
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

FIorenzo CONTI, MARA FABRI, PAOLO BARBARESI,
TULLIO MANZONI

Caratteristiche della distribuzione laminare dei neuroni di proiezione associativa nelle aree somestesiche del Primate

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 79 (1985), n.1-4, p. 45-51.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1985_8_79_1-4_45_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. — *Caratteristiche della distribuzione laminare dei neuroni di proiezione associativa nelle aree somestetiche del Primate* (*).
Nota di FIORENZO CONTI, MARA FABRI, PAOLO BARBARESI e TULLIO MANZONI, presentata (**) dal Corrisp. O. PINOTTI.

SUMMARY. — The reciprocal associative connections between the first and the second somatosensory area (SI and SII) of the macaque monkey were investigated with the horseradish peroxidase (HRP) procedures. The aim was to determine, in both areas, the laminar distribution of the associative projecting neurones. In a first group of animals HRP was injected in area SII and in a second group in area SI. In the first group of animals it was found that the retrogradely-labelled neurones of area SI sending axons to ipsilateral area SII (SI-SII associative neurones) were distributed overwhelmingly in layer III (88.8%), mainly in the upper half of this layer. Few neurones were also present in layer II (6.1%), IV (1.8%) and V-VI (3.3%). In the second group of animals it was found that the retrogradely-labelled neurones of area SII sending axons to ipsilateral area SI (SII-SI associative neurones) were distributed mainly in layer V-VI (52.4%) and III (41.1%), especially in its upper half. Scattered associative neurones were also found in layer II (2.2%) and IV (4.3%). The different laminar origin of SI-SII and SII-SI associative projections might be related to a different functional role of the two projections in the transmission of neural information between the two somatosensory areas.

L'impiego delle nuove tecniche anatomiche basate sul trasporto assonico di certe sostanze neurotraccianti come la perossidasi di rafano, alcuni aminoacidi marcati ed un gruppo di composti fluorescenti, ha consentito in questi ultimi anni di tracciare le connessioni cortico-corticali, sia associative che callosali, di diverse aree della corteccia cerebrale del Mammifero e di identificare sia i neuroni di origine che le terminazioni assoniche di queste proiezioni [2, 9, 17]. Uno degli aspetti di maggior interesse emerso da tali ricerche riguarda la distribuzione di questi elementi nervosi nelle diverse lamine che costituiscono la corteccia cerebrale. La loro distribuzione infatti non è casuale in quanto i neuroni di origine e le terminazioni assoniche delle proiezioni cortico-corticali sono disposti nelle varie lamine secondo modelli caratteristici e specifici che possono dipendere sia dall'area di origine che da quella di destinazione di queste

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

(**) Nella seduta del 28 giugno 1985.

proiezioni. Nelle aree visive del Primate, ad esempio, è stato accertato che le connessioni associative tra le aree disposte tra loro in successione caudo-rostrale originano prevalentemente dagli strati sopragranulari e terminano soprattutto nel IV strato, mentre le connessioni reciproche tra le stesse aree, dirette in senso inverso, originano dagli strati infragranulari e terminano prevalentemente nei livelli più esterni della corteccia [7, 14]. Si ritiene che il tipo di organizzazione anatomica di una proiezione associativa sottenda la sua organizzazione e significato funzionale. Di fatto, neuroni corticali con caratteristiche morfologiche, biochimiche e fisiologiche diverse hanno una distribuzione preferenziale in una o più lamine corticali ed è stato inoltre osservato che la soppressione di proiezioni associative con diversa organizzazione anatomica può determinare modificazioni diverse nelle proprietà fisiologiche dei neuroni nell'area deprivata [9, 10, 15, 16; cfr. dati e lett. in 12].

Lo studio dell'organizzazione laminare delle connessioni associative in atto tra le aree sensoriali di proiezione primaria ed alcune aree corticali con cui le prime sono reciprocamente collegate potrebbe quindi suggerire quale significato abbiano le interrelazioni funzionali tra queste aree nella elaborazione intracorticale dei messaggi sensoriali.

L'area somestesica prima (SI) e seconda (SII) del Primate sono anch'esse reciprocamente collegate tra loro mediante proiezioni associative [cfr. dati e lett. in 12]. Tali proiezioni erano note da tempo ma solo di recente ricerche basate sul trasporto assonico di sostanze neurotraccianti hanno potuto dimostrare che il modo di terminare delle fibre associative originate nell'area SI è diverso da quello delle omologhe fibre originate in SII. Infatti, le fibre associative della proiezione SI-SII terminano prevalentemente nel IV e III strato dell'area SII e, in misura minore, negli strati I-II e VI eccetto il V [4, 5]. Viceversa, le fibre associative SII-SI terminano prevalentemente nel I strato dell'area SI e, in grado minore, negli altri strati eccetto il IV [4, cfr. dati e lett. in 12].

Per quanto riguarda la distribuzione laminare dei neuroni di origine di queste proiezioni associative, è stato descritto che le cellule di origine della proiezione SI-SII sono prevalentemente localizzate nel III strato dell'area SI, mentre i neuroni di origine della proiezione SII-SI sono distribuiti non solo nel III strato ma anche nel V e VI [cfr. dati e lett. in 12] dell'area SII. Mancano tuttavia dati quantitativi circa la esatta ripartizione percentuale di questi neuroni nelle varie lamine delle due aree somestesiche. Una analisi quantitativa di tale ripartizione potrebbe mettere in evidenza una distribuzione specifica dei neuroni di origine delle due vie associative che potrebbe a sua volta ricollegarsi alla diversa distribuzione laminare delle ramificazioni terminali delle due proiezioni nelle rispettive aree di terminazione.

Ci è sembrato pertanto interessante, anche sulla base di quanto esposto all'inizio, studiare la distribuzione dei neuroni di origine delle proiezioni associative SII-SI ed SI-SII, analizzando lo stesso materiale sperimentale in cui erano state in precedenza studiate le proiezioni callosali tra le aree somestesiche

del Primate [3, 8], (10 scimmie del genere *Macaco*, specie *M. irus*, *M. nemestrina* e *M. fascicularis*), impiegando la tecnica del trasporto assonico retrogrado di perossidasi di rafano.

Per i dettagli tecnici e per la metodologia impiegata in questi esperimenti si rimanda alle pubblicazioni precedenti [8, 9]. Occorre ricordare che in alcuni di questi animali era stata iniettata perossidasi di rafano nell'opercolo parietale, a livello dell'area SII, mentre in altri animali la stessa sostanza era stata iniettata nel giro post-centrale, a livello dell'area SI. In entrambi i casi, le sedi delle iniezioni erano state scelte derivando mediante microelettrodi di tungsteno le risposte multiunitarie alla stimolazione della periferia somatica. Nei casi selezionati per la presente comunicazione, le iniezioni erano state eseguite a livello della zona di rappresentazione della mano di entrambe le aree. Tutti i preparati erano stati trattati per la reazione istochimica della perossidasi impiegando il protocollo descritto da Adams [1]; nel secondo gruppo di animali, alcune sezioni istologiche sono invece trattate con il metodo descritto da Mesulam [11]. Nel primo gruppo di animali, in cui era stata iniettata con perossidasi l'area SII, è stata analizzata nell'area SI la distribuzione laminare dei neuroni di origine della proiezione associativa SI-SII, mentre nel secondo gruppo, in cui era stata iniettata l'area SI, è stata studiata, nell'area SII, la distribuzione dei neuroni di origine della proiezione associativa SII-SI. In questi ultimi preparati sono stati inoltre osservati neuroni associativi dell'area SII marcati tanto intensamente con perossidasi da evidenziare gran parte della loro arborizzazione dendritica, sia basale che apicale. La descrizione di tali neuroni, che mostrano quindi una colorazione simile a quella ottenibile con il Metodo di Golgi, può fornire ulteriori indicazioni sull'organizzazione intrinseca delle connessioni associative.

DISTRIBUZIONE LAMINARE DEI NEURONI DI ORIGINE DELLA PROIEZIONE ASSOCIATIVA SI-SII

A seguito di iniezioni di perossidasi eseguite nell'opercolo parietale a livello dell'area SII, sono risultati marcati per via assonica retrograda neuroni nell'area SI ipsilaterale. Tali neuroni sono stati quindi identificati come neuroni di origine della proiezione associativa SI-SII. La quasi totalità di questi neuroni era localizzata negli strati sopragranulari. Infatti, determinando la distribuzione laminare di un campione di 885 neuroni di proiezione associativa, è risultato che 759, corrispondenti all'88,8% del totale, erano localizzati nel III strato corticale e 53 neuroni, corrispondenti al 6,1% della popolazione esaminata, avevano sede nel II strato. Altri 28 neuroni (3,3%) erano localizzati negli strati infragranulari (V e VI) e solo 15 (1,8%) nel IV strato, generalmente al bordo superiore (fig. 1). Gran parte dei neuroni del III strato era situata nella metà esterna dello strato e solo pochi nella porzione più profonda. Nel complesso quindi, circa il 95% (94,9%) delle fibre associative destinate all'area SII origina da neuroni degli strati sopragranulari dell'area SI ipsilaterale. Il contributo

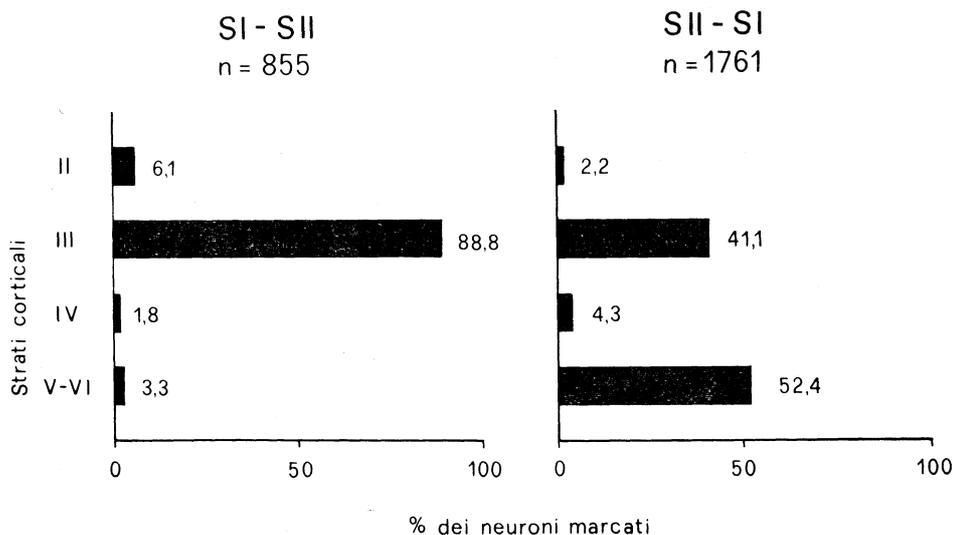


Fig. 1. - Grafico a sinistra: distribuzione laminare di una popolazione di 885 dell'area SI marcati per via assonica retrograda con perossidasi di rafano iniettata nell'area SII ipsilaterale. Grafico a destra: distribuzione laminare di una popolazione di 1.761 neuroni dell'area SII marcati per via assonica retrograda con perossidasi di rafano iniettata nell'area SI ipsilaterale.

degli strati IV, V e VI alla proiezione associativa SI-SII è invece trascurabile (5,1%).

Tale tipo di distribuzione si è resa evidente sia a seguito di iniezioni singole che di iniezioni multiple di perossidasi nell'area SII. Per quanto il tipo di marcatura retrograda ottenuta in questi preparati non abbia consentito di identificare dettagliatamente la morfologia dei neuroni associativi, è possibile affermare che gran parte di questi neuroni aveva il soma di tipo piramidale.

DISTRIBUZIONE LAMINARE DEI NEURONI DI ORIGINE DELLA PROIEZIONE ASSOCIATIVA SII-SI

A seguito di iniezioni di perossidasi eseguite nel giro post-centrale a livello dell'area SI sono stati rintracciati numerosi neuroni marcati per via retrograda nell'area SII ipsilaterale. Questi neuroni, identificati come neuroni di origine della proiezione associativa SII-SI, erano distribuiti nella corteccia dell'opercolo parietale in modo ben diverso da quanto descritto sopra a proposito dei neuroni associativi dell'area SI. Infatti, numerosi neuroni erano presenti nell'area SII sia negli strati sopragranulari che in quelli infragranulari (Tav. I). Ripartendo un campione di 1.761 neuroni associativi secondo lo strato di appartenenza, è risultato che 723 cellule, pari al 41,1% del campione, avevano sede nella metà esterna del III strato e 39, corrispondenti al 2,2% nel II strato. Oltre la metà dei neuroni associativi, ed esattamente 923 cellule cor-

rispondenti al 52,4% del campione, avevano sede negli strati V-VI. Infine, solo 76 (4,3%) neuroni sono stati identificati nel IV strato (fig. 1). Nel complesso quindi, i neuroni di origine della proiezione associativa SII-SI mostravano una distribuzione praticamente bimodale in quanto, se si esclude la piccola quota di cellule presenti nel IV strato, oltre la metà (52,4%) dei neuroni era localizzata negli strati infragranulari (V e VI) e poco meno della restante metà (43,3%) negli strati sopragranulari (II e III). Tale tipo di distribuzione è stata osservata sia nei preparati in cui sono state iniettate piccole quantità di perossidasi che negli animali iniettati con quantità elevate di enzima.

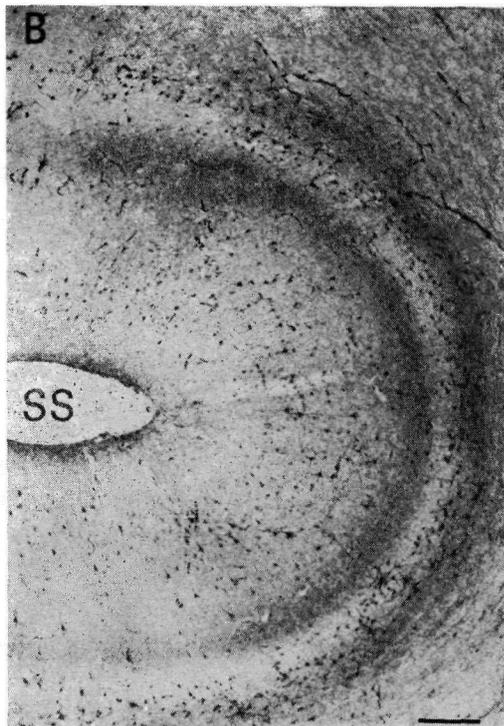
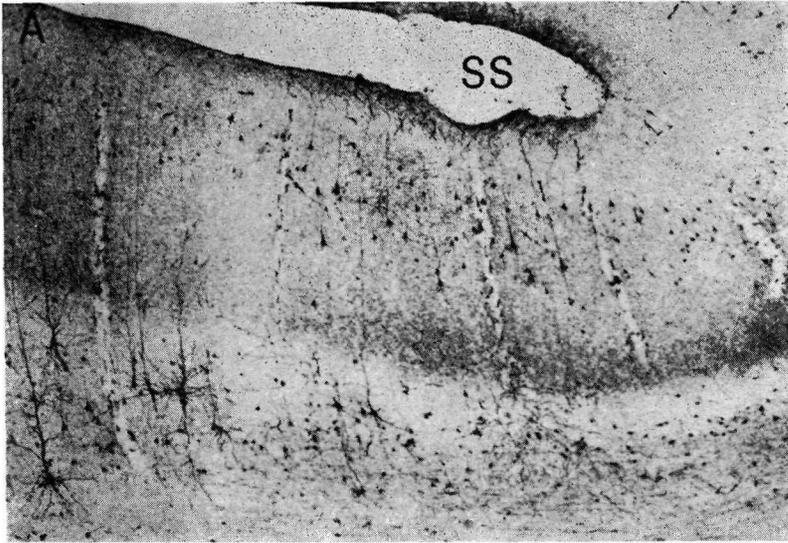
MORFOLOGIA DEI NEURONI DI ORIGINE DELLA PROIEZIONE ASSOCIATIVA SII-SI

Come riferito in precedenza, nel gruppo di animali in cui sono state eseguite iniezioni di perossidasi nell'area SI, è stato possibile identificare nell'area SII ipsilaterale numerosi neuroni la cui marcatura retrograda con perossidasi era molto intensa, di tipo sia granulare che omogeneo, tanto da poter mettere in evidenza la morfologia del soma e gran parte della arborizzazione dendritica. In taluni casi la colorazione con l'enzima ha perfino consentito di visualizzare minuti dettagli morfologici come le spine dendritiche. La quasi totalità dei neuroni associativi degli strati sopragranulari era di tipo piramidale (Tav. II, D) mentre quelli presenti nelle lamine più profonde erano sia piramidali che non-piramidali, apparentemente di tipo fusiforme o bipolare (Tav. II, A-C). Il dendrite apicale dei neuroni degli strati sopragranulari mostrava un'ampia arborizzazione che si estendeva negli strati soprastanti per diverse decine di micron e terminava nel I strato decorrendo parallelamente a ridosso della pia madre. I dendriti basali si ramificavano su entrambi i lati del soma prevalentemente nello strato di appartenenza del neurone. In alcuni casi i dendriti basali di neuroni associativi situati nella parte più profonda del III strato potevano penetrare nel IV strato. I dendriti dei neuroni associativi degli strati infragranulari formavano un'ampia arborizzazione attorno al soma, estesa sia lateralmente che profondamente fino al confine della sostanza bianca. Il dendrite apicale di questi neuroni ascendeva invece verticalmente fino al I strato, attraversando quindi radialmente l'intera corteccia. Alcuni di questi dendriti emettevano ramificazioni successive, ricoperte di spine, con decorso orizzontale ed obliquo nel IV strato.

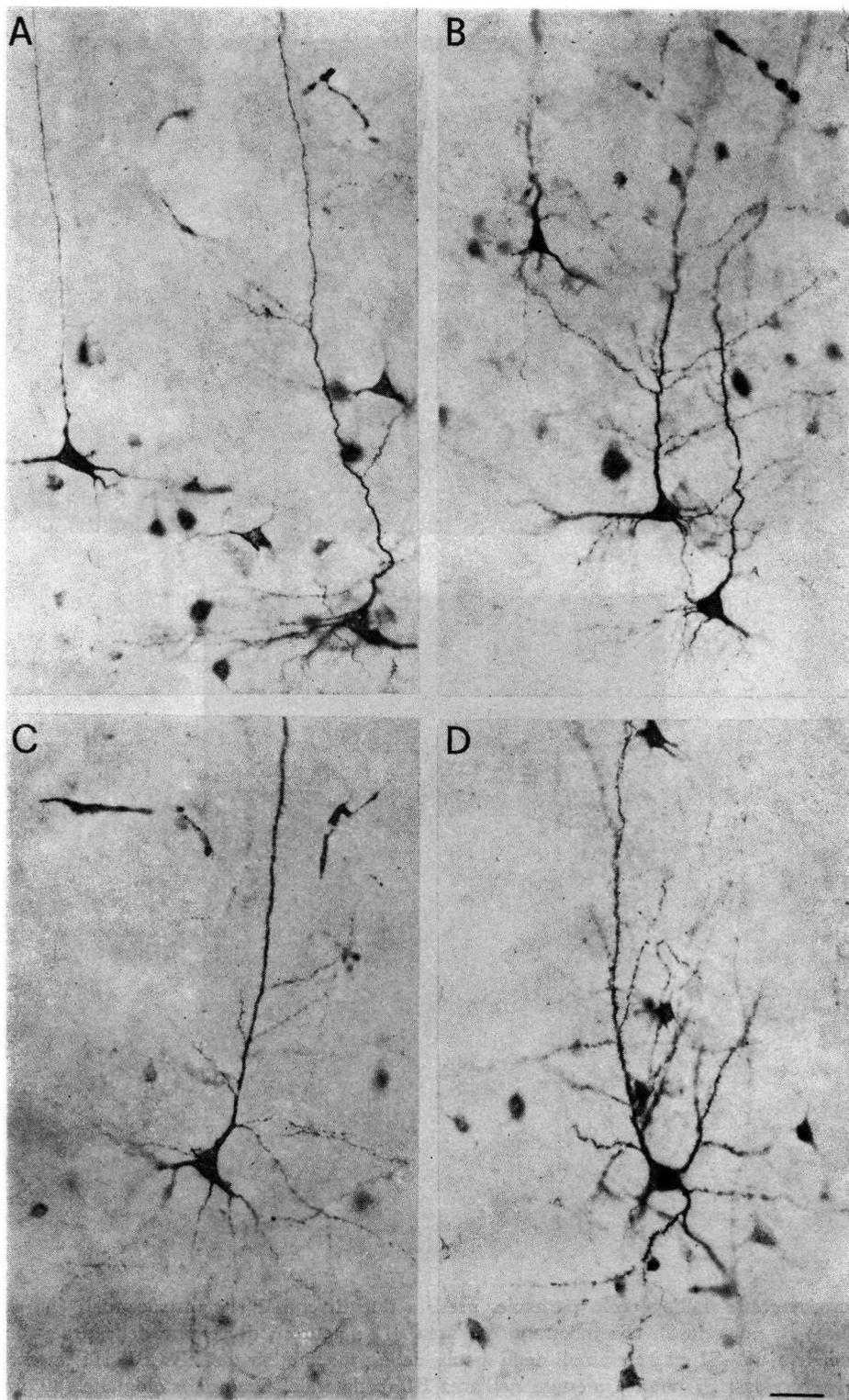
I risultati presentati in questa Nota mostrano la diversa distribuzione laminare dei neuroni di proiezione cortico-corticale appartenenti a due diversi sistemi, uno diretto dall'area SI all'area SII e l'altro, diretto in senso inverso, da quest'ultima area all'area SI. Questi dati confermano nelle linee generali la distribuzione laminare delle due popolazioni di neuroni associativi [cfr. dati e lett. in 12] ma dimostrano per la prima volta che i neuroni di origine della proiezione SII-SI sono maggiormente distribuiti negli strati infragranulari che non nel III strato, ritenuto la principale sede di origine delle fibre cortico-corticali nell'ambito del sistema corticale somestesico [5, cfr. dati e lett. in 12]. Le due proiezioni sono quindi organizzate in modo diverso in quanto la proiezione SI-

SII può essere considerata monolaminare, originando per circa il 90% dal III strato, mentre la proiezione SII-SI è di fatto bilaminare, essendo quasi tutti i suoi neuroni di origine distribuiti nello strato III e soprattutto nel V-VI. A questa diversa organizzazione della distribuzione delle cellule di origine fa riscontro una diversa organizzazione della distribuzione laminare dei terminali assonici delle due proiezioni. Come è stato ricordato all'inizio [4, 5, cfr. dati e lett. n 12], nel Primate i terminali degli assoni associativi sono prevalentemente distribuiti nell'area SII a livello del IV strato ed in parte negli strati II, III e VI (Tav. I), mentre nell'area SI i terminali delle fibre associative sono presenti soprattutto nel I strato e, in parte, anche negli strati II, parte esterna del III e V-VI. Questa organizzazione è simile a quella delle proiezioni associative tra le aree visive [7, 14]. Nelle aree visive infatti, le proiezioni associative tra le aree disposte in serie, per esempio tra l'area 17 e 18 e tra la 18 e la 19, originano dagli strati sopragranulari e terminano soprattutto nel IV strato mentre le proiezioni dirette in senso opposto originano dagli strati infragranulari e terminano prevalentemente nel I strato [14]. È stato ipotizzato che un'organizzazione anatomica del primo tipo serva a trasferire le informazioni sensoriali mentre un'organizzazione del secondo tipo serva principalmente a controllare e regolare le informazioni in arrivo. Di fatto, è stato osservato sperimentalmente che l'integrità dell'area 17 [14, 15, 16] sembra essere essenziale nel Primate per l'attivazione visiva dei neuroni dell'area 18, mentre quest'ultima non è essenziale per l'attivazione dei neuroni della prima [15, 16].

Sulla base delle analogie organizzative tra le connessioni associative delle aree visive e quelle delle aree somestetiche, la medesima ipotesi funzionale potrebbe essere estesa alle connessioni reciproche in atto tra l'area SI ed SII. Questa ipotesi è in realtà sostenibile in considerazione del fatto che l'area SII non sembra ricevere, se non marginalmente, le proiezioni corticipete del complesso ventrobasale del talamo [8], che rappresenta il principale *relais* delle vie ascendenti somatiche e che invece proietta all'area SI (cfr. dati e lett. in 6). La reattività periferica dei neuroni dell'area SII potrebbe quindi dipendere, almeno in parte, dalle proiezioni associative originate nell'area SI. Del resto, i neuroni dell'area SII mostrano risposte più complesse agli stimoli periferici ed hanno campi recettivi più ampi rispetto ai neuroni dell'area SI [13], le cui caratteristiche di reattività periferica sono a loro volta simili a quelle di neuroni del complesso ventrobasale del talamo. Può essere quindi verosimile l'ipotesi che la reattività periferica dei neuroni dell'area SII possa dipendere dalla convergenza di molteplici afferenze tra cui potrebbero avere un ruolo preminente quelle associative originate dall'area SI mentre le proiezioni reciproche SII-SI non dovrebbero essere essenziali per la reattività dei neuroni dell'area SI.



Microfotografie dell'opercolo parietale, prese a due diversi livelli rostrocaudali (A, anteriore; B, posteriore), che mostrano nell'area SII i neuroni di origine della proiezione associativa SII-SI ed i terminali degli assoni della proiezione associativa SI-SII, marcati con perossidasi di rafano iniettata nell'area SI ipsilaterale. Sezioni istologiche (80 μ m) trattate con il metodo di Mesulam (12). SS, Scissura di Silvio. Calibrazione 200 μ m.



Alcuni esempi di tipi morfologici di neuroni dell'area SII marcati per via assonica retrograda con perossidasi di rafano iniettata nell'area SI ipsilaterale. A-C, neuroni del VI strato; D, neurone del III strato. Sezioni istologiche trattate con il metodo di Adams (1).
Calibrazione: 50 μ m.

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.* », 35, 403-420.
- [3] CONTI F., FABRI M. e MANZONI T. - *Connessioni callosali reciproche tra l'area somestesica prima e seconda del Primate*. « *Atti Accad. Naz. Lincei, Rendiconti della Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali* », in questo fascicolo alle pp. 37-44.
- [4] FRIEDMAN D.P. (1983) - *Laminar patterns of termination of cortico-cortical afferents in the somatosensory system*. « *Brain Res.* », 273, 147-151.
- [5] KÜNZLE H. (1978) - *Cortico-cortical efferents of primary motor and somatosensory regions of the cerebral cortex in Macaca fascicularis*. « *Neuroscience* », 3, 25-39.
- [6] JONES E.G. (1984) - *Organization of the thalamocortical complex and its relation to sensory processes*. In « *Handbook of Physiology, Neurophysiology* », J.M. Brookhart & V.B. Mountcastle (eds.), Am. Physiol. Soc., Sect. 1, Vol. III, Cap. 5, 149-212.
- [7] LIN C.S., WELLER R.E. e KAAS J.H. (1982) - *Cortical connections of striate cortex in the owl monkey*. « *J. Comp. Neurol.* », 211, 165-176.
- [8] MANZONI T., BARBARESI P. e CONTI F. (1984) - *Callosal mechanism for the interhemispheric transfer of hand somatosensory information in the monkey*. « *Behav. Brain Res.* », 11, 155-170.
- [9] MANZONI T., CAMINITI R., SPIDALIERI G. e MORELLI E. (1979) - *Anatomical and functional aspects of the associative projections from somatic area SI to SII*. « *Exp. Brain Res.* », 34, 453-470.
- [10] MCKENNA T.M., LIGHT A.R. e WHITSEL B.L. (1984) - *Neurons with unusual responses and receptive-field properties in upper laminae of cat SI cortex*. « *J. Neurophysiol.* », 51 (5), 961-980.
- [11] MESULAM H.M. (1982) - *Tracing neural connections with horseradish peroxidase*, John Wiley & Sons Inc. N.Y.
- [12] MOUNTCASTLE V.B. (1984) - *Central nervous mechanisms in mechanoreceptive sensibility*. In « *Handbook of Physiology, Neurophysiology* », J.M. Brookhart & V.B. Mountcastle (eds.), Am. Physiol. Soc., Sect. 1, Vol. III, Cap. 18, 789-878.
- [13] ROBINSON C.J. e BURTON H. (1980) - *Somatotopographic organization in the second somatosensory area of M. fascicularis*. « *J. Comp. Neurol.* », 192, 43-67.
- [14] ROCKLAND K. e PANDYA D.N. (1979) - *Laminar origins and terminations of cortical connections of the occipital lobe in the Rhesus monkey*. « *Brain Res.* », 179, 3-20.
- [15] SANDELL J.H. e SCHILLER P.H. (1982) - *Effect of cooling area 18 on striate cortex in the squirrel monkey*. « *J. Neurophysiol.* », 48 (1), 38-48.
- [16] SCHILLER P.H. e MALPELI G.J. (1977) - *The effect of striate cortex cooling on area 18 cells in the monkey*. « *Brain Res.* », 126, 366-369.
- [17] SCHWARTZ M.E. e GOLDMAN-RAKIC P.S. (1984) - *Callosal and intrahemispheric connectivity of the prefrontal association cortex in Rhesus monkey: relations between intraparietal and principal sulcal cortex*. « *J. Comp. Neurol.* », 226, 403-420.
- [18] WHITSEL B.L., DREYER D.A. e ROPPOLO J.R. (1971) - *Determinants of body representation in postcentral gyrus of Macaques*. « *J. Neurophysiol.* », 34 (6), 1018-1034.