
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MARIA ELENA GRAZIOSI, ELISABETTA TUCCI, ROBERTO
CAMINITI, GIORGIO INNOCENTI

**Modificazioni dello sviluppo postnatale delle
connessioni callosali somatosensoriali del gatto a
seguito di lesioni parziali delle aree somatiche**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 72 (1982), n.3, p. 169–175.*
Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1982_8_72_3_169_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1982_8_72_3_169_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. — *Modificazioni dello sviluppo postnatale delle connessioni callosali somatosensoriali del gatto a seguito di lesioni parziali delle aree somatiche* (*). Nota di MARIA ELENA GRAZIOSI, ELISABETTA TUCCI, ROBERTO CAMINITI e GIORGIO INNOCENTI, presentata (**) dal Corrisp. O. PINOTTI.

SUMMARY. — The distribution of callosal neurones of the first somatosensory area (S1), projecting to contralateral second somatosensory area (S2), was studied with horseradish peroxidase in adult cats in which the injected S2 area had been deprived of some of its association and callosal input by an earlier lesion of S1 associated with a lesion of contralateral S2, performed on postnatal days 5 to 30. The distribution of callosal cells in S1 of animals subjected to cortical lesions on postnatal day 14 (2 cases) and 30, was in all respects similar to the controls. Callosal neurones were, in fact, selectively distributed only to parts of regions of the forepaw, trunk and hindlimb representation. However, the normally acallosal regions of S1 contained scattered neurones in the animal with cortical lesion inflicted on day 5. The partial filling-in of the regions of S1, normally devoid of callosal neurones, is probably due to preservation to adulthood of some juvenile callosal neurones which otherwise would have been eliminated or would have lost their callosal branch. Previous studies showed, in fact, that in the early postnatal period, callosal neurones are widely distributed through area S1 in kittens. Some interpretations of the findings are discussed.

Nelle aree visive (V1-V2) e somatiche (S1-S2) della corteccia cerebrale del gatto, i neuroni di origine del corpo calloso (neuroni callosali) sono presenti solo in limitate zone delle rappresentazioni retiniche e corporee [18, 8, 2]. Vaste regioni di tali aree sono del tutto prive o contengono solo pochi neuroni callosali. Alla nascita, invece, questi sono distribuiti sull'intera estensione delle rappresentazioni della periferia sensoriale [10, 9]. Nel corso dei primi tre mesi di sviluppo postnatale, molti neuroni callosali scompaiono dalle rispettive zone corticali di origine, sia nelle aree visive che somatiche. Il « mosaico » finale della distribuzione dei neuroni callosali nelle aree sensoriali primarie si otterrebbe, quindi, non attraverso l'aggiunta di nuove « tessere », ma piuttosto attraverso la riduzione di quelle preesistenti.

I fattori responsabili di tale processo sono in gran parte ignoti. Ricerche recenti effettuate con lo scopo di studiare il ruolo che l'esperienza sensoriale giuoca nello sviluppo e maturazione dei sistemi cortico-callosali delle aree visive del gatto [11, 12], hanno mostrato che la deprivazione binoculare, indotta alla nascita, provoca una riduzione notevole del numero di cellule callosali, rispetto

(*) Lavoro eseguito col sussidio del CNR e del Ministero P. I. nell'Istituto di Fisiologia umana dell'Università di Ancona e nell'Istituto di Anatomia umana dell'Università di Losanna.

(**) Nella seduta del 13 marzo 1982.

ai controlli normali. La deprivazione monoculare o lo strabismo precoci inducono, invece, un certo grado di « stabilizzazione » di neuroni callosali altrimenti destinati a scomparire in quanto tali [11]. Queste ultime manipolazioni sperimentali non hanno consentito tuttavia di preservare, anche nell'animale adulto, quella distribuzione esuberante di cellule callosali presente alla nascita. Quindi, anche se l'esperienza sensoriale svolge un ruolo evidente, altri fattori devono necessariamente partecipare alla maturazione dei sistemi efferenti callosali. Alcuni fattori potrebbero esercitare la loro influenza sul territorio terminale degli assoni callosali, ove una certa competizione per lo spazio terminale [5,7] condizionerebbe il formarsi o meno di connessioni permanenti. La distribuzione finale dei neuroni callosali potrebbe dipendere, pertanto, dal successo dei loro assoni in tale competizione.

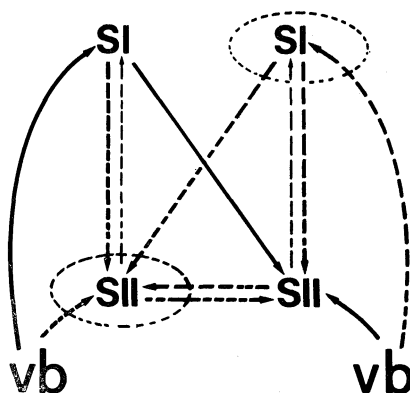


Fig. 1. - Schema dei principali sistemi di fibre afferenti dell'area somatica seconda. Le linee tratteggiate indicano i sistemi che vanno incontro a degenerazione (anterograde o retrograda) a seguito di ablazione delle aree somatica prima dell'emisfero destro e somatica seconda di quello sinistro. Le linee di diverso spessore indicano la diversa densità delle proiezioni. SI, SII e VB indicano, rispettivamente, l'area somatica prima, l'area somatica seconda ed il complesso ventrobasale del talamo. Le zone di ablazione sono indicate da un ovoide tratteggiato.

L'organizzazione dei sistemi afferenti dell'area S2 (fig. 1) offre un modello ideale per saggiare tale ipotesi. Su quest'area convergono infatti quattro gruppi di fibre afferenti, topograficamente organizzate [13]: fibre callosali, che originano nelle aree S1 ed S2 dell'emisfero contralaterale, fibre associative, originate nell'area S1 ipsilaterale, fibre talamo-corticali dal complesso ventro-basale ipsilaterale. Tale molteplicità di afferenze dovrebbe comportare, durante lo sviluppo, un certo grado di competizione per lo spazio terminale tra assoni di uguale e/o differente origine. Tali assoni degenerano in risposta alla distruzione delle loro cellule di origine. Pertanto, la rimozione, nei primi giorni di vita postnatale, delle afferenze associative dell'area S2 (mediante ablazione dell'area S1 ipsilaterale) e di parte di quelle callosali (mediante rimozione dell'area S2 contralaterale) dovrebbe determinare una disponibilità di spazio terminale che potrebbe essere « colonizzato » dagli assoni delle cellule callosali transienti

dell'area S1 contralaterale. Un certo numero di tali cellule potrebbe pertanto essere preservato in quest'area, in zone che normalmente ne sono prive.

A fine di verificare tale ipotesi 4 gattini di età compresa tra 5 e 30 giorni sono stati sottoposti ad ablazione, mediante aspirazione, di parte della area S1 dell'emisfero destro e dell'area S2 di quello sinistro.

L'intervento chirurgico è stato eseguito in asepsi, in corso di anestesia con cloridrato di ketamina (15 mg./Kg., i.m.). Dopo l'intervento, i gattini venivano riportati alle loro madri e lasciati sopravvivere per almeno 3 mesi. La distribuzione delle cellule callosali nell'area S1 dell'emisfero sinistro è stata studiata mediante il trasporto assonico retrogrado di perossidasi di rafano (HRP). Tale enzima (50 % in soluzione fisiologica) è stato iniettato, mediante microsiringa, nell'area S2 di destra dei 4 animali, anestetizzati con cloridrato di ketamina (25 mg./Kg., i.m.). Dopo 48 ore di sopravvivenza, gli animali venivano anestetizzati con Nembutal (40 mg./Kg., i.p.) e perfusi per via cardiaca con soluzione fisiologica seguita da una miscela di 3 % paraformaldeide, 2 % saccarosio in tampone fosfato (pH 7,3-7,6). I cervelli venivano prelevati e posti in un bagno di lavaggio costituito da tampone fosfato e saccarosio al 20 %, per 2 ore. Infine venivano tagliati, in piani coronali, al microtomo congelatore (sezioni istologiche di 80 μ) e trattati con tetrametil-benzidina (TMB) per la evidenziazione istochimica della perossidasi, secondo il protocollo di Mesulam [15]. Fette alterne dell'emisfero di iniezione e del talamo ipsilaterale sono state trattate con diaminobenzidina e cloruro di cobalto (DAB-Co) [1].

Le distribuzioni, tangenziale e radiale, dei neuroni callosali sono state riprodotte graficamente mediante un *computer-microscope* [4]. Nelle aree S1 ed S2 lese, l'estensione delle zone di lesione è stata valutata sulla base delle caratteristiche istologiche del tessuto nervoso. L'estensione della diffusione di HRP nelle sedi di iniezione è stata anch'essa valutata mediante il *computer-microscope*.

La fig. 2 mostra la distribuzione dei neuroni callosali nell'area S1, a seguito di iniezioni di HRP nell'area S2 di un gatto adulto portatore di lesioni corticali eseguite 30 giorni dopo la nascita. I neuroni callosali sono rappresentati da grandi cellule piramidali della parte profonda del III strato e, sebbene in minor misura, da cellule piramidali e fusiformi del VI strato. Nelle regioni di rappresentazione dei distretti segmentali del corpo, essi sono presenti in 3 zone di S1: nel giro sigmoideo laterale (GSL), in una regione di rappresentazione della parte distale dell'arto anteriore [2], nella parte centrale del giro sigmoideo posteriore, in una regione di rappresentazione del tronco [2], nella parte più mediale di tale giro e nell'adiacente giro prespleniale, in una regione di rappresentazione dell'arto posteriore [14]. Mentre, ai livelli più rostrali, la loro distribuzione medio-laterale è quasi del tutto continua, a livelli intermedi e caudali di S1 questa diviene discontinua a causa di una zona acallosale che include le parti più mediali del GSL e quelle più laterali del GSP. Un'altra regione relativamente priva di cellule callosali può essere osservata nella corteccia che fiancheggia il braccio mediale del solco ansato. Tale distribuzione, è in ogni rispetto simile a quella osservata in precedenza negli animali adulti normali [2]. Risultati del tutto simili sono

stati ottenuti nei due animali portatori di lesioni corticali eseguite 15 giorni dopo la nascita.

La fig. 3 mostra la distribuzione delle cellule callosali nell'area S1, a seguito di iniezioni di HRP in S2 di un animale portatore di lesioni corticali eseguite

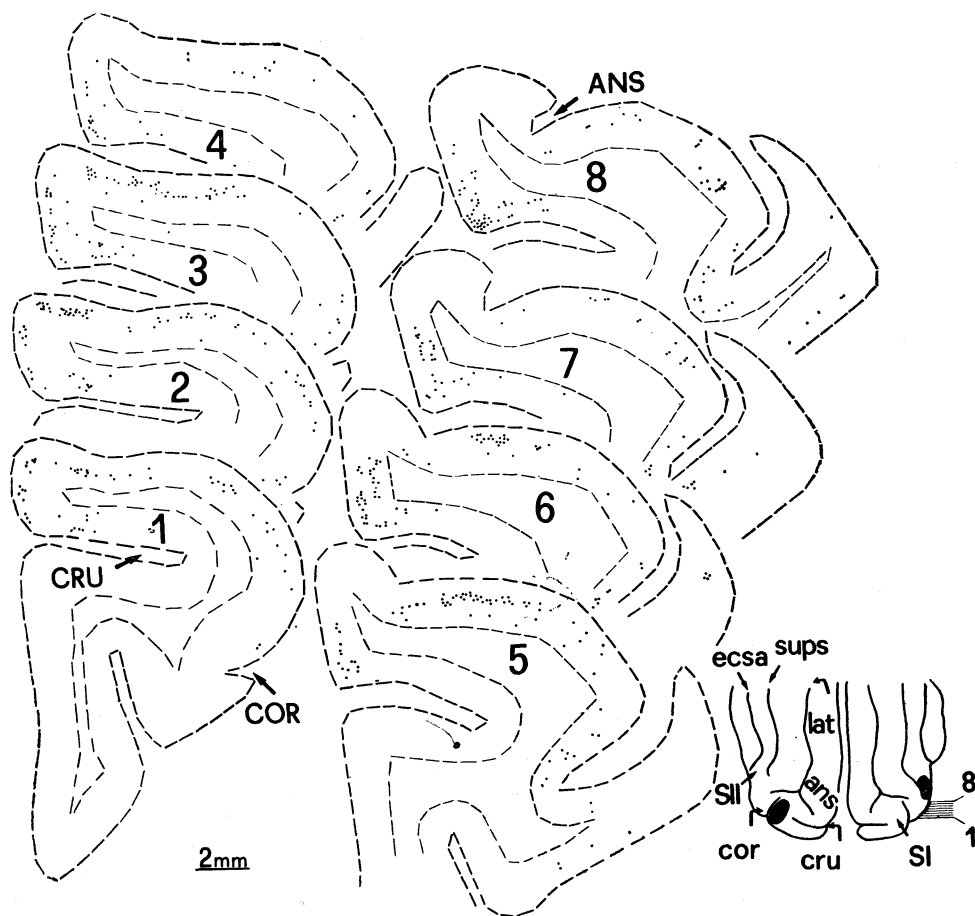


Fig. 2. - Ricostruzione, eseguita mediante *computer-microscope*, della distribuzione dei neuroni callosali (indicati da punti) a diversi livelli rostro-caudali (1-8) dell'area S1 di un gatto adulto portatore di lesioni corticali (zone scure sulla figura del cervello) eseguite 30 giorni dopo la nascita. Le linee tratteggiate grosse e sottili, sulle singole sezioni, indicano, rispettivamente, i limiti del I e VI strato della corteccia cerebrale. Cru, cor, ans, ecca, sup e lat indicano, rispettivamente, i solchi crociato, coronale, ansato, ectosilvano anteriore, soprasilvano e laterale. S1 ed S2 indicano, rispettivamente, le aree somatiche prima e seconda.

5 giorni dopo la nascita. Come negli animali operati a 30 ed a 15 giorni e nei controlli normali, i neuroni callosali sono prevalentemente distribuiti nel GSL, nel GSP e nel giro prespleniale. Tuttavia, a differenza di questi ultimi, essi sono ora presenti in discreto numero, anche in quelle regioni di S1 che normalmente ne sono prive, in particolare nella corteccia della parte più mediale del GSL.

Questi risultati mostrano che le ablazioni corticali, specificate in precedenza, determinano una modesta espansione della distribuzione dei neuroni callosali dell'area S1 che proiettano nell'area S2 contralaterale. Tali neuroni, infatti, sono presenti in zone di corteccia che normalmente ne sono prive. Poichè alla nascita non vi sono zone acallosali in S1, ma queste si formano nel corso del-

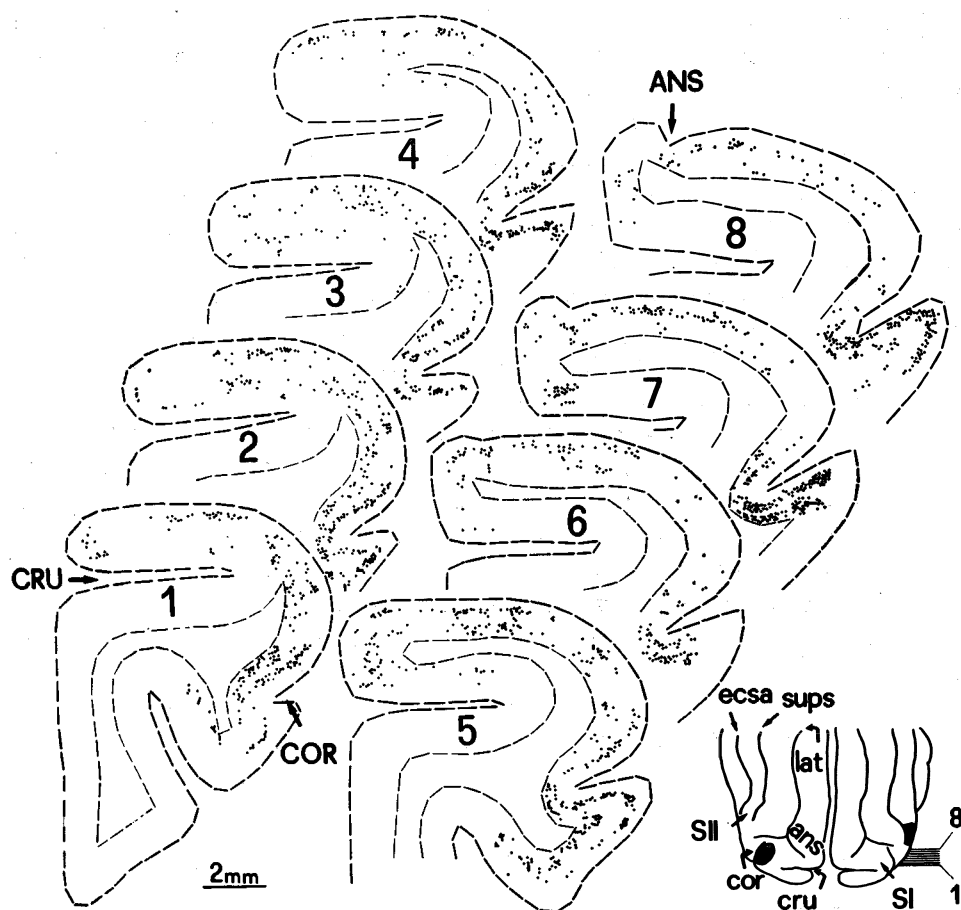


Fig. 3. - Ricostruzione, eseguita mediante *computer-microscope*, della distribuzione dei neuroni callosali a diversi livelli rostro-caudali (1-8) dell'area S1 di un gatto adulto portatore di lesioni corticali eseguite 5 giorni dopo la nascita. Simboli ed abbreviazioni come nella fig. 2.

l'ontogenesi postnatale [10, 9], è verosimile che le lesioni corticali neonatali abbiano indotto una riduzione della normale scomparsa di cellule callosali da tale area. È probabile che questa « stabilizzazione » [3] di neuroni callosali, altrimenti destinati a scomparire, sia dovuta al successo dei loro assoni nel formare connessioni stabili in quel territorio terminale di S2 normalmente occupato da assoni associativi e callosali di diversa origine. Fenomeni simili avvengono in altre strutture nervose in cui, nel corso dello sviluppo, si verificano

condizioni di esuberanza strutturale [6, 17, 7]. Tali effetti di « stabilizzazione » sembrano dovuti all'esistenza, in un determinato territorio terminale, di un numero limitato di sostanze trofiche, indispensabili al metabolismo neuronale, che permetterebbero la sopravvivenza di quei neuroni in grado di competere con successo per esse. Se simili eventi regolano lo sviluppo delle connessioni callosali, è ragionevole supporre che la liberazione di spazio terminale nell'area S2 (per soppressione di parte dei suoi *input* associativi e callosali) possa creare condizioni favorevoli al formarsi di connessioni permanenti tra le cellule post-sinaptiche di tale area e gli assoni callosali delle cellule transienti dell'area S1 contralaterale. Così, un certo numero di tali cellule permarrrebbe, nell'animale adulto, in zone corticali che normalmente non ne contengono. Tuttavia, il numero dei neuroni callosali così preservati in S1 è modesto se confrontato con la loro abbondanza all'età in cui la lesione è stata eseguita e con l'entità dello spazio terminale resosi disponibile. È possibile che, nel nostro sistema sperimentale, assoni diversi da quelli provenienti dalle cellule callosali transienti di S1 si trovino in condizioni competitivamente più vantaggiose, rispetto a questi ultimi, nell'occupare lo spazio terminale resosi disponibile in S2. Quest'ultimo, inoltre, potrebbe divenire disponibile, a seguito delle lesioni neonatali, in un momento in cui il destino della gran parte dei neuroni callosali nell'area S1 contralaterale è già determinato. L'esistenza di un « periodo critico » per gli effetti osservati in S1 è suggerito dalla inefficacia delle lesioni eseguite dopo la seconda settimana di vita. Va sottolineato, tuttavia, che tale discrepanza tra esuberanza strutturale neonatale e modestia di effetti plastici, indotti da manipolazioni di varia natura, è già stata notata, anche se non spiegata, da altri autori [16].

In conclusione, i risultati ottenuti, assieme ad altri della letteratura [11], sembrano dar forza all'ipotesi [9] che l'esuberanza strutturale transitoria dei sistemi neuronali in via di sviluppo possa fornire al cervello un substrato anatomico per fenomeni di plasticità indotti da fattori genetici o epigenetici.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ADAMS J. C. (1977) - *Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker*. « Neuroscience », 2, 141-145.
- [2] CAMINITI R., INNOCENTI G. M. e MANZONI T. (1979) - *The anatomical substrate of callosal messages from SI and SII in the cat*. « Exp. Brain Res. », 34, 453-470.
- [3] CHANGEUX J. P. e DANCIN A. (1976) - *Selective stabilization of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks*. « Nature », 264, 705-712.
- [4] GLASER E. M. e VAN DER LOOS H. (1965) - *A semi-automatic computer microscope for the analysis of neuronal morphology*. « IEEE Trans Bio-Med. Engin », 12, 22-31.
- [5] GUILLERY R. W. e STELZNER D. J. (1970) - *The differential effects of unilateral lid closure upon the monocular and binocular segments of the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat*. « J. Comp. Neurol. », 139, 413-422.
- [6] HOLLYDAY M. e HAMBURGER V. (1976) - *Reduction of the naturally occurring motor neuron loss by enlargement of the periphery*. « J. Comp. Neurol. », 3, 311-320.
- [7] HUBEL D. H., WIESEL T. N. e LE VAY S. (1977) - *Plasticity of ocular dominance columns in monkey striate cortex*. « Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. », 278, 377-409.

- [8] INNOCENTI G. M. (1980) – *The primary visual pathway through the corpus callosum: morphological and functional aspects in the cat.* « Arch. Ital. Biol. », 118, 126–188.
- [9] INNOCENTI G. M. e CAMINITI R. (1980) – *Postnatal shaping of callosal connections from sensory areas.* « Exp. Brain Res. », 38, 381–394.
- [10] INNOCENTI G. M., FIORE L. e CAMINITI R. (1977) – *Exuberant projection into the corpus callosum from the visual cortex of newborn cats.* « Neurosci. Letters », 4, 237–242.
- [11] INNOCENTI G. M. e FROST D. O. (1979) – *Effects of visual experience on the maturation of the efferent system to the corpus callosum.* « Nature », 280, 231–234.
- [12] INNOCENTI G. M. e FROST D. O. (1980) – *The postnatal development of visual callosal connections in the absence of visual experience or of the eyes.* « Exp. Brain Res. », 39, 365–375.
- [13] JONES E. G. e POWELL T. P. S. (1973) – *Handbook of sensory physiology.* Iggo A. (Ed.) vol. II, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 579–620.
- [14] LEVITT J. e LEVITT M. (1968) – *Sensory hind-limb representation in SmI cortex of the cat.* « Exp. Neurol. », 22, 259–275.
- [15] MESULAM M. M. (1978) – *A tetramethyl benzidine method for the light microscopic tracing of neural connections with horseradish peroxidase (HRP) neurohistochemistry.* « Society for Neuroscience », Short Course, St. Louis.
- [16] PILAR G., LANDMESSER L. e BURSTEIN L. (1980) – *Competition for survival among developing ciliary ganglion cells.* « J. Neurophysiol. », 43, 233–254.
- [17] RAKIC P. (1976) – *Prenatal genesis of connections subserving ocular dominance in the rhesus monkey.* « Nature », 261, 467–471.
- [18] SHATZ C. (1977) – *Anatomy of interhemispheric connections in the visual system of Boston Siamese and ordinary cats.* « J. Comp. Neurol. », 173, 497–518.