
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALDO ROSSI

Osservazioni sulle malformazioni strutturali dell'intestino di Bufo bufo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.5, p. 722–727.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_5_722_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. — *Osservazioni sulle malformazioni strutturali dell'intestino di Bufo bufo.* Nota di ALDO ROSSI (*), presentata (**), dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Nella presente Nota vengono esposte alcune osservazioni fatte su larve di *Bufo bufo*, che, pur essendo state sottoposte a differenti tecniche sperimentali, presentano identiche malformazioni strutturali dell'intestino.

Secondo Dalcq e Halter (1943 [1]) la formazione dello stomaco, dell'intestino, del fegato e del pancreas, si opera attraverso le proprietà insite nell'entoderma, le quali regolano la velocità di elaborazione di molteplici sostanze che sono state indicate dagli Autori con il termine di «organisina». La concentrazione locale di questa sostanza regola il differenziamento delle varie parti dell'entoderma, come pure il differenziamento specifico delle cellule (p. 583). L'entoderma di una giovane gastrula, come quello di un embrione allo stadio di bottone codale allungato, non è però un mosaico di abbozzi, poiché le varie parti sono ancora determinate labilmente e possono regolarsi anche in seguito a gravi perturbazioni della loro organizzazione (pp. 573, 583). Le più recenti ricerche di Okada (1957, 1960 [2-3]) e di Takata (1960 *a, b* [4-5]) hanno dimostrato che l'entoderma non ha però capacità di autodifferenziamento, come avevano supposto Holtfreter (1933 [6]) e Stableford (1948 [7]), e che la segregazione dei suoi territori dipende dalla disposizione regionale del mesoderma.

Kemp (1951 [8]) ha osservato che lo sviluppo delle spire intestinali nelle larve degli Anfibi anuri avviene normalmente se non vi sono alterazioni I) nella circolazione vitellina, II) nell'equilibrio idrostatico, e III) nella grandezza della cavità celomatica. Bondi (1959 *a, b, c*, 1962 [9, 10, 11, 12]) ha constatato che, immobilizzando per 3-4 giorni meccanicamente o chimicamente embrioni di *Bufo vulgaris*, di *Bufo viridis*, e di *Rana esculenta*, allo stadio di bottone codale piccolo, si forma un apparato digerente raccorciato, quasi privo di spire, e con un diametro trasverso accresciuto, per cui conclude che le alterazioni morfologiche dell'apparato digerente sono dovute alla mancanza delle contrazioni embrionali in un ben determinato periodo embrionale. Tali alterazioni si manifestano anche se la cavità addominale è di grandezza normale o anche più grande.

Il *situs inversus viscerum*, che si manifesta in seguito a varie tecniche sperimentali (Pressler 1911 [13], Spemann e Falkenberg 1919 [14], Wilhelmi 1921 [15], Dalcq e Halter 1943 [1], Yamamoto 1961 [16]) è dovuto, secondo

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma e con i contributi del Centro di Neuroembriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 10 aprile 1965.

Wilens (1957) [17]), ad alterazioni del normale sviluppo della parte sinistra del duodeno prospettico, dato che la dominanza di un maggiore potenziale di accrescimento di questa sede assicura la normale asimmetria dell'intestino. L'arresto della morfogenesi dell'intestino in seguito alla cordoectomia è stato descritto da Giardina (1913) [18]) in un embrione di *Discoglossus pictus*, e riduzioni delle spire intestinali sono state osservate da Rugh (1950 [19]) in larve di *Rana pipiens* trattate con i raggi X. Cotronei (1914, 1915, 1921 [20, 21, 22]) in seguito a studi morfologici e sperimentali (larve al LiCl), ha messo in evidenza l'importanza delle *condizioni spaziali* nella morfogenesi dell'apparato digerente e in particolare del vestibolo boccale degli Anuri.

Un'ampia descrizione morfologica (con numerose rappresentazioni grafiche) delle varie fasi dello sviluppo dell'intestino del *Bufo bufo*, è stata fatta da Sabatino (1916 [23]).

MATERIALE E METODO.

Nel presente lavoro vengono presi in considerazione quegli individui di *Bufo bufo*, che pur essendo stati trattati con tre differenti tecniche (cordoectomia, ablazione dello strato esterno della placca neurale, trattamenti con soluzioni molari di NaSCN) presentano identiche anomalie morfologiche dell'intestino. Il trattamento con soluzioni molari scalari di NaSCN (da 0,5 M a 0,004 M) è stato eseguito dallo stadio di uovo fecondato a quello di pieghe neurali aperte (Rossi 1964 [24]); la cordoectomia è stata eseguita allo stadio di pieghe neurali aperte (Rossi 1960 *a* [25]; l'asportazione dello strato esterno della placca neurale è stato effettuato agli stadi di placca neurale, pieghe neurali aperte, e di movimento rotatorio (Rossi 1960 *b* [26]). Per i particolari riguardanti le tecniche eseguite nelle tre esperienze si rimanda ai su citati lavori.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI.

Gli individui trattati con le soluzioni molari di NaSCN allo stadio di blastula, mostrano una grande varietà di anomalie corporee; in particolare, gli individui presi in esame nel presente lavoro, hanno un corpo assottigliato, l'addome ristretto, e la coda è talvolta priva della pinna impari mediana. La lunghezza totale dell'individuo è sempre inferiore a quella dei controlli di pari età (Tav. I, fig. 1). Per quanto riguarda l'intestino, si nota che vi è una notevole riduzione della sua lunghezza totale e un ritardo generale della sua morfogenesi. Infatti negli individui trattati, l'intestino, dopo la rotazione in senso opposto a quello dello stomaco, non subisce ulteriori modificazioni morfologiche, per cui rimane strutturalmente sacciforme, disposto trasversalmente rispetto l'asse antero-posteriore dell'animale, con un limitato sviluppo della spiralizzazione della matassa intestinale, che nei controlli di pari età è già notevolmente avanzata (Tav. I, fig. 2). All'esame microscopico si nota un con-

siderevole ripiegamento della mucosa, entro il lume intestinale fino ad obliterarlo completamente. I ripiegamenti della mucosa intestinale, che in alcuni casi interessano tutto il tratto intestinale, possono manifestarsi anche solo in alcune parti di esso. Si osserva inoltre che i visceri contenuti nella cavità celomatica sono considerevolmente ravvicinati fra di loro, e notevolmente ridotto è lo spazio nella cavità celomatica (Tav. II, figg. 1,2). Il fegato e il pancreas hanno subito uno sviluppo variabile e in qualche caso il loro accrescimento si è arrestato precocemente.

Quadri isto-morfologici del tutto simili si osservano anche nell'apparato digerente di alcuni individui cordoectomizzati e di quelli privati dello strato esterno della placca neurale (Tav. II, figg. 3, 4 e 5, 6). Inoltre, gli individui cordoectomizzati presentano, fino allo stadio di bottone codale, un normale allungamento del tronco e della coda, mentre, negli stadi successivi, il tronco si accresce con lo stesso ritmo di quello dei controlli di pari età. Di conseguenza, già alla fine del periodo embrionale vi è una notevole differenza tra la lunghezza totale degli individui operati e quella dei controlli. Similmente anche gli individui privati dello strato esterno della placca neurale, presentano, dopo una morfogenesi apparentemente normale durante la vita embrionale, un accrescimento molto lento durante la vita larvale, e restano molto più piccoli dei controlli di pari età.

DISCUSSIONE.

Le alterazioni dello sviluppo dell'intestino riscontrate negli individui che hanno subito i tre differenti tipi di trattamento sperimentale, sono dovute con ogni probabilità all'azione concomitante di più fattori. Innanzi tutto, la riduzione del numero delle spire intestinali può essere messa in rapporto con il rallentato accrescimento lineare e volumetrico di tutto il corpo dell'individuo. Tale riduzione della mole corporea è dovuta:

a) negli animali cordoectomizzati alla mancata estensione del tronco, essendo stato eliminato il principale organo dell'allungamento lineare dell'embrione;

b) alle gravi alterazioni strutturali del sistema nervoso centrale, negli individui privati dello strato esterno della placca neurale;

c) ad uno stato tossico generale negli individui trattati con soluzioni di NaSCN.

La riduzione dell'allungamento dell'individuo, il minor volume della matassa intestinale e la diminuita elaborazione dei liquidi celomatici, sono le più probabili cause che hanno concorso nel determinare la riduzione della cavità addominale nella quale il fegato, il pancreas, lo stomaco e le spire intestinali, sono variabilmente ammassate tra di loro.

La tonaca mucosa è sensibilmente ripiegata nel lume intestinale, fino a renderlo virtuale. Ciò dimostra che, negli intestini degli individui di *Bufo bufo* trattati con tre differenti tecniche sperimentali, si è venuta a determinare una disarmonia tra morfogenesi ed istogenesi, in quanto, pur essendosi arrestata la

morfogenesi intestinale ad una condizione embrionale, continua l'attività mitotica degli elementi cellulari della tonaca mucosa.

In seguito al trattamento di embrioni di *Rana esculenta* con raggi X, anche Pasquini e Meldolesi (1930 [27]) hanno constatato l'esistenza di inibizioni della morfogenesi degli organi indipendenti dalle alterazioni del differenziamento istologico. Pasquini ha trovato inoltre che in particolari stadi dello sviluppo, e con determinate dosi di raggi X, si possono provocare delle alterazioni patologiche delle cellule in individui apparentemente normali (1930 [28]), come pure delle alterazioni della morfogenesi degli organi, non associate a visibili alterazioni cellulari (1931 [29]).

La causa principale del ripiegamento della mucosa intestinale osservata nelle presenti ricerche, può essere messa in relazione con il raccorciamento dell'intestino, e quindi con una riduzione della superficie di espansione della tonaca mucosa. Secondo Dalcq e Halter (1943 [1]), che hanno osservato casi sporadici simili, il ripiegamento della tonaca mucosa è dovuto alla minore capacità di accrescimento della guaina splancopleurica, donde la limitazione dello spazio entro il lume intestinale (p. 573). Lo stesso fenomeno potrebbe essere stato causato però dallo squilibrio della pressione idrostatica endointestinale e celomatica, che secondo Kemp (1951 [8]) ha una notevole importanza, non solo nella regolazione del diametro del lume intestinale, ma anche sull'allungamento e sulla formazione delle spire intestinali.

BIBLIOGRAFIA.

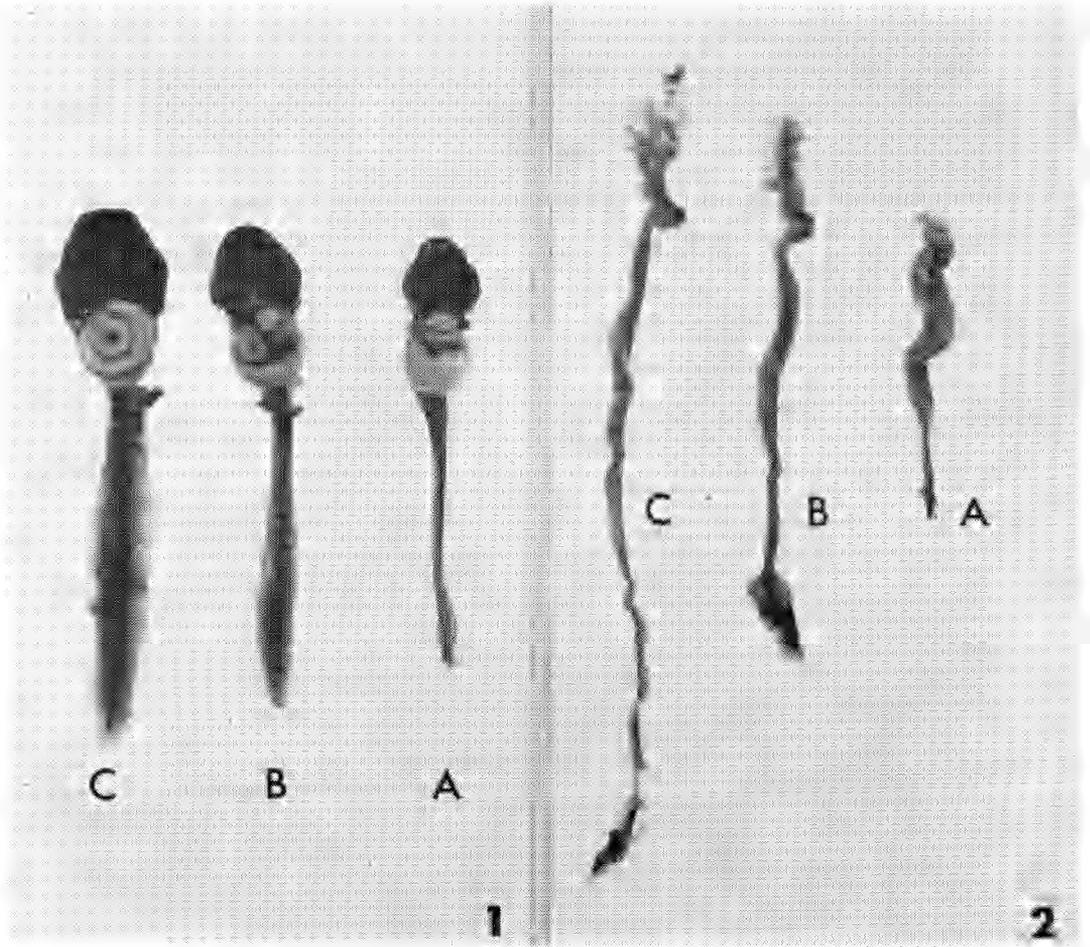
- [1] A. DALCQ et S. HALTER, *Contribution à l'étude expérimentale de la morphogénèse du tractus digestif chez les Amphibiens*, « Arch. Biol. », 54, 477 (1943).
- [2] T. S. OKADA, *The pluripotency of the pharyngeal primordium in Urodelan neurulae*, « J. Embryol. exp. Morph. », 5, 438 (1957).
- [3] T. S. OKADA, *Epithelio-mesenchymal relationships in the regional differentiation of the digestive tract in the Amphibian embryo*, « Arch. Entw. mech. », 152, 1 (1960).
- [4] C. TAKATA, *The differentiation in vitro of the isolated endoderm under the influence of the mesoderm in Triturus pyrrhogaster*, « Embryologia », 5, 38 (1960 a).
- [5] C. TAKATA, *The differentiation in vitro of the isolated endoderm in the presence of the neural fold in Triturus pyrrhogaster*, « Embryologia », 5, 194 (1960 b).
- [6] J. HOLTFRETER, *Die totale Exogastrulation eine Selbstablösung des Ektoderms vom Entomesoder. Entwicklung und funktionelles Verhalten nervenloser Organe*, « Arch. Entw. mech. », 129, 669 (1933).
- [7] L. T. STABLEFORD, *The potency of the vegetal hemisphere of the Amblystoma punctatum embryo*, « J. Exp. Zool. », 109, 385 (1948).
- [8] N. E. KEMP, *Development of intestinal coiling in anuran larvae*, « J. Exp. Zool. », 116, 259 (1951).
- [9] C. BONDI, *Ricerche sperimentali sulla morfogenesi dell'apparato digerente negli Anfibi anuri*, « Riv. Biol. », 51, 39 (1959 a).
- [10] C. BONDI, *Ulteriori ricerche sperimentali sul valore morfogenetico delle contrazioni embrionali sullo sviluppo dell'apparato digerente degli Anfibi anuri*, « Riv. Biol. », 51, 469 (1959 b).
- [11] C. BONDI, *Nuove esperienze sul valore morfogenetico delle contrazioni embrionali sullo sviluppo dell'apparato digerente degli Anfibi anuri*, « Boll. Zool. », 26, 379 (1959 c).

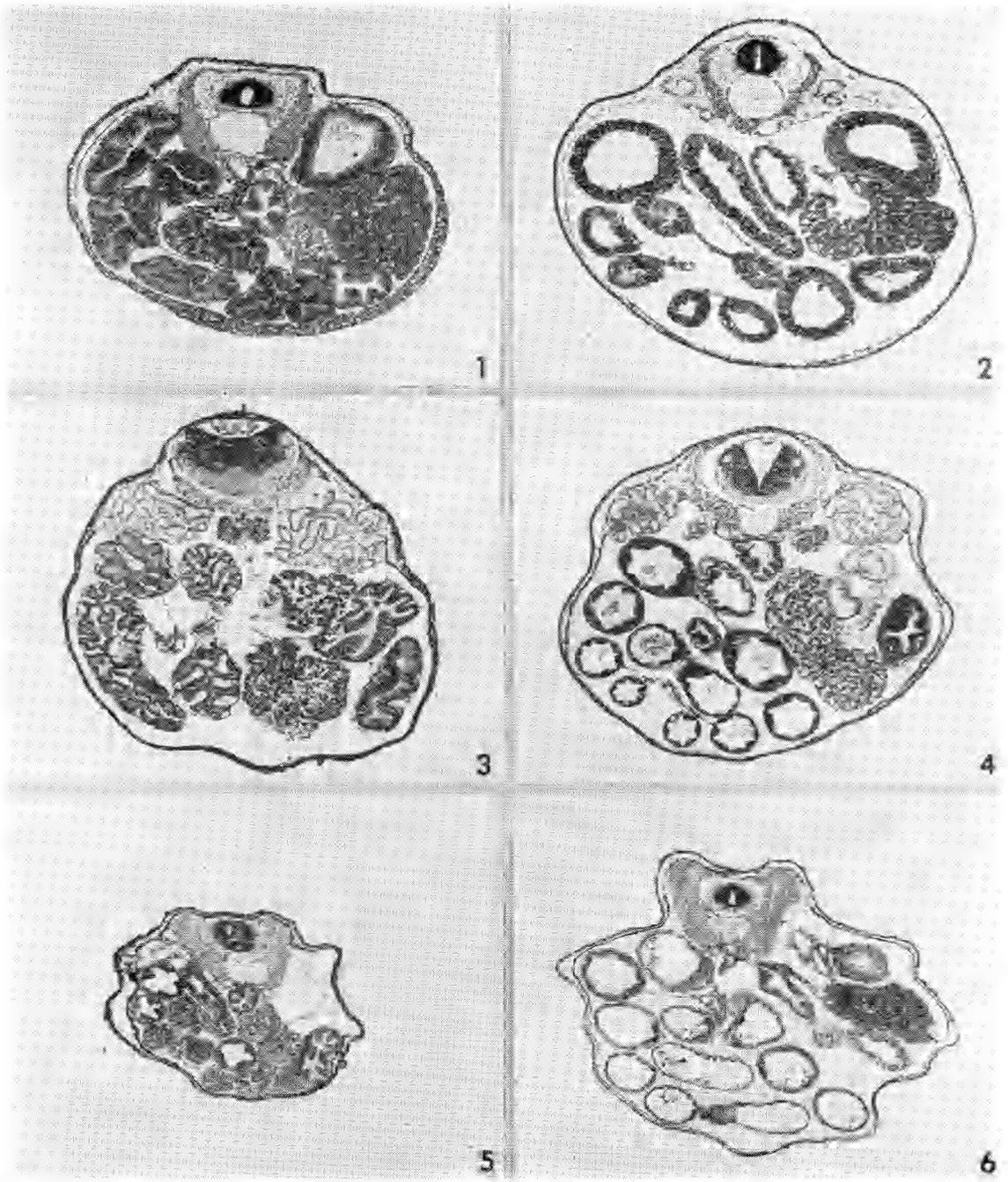
- [12] C. BONDI, *Ricerche sperimentali sul valore morfogenetico delle contrazioni embrionali sullo sviluppo dell'apparato digerente degli Anfibi anuri*, « Riv. Biol. », 55, 59 (1962).
- [13] K. PRESSLER, *Beobachtungen und Versuche über den normalen und inversen Situs viscerum et cordis bei Anurenlarven*, « Arch. Entw. mech. », 32, 1 (1911).
- [14] H. SPEMANN und H. FALKENBERG, *Über asymmetrische Entwicklung und Situs inversu viscerum bei Zwillingen und Doppelbildungen*, « Arch. Entw. mech. », 45, 371 (1919).
- [15] H. WILHELMI, *Experimentelle Untersuchungen über Situs inversus viscerum*, « Arch. Entw. mech. », 48, 517 (1921).
- [16] T. YAMAMOTO, *Studies on the origin of visceral malformation in centrifuged eggs of a toad*, « Mic. Med. J. », 11, 57 (1961).
- [17] S. WILENS, *A study of asymmetry in the developing gut*, « Nat. Acad. Sci. », 43, 440 (1957).
- [18] A. GIARDINA, *Sul valore morfogenetico della corda dorsale (Studio sperimentale su embrioni e larve di Anfibi)*, « Arch. Ital. Anat. Embr. », 12, 443 (1914).
- [19] R. RUGH, *Inhibition of growth and the production of oedema by X-irradiation*, « J. Exp. Zool. », 114, 137 (1950).
- [20] C. COTRONEI, *L'apparato digerente degli Anfibi nelle sue azioni morfogenetiche*, « Mem. Acc. Naz. Lincei » (ser. V), 10, 143 (1914).
- [21] G. COTRONEI, *Correlazioni e differenziazioni (Sul Bufo vulgaris). Nota II*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (Ser. V) 24, 295 (1915).
- [22] G. COTRONEI, *I processi di inibizione differenziale nel vestibolo boccale degli Anfibi anuri (Con osservazioni sulla metamorfosi delle «larve a litio»)*, « Riv. Biol. », 3, 471 (1921).
- [23] C. SABATINO, *Sullo sviluppo dell'intestino spirale del girino di Bufo vulgaris*, « Arch. Zool. Ital. », 8, 159 (1916).
- [24] A. ROSSI, *Effetto del tiocianato di sodio sullo sviluppo di Bufo bufo*, « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 151 (1964).
- [25] A. ROSSI, *Esperienze di cordoectomia in embrioni di Anfibi anuri*, « Riv. Biol. », 53, 367 (1960 a).
- [26] A. ROSSI, *Esperienze di asportazione dell'ependima presuntivo in embrioni di Anfibi anuri*, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 29, 438 (1960 b).
- [27] P. PASQUINI e G. MELDOLESI, *Ricerche sulla radiosensibilità nello sviluppo delle uova di Anfibi. - II. Alterazioni specifiche e malformazioni secondarie da radiosuscettibilità differenziale in Rana esculenta*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (ser. VI), 11, 1 (1930).
- [28] P. PASQUINI, *Intorno ad alcuni fenomeni della radiosuscettibilità differenziale nelle uova di Rana esculenta e sull'origine di alcune malformazioni*, « Arch. Zool. Ital. », 15, 325 (1930).
- [29] P. PASQUINI, *Sui recenti studi della determinazione nello sviluppo degli Anfibi (I risultati degli esperimenti di radiosuscettibilità differenziale e della centrifugazione)*, « Arch. Zool. Ital. », 16, 501 (1931).

SUMMARY. — 1) Embryos of *Bufo bufo* were operated as follows: A) cordoectomized at the stage of open neural folds; B) stripped of the external layer of the neural plate, at the stages of neural plate, open neural folds and rotational movement; C) treated with molar solutions of NaSCN from the stage of fertilized egg to open neural folds.

2) The result of the three different experimental techniques is that, in comparison with the control animals of the same age, some of the operated animals appear to be less developed and shorter; their gut is short and its development has stopped at an embryonal condition. This arrest in the intestinal morphogenesis is mainly to be related with the arrest of the linear and volumetric growth of the whole body of the animal.

3) Notwithstanding the arrest of the intestinal morphogenesis, the mitotic activity of the cells persists in the mucous layer, which folds repeatedly in the intestinal lumen since it cannot extend in length in the shortened gut. It is not to be excluded that the difference between the morphogenesis and the histogenesis observed in the operated animals might also be due to other factors, such as the different growth of the splanchnopleuric sheath and the alterations of the hydrostatic endointestinal and coelomic pressure.





SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

TAVOLA I.

Fig. 1 – Individui di *Bufo bufo* trattati per tre ore allo stadio di blastula con una soluzione di NaSCN 0,125 M. Gli individui trattati (A e B) presentano una mole e una lunghezza corporea inferiore a quella del controllo di pari età (C). Dalla dissezione della cavità addominale risulta evidente l'arresto della morfogenesi intestinale degli individui trattati.

Fig. 2 – Raffronto fra la lunghezza dell'intestino degli animali trattati (A e B) e quella dell'intestino del controllo di pari età (C).

TAVOLA II.

Fig. 1 – Sezione di una larva di *Bufo bufo* trattata allo stadio di blastula per 3 ore, con una soluzione di NaSCN 0,125 M.

Fig. 3 – Sezione di una larva di *Bufo bufo* cordoectomizzata allo stadio di pieghe neurali aperte.

Fig. 5 – Sezione di una larva di *Bufo bufo* privata dello strato esterno della placca neurale allo stadio di fine gastrula—inizio del sollevamento delle pieghe neurali.

Figg. 2, 4, 6 – Sezioni di individui di controllo di pari età, rispettivamente della larva trattata con il NaSCN, di quella cordoectomizzata e di quella privata dello strato esterno della placca neurale.

L'intestino delle larve trattate con le tre differenti tecniche sperimentali, presenta un numero di spire inferiore a quello dei rispettivi controlli di pari età.

In tutti e tre i casi si nota inoltre un sensibile ripiegamento della tonaca mucosa nel lume intestinale e come risulta dalle figg. 1 e 5, un ammassamento degli organi nella cavità addominale.

Per tutte le microfotografie della tavola l'ingrandimento fotografico è uguale.