
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIORGIO GABELLA

Sul comportamento dell'acetilcolinesterasi nello sviluppo dei muscoli assiali, nei Pesci e negli Anfi

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.1-2, p. 86-88.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_1-2_86_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/>

Embriologia. — *Sul comportamento dell'acetilcolinesterasi nello sviluppo dei muscoli assiali, nei Pesci e negli Anfibi*^(*). Nota ^(**) di GIORGIO GABELLA, presentata dal Socio G. LEVI.

È convincimento comune che nello sviluppo dei muscoli esista uno stretto rapporto tra differenziazione morfologica, enzimatica e funzionale (Boell, 1955; Whiting, 1955). Sotto questo punto di vista le colinesterasi furono molto studiate, in tutte le classi dei vertebrati, soprattutto con metodo biochimico. Ma ricerche precise destinate a stabilire l'epoca della prima comparsa dell'enzima, la sua prima localizzazione e l'ulteriore comportamento nel tessuto muscolare striato sono tuttavia scarse ed incomplete. Anche sui primi rapporti del tessuto muscolare con le fibre nervose le osservazioni paiono essere insufficienti.

Io mi sono proposto di studiare il comportamento dell'attività acetilcolinesterasica nello sviluppo dei muscoli assiali, nei Pesci e negli Anfibi, con metodo istochimico. La questione fu posta da Shen (1958) in *Ablystoma punctatum*; questo Autore osservò che l'enzima appare per la prima volta nella sede e nel momento in cui si forma la sinapsi neuromuscolare. È singolare che lo stesso Autore non abbia osservato alcuna differenza nel primo sviluppo dell'enzima in assenza di innervazione. Io ho trattato un considerevole numero di embrioni di *Lebistes reticulatus* (Peters) e di *Bufo Bufo* (L.) con il metodo Koelle per l'AChE, che ho applicato sia su fette al congelatore sia su esemplari *in toto*. Alcuni embrioni furono trattati con il metodo Cajal-De Castro e con il metodo Bodian, interessandomi conoscere i rapporti delle fibre nervose con le fibre muscolari per ogni stadio considerato.

RISULTATI.

Tra le mie osservazioni le più compiute sono quelle relative allo sviluppo dell'attività enzimatica.

In *Lebistes reticulatus*, la reazione di Koelle per l'AChE è positiva per la prima volta allo stadio di 20 somiti; i miotomi si colorano intensamente in blocco (fig. 1). A partire da uno stadio appena più avanzato la reazione si riduce progressivamente di intensità fin quasi a scomparire; rimane positiva ed ancora intensa soltanto a livello delle estremità delle fibre muscolari in corrispondenza del loro attacco ai miosetti; risulta colorato anche il nervo

(*) Dall'Istituto di Istologia ed Embriologia generale della Università di Torino, diretto dal prof. Guido Filogamo.

(**) Pervenuta all'Accademia il 27 luglio 1964.

spinale segmentale (fig. 2). In un terzo stadio, corrispondente alla seconda metà dello sviluppo prenatale, persistendo positiva la reazione all'estremità delle fibre, si evidenzia una intensa colorazione alle giunzioni neuro-muscolari, che sono assai numerose e distribuite in estesa arborizzazione simile a quella descritta da Baretts (1961) nel muscolo laterale superficiale del Pesce-gatto e da Pérez (1935) nei muscoli somatici dell'Ippocampo e della Carpa.

In *Bufo Bufo* la prima comparsa di una reazione positiva fu osservata allo stadio 17 (tav. cronol. di Rossi, 1958) ad 80 h circa dalla fecondazione, in embrioni di mm 4 di lunghezza, i quali per la prima volta si contraggono spontaneamente piegandosi lateralmente ad arco. La colorazione risulta molto debole, diffusa soltanto ai miotomi craniali; la presenza di cellule pigmentate e l'abbondante vitello rendono difficile l'osservazione. In embrioni allo stadio 18, a 90 h circa dalla fecondazione, lunghi mm 5,5, la reazione diviene intensamente positiva, sempre diffusa al sarcoplasma dei mioblasti di tutti i miotomi ad eccezione di quelli caudali; all'estremità dei miotomi, a livello dei miosetti, appaiono delle bande molto colorate le quali non sembrano essere sicuramente in rapporto ad una più intensa reazione dell'estremità terminale degli elementi muscolari, ma alla convergenza sul miosetto degli elementi stessi. In stadi successivi la reazione di Koelle si riduce gradatamente di intensità nella parte media delle fibre muscolari; in embrioni allo stadio 22, a 150 h dalla fecondazione, lunghi mm 9 e già capaci di nuotare, la reazione permane intensa soltanto all'estremità terminale delle fibre muscolari che per il resto sono scolorate. Allo stadio 25, alla fine del periodo embrionale, in esemplari lunghi circa 12 mm, la reazione è sempre positiva a livello delle estremità terminali; l'esame della precisa localizzazione dell'enzima in questa sede, rileva il progressivo differenziarsi di un cappuccio colorato a fini tratti che avvolgono l'estremità terminale della fibra muscolare. In larve di 16-18 mm il cappuccio è costituito in modo definitivo (fig. 3); in epoca successiva, a breve distanza dall'estremità delle fibre, si costituiscono precisi rapporti neuro-muscolari, definendosi la placca motrice subterminale.

Nei segmenti più caudali e per tutti gli stadi considerati, la reazione si mantiene costantemente negativa.

DISCUSSIONE.

Dalle esposte osservazioni risulta che nei muscoli assiali degli embrioni sia di *Lebistes reticulatus* sia di *Bufo Bufo*, lo sviluppo dell'acetilcolinesterasi procede secondo un piano caratterizzato da tre tappe distinte. Dapprima, all'epoca di comparsa dei primi miotomi, la reazione di Koelle diviene per la prima volta positiva nel sarcoplasma dei mioblasti. Successivamente differenziandosi ed accrescendosi le fibre muscolari, la reazione istochimica si localizza all'estremità delle fibre stesse. Infine si definisce l'attività a livello delle placche motrici; queste in *Lebistes reticulatus* sono disseminate su tutta

la lunghezza delle fibre, in *Bufo Bufo* sono localizzate nel segmento sub-terminale delle fibre stesse.

Lo studio della differenziazione enzimatica della ontogenesi dei muscoli assiali, si innesta sul vasto problema dei rapporti tra differenziazione morfologica e funzionale dei muscoli, che fu in particolare affrontato da Leghissa in *Salmo* (1942) e da Galeotti e G. Levi (1913) in *Rana aesculenta* e *temporaria* ed in *Bufo vulgaris* (1913). Confrontando i dati istochimici con i dati finora raggiunti con i metodi argentici ritengo di poter affermare che l'attività enzimatica a livello dell'apparato subneurale definisce il momento e la sede in cui si stabilisce la sinapsi. Sembra verosimile ma non sicuramente accertato, che anche la prima comparsa dell'enzima in forma diffusa nei mioblasti, coincida cronologicamente con lo stabilirsi dei primi temporanei rapporti neuromuscolari.

Il comportamento dell'enzima in quel periodo dello sviluppo che è caratterizzato dal suo progressivo localizzarsi all'estremità terminale delle fibre muscolari, sembra correlato al processo maturativo delle fibre stesse.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] E. J. BOELL, *Analysis of Development*. Saunders Company – London 1955, p. 524.
- [2] H. P. WHITING, *Biochemistry of the developing nervous System*. Academic Press inc. New York 1955, p. 83.
- [3] L. C. SHEN, *The chemical Basis of Development*. J. Hopkins Press – London 1958, p. 416.
- [4] A. BARETS, «Arch. d'Anat. Microsc. et Morphol. Exp.», 1961.
- [5] A. P. R. PEREZ, «Trav. Biol. Cajal.», XXIX, 207 (1934).
- [6] A. ROSSI, «Monit. Zool. It.», 66, 133 (1958).
- [7] J. LEGHISSA, «Zeit. f. Anat.», III, 601 (1942).
- [8] G. GALEOTTI e G. LEVI, «Archiv. f. Entw. d. Org.», 37, 599 (1913).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. – *Lebistes reticulatus*. Embrione 20 somiti. Met. Koelle sull'esemplare *in toto*. Reazione positiva per l'AChE nei miotomi. Ingr. 25 ×.
- Fig. 2. – *Lebistes reticulatus*. Embrione 12 giorni. Met. Koelle, sull'esemplare *in toto*. Distribuzione terminale delle AChE nelle fibre muscolari. Il nervo segmentale è Koelle positivo. Ingr. 50 ×.
- Fig. 3. – *Lebistes reticulatus*. Periodo prenatale tardivo. Met. Koelle. Reazione positiva all'estremità terminale delle fibre muscolari ed alle giunzioni neuro-muscolari. Ingr. 60 ×.
- Fig. 4. – *Bufo Bufo*. Embrione mm 5,5. Met. Koelle. Reazione positiva nei miotomi. Ingr. 78 ×.
- Fig. 5. – *Bufo Bufo*. Embrione mm 9. Met. Koelle. Reazione positiva all'estremità terminale delle fibre muscolari. Ingr. 80 ×.
- Fig. 6. – *Bufo Bufo*. Larva 18 mm. Met. Koelle. Reazione positiva alle giunzioni muscolo-tendinee Ingr. 630 ×.

