
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIORGIO MARIA INNOCENTI, TULLIO MANZONI,
GIUSEPPE SPIDALIERI

Caratteristiche sinaptiche della proiezione callosale alle aree somestesiche (SI e SII) del Gatto

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 52 (1972), n.4, p. 551–557.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_52_4_551_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. — *Caratteristiche sinaptiche della proiezione callosale alle aree somestetiche (SI e SII) del Gatto* (*). Nota di **GIORGIO MARIA INNOCENTI, TULLIO MANZONI e GIUSEPPE SPIDALIERI**, presentata (**) dal Socio G. C. PUPILLI.

SUMMARY. — The synaptic events, induced by transcallosal afferents in somesthetic cortical neurones were studied with intracellular technique in 21 units (14 belonging to SI and 7 to SII), out of a larger sample whose characteristics of transcallosal as well as peripheral reactivity were determined extracellularly. The recordings were obtained from chloralose-anaesthetized, curarized cats by means of glass micropipettes (2M K-citrate or 2.5M KCl; 10–50 M Ω in resistance) and DC-, AC-amplifying conventional apparatus. Upon peripheral stimulation each neurone was classified as reactive to small, contralateral (Group I; 5 units) or to wide, ipsi- and contralateral peripheral receptive fields (Group II; 16 units). All neurones were further tested with electrical stimulation of contralateral SI and SII cortical areas. Transcallosal excitatory and inhibitory effects were obtained. The excitatory effects were either small, slowly-rising EPSPs, variable both in time-course and amplitude (11 units), or strong and fast-rising EPSPs (5 units). The former triggered inconsistent and unsteady spike discharges, whereas the latter easily precipitated firing activity, followed in turn by clear-cut secondary IPSPs, just as did peripheral stimulation in both groups of units. Pure inhibitory effects were observed in 5 more neurones, yielding primary IPSPs capable of blocking both spontaneous and evoked discharges. Occasionally, units showing interneuronal-like discharges were found, temporally related to the development of primary IPSPs appearing in the former cells. The latencies of both excitatory and inhibitory slow potentials were consistent with their generation by transcallosal impulses.

According to the evidence obtained, it is suggested that most transcallosal excitatory effects might be generated by remote synaptic contacts located at apical dendrite spines, thus modulating the neuronal activity induced by peripheral afferents. The inhibitory effects induced over the callosal route are post-synaptic in nature and might be generated in the cortex itself through interneuronal mediation.

In precedenza [1, 2] avevamo comunicato in forma preliminare i risultati di una serie di ricerche microelettrodiche concernenti la reattività transcallosale dei neuroni corticali dell'area somestetica prima e seconda (SI e SII) del Gatto. I risultati già resi noti riguardavano l'analisi unitaria extracellulare di un campione di 261 cellule corticali, su cui erano stati saggiati gli effetti della stimolazione elettrica dei campi recettivi periferici (CRP) e delle aree somestetiche contralaterali. Secondo quest'analisi, è risultato che una componente significativa (30,6 %) della popolazione neuronica di SI e SII riceve, per il tramite del corpo calloso, informazioni dalle aree omonime dell'emisfero contralaterale. Inoltre, ripartendo le unità corticali sulla base delle loro diverse caratteristiche di reattività periferica, si è potuto accertare

(*) Lavoro eseguito, col sussidio del C.N.R., nell'Istituto di Fisiologia umana della Università di Catania.

(**) Nella seduta dell'8 aprile 1972.

che non tutti i tipi funzionali che abbiamo identificato (Gruppi I, II e III; cfr. [1, 2]) reagiscono agli impulsi transcallosali nello stesso modo e nella stessa misura. Infatti, solo il 15,2 % delle cellule di Gruppo I (attivabili solo da CRP specifici e contralaterali: neuroni somatotopici) riceve afferenze callosali, mentre più della metà (62,6 %) delle unità di Gruppo II (attivabili da CRP estesi e spesso bilaterali: neuroni non somatotopici) è collegata con l'emisfero contralaterale. Invece, nessuna unità di Gruppo III (neuroni non attivabili da stimoli periferici) reagisce agli stimoli transcallosali. Sempre secondo l'analisi di cui sopra, anche il segno delle risposte neuroniche provocate da questi stimoli è correlato col gruppo cui le unità appartengono. Infatti, le reazioni transcallosali di tipo eccitatorio, consistenti in scariche tutto-o-nulla che compaiono dopo latenze compatibili con la mediazione transcallosale, sono state osservate in misura preponderante (86,7 %) nei neuroni di Gruppo II, mentre fenomeni di tipo inibitorio, consistenti nel blocco delle scariche spontanee ovvero di quelle evocate da stimoli periferici, sono apparsi nel 75 % dei casi in neuroni di Gruppo I.

Nel corso degli esperimenti che abbiamo ora sommariamente ricordato, sono state ottenute anche registrazioni microelettrodiche intracellulari da 21 cellule del campione neuronico reattivo alla stimolazione delle aree somestiches contralaterali (14 cellule isolate nell'area SI e 7 in SII). Secondo le caratteristiche della loro reattività periferica, 5 di queste cellule sono state riconosciute di Gruppo I e le restanti 16 di Gruppo II. I potenziali transmembranari di tipo eccitatorio ed inibitorio che sono stati provocati in queste cellule dagli impulsi transcallosali, forniscono indicazioni utili per comprendere alcuni tra i meccanismi con cui si svolgono a livello sinaptico gli scambi di messaggi tra le aree somestiches dei due emisferi, e pertanto abbiamo ritenuto opportuno comunicarli nella presente Nota. Per le informazioni dettagliate riguardanti i preparati utilizzati per gli esperimenti (gatti in narcosi cloralosica), la tecnica di registrazione (micropipette capillari di elevata impedenza) e quella di stimolazione corticale e periferica (rispettivamente, elettrodi epicorticali di Ag—AgCl ed aghi-elettrodi cutanei) rimandiamo alle precedenti comunicazioni di questa serie, ricordate all'inizio [1, 2].

Le *risposte eccitatorie* provocate dalla stimolazione elettrica delle aree somestiches contralaterali, sono state osservate nei 16 neuroni di Gruppo II. In 11 di queste cellule, stimolazioni elettriche anche intense dell'emisfero contralaterale hanno determinato, dopo latenze di 2-11 msec, reazioni post-sinaptiche eccitatorie assai deboli, e diverse da quelle indotte negli stessi neuroni dalla stimolazione dei rispettivi CRP, che provocava costantemente tipiche e chiare sequenze di potenziali depolarizzanti e iperpolarizzanti. In alcune di queste unità, stimolazioni ripetitive transcallosali di elevata frequenza (3-4 impulsi a 320/sec di 10-14 V e 0,5 msec) davano incostantemente origine a un potenziale d'azione senza che l'abituale sequenza di potenziali post-sinaptici eccitatori (PPSE) ed inibitori (PPSI) fosse chiaramente evidente. Secondo un altro comportamento piuttosto frequente (fig. 1 A e C),

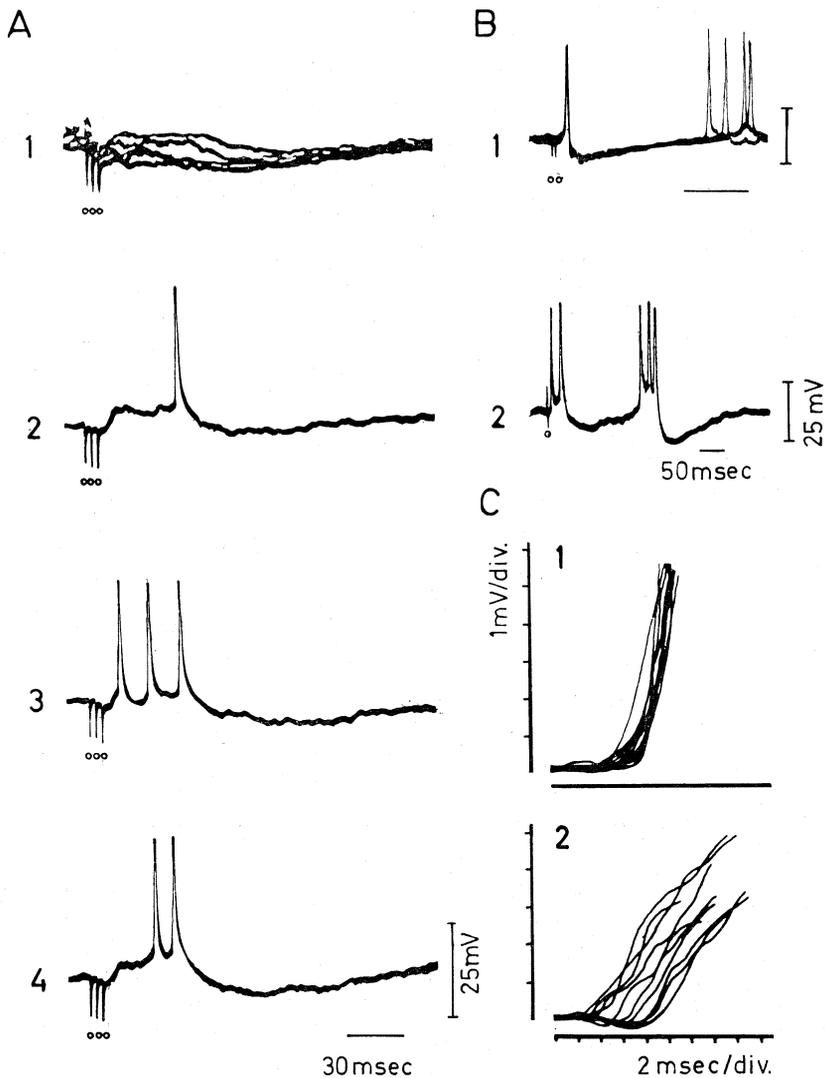


Fig. 1. - Aspetti intracellulari dell'attivazione transcallosale di neuroni somestesici corticali. Preparato cloralosato e curarizzato (Gatto).

- A, esempio di reazioni eccitatorie deboli (68,7% dei casi): 1, la stimolazione dell'area SI contralaterale con treni di impulsi di intensità massimale (3 shocks a 320/sec, 10 V e 0,5 msec) provoca l'insorgenza di PPSE subliminari, di ampiezza e di andamento temporale variabili; 2-4, stimolazioni successive eseguite nel medesimo neurone con gli stessi parametri provocano l'insorgenza di uno o più spikes con latenza fluttuante rispetto a quella del PPSE. Oscillogrammi sovrapposti in 1, singoli in 2-4.
- B, esempi di reazioni eccitatorie forti (31,3% dei casi): 1-2, la stimolazione dell'area SI contralaterale (rispettivamente con doppio o singolo shock di 5 V e 0,5 msec) provoca in due distinti neuroni l'insorgenza di PPSE a rapida salita ed estremamente efficaci nel determinare la scarica. Il fenomeno eccitatorio primario è seguito da una netta fase di iperpolarizzazione. Tre oscillogrammi sovrapposti in 1, singoli in 2.
- C, evoluzione temporale della fase ascendente di PPSE indotti da stimolazioni successive in un neurone del tipo esemplificato in A e sovrapposti fotograficamente: 1, stimolazioni elettriche della cute periferica; 2, stimolazioni elettriche dell'area SI contralaterale. Si noti la maggiore variabilità della latenza e la più lenta salita dei PPSE indotti dalla stimolazione transcallosale.

Le registrazioni in A e B sono state ottenute da neuroni di Gruppo II dell'area SI, quelle in C da un neurone di Gruppo II dell'area SII. In tutti gli oscillogrammi di questa e della successiva figura le deflessioni verso l'alto indicano positività del microelettrodo intracellulare.

per effetto di *shocks* transcallosali sia singoli che ripetitivi comparivano PPSE, ma questi si presentavano dopo latenze variabili e con una evoluzione temporale piuttosto lenta; essi non sempre determinavano la comparsa di potenziali tutto-0-nulla; questi ultimi, se presenti, potevano apparire anche 30 msec dopo l'insorgenza della depolarizzazione lenta; i successivi PPSI non erano molto pronunciati. Le differenze tra i PPSE provocati dagli stimoli periferici e da quelli transcallosali sono evidenti nei grafici della fig. 1 C (1 e 2 rispettivamente). La minore rilevanza e la scarsa efficacia dei secondi rispetto ai primi è stata riscontrata anche nei casi in cui si ricorreva alla stimolazione diretta del corpo calloso [1], ovvero quando i PPSE transcallosali avevano latenze così brevi (2 msec) da poter essere ritenuti di origine monosinaptica.

Nelle restanti 5 cellule di Gruppo II la stimolazione transcallosale ha indotto risposte assai simili a quelle provocate dalla stimolazione dei CRP. Singoli *shocks* transcallosali (2-12 V, 0,5 msec) hanno provocato dopo breve latenza (2-4 msec) la comparsa di potenziali post-sinaptici eccitatori sempre sopraliminari per la scarica, che compariva dopo 2-3 msec ed era in genere costituita da 1-3 *spikes*. La scarica era a sua volta seguita costantemente da potenziali post-sinaptici inibitori che raggiungevano dopo 10-50 msec la loro massima negatività per esaurirsi dopo 80-120 msec (fig. 1 B). Alla fine del PPSI, frequentemente si sono osservate ulteriori depolarizzazioni lente, con o senza potenziali tutto-0-nulla.

Le *risposte inibitorie* provocate dalla stimolazione transcallosale sono state osservate in tutti i 5 neuroni di Gruppo I. Queste risposte avevano l'aspetto di PPSI primari (non preceduti cioè da depolarizzazioni; fig. 2). In accordo con le latenze dei fenomeni inibitori osservati nel campione neuronico extracellulare [1, 2], la più breve latenza dei PPSI è risultata di 4,2 msec (valore medio: 7,1 msec). L'effetto inibitorio dei PPSI transcallosali, sia sull'attività spontanea sia su quella provocata dalla stimolazione dei CRP, è chiaramente apprezzabile nella fig. 2 A. Infine, è interessante notare che questi PPSI potrebbero essere mediati da interneuroni inibitori localizzati nella corteccia che riceve gli impulsi transcallosali. Infatti, a seguito della stimolazione dell'emisfero contralaterale abbiamo talora registrato scariche extracellulari che avevano latenza più breve di quella dei PPSI sopra descritti e che, per le loro caratteristiche (fig. 2 C; cfr. [3]), avrebbero potuto avere origine da elementi internunciali.

Secondo i dati che abbiamo riferiti, la maggior parte delle cellule del nostro campione ha mostrato reazioni post-sinaptiche transcallosali eccitatorie assai deboli, come si evince dal lento sviluppo dei loro PPSE e dalla loro scarsa efficacia a promuovere scariche di tipo tutto-0-nulla. Queste osservazioni possono trovare la loro spiegazione nel tipo dei contatti sinaptici che le fibre callosali formano a livello dei dendriti delle cellule corticali. Secondo dati anatomici recenti [4-6], a livello del I e II strato della corteccia cerebrale dette fibre stabiliscono un numero assai esiguo di contatti con le spine dei dendriti apicali delle cellule piramidali (sistema sinaptico del tipo

crossing-over; [6]). È stato ipotizzato che siffatto sistema di contatto richieda una convergenza sinaptica assai elevata per la generazione degl'impulsi tutto-o-nulla (cfr. [6, 7]). Le caratteristiche elettrografiche e funzionali della maggioranza dei PPSE provocati dalle stimolazioni transcallosali si accorderebbero con l'ipotesi di una loro generazione in sedi distali al soma. Come

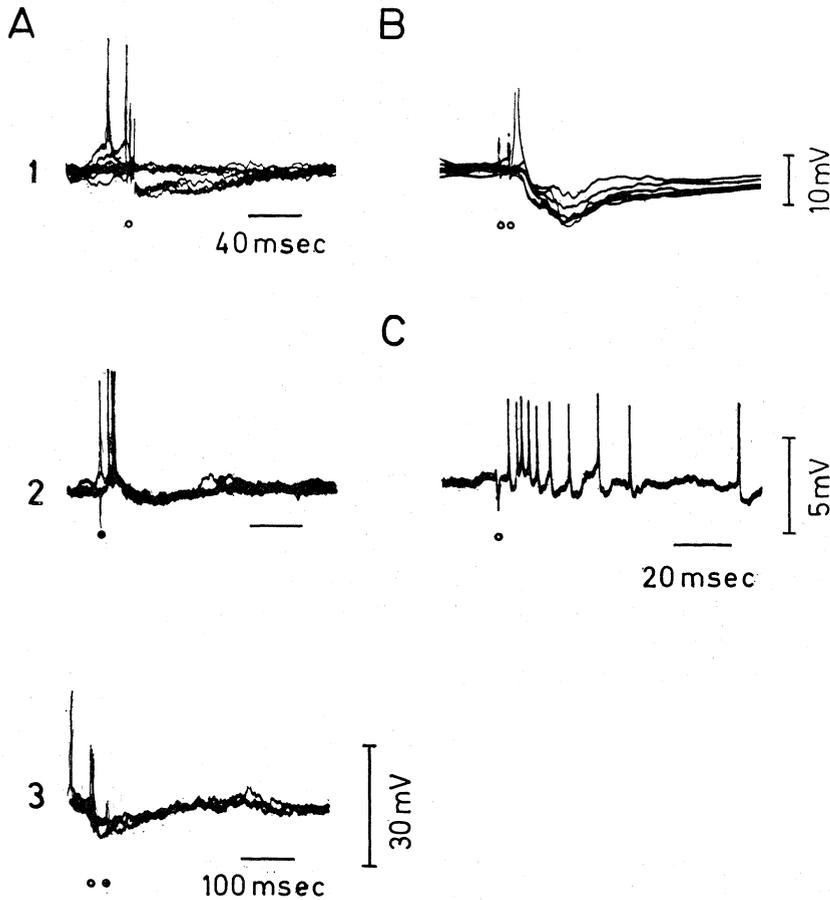


Fig. 2. - Aspetti intracellulari dell'inibizione transcallosale di neuroni somestesici corticali. Preparato cloralosato e curarizzato (Gatto).

A, esempio di reazioni inibitorie provocate dalla stimolazione dell'area SI contralaterale (3 impulsi a 320/sec, 6 V e 0,5 msec) 1, effetti sull'attività spontanea; 2, scarica *test* indotta dalla stimolazione del CRP (parte prossimale dell'arto anteriore contralaterale); 3, effetto di impulsi condizionanti transcallosali sulla scarica *test* indotta dalla stimolazione periferica. Si noti come a séguito della stimolazione transcallosale insorgono potenziali iperpolarizzanti (PPSI) capaci di abolire sia l'attività spontanea sia quella evocata dalla periferia recetttrice. L'iperpolarizzazione della membrana risulta particolarmente evidente in 1, che permette il paragone con alcuni *sweeps* registrati in mancanza di stimolazione. Oscillogrammi sovrapposti.

B, esempi di PPSI indotti in un altro neurone per stimolazione con doppio *shock* (320/sec, 7 V e 0,5 msec) dell'area SI contralaterale. Oscillogrammi sovrapposti.

C, registrazione extramembranaria di una scarica cellulare indotta dalla stimolazione con singolo *shock* (7 V e 0,5 msec) dell'area SI contralaterale. Si noti la scarica prolungata e lentamente esaurientesi (del tipo «interneuronale») e le sue relazioni temporali con il PPSI evocato nel neurone le cui risposte sono riprodotte in B. Oscillogramma singolo.

Sia in A che in B e C le registrazioni sono state ottenute da neuroni di Gruppo I dell'area SI. I tempi dello stimolo periferico e di quello transcallosale sono indicati, rispettivamente, dai dischetti neri e bianchi.

è noto [8-10], le depolarizzazioni in sedi distali risultano generalmente meno efficaci di quelle prossimali nel portare il potenziale di membrana al livello critico per lo *spike*. Va tuttavia rilevato che sono stati descritti per gli assoni callosali anche contatti sinaptici di tipo eccitatorio a livello del soma cellulare [11], i quali ovviamente dovrebbero risultare più efficaci per la produzione degli *spikes*. Di fatto, in alcune cellule del nostro campione sono stati registrati PPSE transcallosali assai simili a quelli evocati dagli impulsi di origine periferica che, com'è noto [12, 13], attivano i neuroni corticali in sedi prossime al soma.

L'interpretazione funzionale dei presenti risultati si riallaccia direttamente a quanto abbiamo prospettato sul fondamento delle ricerche extracellulari [1, 2]. Da tali ricerche si è potuto inferire che i neuroni di Gruppo II ricevono le informazioni somestetiche dai CRP ipsilaterali sia « direttamente », tramite vie ascendenti non crociate, che « indirettamente », dall'emisfero contralaterale per il tramite di vie callosali. Secondo i presenti dati intracellulari, le fibre callosali dirette ai neuroni del Gruppo II promuoverebbero nella maggior parte dei casi una sorta di facilitazione sinaptica, favorendo la risposta del neurone agli impulsi che giungono « direttamente » dalla periferia somatica. Per quanto concerne infine i fenomeni transcallosali di tipo puramente inibitorio (neuroni del Gruppo I), le presenti osservazioni non solo confermano i risultati precedenti ma dimostrano anche che l'inibizione è attuata con meccanismo post-sinaptico. Si deve rilevare che, secondo i dati di ricerche morfologiche [11], nessuna terminazione di fibre callosali ha le caratteristiche delle terminazioni inibitorie [14]. Con questi dati si accordano le nostre occasionali osservazioni di scariche cellulari simili a quelle di alcuni tipici interneuroni inibitori [15].

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. M. INNOCENTI e T. MANZONI, « Rend. Accad. Naz. Lincei, Cl. Sci. fis., mat. nat. », ser. VIII, 49, 431 (1970).
- [2] G. M. INNOCENTI e T. MANZONI, « Rend. Accad. Naz. Lincei, Cl. Sci. fis., mat. nat. », ser. VIII, 51, 254 (1971).
- [3] C.-L. LI e S.N. CHOU, *Inhibitory interneurons in the neocortex*. In E. ROBERTS (Chief Ed.), « Inhibition in the nervous system and gamma-aminobutyric acid », pp. 34-39, Pergamon Press, Oxford (1960).
- [4] J. SZENTÁGOTHAI, *Architecture of the cerebral cortex*. In H. H. JASPER, A. A. WARD e A. POPE (Eds.), « Basic mechanisms of the epilepsies », pp. 13-28, Little, Brown e Co., Boston (1969).
- [5] J. SZENTÁGOTHAI, « Bull. Acad. Roy. Med. (Belgique) », VII sér., 10, 475 (1970).
- [6] J. SZENTÁGOTHAI, « Acta biol. Sci. hung. », 22, 107 (1971).
- [7] O.D. CREUTZFELDT, K. MAEKAWA e L. HÖSLI, *Forms of spontaneous and evoked post-synaptic potentials of cortical nerve cells*. In K. AKERT e P.G. WASER (Eds.), « Mechanisms of synaptic transmission » (Progress in Brain Research, 31), pp. 265-273, Elsevier, Amsterdam (1969).
- [8] E. FADIGA e J.M. BROOKHART, « Am. J. Physiol. », 198, 693 (1960).

- [9] S. JACOBSON e D. A. POLLEN, « Science », 161, 1351 (1968).
- [10] W. RALL, « J. Neurophysiol. », 30, 1138 (1967).
- [11] J.S. LUND e R.D. LUND, « Brain Res. », 17, 25 (1970).
- [12] O.D. CREUTZFELDT, H.D. LUX e S. WATANABE, *Electrophysiology of cortical nerve cells*. In D. P. PURPURA e M.D. YAHR (Eds.), « The Thalamus », pp. 209-235, Columbia University Press, New York (1966).
- [13] M. R. KLEE, *Different effects on the membrane potential of motor cortex units after thalamic and reticular stimulation*. In D. P. PURPURA e M.D. YAHR (Eds.), « The Thalamus », pp. 287-322, Columbia University Press, New York (1966).
- [14] K. UCHIZONO, « Nature », 207, 642 (1965).
- [15] J.C. ECCLES, *The physiology of synapses*, pp. XI-316, Springer-Verlag, Berlin (1964).