
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

PAOLO BARBARESI, FIORENZO CONTI, TULLIO MANZONI

**Organizzazione topografica delle proiezioni
talamocorticali alla zona di rappresentazione del
tronco dell'area somestesica prima del Gatto**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 75 (1983), n.5, p. 238–244.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1983_8_75_5_238_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. — *Organizzazione topografica delle proiezioni talamo-corticali alla zona di rappresentazione del tronco dell'area somestesica prima del Gatto* (*). Nota di PAOLO BARBARESI, FIORENZO CONTI e TULLIO MANZONI, presentata (**) dal Corrisp. O. PINOTTI.

SUMMARY. — The topography of the thalamic projections to the trunk representation zone of the first somatosensory area (SI) was studied in the cat by performing experiments of retrograde neuronal tracing. Single injections of horseradish peroxidase or fluorescent tracers (Evans Blue, Nuclear Yellow, Fast Blue) in area SI resulted in retrograde labelling of cell aggregates in the dorsal region of the nucleus *ventralis posterolateralis* (VPL) intervening between the lateral (VPLl) and medial (VPLm) subnucleus. The aggregates of labelled cells were elongated rostrocaudally in VPL but were narrow in the dorsoventral and mediolateral extent. In separate experiments, physiologically defined sites of the trunk zone, corresponding to the representation of the dorsal midline, lateral trunk and ventral midline, were injected with different fluorescent markers. The three sites were located in rostrocaudal sequence in the medial part of area SI and corresponded, in the order, to the cytoarchitectonic fields 3b, 1, 2. In these animals three different cell aggregates were labelled, orderly located in topographically distinct regions of VPL trunk zone. According to these results, adjacent cortical foci disposed in rostrocaudal sequence in area SI receive thalamic projections from adjacent neuronal aggregates located in lateromedial sequence in VPL. Each aggregate had a focal projection to a single cortical region since no double-labelled cells were found in VPL.

Recenti ricerche elettrofisiologiche eseguite nel Gatto [12] hanno mostrato che la rappresentazione del tronco dell'area somestesica prima (SI) è costituita da tre zone contigue, disposte in sequenza rostro-caudale nel giro sigmoideo posteriore (GSP), ciascuna delle quali riceve le proiezioni da tre distinte regioni del tronco. La zona rostrale e caudale ricevono, rispettivamente, le afferenze dalla linea mediana dorsale e ventrale del corpo e contengono neuroni con campi recettivi periferici (CRP) bilaterali. La zona corticale intermedia riceve afferenze periferiche originate dalla superficie laterale del tronco e contiene neuroni con CRP solo contralaterali.

L'origine della reattività agli stimoli periferici ipsilaterali dei neuroni della zona del tronco dell'area SI non è stata determinata sperimentalmente. Le vie nervose attraverso cui gli impulsi destati nei recettori del tronco possono rag-

(*) Lavoro eseguito col sussidio del Ministero della P.I. nell'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università di Ancona.

(**) Nella seduta del 26 novembre 1983.

giungere l'area SI ipsilaterale sono due. Una via è rappresentata dalle fibre del corpo calloso che collegano reciprocamente tra loro le zone di rappresentazione del tronco nei due emisferi [6, 8]. Recenti ricerche [12], eseguite nel Gatto, impiegando la tecnica del trasporto assonico retrogrado di perossidasi di rafano, hanno infatti dimostrato che i collegamenti callosali tra le aree SI dei due lati hanno una precisa organizzazione anatomo-funzionale in quanto i collegamenti si attuano solo tra le zone provviste di neuroni con CRP bilaterali. È quindi verosimile che la componente ipsilaterale di questi campi possa dipendere dagli impulsi ritrasmessi per via callosale. Di fatto, la componente ipsilaterale dei campi recettivi visivi posti a cavallo del meridiano verticale, esibita dai neuroni della corteccia visiva situati tra l'area 17 e 18, dipende prevalentemente dalle connessioni callosali con la regione omotopica dell'emisfero contralaterale (cfr. dati e letteratura in 4 e 5). Una seconda via è rappresentata invece dalle proiezioni talamo-corticali originate dal nucleo *ventralis postero-lateralis* (VPL) del talamo. In via d'ipotesi, si dovrebbe ammettere che le proiezioni ascendenti originate nell'emitronco destro e sinistro non subiscano una decussazione completa ma che parte di queste proiezioni possano terminare nei rispettivi talami ipsilaterali. Per quanto non siano stati descritti nella letteratura neurofisiologica CRP bilaterali nella zona di rappresentazione del tronco del nucleo VPL del Gatto, registrazioni elettrofisiologiche eseguite nel Ratto, a livello dello stesso nucleo, hanno messo in evidenza l'esistenza di neuroni che rispondono alla stimolazione bilaterale del tronco [7]. Le due ipotesi ora prospettate, quella relativa alla via indiretta callosale e diretta talamo-corticale, non sono tra loro in antitesi. I due meccanismi potrebbero anzi essere tra loro complementari, nel senso che entrambi potrebbero cooperare nella genesi dei CRP ipsilaterali dei neuroni dell'area SI.

Nell'ambito di un progetto di ricerca inteso a verificare nel Gatto il ruolo delle proiezioni callosali e talamo-corticali nella rappresentazione bilaterale della linea mediana del corpo nell'area SI, è stata indagata l'organizzazione anatomo-funzionale delle proiezioni talamiche destinate alla zona di rappresentazione del tronco di SI. Le ricerche sono state eseguite in due fasi distinte, impiegando sia tecniche anatomiche che elettrofisiologiche. In un primo gruppo di animali sono stati eseguiti esperimenti anatomici basati sulla tecnica del trasporto assonico retrogrado di sostanze neurotraccianti con lo scopo di studiare, nel nucleo VPL, la topografia dei neuroni di proiezione talamo-corticale i cui assoni terminano nelle tre zone che costituiscono la rappresentazione del tronco. In un secondo gruppo di animali sono state invece eseguite registrazioni microelettrodiche da quelle regioni del nucleo VPL nelle quali erano stati identificati, con gli esperimenti di cui sopra, i neuroni di proiezione talamo-corticale. Queste registrazioni avevano lo scopo di studiare la topografia della rappresentazione del tronco a livello talamico e di verificare la presenza o meno di neuroni con CRP bilaterali a cavallo della linea mediana del corpo.

Nella presente Nota verranno descritti i risultati degli esperimenti anatomici mentre i dati ottenuti con gli esperimenti elettrofisiologici verranno riferiti in una Nota successiva [3].

Gli esperimenti anatomici sono stati eseguiti in 11 gatti adulti. In sei animali è stata effettuata una singola iniezione di perossidasi di rafano ($0,05 \mu\text{l}$; 33% in soluzione fisiologica) nel GSP, a livello della zona rostrale (2 animali) o caudale (4 animali) della rappresentazione del tronco di SI. Le sedi delle iniezioni, corrispondenti, rispettivamente, alla rappresentazione della linea mediana dorsale e ventrale, sono state selezionate in via preliminare sulla base delle risposte multineuroniche agli stimoli somatici derivate mediante microelettrodi di tungsteno. Trascorse 14-36 ore dalle iniezioni, gli animali venivano anestetizzati con barbiturici e perfusi attraverso l'aorta ascendente con soluzione fisiologica seguita da una soluzione di apposito fissativo. I cervelli venivano rimossi e divisi in due parti. La parte contenente la sede di iniezione veniva sezionata al microtomo congelatore in fettine parasaggittali, mentre la parte contenente il talamo è stata sezionata in fettine orizzontali o frontali. Le sezioni ($80 \mu\text{m}$ di spessore) sono state trattate per la reazione istochimica della perossidasi secondo il procedimento descritto da Adams [1], montate su vetrini e quindi esaminate al microscopio ottico, prima e dopo controcolorazione con blu di toluidina.

Nei restanti 5 animali sono state iniettate tre diverse sostanze fluorescenti [10]: Evans Blue (EB); Fast Blue (FB) e Nuclear Yellow (NY). In ciascuno di questi animali è stata eseguita una singola iniezione di EB ($0,08 \mu\text{l}$ di soluzione acquosa al 10%) nella zona di rappresentazione della linea mediana dorsale; di NY ($0,05 \mu\text{l}$ di soluzione acquosa all'1%) nella zona di rappresentazione della regione laterale del tronco; di FB ($0,2-0,4 \mu\text{l}$ di soluzione acquosa al 4%) nella zona di rappresentazione della linea mediana ventrale.

Anche in questi animali le sedi delle iniezioni erano state selezionate preliminarmente mediante registrazioni microelettrodiche. A causa del diverso tempo necessario per la marcatura dei neuroni con le diverse sostanze fluorescenti ed al fine di prevenire la loro migrazione in *vivo* dai neuroni marcati per via retrograda [2], le tre sostanze fluorescenti venivano iniettate in 2 sessioni sperimentali successive, in modo da ottenere tempi di sopravvivenza di 18-20 ore per il NY e di 48-72 per EB e FB. Scaduto il tempo programmato, gli animali venivano anestetizzati con barbiturici e perfusi con soluzione fisiologica seguita da formalina (10-15% in tampone difosfato). I cervelli venivano quindi rimossi e sezionati con microtomo congelatore (sezione di $40 \mu\text{m}$ di spessore) come descritto sopra. Le sezioni istologiche venivano infine esaminate con un microscopio a fluorescenza Leitz Pleomopack, fornito di un sistema di filtri A ed N_2 che forniscono, rispettivamente, luce di 360 nm e di 550 nm di lunghezza d'onda. Una sezione ogni due è stata colorata con blu di toluidina. Sia negli animali iniettati con perossidasi di rafano che in quelli iniettati con sostanze fluorescenti, la localizzazione delle cellule talamiche marcate per via retrograda e l'estensione delle zone di iniezione sono state riprodotte graficamente su un registratore $x-y$ collegato mediante un sistema di potenziometri ed amplificatori al tavolino traslatore del microscopio.

I risultati possono essere riassunti come segue.

1. INIEZIONI DI PEROSSIDASI DI RAFANO

A seguito di una singola iniezione di perossidasi di rafano ($0,05 \mu\text{l}$), eseguita in corrispondenza della zona di rappresentazione della linea mediana dorsale o ventrale dell'area SI, si è prodotta, nella sede dell'iniezione, un'area intracorticale di diffusione dell'enzima non superiore a 2 mm di diametro. La regione centrale più intensamente colorata non superava tuttavia $0,7-1$ mm di diametro e, in ogni caso, non interessava la sostanza bianca. Neuroni marcati per via assonica retrograda sono stati rintracciati sia nell'emisfero contralaterale che nel talamo ipsilaterale alla sede dell'iniezione. Nell'emisfero contralaterale, i neuroni perossidasi-positivi avevano sede, in accordo con quanto precedentemente descritto [12], nella corteccia omotopica alle iniezioni. Nel talamo ipsilaterale i neuroni marcati con perossidasi sono stati identificati nel nucleo VPL, raggruppati in una ristretta regione situata dorsalmente alla lamina di fibre che suddivide [14] il nucleo VPL in un subnucleo laterale (VPLl) e mediale (VPLm). Il gruppo di cellule marcate aveva la massima estensione nella regione centrale del VPL, tra i piani stereotassici A9 ed A10 ed era composto, in ogni sezione istologica, da circa 15-20 neuroni. L'area di distribuzione dei neuroni perossidasi-positivi si estendeva per circa $200-300 \mu\text{m}$ in direzione dorso-ventrale e mediolaterale mentre in senso antero-posteriore, come è risultato dall'esame delle sezioni frontali seriate e delle sezioni orizzontali, poteva raggiungere $1200-1500 \mu\text{m}$. Nelle regioni più rostrali e più caudali del nucleo, il numero dei neuroni marcati decresceva progressivamente (distribuzione fusiforme).

2. INIEZIONI DI SOSTANZE FLUORESCENTI

Come specificato in precedenza, nei 5 animali nei quali sono state iniettate sostanze neurotraccianti fluorescenti, ciascuna delle tre zone funzionali che compongono la rappresentazione del tronco in SI, è stata iniettata con una diversa sostanza fluorescente. Nella corteccia iniettata, le zone di diffusione intensamente fluorescenti hanno mostrato una sovrapposizione molto limitata mentre è risultata sempre estesa la sovrapposizione tra gli aloni periferici debolmente fluorescenti. Dai riscontri eseguiti nelle sezioni controcolorate è risultato che le sedi delle iniezioni delle tre sostanze, EB, NY e FB corrispondevano, nell'ordine, alle aree citoarchitettoniche 3b, 1 e 2. Poiché le zone iniettate erano state selezionate in via preliminare sulla base dei dati funzionali ottenuti con le registrazioni microelettrodiche, è stata confermata l'osservazione precedente [12] che nelle tre aree citoarchitettoniche, che si succedono in senso rostro-caudale nel GSP, sono rappresentate regioni topograficamente distinte della superficie del tronco.

Neuroni marcati per via retrograda con le sostanze fluorescenti sono stati rintracciati nel nucleo VPL del talamo ipsilaterale. In tutti i casi si è trattato di neuroni con marcatura singola, marcati cioè solo con EB (fluorescenza rossa del soma cellulare a 360 nm di lunghezza d'onda), o con NY (fluorescenza giallo-

oro del nucleo cellulare a 550 nm di lunghezza d'onda) o con FB (fluorescenza azzurra del soma cellulare a 550 nm di lunghezza d'onda). Tali neuroni erano localizzati nella medesima regione del nucleo nella quale erano stati individuati, negli esperimenti descritti sopra, i neuroni marcati con perossidasi. In tale regione, le tre popolazioni di neuroni marcati con i tre traccianti fluorescenti non erano tra loro frammiste, ma ciascuna popolazione è risultata segregata dalle altre e distribuita in sedi distinte secondo una precisa topografia.

I neuroni marcati con EB erano localizzati nel nucleo VPL in posizione latero-dorsale, mentre quelli marcati con NY erano localizzati medialmente e ventralmente ai primi. Infine, le cellule marcate con FB erano distribuite in posizione ancor più mediale e ventrale. I raggruppamenti dei neuroni marcati con le sostanze fluorescenti, per numero di cellule, forma ed estensione, erano simili ai raggruppamenti di neuroni marcati con perossidasi di rafano, già descritti nel precedente paragrafo.

I risultati di questi esperimenti, che verranno discussi in dettaglio nel lavoro *in extenso*, consentono alcune brevi considerazioni circa l'organizzazione delle proiezioni talamo-corticali destinate alla zona di rappresentazione del tronco dell'area SI. L'iniezione sia di perossidasi di rafano che di sostanze fluorescenti ha consentito, in primo luogo, di identificare nel nucleo VPL la sede dei neuroni talamo-corticali di *relais* che proiettano alla zona sopra riferita. Tale sede è situata in una regione dorsale del nucleo VPL, interposta tra il subnucleo VPLl e VPLm. L'impiego dei 3 neurotraccianti fluorescenti iniettati in tre regioni contigue dell'area SI, ha permesso inoltre di individuare l'esatta topografia delle relazioni talamo-corticali che intercorrono tra la zona del tronco del nucleo VPL e la stessa zona dell'area SI. Infatti, l'iniezione di questi neurotraccianti in SI ha marcato nel talamo tre popolazioni di neuroni localizzati in regioni nucleari diverse. Secondo questi dati, le tre zone corticali, che si succedono l'un l'altra in senso rostro-caudale nel GSP, ricevono le proiezioni originate da tre popolazioni di neuroni disposte in sequenza latero-mediale nel nucleo VPL. Gli stessi dati dimostrano anche che le tre zone corticali iniettate con i traccianti fluorescenti corrispondono alle tre aree citoarchitettoniche 3b, 1 e 2 del GSP. Pertanto, ciascuna di queste aree riceve le proiezioni talamiche originate da porzioni distinte del nucleo VPL. Questa osservazione fornisce la base anatomica a precedenti risultati elettrofisiologici secondo i quali nell'area SI del Gatto è contenuta una singola mappa del corpo e che nelle aree citoarchitettoniche 3b, 1 e 2 sono rappresentate porzioni diverse della periferia recettiva [9, 12, 13]. La segregazione topografica dei tre raggruppamenti di neuroni talamici che proiettano alle tre zone corticali iniettate con i traccianti fluorescenti indica che le proiezioni talamo-corticali originano e terminano secondo un preciso ordine topografico. La mancanza di cellule talamiche con doppia marcatura, vale a dire di cellule che hanno assunto due traccianti fluorescenti, suggerisce inoltre che la proiezione corticale di ciascun raggruppamento è di tipo focale. Non sembrano pertanto in atto proiezioni corticopete attuate da collaterali assoniche ovvero, se tali collaterali esistono [11], esse hanno

uno sviluppo molto limitato tanto da non consentire un trasporto retrogrado di sostanze fluoescenti sufficiente a marcare il soma cellulare.

Come verrà riferito in una Nota successiva [3], gli esperimenti di derivazione microelettrodica di cui si è detto all'inizio hanno confermato i presenti dati anatomici circa l'organizzazione somatotopica della mappa del tronco nel nucleo VPL. Gli stessi esperimenti hanno inoltre definito le proprietà funzionali dei neuroni talamici che ricevono le proiezioni periferiche dalle regioni mediane del corpo, suggerendo che la rappresentazione bilaterale di queste regioni nell'area SI [12] dipende prevalentemente dalle afferenze talamo-corticali.

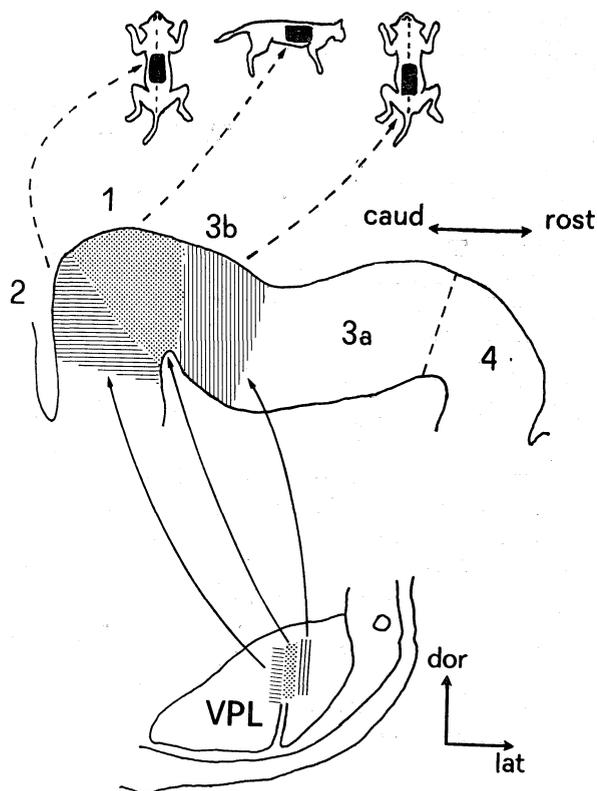


Fig. 1. - Rappresentazione schematica dell'organizzazione delle proiezioni talamo-corticali relative alla rappresentazione del tronco. Nella parte superiore dello schema è mostrata una sezione sagittale del giro sigmoideo posteriore (aree citoarchitettoniche 4, 3a, 3b, 1 e 2) con le tre zone della mappa corticale in cui sono rappresentate porzioni diverse del tronco, come indicato dai rispettivi esempi di campi recettivi periferici riprodotti sulla superficie del tronco di gatto. Nella parte inferiore dello schema sono indicate le tre regioni del nucleo *ventralis postero-lateralis* (VPL) che contengono i neuroni talamo-corticali di *relais* che proiettano alle tre zone corticali. Caud, rostr, dor, lat: caudale, rostrale, dorsale e laterale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ADAMS J.C. (1977) - *Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker*, «Neuroscience», 2, 141-145.
- [2] BENTIVOGLIO M., KUYPERS H.G.J.M. e CATSMAN-BERREVOETS C.E. (1980) - *Retrograde neuronal labelling by means of bisbenzimidazole and nuclear yellow (Hoechst S 769121). Measures to prevent diffusion of the tracers out of retrogradely labelled neurones*. «Neurosci. Letters», 18, 19-24.
- [3] BARBARESI P., CONTI F. e MANZONI T. - *Ricerche elettrofisiologiche sulla rappresentazione del tronco nel talamo del Gatto*, «Atti Acc. Naz. Lincei Cl. Sc. Fis. Mat. e Nat.», in stampa.
- [4] BERLUCCHI G. (1972) - *Anatomical and physiological aspects of visual functions of corpus callosum*. «Brain Res.», 37, 371-392.
- [5] BERLUCCHI G. (1981) - *Recent advances in the analysis of the neural substrate of interhemispheric communication*. In POMPEIANO O. e AJMONE-MARSAN C. (Eds), *Brain mechanisms and perceptual awareness*, Raven Press, New York, 133-152.
- [6] 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.», 35, 295-314.
- [7] DONALDSON L., HAND P.J. e MORRISON A.R. (1975) - *Cortico-thalamic relationships in the rat*, «Exp. Neurol.», 47, 448-458.
- [8] JONES E.G. e POWELL T.P.S. (1968) - *The commissural connexions of the somatic sensory cortex in the cat*, «J. Anat.», 103, 433-455.
- [9] KAAS J.H. (1983) - *What, if anything, is SI? Organization of first somatosensory cortex*, «Physiol. Rev.», 63, 206-231.
- [10] KUYPERS H.G.J.M., BENTIVOGLIO M., CATSMAN-BERREVOETS C.E. e BHAROS A.T. (1980) - *Double retrograde neuronal labeling through divergent axon collaterals, using two fluorescent tracers with the same excitation wavelength which label different features of the cell*, «Exp. Brain Res.», 40, 383-392.
- [11] LANDRY P. e DESCHENES M. (1981) - *Intracortical arborizations and receptive fields of identified ventrobasal thalamo-cortical afferents to the primary somatic sensory cortex of the cat*, «J. Comp. Neurol.», 199, 345-371.
- [12] MANZONI T., BARBARESI P., BELLARDINELLI E. e CAMINITI R. (1980) - *Callosal projections from the two body midlines*, «Exp. Brain Res.», 39, 1-9.
- [13] MCKENNA T.M., WHITSEL B.L., DREYER D.A. e METZ C.B. (1981) - *Organization of the cat anterior parietal cortex: relations among cytoarchitecture, single neuron functional properties and interhemispheric connectivity*, «J. Neurophysiol.», 45, 667-697.
- [14] RINVIK E. (1968) - *A re-evaluation of the cytoarchitectonic of the ventral nuclear complex of the cat's thalamus on the basis of cortico-thalamic connections*, «Brain Res.», 8, 237-254.