
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

BERNARDO FRATELLO

Correlazione tra accrescimento ed attività mitotica in un ganglio nervoso di Anfi Urodela in sviluppo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 39 (1965), n.6, p. 577-582.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_39_6_577_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. — *Correlazione tra accrescimento ed attività mitotica in un ganglio nervoso di Anfibi Urodela in sviluppo* (*). Nota di BERNARDO FRATELLO, presentata (**) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Negli studi sullo sviluppo del sistema nervoso dei Vertebrati è praticamente impossibile, dato il gran numero di elementi, seguire l'accrescimento numerico cellulare e correlare direttamente l'entità della popolazione con le sue variazioni nel tempo, quest'ultime esprimibili anche come variazioni dell'attività mitotica (in pratica la sola entità determinabile).

I metodi indiretti cui di solito si ricorre per valutare il ritmo mitotico purtroppo incorrono in errori sistematici cui non è sempre facile ovviare: il metodo più comunemente usato per il sistema nervoso rapporta le mitosi ad unità di superficie ventricolare, ma trascura le modificazioni del volume cellulare e specialmente il diverso destino degli elementi originari dallo strato germinativo (spongioblasti e neuroblasti); un altro inevitabile errore è dovuto al limitato numero di animali esaminati per ogni stadio di sviluppo considerato; oltre a ciò non è sempre possibile evitare l'interferenza delle mitosi gliali ed il conteggio plurimo di frammenti appartenenti alla stessa mitosi e giacenti in sezioni successive, cui va aggiunta la difficoltà di distinguere gli elementi intermitotici da quelli post-mitotici. Il metodo di rapportare le mitosi ad unità di volume è meno usato perché agli errori del metodo precedente aggiunge quello della presenza di tipi diversi di cellule e di sostanza intercellulare.

La determinazione diretta (computo della popolazione cellulare) dell'accrescimento numerico del tessuto nervoso è stata effettuata per lo più sui gangli spinali, dato che questi centri sono costituiti da un limitato numero d'elementi e sono particolarmente idonei ad informarci sull'incremento numerico e volumetrico delle cellule nervose⁽¹⁻³⁾ per la loro facile discriminazione da organi di altra natura.

Nonostante queste favorevoli condizioni, scorrendo la letteratura sorprende che ancora non sia stata tentata la correlazione tra incremento della popolazione cellulare ed andamento dell'attività mitotica dei gangli, cioè tra la loro curva d'accrescimento numerico e quella della velocità di crescita; è ben vero che qualche autore ha messo in rapporto il numero di mitosi con

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena, Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta dell'11 dicembre 1965.

(1) B. MORPURGO e V. TIRELLI, « Ann. Freniatr. Sci. Aff. (Torino) », 3, 34 (1892).

(2) G. E. COGHILL, « Jour. Comp. Neurol. », 64, 135 (1936).

(3) R. LEVI-MONTALCINI e G. LEVI, « Ach. Biol. », 54, 198 (1943).

la popolazione cellulare, ma senza poter procedere oltre poiché o non ha potuto precisare l'età (fattore tempo) degli stadi esaminati⁽⁴⁻⁵⁾ o ha ottenuto dati quantitativi incostanti che hanno frustrato l'eventuale intenzione di colmare tale lacuna⁽³⁾.

Scopo della presente ricerca è di procedere alla verifica della correlazione tra la curva dell'accrescimento numerico e quella della velocità di crescita durante lo sviluppo di centri nervosi ben delimitati e costituiti da una popolazione cellulare discreta, quali sono i gangli.

Le presenti osservazioni rappresentano il primo contributo di un insieme d'indagini comparative sullo sviluppo di gangli che presiedono ad attività sensoriali di diversa natura (somatica e viscerale) nella stessa specie e tra gangli omologhi in forme zoologiche che diversifichino per l'adattamento ecologico.

In questa Nota riferisco i risultati ottenuti dall'esame del complesso gangliare del IX-X paio di nervi cranici durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo (*Triturus cristatus carnifex* Laur.).

Ho scelto come materiale di studio gli Anfibi perché sono Vertebrati che depongono le uova in acqua, si allevano con facilità in laboratorio e presentano una gamma di adattamenti ecologici della forma adulta (da una vita esclusivamente acquatica ad una vita terrestre) che condizionano gli eventi morfologici, più o meno vistosi, della metamorfosi⁽⁶⁾. Per questo primo esame mi sono servito del ganglio IX-X oltre che per la sua facile identificazione (è localizzato tra la capsula otica ed il piano passante per il calamo), anche perché esso provvede a diverse funzioni sensitive.

Infatti negli Anfibi urodela adulti al complesso gangliare IX-X giungono fibre per la sensibilità generale cutanea (*rr. auricularis vagi, rr. cutanei branchiales* e *rr. communicans et facialis*) le cui cellule gangliari sono localizzate nella regione più vicina al neurasse, mentre le cellule gangliari cui fanno capo le fibre per la sensibilità speciale cutanea (*rr. laterales*), sono ad esse dorsali; a tre diversi raggruppamenti di cellule gangliari, uno dei quali prossimale al neurasse e gli altri due distali, giungono le fibre del *fasciculus communis* (che raccoglie i *rr. lingualis IX, pharyngei, branchiales et visceralis*)⁽⁷⁾⁽⁸⁾.

In un esame morfologico del nucleo delle cellule in questo complesso gangliare durante lo sviluppo di *Triturus* è risultato che alcuni neuroni presentano un precoce differenziamento (già completo al termine del periodo embrionale), mentre gli altri si differenziano più tardi⁽⁹⁾.

Gli embrioni e le larve di *Triturus* sono stati fissati in liquido di Sanfelice, orientati dalla norma trasversale e sezionati in serie (a 7 μ di spessore);

(4) G. E. COGHILL, « Jour. Comp. Neurol. », 37, 71 (1924).

(5) G. E. COGHILL, « Jour. Comp. Neurol. », 57, 327 (1933).

(6) G. M. BAFFONI, « Riv. Biol. », 28, 102 (1960).

(7) O. S. STRONG, « Jour. Morphol. », 10, 101 (1895).

(8) C. J. HERRICK, « Jour. Comp. Neurol. », 50, 1 (1930).

(9) M. MARINI, « Riv. Neurobiol. », 2, 495 (1956).

i preparati sono stati colorati in parte con l'emallume-eosina o il Mallory-Azan ed in parte secondo il metodo di Feulgen. Ogni dato numerico riportato nella presente Nota rappresenta la media aritmetica di almeno quattro gangli esaminati per ogni stadio (determinato sec. la classificazione di Glücksohn ⁽¹⁰⁾).

Il computo dei nuclei intercinetici (fra cui sono compresi anche quelli in profase) e postcinetici, e quello delle mitosi (da prometafase ad anafase) sono stati compiuti su sezioni alterne al fine di non calcolare due volte gli stessi elementi. Si evita così di ricorrere alle formule di correzione consigliate da Marrable ⁽¹¹⁾, in quanto il diametro massimo della gran parte dei nuclei è inferiore al doppio dello spessore delle sezioni; inoltre va considerato che l'errore nel conteggio delle mitosi è dello stesso ordine di grandezza di quello dei nuclei in riposo, dato che le mitosi computate avevano dimensioni simili a quelle dei nuclei intercinetici.

In embrioni di *Triturus* poco prima della schiusa, quando l'arto anteriore comincia ad allungarsi (stadio 40), i gangli sono formati da un ammasso ovoidale di cellule non sempre ben delimitato dalle strutture circostanti. Nella regione dorsale del ganglio si distingue una componente costituita da cellule differenziate che si estende in direzione rostro-caudale, cosicché sul piano sagittale queste sormontano una massa di cellule più piccole formando su di essa un ispessimento dorsale. Le cellule differenziate posseggono nuclei chiari e voluminosi (10-13 μ di diametro), di forma sferoidale e con cromatina dispersa in piccoli granuli. Gran parte delle cellule sottostanti hanno nuclei rotondeggianti, ma di diametro inferiore (fra i 7 ed i 10 μ), con granuli di cromatina più addensati; distribuite irregolarmente tra queste, di forma varia, ma con nucleo di diametro inferiore (meno di 7 μ), sono invece le cellule interstiziali ⁽¹²⁾, che sui bordi del ganglio sono spesso allungate come le cellule di Schwann delle radici dorsali (Tav. I, A-a). Nei conteggi sono stati presi in considerazione solo i primi due tipi di cellule, cioè le cellule nervose postmitotiche e intermitotiche, e solo le mitosi riconoscibili per il dettaglio dei cromosomi ed il maggior volume, trascurando quelle piccole, generalmente periferiche, che danno presumibilmente origine alle cellule interstiziali.

All'inizio del periodo larvale il ganglio è ben delimitato ed assume una forma di ovoide più netta, sormontato da un modesto ispessimento dorsale ed attraversato dalla radice dorsale; in esso le cellule nervose si distinguono meglio da quelle interstiziali poiché queste sono allungate. Nell'ispessimento dorsale sono raccolti i neuroni più voluminosi (diametro tra i 12 ed i 15 μ); la regione ventrale e le due estremità (rostrale e caudale) del ganglio sono costituite da neuroblasti in differenziamento (diametro 10-12 μ); cordoni di cellule indifferenziate o di neuroblasti in incipiente differenziamento (nuclei di 7-10 μ di diametro, e con cromatina addensata), orientati in direzione rostro-caudale, costituiscono la regione centrale dell'ovoide (Tav. I, B-b).

(10) S. GLUCKSOHN, « Arch. Entw-mech. », 125, 341 (1932).

(11) A. W. MARRABLE, « Quart. J. Micr. Sc. », 103, 331 (1962).

(12) M. C. PRESTIGE, « J. Embryol. exptl. Morph. », 13, 63 (1965).

Durante il periodo larvale avviene una rotazione verso l'esterno della regione ventrale del ganglio, cosicché alla metamorfosi questa, divenuta distale (o laterale), si porta allo stesso livello della regione dorsale, che diventa prossimale (o mediale) (Tav. I, C-c). Al termine della vita larvale (stadio 62) il ganglio assume una forma irregolare ed è costituito da tre componenti: i più grossi neuroni (nuclei di 18-25 μ di diametro) avvolgono esternamente la regione mediale del ganglio, ma non raggiungono l'estremità rostrale; un secondo gruppo di elementi, di dimensioni inferiori (nuclei di 14-18 μ di diametro), occupa la zona laterale, mentre un terzo gruppo di elementi, più piccoli (neuroblasti in differenziamento e cellule indifferenziate), è nella regione intermedia del ganglio, divenendo dorsale all'estremità rostrale. Rotazione ed irregolarità di forma del ganglio sono verosimilmente prodotti da effetti meccanici dovuti allo sviluppo degli organi ventrali, specialmente dei contigui abbozzi della base del cranio.

Nel corso dello sviluppo dell'Anfibia urodelo il numero delle cellule nervose del ganglio aumenta continuamente, con incrementi più rapidi alla schiusa e negli stadi premetamorfici, cosicché la curva di accrescimento è formata da due curve ad S susseguentesi corrispondenti a due cicli di crescita: l'uno embrionale e l'altro larvale. In ogni ganglio di embrioni alla schiusa (stadio 40) sono presenti in media 250 cellule nervose, che alla metamorfosi divengono dieci volte di più (fig. 1).

Teoricamente la curva derivata di una ad S presenta un apice in corrispondenza degli stadi a maggior incremento numerico (13). Nel nostro caso, ove la curva è a doppio S, la sua derivata, rappresentante il numero degli eventi in esame che compaiono ad un dato istante, dovrebbe presentare due apici in corrispondenza degli stadi in cui più rapido è l'accrescimento numerico (stadi 40 e 55) ed un minimo in corrispondenza degli stadi in cui minori sono le variazioni numeriche (stadi 45-50). Pertanto, da un punto di vista teorico, ci si deve aspettare che la curva rappresentante l'andamento mitotico abbia tali caratteristiche, dato che l'attività mitotica condiziona direttamente l'aumento numerico delle cellule nervose.

I dati ottenuti dal computo delle mitosi nel complesso gangliare qui esaminato concordano in pieno con la teoria (fig. 1).

Una così esatta rispondenza tra le due curve avvalorava i dati di precedenti ricercatori che hanno studiato l'andamento dell'attività mitotica del S.N.C., e che se ne sono serviti quale indice della variazione nella popolazione cellulare durante lo sviluppo (14); essa nel contempo avvalva i criteri adottati nel corso di questa e consimili ricerche, basate su un numero di esemplari necessariamente limitato, e consente di trascurare l'interferenza delle mitosi gliali e l'applicazione delle formule di correzione qualora i conteggi vengano compiuti con gli accorgimenti precedentemente descritti.

(13) P. MEDAWAR, in W. LE GROS and P. MEDAWAR, *Essays on Growth and Form* (Oxford Univ. Press, London 1945), 157.

(14) Ved. G.M. BAFFONI, « Boll. Zool. », 28, 661 (1961).

Per ciò che riguarda il significato morfologico e funzionale dei risultati ottenuti giova ribadire che l'attività mitotica del complesso gangliare dei nervi glossofaringeo, vago e laterale posteriore del *Triturus cristatus carnifex*, risulta in stretto rapporto non solo con l'accrescimento del ganglio, ma anche con le esigenze funzionali dell'animale; infatti il precoce differenziamento

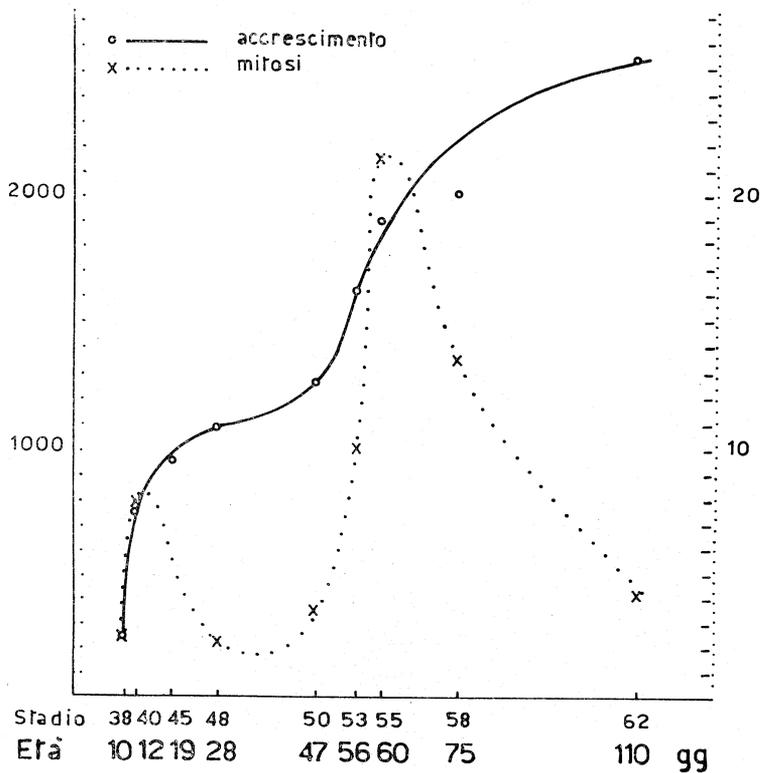


Fig. 1.

delle cellule che nell'adulto sono localizzate nella regione prossimale del ganglio va messo in rapporto con la formazione dei neuroni di natura esteroceettiva speciale (per il sistema della linea laterale); mentre il successivo incremento e differenziamento della regione distale va correlato con la formazione dei neuroni di natura esteroceettiva generale ed interoceettiva.

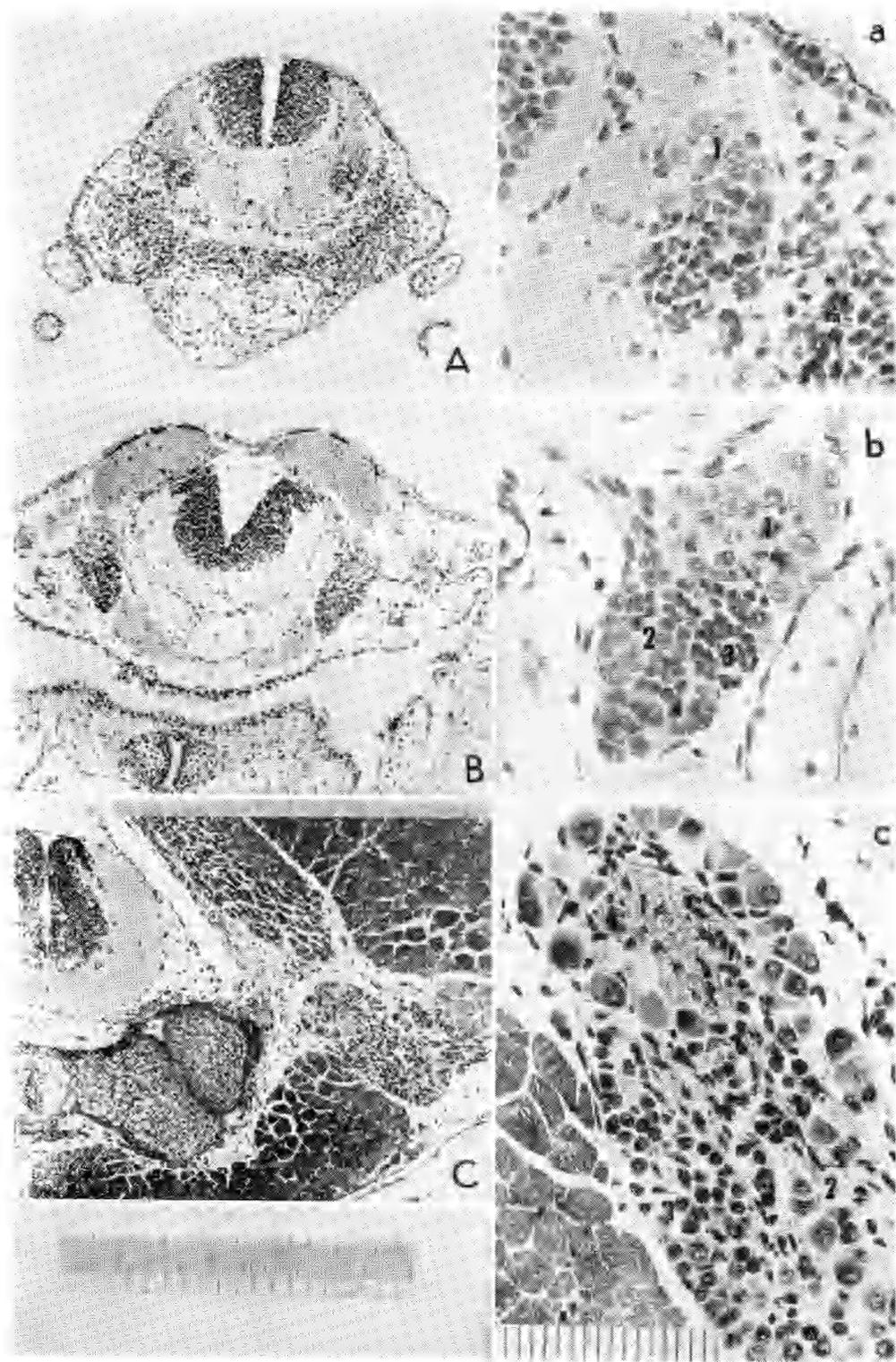
Concludendo: a) l'accrescimento numerico dei neuroni nel complesso gangliare dei nervi glossofaringeo-vago-laterale posteriore di un Anfibio urodelo è rappresentato graficamente da una curva a doppio S, con due fasi di rapido incremento;

b) l'andamento dell'attività mitotica è rappresentabile da una curva, i cui apici corrispondono, nel tempo, alle fasi di maggiore incremento numerico;

c) data la stretta correlazione tra le due curve, l'impiego dell'attività mitotica, quale indice dell'accrescimento numerico cellulare, è valido anche per il S.N., cioè per un tessuto perenne in cui il differenziamento cellulare si realizza a vari tempi (purché si tengano in considerazione eventuali fenomeni degenerativi);

d) la distribuzione topografica delle componenti del ganglio subisce modificazioni nel corso della vita larvale, sia in relazione al tempo in cui inizia il differenziamento delle sue componenti, sia a causa dello sviluppo degli organi ventrali, specie del neurocranio.

SUMMARY. — Observations on the development of the Xth cranial nerve ganglion in an Urodelan Amphibian (*Triturus*) have been made. Increase in cellular number, plotted against time, yields a growth curve with two phases of rapid increase, in hatching and in premetamorphosis times (double S-shaped curve). The growth rate curve and the mitotic activity one are similar. The correlation observed between these curves supports the use of mitotic activity as increasing population index also for the nervous system. The ganglionic morphological modifications related to the development of its parts and of surrounding organs have been stated.



Aspetto del ganglio del vago durante lo sviluppo in *Triturus*.

A stadio 40 (A-a), 50 (B-b) e 62 (C-c); le lettere minuscole rappresentano i particolari ingranditi. (Ogni intervallo delle scale in calce = 10 μ).