

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

PIETRO GHIANI, ROSANNA ACCAME N. MURATORI

**Sulla citologia del pancreas endocrino durante lo sviluppo degli anfi. Osservazioni comparative in urodela ed anuri**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.4, p. 570-574.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1962\\_8\\_32\\_4\\_570\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_4_570_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.** — *Sulla citologia del pancreas endocrino durante lo sviluppo degli anfibi. Osservazioni comparative in urodeli ed anuri*<sup>(\*)</sup>. Nota di PIETRO GHIANI e ROSANNA ACCAME n. MURATORI, presentata<sup>(\*\*)</sup> dal Corrisp. E. REMOTTI.

Le osservazioni, che altrove abbiamo riferito<sup>(1)</sup>, su alcuni momenti della evoluzione citologica del pancreas endocrino per un anfibio anuro sono state estese in questi anni a forme larvali ed adulte di *Triturus alpestris*.

Le serie abbastanza complete di stadi fondamentali erano costituite da forme sviluppatasi sin dalla deposizione delle uova in laboratorio ed in parte anche da forme catturate nella località Praglia presso Genova (ambiente da cui provengono del resto gli allevamenti di laboratorio). L'orientamento in ogni caso sullo stadio di sviluppo è stato confrontato con le tavole in argomento riferite dal Rugh<sup>(2)</sup> e da Glückson<sup>(3,4)</sup>.

Limitandoci a trattare qui gli aspetti essenziali delle nostre osservazioni (condotte con metodologia analoga alle precedenti ricerche, sul piano istomorfologico, in particolare per i citotipi endocrini: cromoematossilina-floxina e paraldeide fucsina), in primo luogo va considerata la distribuzione topografica del pancreas nell'ambito del periodo larvale: comparando le osservazioni macro- e microscopiche si può dedurre che il pancreas risulta formato da una porzione più cefalica compresa tra struttura epatica e struttura duodenale, abbastanza ampia ed estesa in senso trasversale; questa si continua con una porzione più sottile che si allunga caudalmente e compare nelle sezioni trasversali sino a che esiste pure in esse una struttura duodenale. Questa seconda porzione è minima sia nel senso della lunghezza che per il

(\*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia e Fisiologia Comparate della Università di Genova.

(\*\*) Nella seduta del 14 aprile 1962.

(1) P. GHIANI e R. ACCAME n. MURATORI, *Il pancreas endocrino durante lo sviluppo di un anfibio anuro. Osservazioni su Hyla arborea*, « Boll. Zool. », vol. XXVIII, fasc. 2 (1961).

(2) R. RUGH, *Experimental Embryology*, Burgess Publ. Co., 1948.

(3) S. GLÜCKSOHN, *Aüssere Entwicklung der extremitäten und Stadieneinteilung der Larvenperiode von Triton taeniatus Leyd und Triton cristatus Laur.*, « Arch. Entwkl. », 125, 495 (1931).

(4) La difficoltà di comparare stadi in specie diverse è stata ovviamente avvertita nei confronti dei quadri offerti dagli Autori sopra citati, in particolare da Glücksohn per gli stadi larvali *T. taeniatus* e *cristatus*. Anche per questo abbiamo infine preferito indicare lo sviluppo somatico espresso con la lunghezza media: questo dato ci è sembrato in parallelismo più costante con la evoluzione pancreatica, pur nelle oscillazioni più oltre segnalate nel testo. Mentre una più ampia serie di osservazioni su altri aspetti correlativi in *T. alpestris* ed in altre forme, in corso di attuazione, richiede ancora una elaborazione alquanto prolungata, riteniamo che per ora questi elementi di riferimento siano sufficienti a fornire una linea della evoluzione pancreatica.

suo diametro trasverso nelle forme più giovani e si presenta invece più robusta nelle forme a termine della evoluzione larvale. La porzione cefalica invece raggiunge rapidamente nei primi stadi larvali un notevole sviluppo che mantiene poi in misura relativamente costante. Si deve ritenere pertanto che questa porzione sia preponderante nelle forme più piccole, mentre a termine della metamorfosi sembra possedere una massa equilibrata con il rimanente.

Queste osservazioni sono di un certo interesse in rapporto a momenti della evoluzione delle strutture di tipo endocrino ed ai rilievi sulla tipografia dei citotipi.

Sotto il profilo quindi più strettamente attinente al nostro argomento, dobbiamo rilevare che almeno in rapporto ai metodi impiegati, si deve giungere a larve abbastanza evolute per ottenere reperti sicuri in tema di attribuzione citotipica. In larve che misurino meno di 20 mm in media è assolutamente evidente la preponderanza di tessuto esocrino a tutti i livelli di sezione. Va anche subito detto che per tutta la evoluzione ed anche nelle forme adulte, il tessuto endocrino è assai scarso in confronto alla più ricca distribuzione che si ritrova negli anuri, specie a termine della metamorfosi e subito dopo. Comunque nell'ambito delle forme più piccole è nelle zone craniali che si rinvengono numerosi elementi che senza soluzione di continuo seguono il contorno dei tubuli esocrini, ma che, a differenza della cellula esocrina, sono alquanto piccoli, con nucleo senza nucleolo e cromatina a masserelle, citoplasma scarso, non allungato e senza granulazioni. Se pure non molto frequentemente, elementi di questo tipo sono inseriti nello stesso contorno tubulare.

In forme appena un poco più evolute tra questi elementi – che potremmo ritenere di transizione – ne compaiono alcuni forniti invece di rade granulazioni basofile citoplasmatiche, con nucleo un poco più grande e fornito di nucleolo. Alla P.A.F. si conferma il reperto.

A questi stadi un'altra immagine di differenziazione in senso citotipico si rinviene in genere a livelli di poco più caudali ed è costituita da gruppi di elementi più piccoli dell'esocrino, con citoplasma fornito di granuli francamente floxinofili: la topografia è abbastanza costante trovandosi tali elementi alla periferia di formazioni esocrine, sporgendo quindi di frequente verso la trama vascolo-connettivale. Dobbiamo però segnalare che in alcuni casi solo elementi di tipo B compaiono come prima differenziazione in senso citotipico.

In forme ancora più evolute (in media da 25 a 28 mm) la quota di elementi che nelle porzioni craniali hanno acquistato granuli citoplasmatici basofili e positivi alla P.A.F. è discretamente aumentata; tali elementi tendono a formare delle strutture « insulari », trovandosi riuniti a gruppi, orientati su capillari, con un assetto reticolare della zona interessata. Alquanto più distalmente, ove addossata alla sezione del duodeno compare una striscia pancreatica, al centro della sezione di questa si rinvengono gruppi di cellule a nucleo fortemente allungato, con o senza nucleolo, a cromatina

dispersa, citoplasma scarso a limiti mal definibili, privo di granulazioni tingibili, talora con una lieve tonalità floxinica diffusa. Questi elementi, molto ravvicinati tra loro, formano piccoli nastri di un tessuto riccamente vascolarizzato; nelle sezioni seriate ci si rende facilmente conto che la formazione si trova per un certo tratto in contiguità con le formazioni arteriolarie centrali del pancreas. Nessuna delimitazione esiste d'altra parte verso il circostante tessuto esocrino.

Ancora a questo livello o poco più caudalmente si rinviene (in posizione dorsale nelle sezioni trasversali) un lobuletto pancreatico, seguibile per circa 250 micron, separato per un certo tratto dal restante pancreas da una formazione vasale e interamente costituito da cellule a granulazioni citoplasmatiche floxinofile, rosso brillanti. In realtà se l'espressione usata di « lobuletto » rende l'idea della precisa delimitazione topografica della struttura, sarebbe più esatto parlare di una colonna di cellule, dello spessore massimo di 10-20 cellule per sezione trasversale.

Raggiunto questo grado di differenziazione, le formazioni endocrine per il restante periodo sino a dopo la metamorfosi, evolvono secondo una linea che - pur nelle oscillazioni talora notevoli da forma a forma, specie per quanto riguarda la comparazione tra situazione pancreatico e stadio evolutivo generico - è nell'insieme delineabile secondo quanto segue.

Nelle porzioni prossimali al fegato le strutture a cellule P.A.F. positive (e a granuli tingibili alla cromematosilina) si presentano con una ricchezza di elementi sempre maggiore, sino a che nella forma a metamorfosi compiuta il corredo a cellule B in tale zona presenta la massima consistenza. È ancora da notare una fase, che può peraltro appartenere anche agli ultimi stadi sinora riferiti e in cui, a livello dei punti di contatto epatopancreatico che si realizzano in queste forme, compaiono con frequenza in mezzo all'esocrino e rivolti verso la struttura epatica elementi di tipo B. La successiva delimitazione della struttura epatica rispetto a quella pancreatico porta ovviamente alla scomparsa di questi quadri, pur rimanendo tali sedi fornite di numerose cellule endocrine di tipo B.

La struttura perivasale riscontrata un poco più distalmente, a cellule con nucleo allungato e senza granulazioni tingibili, permane nella sua evidenza. È difficile giudicare se piuttosto si debba ritenerla un poco aumentata per estensione e numero di elementi che la compongono. In ogni caso esiste come un corredo permanente sino alla forma adulta.

Le piccole zone marginali al tessuto esocrino composte da cellule floxinofile diventano alquanto rare. Nella maggior parte delle forme non se ne rinviene più di una o due per una intera serie di sezioni trasversali. Il lobuletto o colonna a cellule floxinofile è un reperto che si fa incostante dapprima e che nelle forme agli ultimi stadi o dopo la metamorfosi è assolutamente comparso. Difficile è peraltro raccordare osservazioni che possano servire a giudicare sul suo destino evolutivo. In realtà in sedi topograficamente giudicabili come corrispondenti si rinvennero gruppi cellulari ad elementi piccoli, con nucleo ipercromico, denso, citoplasma scarso, talora con sottile alone di addensamento perinucleare.

In queste ricerche non ci siamo per ora occupati degli aspetti in forme neoteniche.

La linea di evoluzione dell'endocrino che abbiamo così cercato di tratteggiare si presta ad alcune considerazioni comparative con quella dell'anfibio anuro precedentemente studiato (loc. cit.). La questione è di un certo interesse ed anche recentemente Wurster e Miller <sup>(5)</sup> in ricerche condotte prevalentemente sul piano biochimico ma con un certo corredo di osservazioni morfologiche tendono a porre l'accento sulle differenze tra i due gruppi a livello pancreatico e sull'orientamento endocrino in genere. Gli Autori descrivono in *Taricha Torosa* cellule di tipo B (con metodi identici a quelli da noi impiegati) ma non trovano cellule di tipo A, ed avvicinano il loro reperto a quelli di Fisher <sup>(6)</sup> e di Kolossow <sup>(7)</sup>. Si tratta per quest'ultimi di ricerche dal 1912 al 1927 e resta un ampio margine di dubbio per la esatta corrispondenza delle descrizioni in tema di citotipi sulla base di metodi ben differenti. Di questa questione generale abbiamo avuto occasione di occuparci altrove (Ghiani <sup>(8)</sup>). Wurster e Miller stessi d'altra parte sottolineano la insufficienza di studi comparativi per poter condurre affermazioni in via generale. Tuttavia ritengono ancora di dover valorizzare il fatto che la forma da loro usata non reagisce al glucagone, al contrario di quanto Wright <sup>(9)</sup> aveva notato in *Bufo*, attribuendo questa mancata risposta alla assenza delle cellule A e ad una conseguente incapacità di utilizzazione del principio glucagonico stesso. Ed ancora sul piano delle costellazioni ormoniche interessate alla omeostasi glucidica, notano la relativa indipendenza dell'interrenale rispetto alla ipofisectomia ed alle sue conseguenze sul livello glicemico, mentre è noto che a diverse conclusioni giunsero Slome <sup>(10)</sup> e Houssay e Biasotti <sup>(11)</sup> in anuri.

Dai nostri dati in realtà la esistenza di cellule di tipo A, ossia di elementi floxinofili nell'urodelo studiato deve ritenersi invece accertata. È tuttavia notevole che a differenza di quanto avviene negli anuri la cellula A non è il primo elemento di differenziazione citotipica, poiché è accompagnata e talora anzi preceduta dalla cellula B. Fatto abbastanza singolare poiché non sembra trovar riscontro in altre forme studiate dal punto di

(5) D. WURSTER e M. MILLER, *Studies on the blood glucose and pancreatic islets of the Salamander Taricha torosa*, «Comp. Biochem. Physiol.», I, 101 (1960).

(6) H. FISHER, *Über die Langerhanschen Inseln in Pankreas von Amphibien*, «Arch. mikr. Anat.», 79, 276 (1912).

(7) N. G. KOLOSSOW, *Ueber die morphologische Bedeutung der Langerhansschen Inseln*, «Zeit. f. mikr. anat. Forschung», Bd. 11, 43 (1927).

(8) P. GHIANI, *Evoluzione citologica del pancreas endocrino. Ricerche in embrione di pollo*, «Atti Acc. Lig. di Scienze e Lett.», vol. 13 (1956).

(9) P. WRIGHT, *Blood sugar studies in the Bull Frog, Rana catesbiana*, «Endocrinology», 64, 551 (1959).

(10) D. SLOME, *The diabetogenic hormone of the pituitary gland*, «J. Exp. Biol.», 13, 16 (1936).

(11) B. A. HOUSSAY e B. BIASOTTI, «CR. Soc. Biol. Parsi», 123, 97 (1936).

vista evolutivo (mammiferi ed uccelli, ad esempio). Ed ancora mentre negli anuri non troviamo una variazione apprezzabile del corredo in cellule A durante la metamorfosi, in *Triturus* si assiste ad una progressiva diminuzione di tale citotipo che risulta infine nell'adulto numericamente alquanto ridotto.

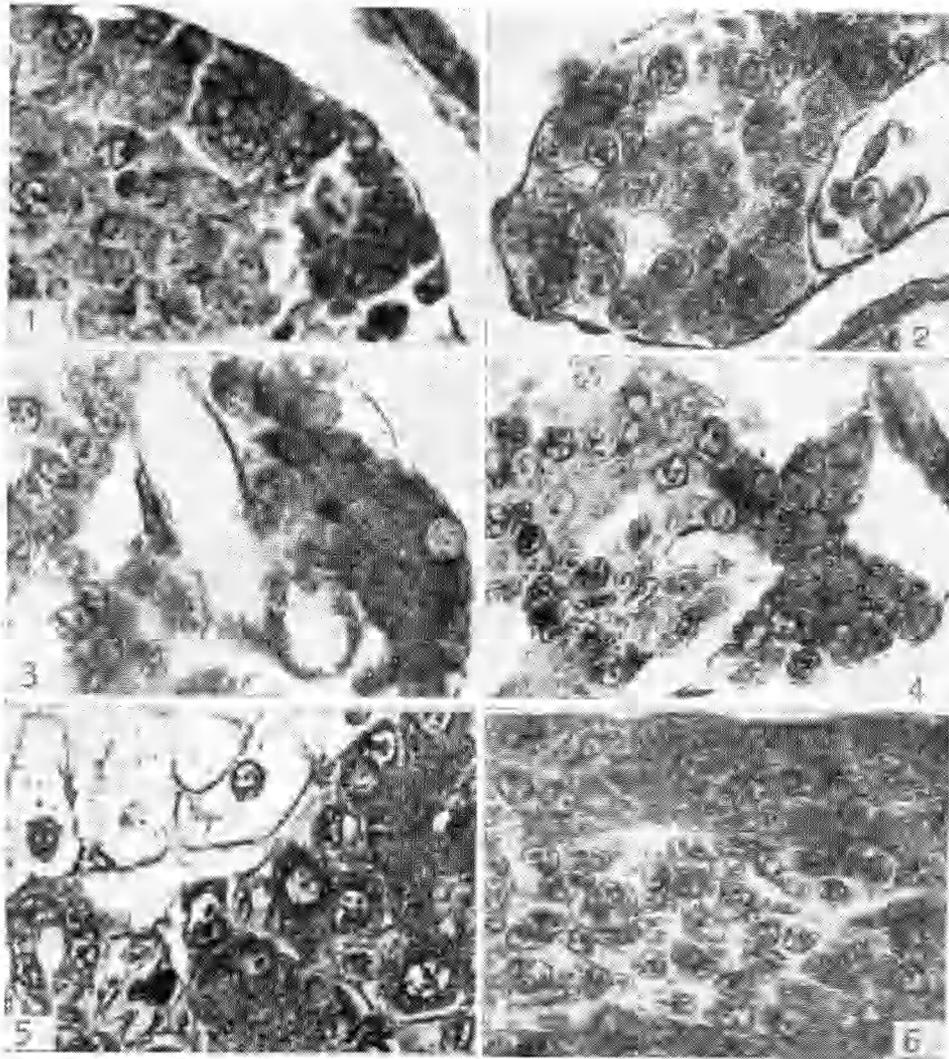
Entro questi limiti una certa convergenza tra le nostre osservazioni e quelle degli Autori citati potrebbe esistere, specie se vogliamo ammettere che il metodo impiegato qui delle sezioni in serie abbia reso più facilmente apprezzabile un reperto che per la sua relativa rarità potrebbe altrimenti anche sfuggire alla osservazione.

È d'altra parte questa la più sensibile differenza tra la evoluzione delle due forme, sul piano strettamente citotipico, ch  anche per quanto riguarda la cellula B in ambedue si assiste ad un aumento di questi elementi verso la fine della metamorfosi. Peraltro si deve rilevare che l'andamento   graduale nella metamorfosi dell'urodelo studiato, mentre ben diversa   la situazione negli anuri, in rapporto alle fasi critiche che caratterizzano la evoluzione metamorfica di queste ultime forme.

Dobbiamo ancora segnalare gli aspetti relativi al terzo tipo di struttura di cui siamo occupati: di quella cio  formata dagli elementi a nucleo ovale e citoplasma privo di granulazioni tingibili.   certamente difficile comparare i momenti di comparsa in ambedue i gruppi di tali elementi cellulari per quanto anche in *Hyla* abbiamo segnato un momento caratteristico di maggiore evidenza di tale struttura.   invece abbastanza significativo che tali elementi acquistino una precisa distribuzione topografica, ancor pi  in *Triturus* che in *Hyla* ed il dato potrebbe essere in armonia con l'attribuzione a tali elementi di una loro pi  particolare fisionomia. In altri termini questo reperto ripropone ancora la questione di un terzo tipo cellulare di cui in varie forme e su diverse impostazioni di osservazione e sperimentali, abbiamo cercato di individuare i documenti fisiomorfologici. Ricordiamo tra l'altro che in particolare le ricerche con cloruro di cobalto (Ghiani <sup>(12,13)</sup>) ci hanno posto il quesito se sia giustificato identificare la cellula A, ossia la cellula floxinofila, con la sede di produzione del glucagone o se non possa essere tale funzione piuttosto individuabile appunto a livello della cellula « chiara », priva di granuli tingibili con i metodi sinora impiegati, che in forme diverse assume una spiccata individuabilit . La particolare distribuzione offerta negli urodeli da un simile elemento cellulare potrebbe quindi essere meritevole di ulteriore osservazione e di eventuale elaborazione sperimentale.

(12) P. GHIANI, *Aspetti di fisiomorfologia cellulare del pancreas endocrino. Ricerche con cloruro di cobalto in embrione di pollo*, « Atti Acc. Lig. Scienze e Lett. », vol. 13 (1956).

(13) P. GHIANI e L. FEDERICI, *Sulla citologia del pancreas endocrino nei teleostei. Ricerche sperimentali in Gambusia hollrooki Grd.*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », fasc. 6, ser. VIII, vol. XXIX, 639 (1960).



Da larve di *Triturus alpestris*, sezioni trasversali a livello pancreatico.

In 1) da larva di mm 20, differenziazione di elementi floxinofili marginali ad una struttura esocrina. In 2) dalla medesima forma, cellule a granulazioni positive alla cromematosillina, rade e grossolane; rapporto con l'isocrino simile al precedente. In 3) da larva di mm 29, aspetto di differenziazione di cellule floxinofile, separate dal restante esocrino da una lacuna vasale; l'immagine può rappresentare un quadro di transizione rispetto a quella in 4), ove si apprezza un lobuletto costituito interamente da cellule floxinofile, delimitato rispetto alla restante massa pancreatico (da forma più evoluta rispetto alla precedente). In 5) da forma a termine di metamorfosi, elementi di tipo B nel tratto di pancreas a struttura prevalentemente esocrina accollata alle cellule epatiche. In 6) da larva di mm 39, un tratto della zona centro-pancreatica costituita da elementi cellulari con nucleo allungato e senza granuli citoplasmatici.

(Coloraz. Cr. Em. Flox.; ingr. fin.: 1400 × ca.)