca dei nuclei ottavo-motori è stata fatta al microscopio ottico su sezioni di 1 μ colorate secondo il metodo di Rùdeberg, 1967. Le sezioni ultrasottili fatte ad un microtomo LKB sono state contrastate con citrato di Piombo (Venable e Coggeshall, 1965) ed osservate ad un microscopio elettronico Hitachi HU 11.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

In primo luogo le nostre osservazioni ci inducono a modificare il termine di sinapsi « a cucchiaio » per le sinapsi dei nuclei ottavo-motori dei Petromizonti. In effetti (fig. 2) è risultato che non è la fibra vestibolare che forma, dilatandosi, un cucchiaio sul pericarion delle cellule nervose, ma è piuttosto questo che avvolge un rigonfiamento a clava delle fibre vestibolari, che poi proseguono con un prolungamento ultrasinaptico. L'ampio contatto è ugualmente stabilito, ma con inversione delle strutture.

L'esame al microscopio elettronico ha permesso di mettere in luce gli aspetti del tutto caratteristici di questo apparato sinaptico. Sono stati infatti osservati su tutta la superficie contatto tra la clava e la cellula ottavo-motoria

numerosissimi *punti* o *dischi sinaptici* separati tra loro da zone asinaptiche di varia ampiezza, in cui spesso le due membrane affacciate appaiono separate da uno spazio intercellulare più ampio (Tav. III). I dischi sinaptici sono di tre tipi: (fig. 3) *a*) caratterizzati dalla presenza di vescicole presinaptiche;

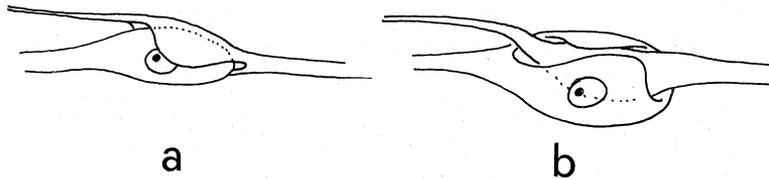


Fig. 2. - *a* - sinapsi « a cucchiaio » delle cellule dei nuclei tangenziali dei Sauropsidi.
b - sinapsi « a clava » delle cellule dei nuclei ottavo-motori dei Ciclostomi.

le membrane pre- e post-sinaptica sono entrambe ispessite e non sempre è visibile materiale elettron-denso associato alla membrana postsinaptica. Raramente la cellula forma delle cortissime emergenze o « spine » all'interno della clava ed in questo caso la membrana presinaptica circonda quella postasinaptica (sinapsi « a clip »); *b*) caratterizzati dall'assenza di vescicole presinaptiche; le membrane che formano il contatto sono entrambe ispessite e così anche si può osservare una certa opacità del citoplasma sia dal lato pre- che post-sinaptico; lo spazio che separa le due membrane è più ampio. Questo aspetto si può definire tipicamente *desmosomoide*; *c*) caratterizzati da uno stretto contatto tra le membrane pre- e post-sinaptica. Tuttavia anche con maggiori ingrandimenti non si è potuto mettere in evidenza una vera fusione dei foglietti esterni delle membrane, come avviene nei « contatti elettrici » delle sinapsi a clava sulle cellule di Mauthner (Robertson, 1963; Stefanelli, 1964).

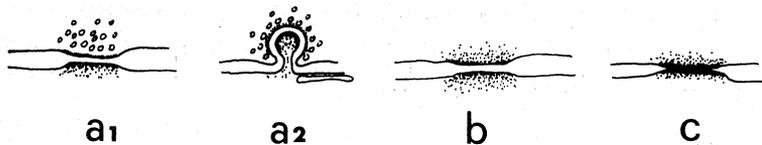


Fig. 3. - Punti o dischi sinaptici lungo la superficie di contatto tra le cellule dei nuclei ottavo-motori e le clave delle fibre vestibolari: tipo *a*) o « chimico » (*a*₁ liscio, *a*₂ a clip), tipo *b*) o « inattivo », tipo *c*) supposto elettrico.

Mentre i punti sinaptici del tipo *a*) sono chiaramente a mediazione chimica, come si può desumere dalla presenza delle vescicole presinaptiche, i punti sinaptici dei tipi *b*) e *c*) non dimostrano, almeno morfologicamente, di funzionare mediante attività chimica: sono infatti strutture simmetriche, non polarizzate e prive di vescicole sinaptiche, ritenute le portatrici del mediatore chimico della trasmissione sinaptica.

I punti di tipo *c*) possono essere interpretati come punti di trasmissione elettrica data la estrema riduzione dello spazio intersinaptico e la difficoltà

di distinguere in più di un caso le due membrane sinaptiche affacciate, anche se una vera e propria fusione dei foglietti esterni delle membrane non sia stata chiaramente osservata, come avviene invece per i tipici contatti a trasmissione elettrica.

I punti sinaptici di tipo *b*) sono invece interpretabili come punti *desmosomoidi, inattivi*, che potrebbero evolversi sia verso il tipo *a*), per migrazione di vescicole presinaptiche dal serbatoio centrale della clava, sia verso il tipo *c*), per avvicinamento delle due membrane. Come si può vedere nella Tav. II nel centro della clava sinaptica è presente un cospicuo accumulo di vescicole presinaptiche ed è evidente una migrazione di queste verso i punti sinaptici attivi.

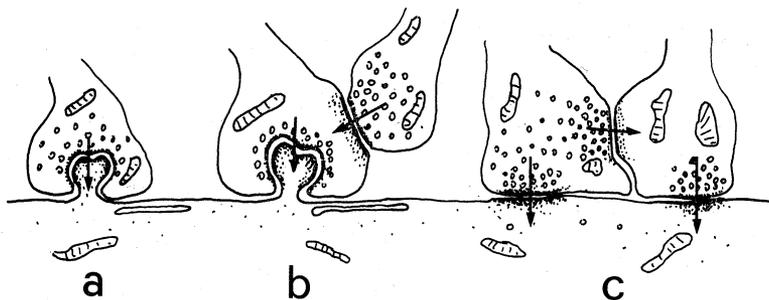


Fig. 4. — Differenti condizioni di trasmissione sinaptica nei bottoni in rapporto con la superficie esterna della cellula ottavo-motoria: *a* — sinapsi « a clip » afferente alla cellula, *b* — sinapsi « a clip » afferente alla cellula ma ricevente rispetto ad un bottone che prende rapporto sinaptico con essa, *c* — bottoni sinaptici in rapporto tra loro e con la cellula, per cui uno di essi è al tempo stesso ricevente e trasmettente l'impulso nervoso.

È da notare che la fibra vestibolare radicolare prima di dilatarsi nella clava che viene accolta entro la cellula ottavo - motoria, si mette in rapporto sinaptico con terminali dendritici di natura non identificata. Non sono state osservate, invece, sinapsi lungo il prolungamento ultrasinaptico, per lo meno per il tratto prossimale alla clava che si è potuto seguire. Analogamente, la cellula ottavo-motoria non è solo in rapporto sinaptico con la fibra vestibolare, ma è praticamente ricoperta da bottoni sinaptici di origine non accertata. Questi bottoni formano sinapsi tipiche con la cellula e sono ricchi di vescicole presinaptiche; per lo più sono in rapporto con « spine » emergenti dal pericarion (tipo « a clip », Tav. I, 6; Tav. III, C). Caratteristica peculiare di queste sinapsi è la presenza nelle immediate vicinanze della membrana postsinaptica ispessita di una cisterna appiattita e adagiata contro la faccia interna della membrana cellulare, struttura analoga a quella descritta da Rosenbluth (1962).

Altra condizione di rilievo è la presenza tra questi bottoni sinaptici di altri bottoni in rapporto sinaptico con i primi (fig. 4, b); in tal modo vi sono bottoni a clip che risultano afferenti alla cellula e riceventi rispetto ad altri bottoni. Questi ultimi hanno sempre sinapsi lisce, mai a clip. Altri bottoni sinaptici, poi, risultano afferenti alla cellula e riceventi rispetto a bottoni sinaptici vicini, i quali a loro volta sono afferenti anch'essi alla cellula (fig. 4, c).

DISCUSSIONE DEI RISULTATI.

In risposta al primo quesito che ci siamo posti dando inizio a queste ricerche, possiamo dire che anche da un punto di vista submicroscopico vi sono delle differenze tra questi nuclei ottavo-motori dei Ciclostomi e i nuclei tangenziali descritti da Cajal negli Uccelli. Innanzi tutto è da tener presente la rovesciata condizione della sinapsi « a cucchiaio »: infatti nei Ciclostomi non è la fibra vestibolare che avvolge la cellula nervosa dando origine al così detto cucchiaio, ma è la cellula che avvolge « a cucchiaio » una dilatazione a clava della fibra. È, inoltre, caratteristica la presenza di una enorme quantità di vescicole presinaptiche all'interno della espansione a clava, che è la più notevole che ci sia attualmente nota dalla letteratura.

Il meccanismo sinaptico tra la fibra radicolare e la cellula ricorda molto, invece, la condizione illustrata per il nucleo tangenziale di pulcino (da 1 a 10 giorni) da Hinojosa e Robertson (1967). Infatti lungo le due superfici che si mettono a contatto si osserva tutta una serie di punti o dischi sinaptici, molto numerosi, intervallati a zone asinaptiche ⁽¹⁾. Tuttavia mentre nel pollo sono state osservate assai poche vescicole presinaptiche nella fibra vestibolare « a cucchiaio » associate ai punti sinaptici, nella lampreda molte delle sinapsi formate dalla fibra vestibolare nella sua espansione a clava, hanno l'aspetto tipico e cioè presentano numerose vescicole addossate alla membrana presinaptica. Abbiamo però riconosciuto anche altri tipi di contatto, per cui questi si possono così definire: punti sinaptici del tipo suddetto a trasmissione chimica, punti in una condizione non polarizzata, cioè con ispessimenti simmetrici delle membrane, moderata opacità del citoplasma ad esse adiacente e mancanza di vescicole presinaptiche, e, infine, dischi sinaptici con le membrane strettamente ravvicinate, senza vescicole, simmetrici e con citoplasma adiacente opaco. Riteniamo che queste condizioni siano mutabili l'una nell'altra, e cioè il secondo tipo di rapporto tra le membrane descritto rappresenterebbe una condizione *inattiva* che potrebbe essere suscettibile di evolversi sia verso il tipo di contatto « elettrico », per avvicinamento delle due membrane e riduzione dello spazio intersinaptico, sia verso il tipo « chimico », per affollamento in quel punto di vescicole presinaptiche provenienti dal serbatoio centrale della clava, e assunzione di una morfologia asimmetrica e polarizzata ⁽²⁾.

Un'altra condizione che differenzia l'aspetto generale dell'apparato sinaptico da noi descritto da quello del nucleo tangenziale del pollo, è la ricchezza

(1) Preferiamo definirle asinaptiche, anziché inattive, come sono chiamate dai sopra citati Autori, ritenendo noi tale aggettivo più appropriato a quei punti sinaptici che non dimostrano, per il loro aspetto morfologico, una attività sinaptica, e che perciò abbiamo definito *inattivi*.

(2) Questa ipotesi ci porta a pensare ad un dinamismo strutturale e funzionale di questi sistemi sinaptici costituiti da numerosi « punti » di contatto.

di mitocondri sia nella cellula, sia, soprattutto, nella espansione a clava della fibra, dove essi sono disposti alla periferia, essendo il centro della clava occupato dall'ammasso delle vescicole presinaptiche (fig. 1, B e Tav. I).

Per quanto riguarda le sinapsi a bottone che ricoprono « esternamente » la cellula ottavo-motoria, è da porre in evidenza la presenza di sinapsi a due o più vie di conduzione. Una situazione simile è stata da noi descritta (Stefanelli e Caravita, 1963) nei rapporti sinaptici dell'axon cap della cellula di Mauthner di un teleosteo (*Brachydanio rerio*); in quel caso avevamo avanzato l'ipotesi che una tale condizione potesse rappresentare un meccanismo per « caricare » o « inibire » la trasmissione dell'impulso da parte di alcune fibre, avvalendoci anche dei risultati di ricerche elettrofisiologiche sullo stesso materiale (Furukawa e Furshpan, 1963; Furukawa, Fukami e Asada, 1963).

Tuttavia il solo dato morfologico non è sufficiente per attribuire un particolare valore funzionale a queste sinapsi, valore che può essere realmente accertato solo mediante registrazioni della attività elettrofisiologica.

BIBLIOGRAFIA.

- BECCARI N., « Arch. it. Anat. Embriol. », 2, 426 (1911).
 CAJAL R., « Trav. Lab. Rech. Biol. », 6, 1 (1910).
 ECCLES J. C., « The physiology of synapses » Springer-Verlag ed., Berlin 1964.
 FURUKAWA T e FURSHPAN E. J., « J. Neurophysiol. », 26, 140 (1963).
 FURUKAWA T. FUKAMI Y e ASADA Y., « J. Neurophysiol. », 26, 759 (1963).
 FURSHPAN E. J. e POTTER D. D., « J. Physiol. », 145, 289 (1959).
 FURSHPAN E. J. e FURUKAWA T., « J. Neurophysiol. », 25, 732 (1967).
 GRAY E. G., « Int. Rev. Gen. Exp. Zool. », 2, Acad. Press, N. Y. 1966.
 HINOJOSA R. e ROBERTSON J. D., « J. Cell Biol. », 34, 421 (1967).
 JOHNSTON J., « Anat. Anz. », 37, 153 e 182, (1910).
 ROBERTSON J. D., « J. Cell Biol. », 19, 201 (1963).
 ROBERTSON J. D. e BODENHEIMER T. S., « J. Cell Biol. », 19, 159, (1963).
 ROSENBLUTH J., « J. Cell. Biol. », 13, 405 (1962).
 RÜDEBERG C., « Experientia », 23, 792 (1967).
 SCHILLING K., « Abb. Sack. Natur. fes. », 30, 423 (1907).
 STEFANELLI A., « Arch. it. Anat. Embriol. », 31, 519 (1963).
 STEFANELLI A., « Arch. Zool. it. », 24, 209 (1937).
 STEFANELLI A. e CARAVITA S., « Zeit. f. Zellf. », 62, 1 (1963).
 STEFANELLI A., « Rend. Acc. Naz. Lincei », 36, 31 (1964).
 TRETIKOFF D., « Folia Neurobiol. », 1, 14 (1907).
 VENABLE J. H. e COGGESHALL R., « J. Cell Biol. », 25, 407 (1965).
 VISENTINI F. e LEVI-MONTALCINI R., « Schweiz Arch. Neur. Psych. », 43 e 44 (1939).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-IV

TAVOLE I e II.

Apparato sinaptico tra la fibra vestibolare (2) e la cellula ottavo-motoria (1) di *Lampetra planeri*. Notare i tre tipi di punti o dischi sinaptici *a*, *b* e *c* descritti nella fig. 3. Osservare nella Tav. I la clava sezionata tangenzialmente ricca di mitocondri e neurotuboli e nella Tav. II, in cui la clava appare in sezione trasversale, il serbatoio centrale di vescicole presinaptiche circondato dai mitocondri. Nella Tav. I si possono vedere le sinapsi « a clip » alla periferia della cellula, che appare ricca di glicogeno e di mitocondri, mentre è assai povera di reticolo endoplasmico e di ribosomi.

1 - cellula ottavo-motoria; 2 - clava della fibra vestibolare; 3 - spazi asinaptici spesso dilatati; 4 - complessi di Golgi; 5 - nucleo; 6 - bottoni sinaptici « a clip »; 7 - neurotuboli; 9 - « spine » citoplasmatiche della cellula circondate dai bottoni a clip.

TAVOLA III.

A - Sinapsi del tipo *a*, B - sinapsi del tipo *b*), desmosomoidi, intervallate a punti asinaptici con dilatazioni dello spazio intercellulare (3), C - sinapsi del tipo « a clip » (*a*₂).

8 - cisterna subsinaptica; 9 - « spina » citoplasmatica della cellula. (Altre didascalie come nelle Tavole precedenti).

TAVOLA IV.

Esempi di bottoni sinaptici in rapporto tra loro e con la cellula; notare come i punti sinaptici siano di tipo *a*) e *b*). Le frecce indicano la direzione della trasmissione dell'impulso nervoso.

(Altre didascalie come nelle Tavole precedenti).

