
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ALBERTO STEFANELLI, EMILIA CATALDI, LUISANNA
IERADI

**Specificità sinaptica in sferule riaggregate di
materiale dell'area acustica bulbare di embrione di
pollo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 63 (1977), n.6, p. 593–597.*
Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1977_8_63_6_593_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1977_8_63_6_593_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. — *Specificità sinaptica in sferule riaggregate di materiale dell'area acustica bulbare di embrione di pollo* (*). Nota di ALBERTO STEFANELLI, EMILIA CATALDI e LUISANNA IERADI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Studies were performed on spherules of approximately 100–300 μ in diameter obtained from the reaggregation of dissociated bulbar acoustic regions of 11-days incubation chick embryos. These spherules were cultured for 15 days and then prepared for electron microscope observations.

We did ascertain that cellules of the *nucleus magnocellularis* are able to differentiate also in these *in vitro* conditions of anatomical and functional isolation and without any possibility of a root coclear fibers connection. Moreover, the cell body of these isolated cells displays specific synaptic connections with fibers that are certainly *not* root fibers, but with a typical calyciform model, as normally occurs for root coclear fibers only.

We consider this finding a further experimental demonstration that it is the receiving neuron which determines the specific synaptic model, whatever the nature of the afferent axon. This property seems obviously acquired by the receiving neuron at the moment of the specific hystogenetic determination.

Le nostre ricerche sulla sinaptogenesi *in vitro*, recentemente pubblicate in questi « Rendiconti » ('76, '77) e in « Cell and Tissue Research » ('77), oltre ad aver dimostrato la capacità di autodifferenziamento di molti neuroni (cellule di Purkinje, cellule di Golgi e cellule granulari della corteccia cerebellare e cellule mitrali e granuli dei bulbi olfattori) isolando e riaggregando in coltura, con la tecnica di Moscona, piccoli frammenti di cervelletto e di bulbo olfattorio di embrioni di pollo di 10–11 giorni, hanno anche dimostrato la capacità sinaptogenica con la formazione di sistemi sinaptici complessi e specifici. La tecnica da noi impiegata ci è sembrata anche molto favorevole per indagare sul valore determinante dei neuroni, che si uniscono sinapticamente, trasmittente e ricevente, sul modello della sinapsi.

Come abbiamo ricordato nelle precedenti Note, già Mugnaini ('70) aveva ventilata l'ipotesi della importanza del neurone ricevente, ipotesi poi adombrata anche da altri Autori (Palay e Palay '71).

Un aspetto particolarmente suggestivo ci è fornito dalla differente struttura delle sinapsi di collaterali di uno stesso neurone su cellule di centri differenti. Tipico l'esempio delle fibre radicolari cocleari che nel bulbo si dividono dicotomicamente mettendosi un ramo in rapporto con il nucleo angolare mediante un delicato plesso pericellulare e l'altro ramo con il nucleo

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata « G. B. Grassi » della Università di Roma con un contributo del CNR e con la collaborazione tecnica del sig. Gentili per le colture *in vitro* e del sig. Scorsini per la microscopia elettronica.

(**) Nella seduta del 10 dicembre 1977.

magnocellulare mediante tipici calici noti come *campanule di Held* (Cajal '08, Sanders '29, Levi Montalcini '49).

Con le nostre esperienze, isolando, disgregando e riaggregando frammenti di cervelletto e di bulbo olfattorio di embrioni di pollo di 10-11 giorni di incubazione e coltivando le sferulette (di circa 100-300 micron di diametro) in fiaschette di Erlenmayer mantenute in agitazione per circa 21 giorni (cioè ad una età corrispondente a pulcini di 10-11 giorni dalla schiusa), in condizioni pertanto di assenza di qualsiasi afferenza estrinseca, abbiamo ottenute sinapsi altamente specifiche quali i «glomeruli» della corteccia cerebellare che nell'embrione integro si formano tra le fibre muschiose e i dendriti delle cellule granulari, e sinapsi *en marron* che si formano tra le cellule di Golgi e collaterali delle fibre rampicanti, fibre di origine extracerebellare. Così abbiamo ottenute sinapsi dendro-dendritiche tra cellule mitrali e cellule granulari dei bulbi olfattori che, secondo diversi ricercatori (E. L. Withe '72, Hinds '70, Reese e Shephard '73), si formerebbero sotto l'impulso dell'*input* periferico proveniente dalle *phyla olfactoria*.

Se per i glomeruli cerebellari può sorgere il dubbio che siano state aggregate anche cellule del nucleo dentato che possono mandare collaterali di tipo muschioso alla corteccia, come ha recentissimamente descritto Chen Palay⁽¹⁾ nella scimmia, con metionina marcata, non ci risultano fibre rampicanti di natura intrinseca al cervelletto e pertanto le sinapsi *en marron* che abbiamo descritte sono da ritenersi indotte dalle cellule di Golgi su fibre intrinseche *non* rampicanti. Colture di corteccia cerebellare pura di embrioni di 10 giorni sono in allestimento, ma già quelle eseguite con embrioni di 18 giorni ci mostrano la presenza di protoglomeruli.

Per quanto riguarda le sinapsi dendro-dendritiche del bulbo olfattorio risulta che tale peculiarità sinaptica è, per lo meno *in vitro*, indipendente da ogni *input*, ma è espressione di una attitudine sinaptogenica intrinseca, da ritenersi acquisita al momento della determinazione istogenetica, che si manifesta quando cellule mitrali e cellule granulari vengono, negli aggregati, casualmente a contatto.

Estendendo le nostre ricerche con la tecnica della coltura *in vitro* di riaggregati ad altri centri, abbiamo voluto saggiare il comportamento proprio dei centri cocleari, tenendo presente come la specifica sinapsi a campanula sia formata nell'embrione tra un ramo delle fibre radicolari del nervo cocleare e le cellule del nucleo magnocellulare. Nel pollo sono solo i rami ventrali delle fibre radicolari a formare questo rapporto con il nucleo magnocellulare, mentre quelli dorsali vanno al nucleo angolare; incerta è invece l'innervazione radicolare diretta del nucleo laminare che è in rapporto con fibre cocleari secondarie (Sanders '29, Levi Montalcini '49).

Abbiamo pertanto applicato la stessa tecnica degli esperimenti precedenti sopra accennati: disgregazione e riaggregazione in sferule dell'area

(1) V. CHAN-PALAY, *Cerebellar dentate nucleus*, Springer-Verlag. Bertin N. S., 1977.

bulbare cocleare di embrioni di pollo di 11 giorni e coltivazione poi delle sferullette per circa 15 giorni. Le sferule sono state poi osservate al microscopio ottico in sezioni semifine (Tav. I, fig. 3); risultano generalmente di tre strati concentrici: un nucleo centrale (1) formato da grosse cellule nervose immerse in un neuropilo amielinico e fibre gliari, uno strato periferico (3) costituito in prevalenza da cellule gliari e fibre gliari e nervose, e uno strato intermedio (2) formato da grossi rami dendritici, da fibre nervose e gliari (non vi è traccia di mielinizzazione).

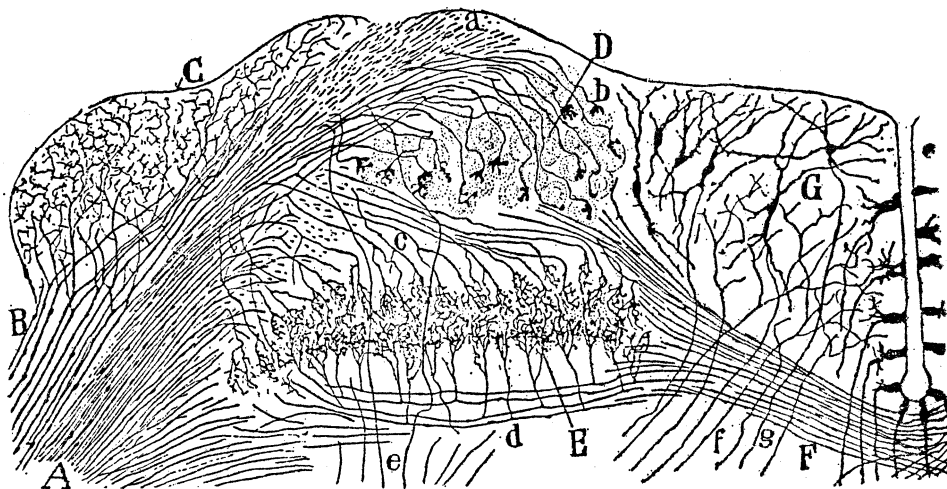


Fig. 1. — Figura originale di Ramon y Cajal — da *Histologie du Système nerveux...* pubblicato dal Consejo Superior de Investigaciones científicas di Madrid (1952) — illustrante la divisione dicotomica delle fibre radicolari cocleari (B) di pollo. Un ramo si sinapta con tipiche campanule con il n. magnocellulare (D) ed uno con il n. angolare (C) mediante un fine plesso.

Secondo le ricerche di Cajal con il metodo di Golgi, le sinapsi nel nucleo magnocellulare appaiono negli Uccelli non molto dissimili da quelle descritte da Held nei Mammiferi: la fibra radicolare che, dopo la divisione dicotomica si porta nel nucleo magnocellulare viene a contatto con le cellule dilatandosi a calice dai cui bordi si dipartono digitazioni con bottoni terminali (fig. 2).

Le osservazioni al microscopio elettronico ci hanno permesso di osservare diversi aspetti di tipiche campanule di Held: se la sezione capita secondo il piano *aa* si ha il profilo di un ampio contatto (Tav. II, fig. 5); se capita secondo il piano *bb* si osservano i profili delle numerose digitazioni (Tav. I, fig. 4). In queste sinapsi a campanula tutta la dilatazione è ripiena di vescicole presinaptiche di tipo sferico; frammisti appaiono anche granuli catecolaminici e mitocondri. Lungo la estesa zona di contatto si identificano diversi punti attivi caratterizzati da ispessimento delle membrane pre- e post-sinaptica e da un maggior addensamento di vescicole sul lato pre-sinaptico.

Gli ispessimenti sono simmetrici, ma in alcuni casi si nota anche un *fuzz* postsinaptico più o meno evidente. Si possono notare sovente digitazioni della doppia membrana verso il calice (↗) e digitazioni, in genere della sola membrana postsinaptica nel corpo cellulare.

Nei bottoni sinaptici delle digitazioni della campanula si nota una notevole ricchezza di vescicole elettrolucenti oltre a qualche granulo di tipo catecolaminico. Anche in questa sede si notano punti attivi in cui le membrane appaiono simmetricamente ispessite ed è presente ben conformato un *post-synaptic webb*.

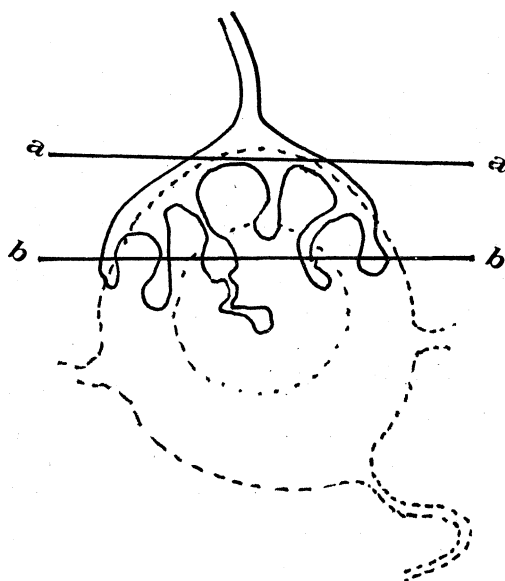
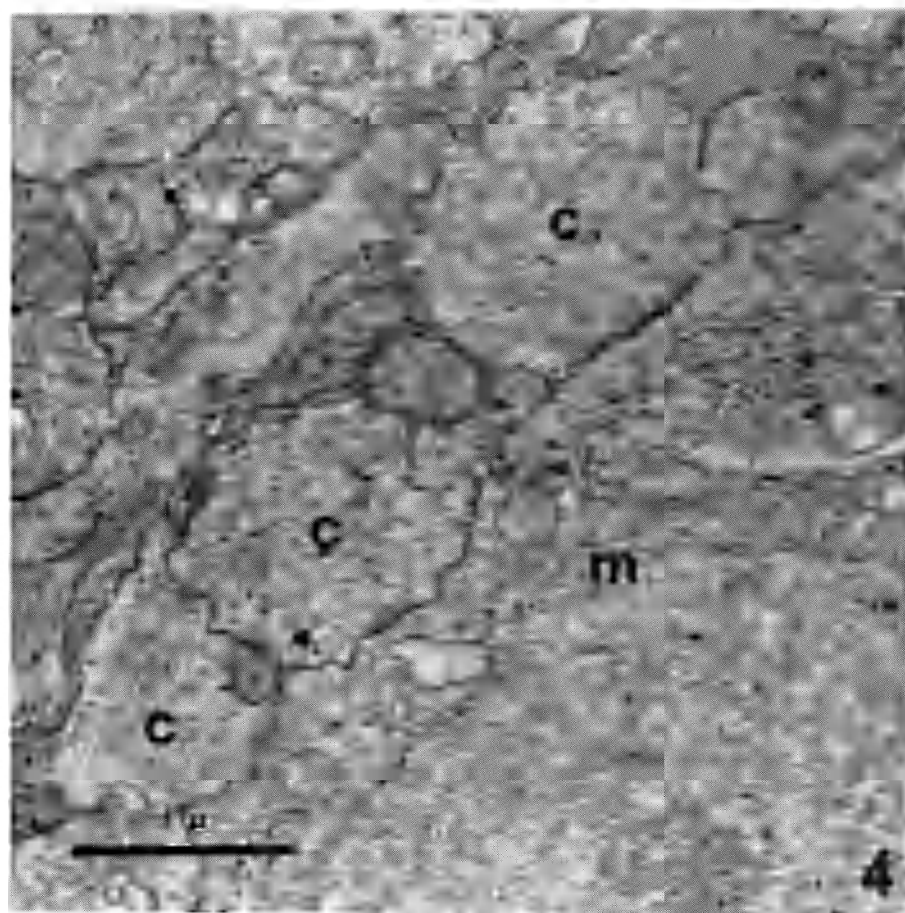
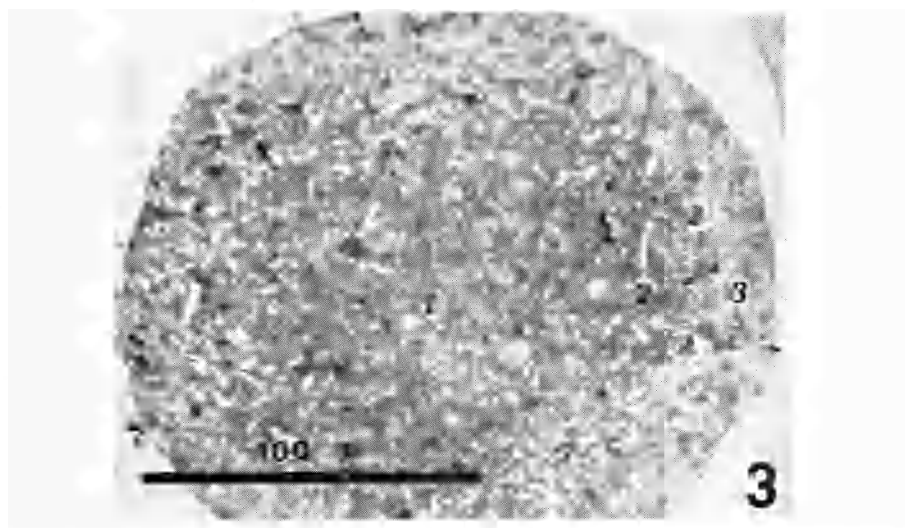
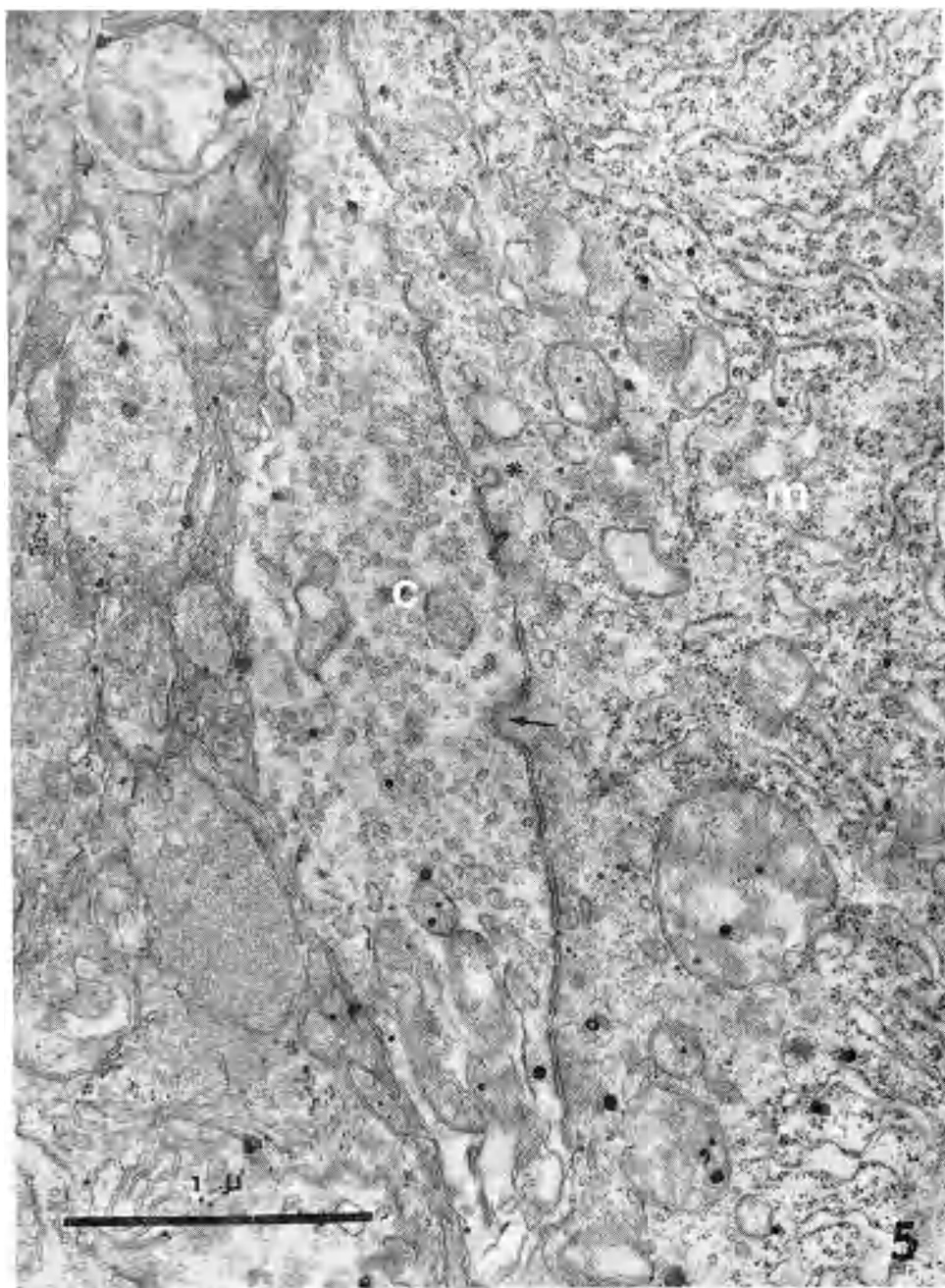


Fig. 2. - Schema dei piani di sezione di una cellula del n. magnocellulare e della sua campanula sinaptica: *aa* della Tav. II, fig. 5; *bb* della Tav. I, fig. 4.

In conclusione, con le presenti colture di riaggregati di centri cocleari di embrione di pollo, risulta che le cellule del nucleo magnocellulare si differenziano anche in questa condizione di isolamento e quindi in assenza di fibre radicolari, assumendo le caratteristiche notevoli dimensioni, la forma globosa con pochi dendriti. Ciò non è in contraddizione con la dimostrazione che *in vivo* la mancanza di rapporto con le fibre radicolari porta ad involuzione (Levi Montalcini '49). Il dato più interessante è tuttavia la dimostrazione della capacità di queste cellule di unirsi sinapticamente con fibre che certamente *non sono radicolari* determinando tuttavia un modello sinaptico specifico di tipo campanula di Held.

Riteniamo pertanto di aver dimostrato sperimentalmente che le campanule di Held del centro magnocellulare degli Uccelli non sono determinate dalla natura delle fibre, ma sono determinate dal neurone ricevente.





BIBLIOGRAFIA

- ARIENS KAPPERS C. U., HUBER e CROSBY (1931) - *The comparative anatomy of the nervous system of Vertebrates including Man*. MacMillan N. Y.
- BECCARI N. (1943) - *Neurologia comparata anatomo-funzionale dei Vertebrati compreso l'Uomo*. Sansoni.
- BOORD R. L. (1969) - *The anatomy of the avian auditory system*. In: «Annals of the New York Academy of Science», 167, 186-198.
- LEVI-MONTALCINI R. (1949) - *The development of the acustico-vestibular centers in the chick embryo in the absence of the afferent root fibers and descending fiber tracts*, «J. Comp. Neur.», 91, 209-234.
- LENN N. J. e REESE T. S. (1966) - *The fine structure of nerve endings in the nucleus of the trapezoid body and the ventral cochlear nucleus*, «Am. J. Anat.», 118, 375-390.
- RUBEL E. W., SMITH D. J. e MILLER L. C. (1976) - *Organization and development of the brain stem auditory nuclei of the chicken ontogeny of n. magnocellularis and n. laminaris*, «J. Comp. Neur.», 166, 469-490.
- PERKS T. N. e RUBEL E. W. (1975) - *Organisation and development of the brain stem auditory nuclei of the chicken: Organization of projection from n. magnocellularis to n. laminaris*, «J. Comp. Neur.», 164, 435-448.
- STEFANELLI A., CATALDI E. e IERADI L. A. (1976) - *Sinapsi interneuroniche in aggregati di cellule cerebellari di embrione di pollo in coltura*, «Rend. Acc. Naz. Lincei», 59, 831-835.
- STEFANELLI A., CATALDI E. e IERADI L. A. (1976) - *Sinapsi dendro-dendritiche ed altre sinapsi in sferule riaggregate e coltivate in vitro di bulbi olfattori di embrione di pollo*, «Rend. Acc. Naz. Lincei», 61, 653-660.
- STEFANELLI A., CATALDI E. e IERADI L. A. (1977) - *Specific synaptic systems in reaggregated spherules from dissociated chick cerebellum cultivated in vitro*, «Cell Tiss. Res.», 182, 311-325.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I

- Fig. 3. - Sezione semifina di una sferula riaggregata da materiale disgregato dall'area cocleare bulbare di embrione di pollo di 10 gg di incubazione e coltivata per 21 gg. Notare le tre zone strutturali [1, 2, 3].
- Fig. 4. - Sezione ultrasottile secondo il piano *bb* (fig. 2) di una cellula del nucleo magnocellulare differenziata in una sferula coltivata per 15 gg. Notare le sezioni delle digitazioni ripiene di vescicole presinaptiche.

TAVOLA II

- Fig. 5. - Sezione ultrasottile di una cellula del n. magnocellulare secondo il piano *aa* (fig. 2) differenziata in una sferula coltivata per 15 gg. Notare l'ampio contatto della campanula con il pirenoforo, con punti attivi e digitazioni delle membrane in contatto.