
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

TULLIO MANZONI, PAOLO BARBARESI, FIORENZO CONTI

**Ricerche morfologiche sulle connessioni callosali
dell'area somestesica seconda della Scimmia
(*Macacus Irus*)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 75 (1983), n.6, p. 369–375.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1983_8_75_6_369_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. — *Ricerche morfologiche sulle connessioni callosali dell'area somestesica seconda della Scimmia (Macacus Iruus) (*)*. Nota di TULLIO MANZONI, PAOLO BARBARESI e FIORENZO CONTI, presentata (**) dal Corrisp. O. PINOTTI.

SUMMARY. — In six Java monkeys (*Macacus Iruus*) experiments of neuronal labelling by retrograde transport of horseradish peroxidase (HRP) were performed in order to study the callosal connections of the hand sensory projection field of the second somatosensory area (SII) in the parietal operculum. Under ketamine anaesthesia, 3 monkeys received a single HRP injection (0.5 μ l) and the other 3 monkeys multiple injections (5-8; 0.5 μ l each) within the deep cortex forming the upper bank of the Sylvian Sulcus. In the first group of 3 animals, the site of enzyme delivery was selected by recording preliminarily with tungsten microelectrodes neuronal responses to somatic sensory stimulation of the hand. Following a single HRP injection in the parietal operculum, HRP retrogradely-labelled cells were found in the first somatosensory area (SI) of the ipsilateral hemisphere (associative cells) and in the thalamic nuclei *ventralis postero-inferior* and *pulvinar oralis*. In the contralateral hemisphere, labelled cells (callosal cells) were found mainly in area SII, clustered in a region homotopic to the injected cortex, and a few also in area SI. Following multiple HRP injections which involved large regions of the parietal operculum, labelled cells were found in the ipsilateral area SI and in the following thalamic nuclei: *ventralis postero-inferior*, *pulvinar oralis* and *medialis*, posterior complex, *ventralis postero-medialis*, and ventral part of *ventralis postero-lateralis*. In the contralateral hemisphere, numerous callosal neurones were present in several areas of the parietal operculum (areas 3-1-2, SII, 7b and retroinsular) and few also in area SI. Callosal cells of area SII were located in cortical regions corresponding topographically to the hand representation zone.

Ricerche neuropsicologiche eseguite nel Gatto [16] hanno messo in evidenza che l'area somestesica seconda (SII) costituisce un'importante centro corticale per l'integrazione interemisferica delle informazioni somatosensoriali. È stato infatti dimostrato che una discriminazione tattile, appresa mediante l'uso di un arto, non viene subito eseguita in modo corretto con l'arto contralaterale se all'animale è stata asportata l'area SII in uno dei due emisferi, sia nell'emisfero relativo all'apprendimento originario che in quello dell'altro lato. Questi risultati sono spiegabili in base alla organizzazione anatomo-funzionale dell'area SII. In quest'area infatti è rappresentata l'intera superficie corporea e non sol-

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

(**) Nella seduta del 26 novembre 1983.

tanto l'emicorpo contralaterale come nell'area somestesica prima (SI). Una elevata percentuale dei neuroni dell'area SII è attivabile infatti per stimolazione dei campi recettivi periferici (CRP) sia contralaterali che ipsilaterali [4]. Pertanto, quando è stimolato l'arto di un lato, gli impulsi sensoriali eccitano non solo neuroni delle aree SI ed SII dell'emisfero contralaterale ma anche taluni neuroni dell'area SII dell'emisfero ipsilaterale.

È noto che le informazioni sensoriali originate in un emicorpo vengono trasmesse alle aree somestestiche contralaterali da vie proiettive crociate che hanno il loro *relais*, a livello del talamo, nel complesso ventrobassale (VB). Recenti ricerche elettrofisiologiche e morfologiche eseguite nel Gatto [3, 7, 8] hanno dimostrato che gran parte delle informazioni originate in un emicorpo, inclusa la parte distale dell'arto anteriore, non sono trasmesse all'area SII ipsilaterale da *relais* talamici ma vengono invece trasmesse dalle aree SI ed SII dell'emisfero contralaterale attraverso le fibre del corpo calloso.

L'organizzazione dell'area SII nel Primate sembra essere simile a quella del Gatto. Anche nel Primate infatti la rappresentazione della superficie corporea in SII è bilaterale [18]. L'analisi microelettrodica di singole unità ha infatti messo in evidenza che la grande maggioranza dei neuroni di quest'area ha CRP bilaterali spesso localizzati, in modo simmetrico, su entrambe le mani [14, 17]. Nel Primate, tuttavia, il ruolo delle connessioni callosali nella genesi delle risposte dei neuroni di SII agli stimoli ipsilaterali non è stato sottoposto a verifica sperimentale. Anzi, secondo dati anatomici basati sulla degenerazione anterograda delle fibre, risulterebbe che proprio la zona di rappresentazione della mano sia priva di collegamenti callosali [9, 13]. Non sono tuttavia disponibili dati sperimentali che, in alternativa alle connessioni callosali, possano dare ragione della presenza di CRP ipsilaterali nell'area SII. Ricerche basate sia sulla degenerazione assonica che sul trasporto anterogrado di sostanze neurotraccianti hanno messo in evidenza che anche nel Primate, come nel Gatto, l'area SII riceve le proiezioni periferiche dal complesso VB del talamo [10]. Questo complesso tuttavia raccoglie solo le proiezioni crociate originate nella metà contralaterale della periferia recettiva [12]. Recenti ricerche neuropsicologiche [6] hanno riproposto il problema dei collegamenti callosali della zona di rappresentazione della mano nell'area SII del Primate. Infatti, l'ablazione unilaterale o bilaterale di quest'area provoca un grave deficit nel transfer intermanuale di apprendimenti tattili, dimostrando che non solo nel Gatto ma anche nel Primate l'area SII di fatto svolge importanti funzioni nella integrazione interemisferica di informazioni somestestiche. Questi dati suggeriscono quindi l'opportunità di eseguire ulteriori verifiche sperimentali per accertare la presenza di collegamenti callosali che possano giustificare la rappresentazione della mano ipsilaterale nell'area SII. Con questo scopo è stata intrapresa la presente ricerca combinando nello stesso animale la tecnica del trasporto assonico retrogrado di perossidasi di rafano con registrazioni microelettrodiche unitarie e multiunitarie. La tecnica della perossidasi è stata utilizzata al fine di verificare se nelle aree SI ed SII contralaterali all'area SII iniettata con l'enzima siano presenti neuroni di proiezione callosale marcati per via retrograda. Le registrazioni mi-

croelettrodiche avevano invece lo scopo di identificare funzionalmente la sede delle iniezioni di perossidasi e di verificare, nell'emisfero contralaterale, le proiezioni periferiche alle regioni corticali contenenti i neuroni callosali perossidasi-positivi.

I dati morfologici relativi alla marcatura di neuroni mediante trasporto assonico retrogrado di perossidasi verranno descritti nella presente comunicazione. I risultati delle derivazioni microelettrodiche eseguite nell'emisfero contralaterale alle iniezioni di perossidasi costituiranno l'oggetto di una Nota successiva [11].

Gli esperimenti sono stati eseguiti in 6 scimmie (*Macacus irus*) di peso variabile tra 2 e 2,5 Kg. Gli animali sono stati anestetizzati con Ketamina (30 mg/Kg i.m.) e posti in un apparecchio stereotassico. In condizioni di asepsi è stata esposta, mediante craniectomia e sezione della dura madre, la corteccia dell'opercolo parietale di un lato nella quale è stata iniettata perossidasi di rafano. In tre animali è stata eseguita una singola iniezione di 0,5 μ l mentre nei restanti tre sono state eseguite 5-8 iniezioni di 0,5 μ l ciascuna. Dopo un periodo di sopravvivenza di 24-36 ore, gli animali sono stati anestetizzati con barbiturici e perfusi per via intracardiaca con soluzione fisiologica seguita da apposito fissativo. I cervelli sono stati rimossi e sezionati in piani frontali (sezioni di 80 μ m) al microtomo congelatore. Le fettine sono state trattate per la reazione istochimica della perossidasi [1], montate su vetrini ed osservate al microscopio prima e dopo controcolorazione con bleu di toluidina.

Nei 3 animali in cui è stata eseguita una singola iniezione di perossidasi la sede delle iniezioni è stata selezionata derivando con microelettrodi di tungsteno dalla corteccia dell'opercolo parietale le risposte neuroniche alla stimolazione dei recettori tattili della mano contralaterale. I 3 animali in cui sono state eseguite iniezioni multiple di perossidasi sono stati sottoposti, 10-15 ore prima della scadenza del tempo stabilito per la perfusione, a registrazioni microelettrodiche dall'emisfero contralaterale alle sedi delle iniezioni [11].

I risultati possono essere riassunti come segue.

1. INIEZIONI SINGOLE DI PEROSSIDASI NELL'OPERCOLO PARIETALE

Nei 3 animali nei quali è stata eseguita una singola iniezione di perossidasi la sede delle iniezioni è stata scelta, come riferito sopra, sulla base dei risultati ottenuti registrando con microelettrodi dalla corteccia dell'opercolo parietale. Gli elettrodi venivano affondati nella profondità dell'opercolo fino ad una regione dalla quale si derivavano risposte neuroniche multiunitarie alla stimolazione della mano contralaterale. L'elettrodo veniva quindi rimosso e sostituito dalla microsiringa che veniva guidata nella corteccia opercolare tenendo conto dell'orientamento e della profondità raggiunta dal microelettrodo. In questi preparati, l'area di diffusione dell'enzima nella sede dell'iniezione si estendeva in direzione antero-posteriore per non più di 2-3 mm e, in direzione medio-laterale, dal labbro superiore dell'opercolo fino alla prossimità del fondo della

scissura di Silvio. Neuroni marcati con perossidasi per via assonica retrograda sono stati rintracciati sia nell'emisfero ipsilaterale che contralaterale. Nell'emisfero ipsilaterale, i neuroni perossidasi-positivi (identificati come neuroni di proiezione associativa) avevano sede nella corteccia della parte intermedia del giro post-centrale, localizzati prevalentemente nel III strato e, in parte, nel II. Neuroni perossidasi-positivi erano presenti nel talamo, concentrati nel nucleo *ventralis postero-inferior* e *pulvinar oralis*. Nell'emisfero contralaterale, neuroni marcati con perossidasi (identificati come neuroni di proiezione callosale) erano presenti nell'opercolo parietale, in una zona di corteccia omotopica alla sede di iniezione. La più alta concentrazione di neuroni è stata rintracciata in quella parte di corteccia situata dorsalmente al polo caudale dell'insula mentre, nelle regioni più rostrali e caudali dell'opercolo parietale, furono trovati solo rari neuroni callosali. Alcuni neuroni marcati con perossidasi sono stati anche identificati nella corteccia del giro post-centrale. Tutti i neuroni callosali dei preparati che avevano ricevuto una singola iniezione di perossidasi, avevano sede nella parte più profonda del III strato corticale.

2. INIEZIONI MULTIPLE DI PEROSSIDASI NELL'OPERCOLO PARIETALE

Nei 3 animali che avevano ricevuto iniezioni multiple di perossidasi nell'opercolo parietale, l'area di diffusione dell'enzima è risultata piuttosto ampia, interessando praticamente l'intera corteccia dell'opercolo che si estende da un livello anteriore che passa in prossimità della scissura centrale ad un livello posteriore situato 1-2 mm dietro il polo caudale dell'insula. L'area di diffusione comprendeva medialmente parte del lobulo parietale inferiore ma non oltrepassava, lateralmente, il fondo della scissura di Silvio. In questi preparati, numerosi neuroni associativi marcati per via assonica retrograda, sono stati identificati in vaste aree del giro post-centrale ipsilaterale e nei seguenti nuclei talamici: nucleo *ventralis postero-inferior*, *pulvinar oralis* e *medialis*, *ventralis postero-medialis* ed in alcuni nuclei del complesso posteriore. Rare cellule sono state rintracciate anche nella regione più ventrale del nucleo *ventralis postero-lateralis*. Nell'emisfero contralaterale, numerosi neuroni callosali marcati con perossidasi erano presenti in vaste zone dell'opercolo parietale (Tav. I, fig. 1) e del giro post-centrale. Nell'opercolo parietale, i neuroni callosali, pur con variazioni regionali di densità, formavano una banda praticamente continua che si estendeva lateralmente dalla corteccia situata in prossimità del *fundus* della scissura di Silvio fino al labbro superiore dell'opercolo, continuando medialmente fino alla corteccia del lobulo parietale inferiore. Nel giro post-centrale, numerosi neuroni marcati con perossidasi erano presenti nelle porzioni più laterali ed in quelle più mediali e posteriori del giro, ma un discreto numero di tali neuroni è stato rintracciato anche nelle porzioni centrali. Negli animali iniettati con quantità elevate di perossidasi, la distribuzione laminare dei neuroni callosali è risultata più complessa. Nella corteccia dell'opercolo parietale, la maggioranza dei neuroni callosali era localizzata nella parte più profonda del III strato ma un di-

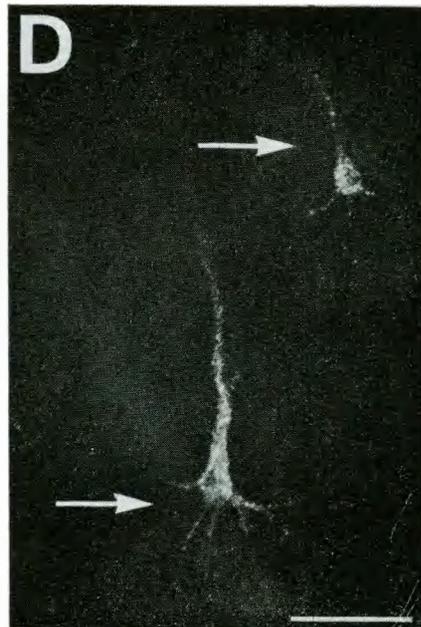
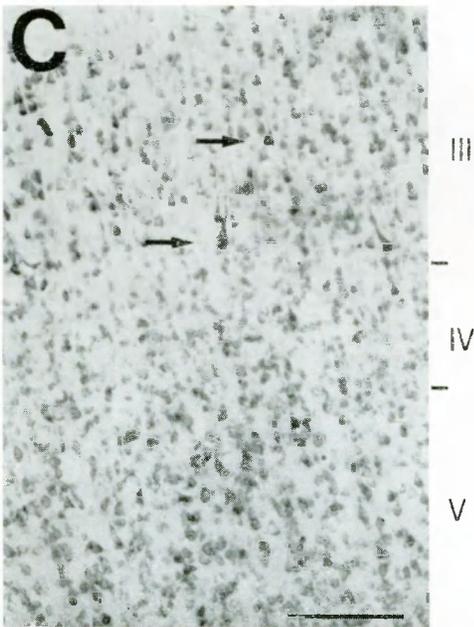
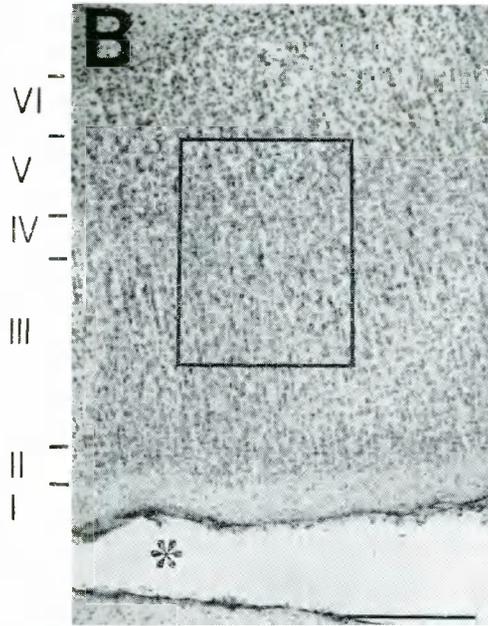
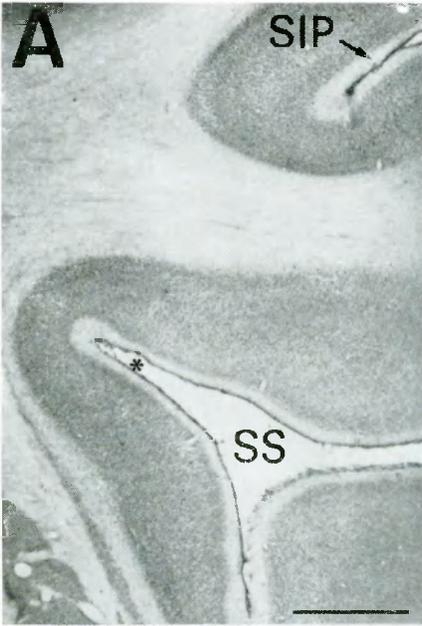
screto numero era anche presente nel VI strato. Rari neuroni sono stati identificati nello strato IV e V. Nel giro post-centrale, quasi tutti i neuroni callosali erano situati nel III strato.

I risultati ottenuti nei 3 animali nei quali è stata eseguita una singola iniezione di perossidasi nell'opercolo parietale dimostrano che un *focus* di questo opercolo, i cui neuroni rispondono alla stimolazione della mano contralaterale, riceve proiezioni callosali dall'emisfero contralaterale. Se pure nell'opercolo parietale sono state identificate, oltre all'area SII, altre aree che contengono neuroni attivabili da stimoli somatici [15], l'area iniettata corrisponde topograficamente all'area SII descritta in precedenti lavori anatomici ed elettrofisiologici [2, 5]. Anche l'organizzazione delle connessioni cortico-corticali del *focus* iniettato, secondo quanto è risultato dalla distribuzione dei neuroni marcati con perossidasi, dimostra che le iniezioni sono state eseguite nell'area SII. Infatti, neuroni di proiezione associativa erano presenti nel giro post-centrale ipsilaterale, in una zona corrispondente alla zona di rappresentazione della mano dell'area SI, mentre neuroni di proiezione callosale avevano sede nella stessa zona dell'area SI contralaterale e in una regione dell'opercolo parietale, anch'essa corrispondente topograficamente all'area SII. Tali connessioni cortico-corticali, sia associative che callosali, sembrano essere specifiche dell'area SII in quanto, tra le diverse aree che concorrono a formare l'opercolo, l'area SII è stata descritta come l'unica area che riceve proiezioni convergenti e topograficamente organizzate dall'area SI ipsilaterale e dalle aree SI ed SII contralaterali [2, 5]. Pertanto, contrariamente a quanto descritto in precedenti ricerche anatomiche [9] secondo le quali la zona di rappresentazione della mano dell'area SII è pressochè priva di afferenze callosali, i presenti risultati dimostrano invece che tale zona di fatto riceve afferenze callosali dalle aree somestetiche.

I dati ottenuti dagli esperimenti nei quali sono state eseguite iniezioni multiple di perossidasi nell'opercolo parietale confermano i dati ottenuti con le singole iniezioni. In questi preparati sono state iniettate, oltre all'area SII, anche altre aree dell'opercolo parietale, quali le aree 3-1-2 che formano parte della divisione trigeminale di SI e le aree 7b e retroinsulare, situate posteriormente all'area SII. Nell'emisfero contralaterale, i neuroni di proiezione callosale erano presenti, quasi senza soluzione di continuità, per tutta l'estensione dell'opercolo parietale nonché nel giro post-centrale in corrispondenza dell'area SI. Come specificato all'inizio, nei preparati sottoposti ad iniezioni multiple di perossidasi sono state eseguite registrazioni microelettrodiche dall'emisfero contralaterale alla sede delle iniezioni. Come verrà riferito con maggiori dettagli in una Nota successiva [11], con tali registrazioni si è potuto dimostrare che dalle regioni delle aree SI ed SII provviste di neuroni callosali si derivano risposte unitarie e multiunitarie alla stimolazione dei recettori della mano. Questi risultati suggeriscono in definitiva che anche nel Primate, così com'era stato dimostrato nel Gatto [3, 7, 8], la zona di rappresentazione della mano dell'area SII riceve afferenze callosali dalle zone omologhe delle aree somestetiche contralaterali. Queste afferenze potrebbero mediare le risposte dei neuroni di SII agli stimoli applicati alla mano ipsilaterale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ADAMS J.C. (1977) - *Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker*, «Neuroscience», 2, 141-145.
- [2] BURTON H. e JONES E.G. (1976) - *The posterior thalamic region and its cortical projection in new world and old world monkeys*, «J. Comp. Neurol.», 168, 249-302.
- [3] 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.
- [4] CARRERAS M. e ANDERSON S.A. (1963) - *Functional properties of neurones of the anterior ectosylvian gyrus of the cat*, «J. Neurophysiol.», 26, 100-126.
- [5] FRIEDMAN D.P., JONES E.G. e BURTON H. (1980) - *Representation pattern in the second somatic sensory area of the monkey cerebral cortex*, «J. Comp. Neurol.», 192, 21-41.
- [6] GARCHA H.S., ETTLINGER G. e MACCABE J.J. (1982) - *Unilateral removal of the second somatosensory projection cortex in the monkey: evidence for cerebral predominance?*, «Brain», 105, 787-810.
- [7] INNOCENTI G.M., MANZONI T. e SPIDALIERI G. (1973) - *Relevance of the callosal transfer in defining the peripheral reactivity of somesthetic cortical neurones*, «Arch. Ital. Biol.», 111, 187-221.
- [8] INNOCENTI G.M., MANZONI T. e SPIDALIERI G. (1974) - *Patterns of somesthetic messages transferred through the corpus callosum*, «Exp. Brain Res.», 19, 447-466.
- [9] JONES E.G. e POWELL T.P.S. (1969) - *Connexions of the somatic sensory cortex of the Rhesus Monkey. II. Contralateral cortical connexions*, «Brain», 92, 717-730.
- [10] JONES E.G. e POWELL T.P.S. (1970) - *Connexions of the somatic sensory cortex of the Rhesus monkey. III. Thalamic connexions*, «Brain», 93, 37-56.
- [11] MANZONI T., BARBARESI P. e CONTI F. - *Correlazione tra campi recettivi periferici e neuroni di proiezione callosale delle aree somestesiche prima e seconda della scimmia (Macacus Irus)*, «Atti Accad. Naz. Lincei», in stampa.
- [12] MOUNTCASTLE V.B. e HENNEMAN E. (1952) - *The representation of tactile sensibility in the thalamus of the monkey*, «J. Comp. Neurol.», 97, 409-440.
- [13] PANDYA D.N. e VIGNOLO L.A. (1969) - *Interhemispheric projections of the parietal lobe in the Rhesus Monkey*, «Brain Res.», 15, 49-65.
- [14] ROBINSON C.J. e BURTON H. (1980) - *Somatotopographic organization in the second somatosensory area of M. fascicularis*, «J. Comp. Neurol.», 192, 43-67.
- [15] ROBINSON C.J. e BURTON H. (1980) - *Organization of somatosensory receptive fields in cortical areas 7b, retroinsular postauditory and granular insula of M. fascicularis*, «J. Comp. Neurol.», 192, 69-92.
- [16] TEITELBAUM H., SHARPLESS S.K. e BYCK R. (1968) - *Role of somatosensory cortex in interhemispheric transfer of tactile habits*, «J. Comp. Physiol. Psychol.», 66, 623-632.
- [17] WHITSEL B.L., PETRUCCELLI L.M. e WERNER G. (1969) - *Symmetry and connectivity in the map of the body surface in somatosensory area II of primates*, «J. Neurophysiol.», 32, 170-183.
- [18] WOOLSEY C.N. (1943) - *Second somatic receiving areas in the cerebral cortex of the cat, dog and monkey*, «Fed. Proc.», 2, 55-56.



SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Fig. 1. - Esempi di neuroni callosali dell'opercolo parietale di Scimmia marcati per via assonica retrograda con perossidasi di rafano iniettata nell'opercolo parietale contralaterale. A, microfotografia a piccolo ingrandimento della porzione più profonda dell'opercolo parietale. L'asterisco in prossimità del solco di Silvio indica un particolare apprezzabile nell'ingrandimento fotografico mostrato in B. B, microfotografia della corteccia dell'opercolo parietale nella quale sono indicati i 6 strati corticali (I-VI) e la parte entro il riquadro, mostrata in C. Le frecce in C indicano due neuroni callosali marcati con perossidasi visibile nella microfotografia riprodotta in D. Controcolorazione con blu di toluidina. A-C, microfotografie in campo chiaro; D, microfotografia in campo oscuro. SIP, solco intraparietale; SS, solco di Silvio. Calibrazione: A, 2 mm; B, 600 μm ; C, 300 μm ; D, 90 μm .