

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

GIORGIO M. INNOCENTI, LUCIA FIORE

## **Risposte intra- ed extracellulari a stimoli in movimento nei neuroni dell'area corticale 17**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 56 (1974), n.6, p.  
1004-1011.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1974\\_8\\_56\\_6\\_1004\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_6_1004_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.** — *Risposte intra- ed extracellulari a stimoli in movimento nei neuroni dell'area corticale 17* (\*). Nota di GIORGIO M. INNOCENTI e LUCIA FIORE, presentata (\*\*) dal Corrisp. O. PINOTTI.

SUMMARY. — Some features of excitatory and inhibitory responses elicited in neurones of area 17 of the Cat by moving stimuli were investigated with both extracellular (69 units) and intracellular (39 units) recordings. Inhibitory responses appeared as gaps in the continuous activity evoked by a conditioning stimulus jiggling in the receptive field (monocular conditioning) in extracellular experiments and as membranary hyperpolarization in intracellular experiments. The hyperpolarization showed features typical for inhibitory postsynaptic potentials and could be reversed to depolarization by injection of negative current through the microelectrode. Response types were classified in several groups according to their excitatory/inhibitory pattern and were generally different in the two opposite directions of motion of the same stimulus. The results are discussed with regard to their implications for intracortical connectivity and receptive field organization.

È noto che i neuroni dell'area corticale 17 del Gatto sono spesso attivabili in modo ottimale da stimoli luminosi rettangolari, appropriatamente orientati nello spazio (specificità di orientazione) e moventesi nel campo recettivo lungo una traiettoria rettilinea, perpendicolare al loro maggior asse [1, 2]. Inoltre, uno solo dei due opposti versi del movimento può risultare efficace (specificità di direzione) [1, 2, 3]. Studi recenti hanno sottolineato il fatto che gli stimoli in movimento possono evocare delle risposte non solo di tipo eccitatorio ma anche di tipo inibitorio [4, 5, 6] e suggeriscono che zone inibitorie del campo recettivo possano avere un ruolo di estrema importanza nel determinare le caratteristiche di reattività del neurone e principalmente la specificità di orientazione e di direzione [7, 8]. Tali studi tuttavia si sono avvalsi di tecniche di registrazione extracellulare, con le quali non è possibile differenziare i fenomeni di disfacilitazione (conseguenti ad esempio, ad una inibizione di «surround» a livello talamico) da quelli dovuti alla inibizione corticale di tipo postsinaptico. È questo un punto di importanza fondamentale per stabilire in quale misura la struttura del campo recettivo e le proprietà funzionali dei neuroni dell'area 17 ad essa connesse siano dovuti alla organizzazione spaziale delle afferenze talamocorticali e quanto invece siano il frutto di una interazione tra singoli elementi corticali.

Riportiamo pertanto i risultati di uno studio condotto su due popolazioni neuroniche rispettivamente con metodo extracellulare (69 unità) ed intracellulare (39 unità).

Essi derivano da due serie indipendenti di esperimenti in cui si è cercato di definire una tipologia delle risposte e di correlarla con i fenomeni di mem-

(\*) Lavoro eseguito al Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie di Göttingen.

(\*\*) Nella seduta del 29 giugno 1974.

brana. Le unità sono state incontrate in penetrazioni microelettrodiche dirette attraverso l'area 17 ed i loro campi recettivi erano localizzati in un raggio di  $10^{\circ}$  dall'area centrale.

Gli esperimenti sono stati eseguiti in gatti anestetizzati con Nembutal, somministrato in una singola dose (30 mg/kg; i.p.) all'inizio della preparazione chirurgica e paralizzati mediante infusione di 1 ml di Flaxedil all'ora, diluito con 1,6 ml di soluzione fisiologica e 0,4 ml di fruttosio (Laevosan 40%). Gli animali erano ventilati artificialmente con controllo costante della  $PCO_2$ . Dopo la somministrazione di neosinefrina e di atropina nel sacco congiuntivale allo scopo di retrarre la membrana nittitante e dilatare la pupilla, si applicavano sulla cornea lenti a contatto. La posizione del disco ottico veniva determinata mediante proiezione del fondo dell'occhio su uno schermo traslucido, piano, posto di fronte all'animale ed allo stesso modo si valutava approssimativamente la posizione dell'area centrale [9]. Per le registrazioni si sono usate pipette capillari di vetro riempite con una soluzione di Procion Yellow al 6% ovvero di K-citrato 1,5 M. Gli elettrodi avevano resistenza di 10-70 M $\Omega$ ; essi venivano introdotti in corteccia attraverso un sistema a « camera chiusa » fissato alla teca cranica e riempito di soluzione fisiologica, ed erano diretti nell'area 17 sulla base delle mappe Otsuka e Hassler [10]. La loro posizione era valutata con criteri funzionali ed istologici. Sullo schermo, posto di fronte all'animale, venivano mossi, in campo oscuro, stimoli luminosi di forma rettangolare di larghezza  $0,5^{\circ}$  e  $4-6^{\circ}$  di lunghezza. L'intensità luminosa dello stimolo era di 1-1,5 unità logaritmiche superiore a quella del fondo, che era mantenuta nella parte inferiore dell'intervallo mesopico. Dopo una analisi preliminare del campo recettivo fatta saggiando gli stimoli manualmente questi venivano mossi automaticamente alla velocità di 3-30°/sec e le risposte analizzate « on line » mediante computer PDP 12 che forniva sia gli istogrammi post-stimolazione (IPS) che gli « averagings » dei potenziali lenti intracellulari. Allo scopo di dare migliore evidenza alle risposte di tipo inibitorio, in neuroni dotati di scarsa attività spontanea veniva eseguito il condizionamento monoculare [4, 5]. A tal fine, un secondo stimolo (stimolo condizionante) veniva mosso avanti e indietro sul campo recettivo, indipendentemente da quello principale (stimolo test) che comandava l'inizio dell'IPS. Poiché solo eccezionalmente l'attività spontanea dei neuroni del gruppo extracellulare era sufficientemente elevata da poter rilevare con sicurezza possibili componenti inibitorie della risposta, la maggior parte dei neuroni del campione extracellulare sono stati studiati con il metodo della interazione monoculare. Di norma venivano saggiate almeno due orientazioni diverse dallo stimolo test. La prima era quella che l'analisi manuale preliminare del campo recettivo indicava come la più efficace per determinare la scarica del neurone, mentre la seconda veniva posta a  $90^{\circ}$  rispetto a questa. Gli stessi stimoli venivano poi anche saggiati in assenza dello stimolo condizionante, per avere un quadro più completo della reattività del neurone. Nei neuroni del campione intracellulare non era generalmente necessario procedere ad un condizionamento

monoculare <sup>(1)</sup> per avere un quadro completo della risposta eccitatoria ed inibitoria.

Tali neuroni infatti mostravano spesso un moderato grado di attività spontanea, probabilmente dovuto ad una leggera depolarizzazione conseguente all'impalamento; inoltre, in essi la risposta si poteva valutare anche dall'« averaging » dei potenziali intracellulari.

*Le risposte ottenute con derivazioni extracellulari* (fig. 1) sono state classificate in base a criteri puramente descrittivi, basandosi sulla frequenza dei fenomeni eccitatori ed inibitori indotti dallo stimolo in movimento. Vengono chiamate di tipo A le risposte eccitatorie eseguite da una fase di inibizione (che appare nell'IPS come un avvallamento nell'attività indotta dallo stimolo

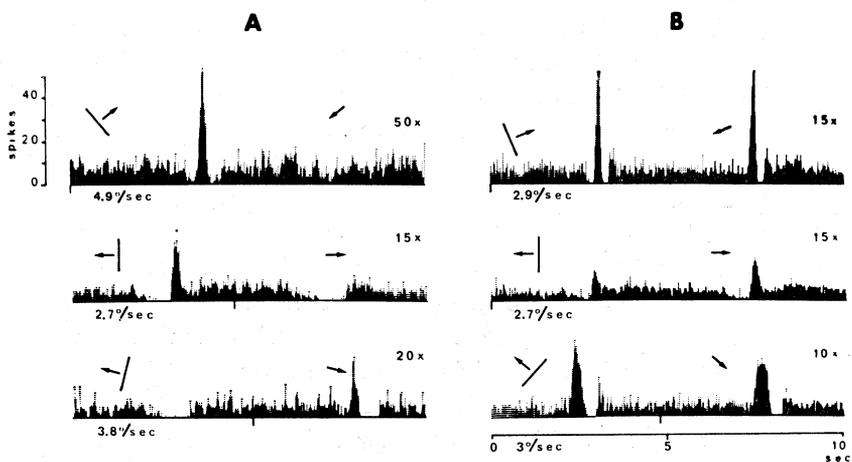


Fig. 1. - Esempi di risposte extracellulari a stimoli in movimento in neuroni corticali visivi ed in fibre genicolo-corticali.

A) dall'alto: risposte di tipo CI, B ed A, osservate con condizionamento monoculare in tre neuroni direzione-specifici dell'area 17 (istogrammi post-stimolazione). B) dall'alto: fibre genicolo-corticali di tipo on-center, off-center ed on-center, registrati dalla radiazione ottica sottostante l'area 17. Orientazione e direzione dello stimolo sono indicate dalle sbarrette e dalle frecce al di sopra di ogni istogramma. Sono anche indicate velocità dello stimolo e numero di presentazioni dello stesso. Si noti che le fibre genicolate mostrano tipi di risposta simili a quelli delle cellule corticali. Il neurone che mostra la risposta di tipo B e la fibra genicolata di tipo off-center sono stati registrati nello stesso esperimento.

condizionante) e di tipo B le risposte eccitatorie precedute da una fase di inibizione. Risposte simmetriche inibitorie-eccitatorie-inibitorie o eccitatorie-inibitorie-eccitatorie vengono chiamate rispettivamente di tipo CI e CII, mentre sono state chiamate di tipo D le risposte esclusivamente eccitatorie. Bisogna infine aggiungere che uno stimolo ad orientazione eccitatoria ottimale poteva talora attivare il neurone soltanto in una delle opposte direzioni del movimento (neuroni specifici per la direzione; 42 unità, pari al 60,8%)

(1) Il condizionamento monoculare fu comunque egualmente eseguito su taluni neuroni, anche allo scopo di riprodurre le condizioni nelle quali era stato studiato il campione extracellulare.

mentre nell'altra suscitava una risposta completamente o quasi completamente inibitoria; la quasi totalità dei neuroni mostravano risposte esclusivamente inibitorie allorché lo stimolo *test* veniva mosso con una orientazione perpendicolare a quella eccitatoria ottimale [cfr. 4, 5, 6].

TABELLA I

*Distribuzione delle risposte nel campione neuronico extracellulare (69 unità) ed in quello intracellulare (39 unità).*

Tipo di risposta	Extracellulare (numero di risposte)	Intracellulare (numero di risposte)
A . . . . .	20 (14,4%)	18 (23%)
B . . . . .	16 (11,6%)	2 (2,5%)
CI . . . . .	25 (18,1%)	13 (16,7%)
CII . . . . .	7 (5,1%)	7 (8,9%)
D . . . . .	16 (11,6%)	5 (6,4)
Inib. . . . .	42 (30,4%)	25 (32%)
Non class. . . . .	12 (8,7%)	9 (11,5%)
Totale . . . . .	138	78

È stato possibile classificare nei 5 gruppi (A, B, C, D ed inibitorio) il 90% circa delle risposte osservate; il 10% di esse ne è stato escluso non potendosi, per la loro incerta morfologia, ascriverle con sufficiente sicurezza ad uno di essi ovvero perché mostravano una più complicata organizzazione (risposte bi o trimodali, per esempio); la distribuzione delle risposte in ciascun gruppo è riportata nella Tabella I. Bisogna notare che la classificazione è stata applicata ad una popolazione neuronica omogenea dal punto di vista delle condizioni di stimolazione (dimensioni, velocità e luminosità dello stimolo) ed inoltre che, almeno in queste condizioni, il tipo di risposta di ciascun neurone è fedelmente riproducibile ripetendo la stimolazione.

Occasionalmente sono state incontrate delle fibre genicolate nella radiazione talamica sottostante l'area 17 (9 di tipo « on center » e 5 di tipo « off center », (fig. 1). Vi è una notevole rassomiglianza tra le risposte di tipo A e B dei neuroni corticali ad uno stimolo in movimento e le risposte che con lo stesso stimolo, si possono ottenere da neuroni del nucleo genicolato laterale rispettivamente di tipo « on center » e « off center ». In altri casi tali neuroni possono invece mostrare delle risposte che si avvicinano a quelle di tipo CI o CII rispettivamente. Questo dato conferma quanto già noto dalla letteratura [11] e giustifica a nostro avviso la domanda che ci si è posta con gli esperimenti

intracellulari: se cioè la risposta inibitoria osservata a livello corticale con la tecnica di interazione monoculare non rifletta in realtà fenomeni di disfacilitazione dovuti a meccanismi inibitori intratalamici.

*Le derivazioni intracellulari* hanno, nei loro aspetti generali, rispecchiato caratteri già descritti per la corteccia visiva o per altre aree corticali sensoriali [12, 13, 14]. Le unità mostravano «spikes» completamente positivi e potenziale transmembranario di riposo stabile, sul quale si iscrivevano potenziali postsinaptici eccitatori (PPSE) od inibitori (PPSI) spontanei, ed una moderata attività di scarica. I neuroni sono sopravvissuti all'impalamento per tempi variabili tra 5 e 45 minuti. Nonostante l'assenza di segni di lesione l'ampiezza dello «spike» era generalmente modesta (25-35 mV) confermando quanto descritto da altri Autori [12].

I tipi di risposte osservate possono essere classificati con gli stessi criteri usati per il campione extracellulare (Tabella I).

Ai fini della classificazione è indifferente basarsi sull'«averaging» dei potenziali lenti o sull'IPS, gli stessi risultati essendo stati ottenuti usando indipendentemente l'uno o l'altro metodo. Di fatto, le risposte eccitatorie ed inibitorie dell'IPS erano di regola correlate con depolarizzazioni ed iperpolarizzazioni della membrana. L'incidenza di risposte dei vari tipi non sembra essere significativamente diversa nel campione extracellulare ed in quello intracellulare, considerando lo scarso numero di unità di quest'ultimo.

Tuttavia, mentre i neuroni del campione extracellulare specifici per la direzione erano spesso caratterizzati da una risposta puramente inibitoria a movimenti dello stimolo in uno dei due versi lo studio intracellulare permette di evidenziare anche in quest'ultimo caso l'esistenza di un influsso eccitatorio subliminale.

Durante le risposte inibitorie si possono talora riconoscere nei singoli oscillogrammi gruppi di potenziali iperpolarizzanti con il tipico andamento di PPSI. Altri criteri confermano questa identificazione, e suggeriscono che la iperpolarizzazione della membrana sia effettivamente dovuta a meccanismi postsinaptici. Infatti la risposta iperpolarizzante può: *a*) bloccare la scarica da lesione del neurone (fig. 2); *b*) sopravvivere a drastiche depolarizzazioni della cellula che inattivino il meccanismo di generazione dello spike; *c*) può essere trasformata in depolarizzazione mediante iniezione di corrente negativa. (fig. 2).

L'inversione del potenziale iperpolarizzante può essere ottenuta gradualmente, aumentando via via l'intensità della corrente iniettata. Ai più bassi valori efficaci di questa, soltanto la prima parte del potenziale si inverte, mentre l'inversione diviene completa per una corrente di  $-2$  nA. Le osservazioni di cui sopra si applicano sia al caso di componenti inibitorie della risposta a stimoli mossi secondo l'orientazione eccitatoria ottimale o quasi ottimale, sia nel caso di risposte puramente inibitorie a stimoli mossi secondo orientazioni lontane da questa.

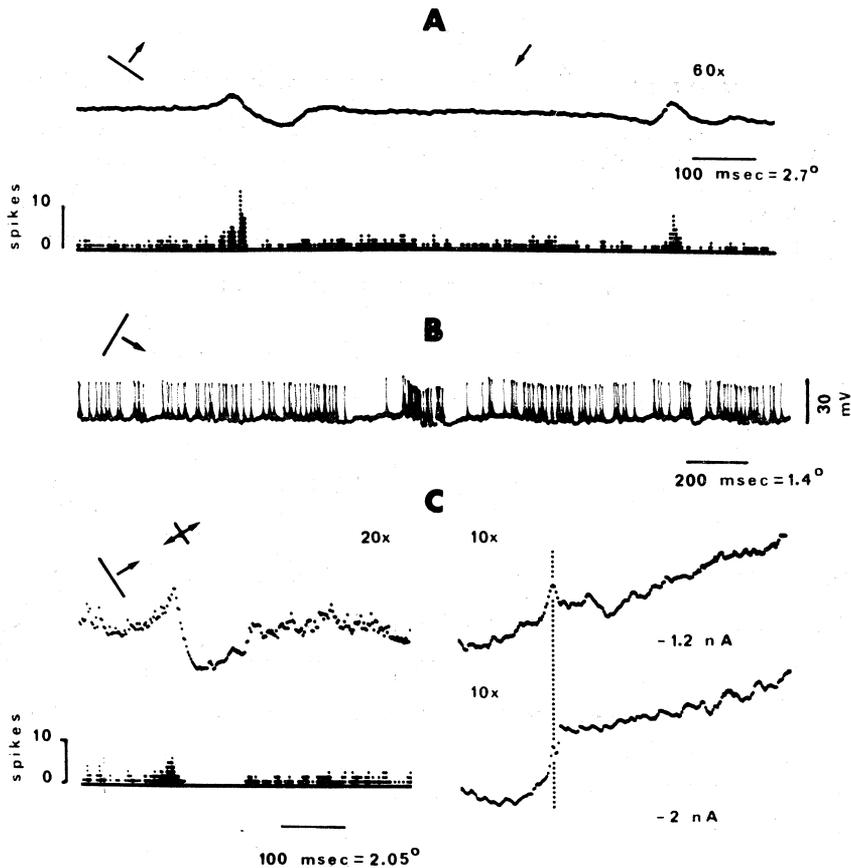


Fig. 2. - Aspetti intracellulari delle risposte a stimoli in movimento in neuroni dell'area 17.

A) « averaging » dei potenziali lenti (traccia superiore) ed istogramma post-stimolazione di un neurone che mostra una risposta di tipo A ed una delle direzioni di movimento di tipo CI alla direzione opposta. B) registrazione oscillografica da un altro neurone che mostra una risposta di tipo CI sovrapposta ad una scarica da lesione. Quest'ultima viene bloccata dalla componente inibitoria della risposta. C) a sinistra: « averaging » dei potenziali lenti e simultaneo istogramma post-stimolazione; a destra: « averaging » della stessa risposta intracellulare durante l'iniezione di corrente negativa (due diverse intensità, come indicato) che inverte la componente inibitoria. La linea tratteggiata verticale è stata disegnata come riferimento, per segnare la posizione dell'EPSP. Sono anche indicate orientazione e direzione dello stimolo e numero di presentazioni dello stesso.

Alcune osservazioni emerse nel corso di questi esperimenti sembrano sottolineare come la risposta di un neurone ad uno stimolo in movimento fornisca un quadro essenzialmente dinamico della organizzazione del campo recettivo e come questa sia difficilmente riducibile ad una distribuzione spaziale statica di zone eccitatorie ed inibitorie. Se infatti quest'ultima avesse il ruolo principale nel determinare l'organizzazione della risposta, la relazione spaziale reciproca tra eccitazione ed inibizione osservata nell'IPS o nell'« averaging » dovrebbe restare la medesima nei due versi del movimento. Vi sarebbe pertanto da attendersi che a risposte di tipo A per movimenti in un verso seguissero, risposte di tipo B a movimenti nel verso opposto, mentre risposte di tipo simmetrico quali le C rimarrebbero immutate nei due versi. Tale previsione è tuttavia risultata vera in un numero molto basso di casi, la maggior parte

TABELLA II

*Relazione tra verso di movimento dello stimolo e tipo di risposta.*

Extracellulare		Intracellulare	
Tipo	Nr. Unità	Tipo	Nr. Unità
RISPOSTE IDENTICHE NEI DUE VERSI			
A/A . . . . .	1	A/A . . . . .	3
B/B . . . . .	1	B/B . . . . .	1
CI/CI . . . . .	2	CI/CI . . . . .	1
D/D . . . . .	5	CII/CII . . . . .	2
		D/D . . . . .	2
n.c./n.c. . . . .	2	n.c./n.c. . . . .	2
Totale . . . . .	11 (15,9%)	Totale . . . . .	11 (40,7%)
RISPOSTE DIFFERENTI NEI DUE VERSI			
A/inib. . . . .	11		
B/inib. . . . .	11		
CI/inib. . . . .	12	CI/inib. . . . .	1
CII/inib. . . . .	1		
D/inib. . . . .	5		
n.c./inib. . . . .	2		
Totale . . . . .	42 (60,8%)	Totale . . . . .	1 (3,7%)
A/B . . . . .	1		
A/CI . . . . .	3	A/CI . . . . .	7
A/CII . . . . .	1	A/CII . . . . .	2
A/n.c. . . . .	2	A/n.c. . . . .	3
B/CII . . . . .	2		
CI/CII . . . . .	3	CI/CII . . . . .	1
CI/n.c. . . . .	3	CI/n.c. . . . .	1
D/n.c. . . . .	1	D/CI . . . . .	1
Totale . . . . .	16 (23,2%)	Totale . . . . .	15 (55,5%)

dei quali appartiene al gruppo di risposte CI (cfr. Tabella II). Sono invece possibili tutte le altre combinazioni, comprese quelle che sembrano indicare un completo rovesciamento dei rapporti spaziali tra eccitazione ed inibizione, come quando per entrambi i versi del movimento compaiono risposte asimmetriche dello stesso tipo quali A o B. Bisogna infine notare che anche quando esisteva la prevista corrispondenza spaziale tra le risposte evocate nei due versi, come nel caso di risposte del gruppo CI, l'inibizione più forte era per entrambi i versi quella che seguiva l'eccitazione.

Per concludere, i dati osservati ci inducono a ritenere che le risposte inibitorie osservate con il metodo del condizionamento monoculare siano dovute alla influenza di meccanismi inibitori postsinaptici, come da altri era stato suggerito sulla base di argomentazioni indirette [6]. Poiché la latenza dei PPI evocati nella corteccia visiva per stimolazione della radiazione talamica suggerisce che essi siano mediati da almeno un interneurone [15, 16], si potrebbe dunque dedurre che le risposte inibitorie osservate con il metodo del condizionamento monoculare siano dovute ad interazione tra elementi corticali. Bisogna tuttavia rilevare che i risultati qui esposti non permettono di escludere che componenti di tipo disfacilitatorio possano anch'esse contribuire alla risposta osservata extracellularmente e che d'altro canto questo metodo di studio possa fornire un quadro alquanto semplificato e talora fuorviante del complesso delle afferenze eccitatorie ed inibitorie che raggiungono il neurone corticale.

Fattori diversi dalla mera localizzazione spaziale di zone eccitatorie ed inibitorie nel campo recettivo possono intervenire nel determinare l'organizzazione della risposta ad uno stimolo visivo in movimento. La natura e l'importanza di tali fattori nel determinare la specifica reattività dei neuroni corticali visivi sarà discussa in altra sede [8].

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] D. H. HUBEL e T. N. WIESEL (1959) - « J. Physiol. », 148, 574.
- [2] D. H. HUBEL e T. N. WIESEL (1962) - « J. Physiol. », 168, 106.
- [3] J. D. PETTIGREW, T. NIKARA e P. O. BISHOP (1968) - « Exp. Brain Res. », 6, 373.
- [4] G. H. HENRY, P. O. BISHOP e J. S. COOMBS (1969) - « Vision Res. », 9, 1289.
- [5] P. O. BISHOP, J. S. COOMBS e G. H. HENRY (1971) - « J. Physiol. », 219, 659.
- [6] P. O. BISHOP, J. S. COOMBS e G. H. HENRY (1973) - « J. Physiol. », 231, 31.
- [7] L. A. BENEVENTO, O. D. CREUTZFELDT e U. KUHN (1972) - « Nature », 238, 124.
- [8] G.M. INNOCENTI, O. D. CREUTZFELDT e L. FIORE. - In preparazione.
- [9] R. FERNALD e R. CHASE (1971) - « Vision Res », 11, 95.
- [10] R. OTSUKA e R. HASSLER (1962) - « Arch. Psychiat. Nervenkr. », 203, 212.
- [11] B. DREHER e K. J. SANDERSON (1973) - « J. Physiol. », 234, 95.
- [12] O. CREUTZFELDT e M. ITO (1968) - « Exp. Brain Res. », 6, 324.
- [13] G.M. INNOCENTI e T. MANZONI (1972) - « Arch. ital. Biol. », 110, 322.
- [14] F. DE RIBEAUPIERRE, M. H. GOLDSTEIN e G. YENI-KOMSHIAN (1972) - « Brain Res. », 48, 185.
- [15] S. WATANABE, M. KONISHI e O. CREUTZFELDT (1966) - « Exp. Brain Res. », 1, 272.
- [16] K. TOYAMA e K. MATSUNAMI (1968) - « Brain Res », 10, 473.