ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MILENA MARINI, GIORGIO M. BAFFONI

Morfogenesi dei gangli durante la rigenerazione della coda in adulti di Anfibi urodeli

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **42** (1967), n.6, p. 943–947. Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_6_943_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.



Biologia. — Morfogenesi dei gangli durante la rigenerazione della coda in adulti di Anfibi urodeli (*). Nota di Milena Marini e Giorgio M. Baffoni, presentata (**) dal Socio A. Stefanelli.

SUMMARY. — The first results on the regenerating nervous ganglia during the tail regeneration in the adult newt have shown the unexpected formation of intraspinal ganglionic cells (Rohon-Beard cells). The formation of ganglionic cells starts with elements of spinal cord. The spinal and sympathetic ganglia derive from elements coming out dorsally and ventrally from the spinal cord.

The mitotic activity in the regenerating spinal ganglia has been shown.

Nell'intento di valutare le capacità rigenerative del sistema nervoso negli adulti di Anfibi, sono stati resi noti i risultati sull'andamento del ritmo mitotico nella rigenerazione del midollo spinale di un Urodelo (Biancani e Marini, 1963 ⁽¹⁾) ed i primi risultati sulla rigenerazione del telencefalo e della retina di un Anuro (Lombardo, 1966 ⁽²⁾).

Dall'esame istologico della coda in rigenerazione di un Urodelo adulto, sono emersi alcuni risultati sulla formazione dei gangli che riteniamo meritevoli di essere riferiti. Infatti mentre le modalità rigenerative del midollo spinale sono note per le ricerche di numerosi Autori (Fraisse, 1885 ⁽³⁾; Caporaso, 1889 ⁽⁴⁾; Barfurth, 1891 ⁽⁵⁾; Duesberg, 1922 ⁽⁶⁾; Stefanelli e Capriata, 1944 ⁽⁷⁾; Piatt, 1955 ⁽⁸⁾), l'origine e l'istogenesi dei gangli sono state meno studiate e sono controverse: Fraisse (1885 ⁽³⁾), in *Proteus* ed *Ambystoma*, e Raposo (1922, 1923 ⁽⁹⁾), in *Molge*, osservano che i gangli originano per la migrazione di elementi ventrali del tubo neurale, mentre Duesberg (1922, 1924 ⁽⁶⁾), in *Diemictylus*, sostiene che la loro origine è dorsale, con modalità simili a quelle della normale ontogenesi.

- (*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena: Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.
 - (**) Nella seduta del 21 giugno 1967.
- (1) L. BIANCANI-PO e M. MARINI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8a), XXXV, 606-610 (1963).
 - (2) F. LOMBARDO, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8a), XLI, 126-129 (1966).
- (3) P. FRAISSE, Die regeneration von Geweben und Organen bei den Wirbeltieren, besonders Amphibien und Reptilien (Th. Fischer, Kassel-Berlin, 1885).
 - (4) L. CAPORASO, « Beitr. pathol. Anat. », V, 67-98 (1889).
 - (5) D. BARFURTH, «Arch. mikr. Anat.», XXXVII, 406-491 (1891).
- (6) J. DUESBERG, «C. R. Assoc. Anat. », XVII Réun., 143–148 (Gand 1922); «C. R. Soc. Biol. », XC, 633–634 (1924).
 - (7) A. STEFANELLI e A. CAPRIATA, « Ricerche di Morfologia », XX-XXI, 605-622 (1944).
 - (8) J. PIATT, « J. Exptl. Zool. », CXXIX, 177-207 (1955).
- (9) S. L. R. RAPOSO, «C. R. Soc. Biol.», LXXXVII, 1295–1296 (1922); «C. R. Assoc. Anat.», XVIII Réun., 439–450 (Lyon 1923).

Nella presenta Nota saranno riportati i risultati preliminari delle osservazioni compiute sulla rigenerazione dei gangli in adulti di *Triturus cristatus carnifex* Laur. Gli animali, dopo amputazione di 3/4 della coda, sono stati sacrificati a vari tempi del processo rigenerativo; le code rigenerate e parte del moncone (fino alla vertebra sacrale inclusa) sono state fissate in liquido di Sanfelice e decalcificate in acido tricloroacetico, incluse in celloidina-paraffina e sezionate trasversalmente in serie a 5 µ di spessore; i preparati istologici sono stati colorati con il Mallory-Azan ed osservati anche in contrasto di fase.

Tenendo conto che i fenomeni morfologici dell'inizio della rigenerazione si ripetono nella regione apicale degli stadi avanzati, i risultati più salienti possono essere riassunti come segue.

L'estremità apicale della coda neoformata non presenta formazioni gangliari.

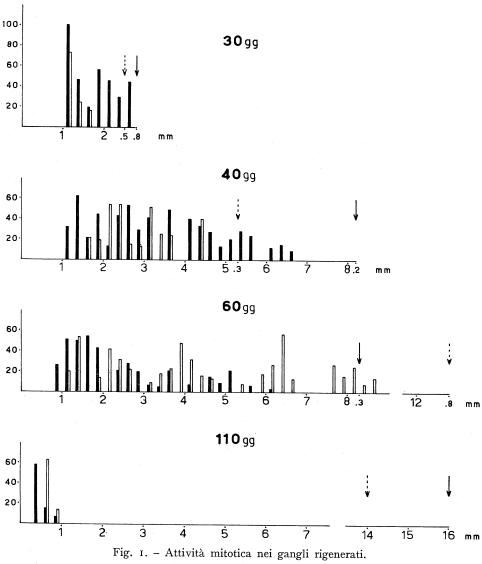
Tra i primi elementi che si differenziano, nella regione dorso-mediale del midollo neoformato si osserva ogni tanto uno o una coppia di grossi neuroni forniti di un robusto prolungamento che esce dal midollo (Tav. I, fig. 1); procedendo in direzione rostrale, questi elementi si rarefanno e presentano una progressiva riduzione volumetrica oltre ad alterazioni morfologiche nel nucleo (aspetto reniforme e diffusione della cromatina) e nel citoplasma (modificazioni delle affinità tintoriali).

In tutti i rigenerati, poco oltre alla dilatazione distale (ampolla ependimale sec. Stefanelli (7,10)), inizia la fuoriuscita di elementi dalla regione ventrale del midollo; questi elementi all'inizio escono isolatamente ed hanno un aspetto indifferenziato, così che, appena usciti, si confondono con le cellule circostanti; successivamente, si raggruppano a costituire piccoli abbozzi gangliari ed iniziano il differenziamento. Una parte delle cellule si arresta ai lati del midollo, una parte, invece, prosegue, isolatamente o in gruppo, in direzione ventrale; infatti nello stesso preparato istologico, a volte, si osserva un gruppo di cellule gangliari vicino al midollo ed un altro gruppo spostato ventralmente. La migrazione di elementi dalla regione ventrale continua anche dopo la formazione degli abbozzi gangliari e, con la comparsa delle radici ventrali, essa si limita all'uscita di queste. Va notato che, da questo livello in poi, tra le cellule in uscita si osservano elementi nervosi in avanzato differenziamento (Tav. I, fig. 4).

Nella sostanza bianca del midollo neoformato talora si notano cellule nervose con nuclei allungati e orientati che sembrano migrare dorso-ventralmente.

In qualche caso (in un rigenerato di 30 gg. ed in uno di 60 gg.), nel tratto distale del midollo neoformato, abbiamo osservato piccoli gruppi di cellule indifferenziate che escono dalla regione dorsale (Tav. I, fig. 2) e si spostano ventralmente (Tav. I, fig. 3).

⁽¹⁰⁾ A. STEFANELLI, in: P. WEISS, *Genetic Neurology* (Chicago Univ. Press, 1950); « Boll. Zool. », XVIII, 279–290 (1951); A. STEFANELLI, G. THERMES e M. PODDIE, « Riv. Biol. » (Perugia), XLII, 239–264 (1950).



(In ascissa la densità mitotica espressa in numero di mitosi su 1.000 cellule; in ordinata le lunghezze del rigenerato a partire dall'ampolla ependimale; le frecce indicano l'origine del rigenerato; freccia e colonna nera, freccia tratteggiata e colonna bianca si riferiscono rispettivamente ai due esemplari esaminati).

Negli abbozzi dei gangli, a partire da una certa distanza dall'ampolla apicale (circa I mm) si accende l'attività mitotica; tale attività parte da valori sostenuti e decresce rostralmente esaurendosi entro il rigenerato. Nelle code rigenerate da oltre tre mesi, l'attività mitotica è limitata ai gangli di un brevissimo tratto apicale (Fig. I).

Da questi risultati preliminari si possono trarre alcune conclusioni relative alla morfogenesi dei gangli durante la rigenerazione della coda negli Urodeli adulti. 1º Gli elementi a precoce differenziamento, localizzati nella regione dorso-mediale del midollo rigenerato, per posizione, grandezza e aspetto morfologico sono da ritenersi le cellule gangliari intraspinali di Rohon-Beard. Tali elementi sono assenti nel midollo caudale dei controlli; nel midollo rigenerato da più tempo essi sembrano andare incontro a fenomeni involutivi. È in corso un esame dettagliato di queste cellule durante lo sviluppo e durante la rigenerazione onde verificare la loro probabile funzione di precoci elementi sensitivi transitori.

2º I primi abbozzi dei gangli spinali e simpatici si formano a spese di elementi provenienti dal midollo neoformato; essi migrano sia dalla regione ventrale che da quella dorsale. Questi risultati conciliano le vedute contrastanti degli Autori che hanno precedentemente esaminato il fenomeno.

Va precisato in proposito che la migrazione ventrale è presente costantemente dall'inizio sino a stadi avanzati del processo rigenerativo; la migrazione dorsale, invece, è stata rinvenuta solo in due casi nel tratto apicale del rigenerato. In attesa dei risultati di ricerche in corso, possiamo giustificare la rarità di quest'ultimo evento con il fatto che gli elementi dorsali escono sincronicamente e solo ad un preciso stadio del processo rigenerativo.

Poiché la rigenerazione della coda negli Anfibi urodeli avviene soprattutto per epimorfosi (ved.: Salfi, 1937 (11)), l'interpretazione dei nostri dati non può trascurare i risultati delle ricerche embriologiche, i quali hanno dimostrato univocamente che i gangli spinali originano dalle creste neurali e quindi dalla regione dorsale del tubo neurale; è invece oscura l'origine dei gangli simpatici, che per alcuni Autori (Müller e Ingvar, 1923 (12); Campenhout, 1930 (13); Yntema e Hammond, 1945–47 (14); Weston, 1963 (15)) è comune a quella dei gangli spinali, per altri (Kuntz e Batson, 1920 (16); Kuntz, 1922 (17); Raven, 1932 (18); Jones, 1937–1941 (19); Brizzee e Kuntz, 1950 (20)) è dalla regione ventrale del tubo neurale, per altri infine (Tello, 1945 (21); Levi–Montalcini, 1947 (22)) dal mesenchima.

- (11) M. SALFI, «Arch. Zool. Ital.», Suppl. Attualità zoologiche, III, 149-192 (1937).
- (12) E. MÜLLER e S. INGVAR, «Arch. mikr. Anat. Entw.», IC, 650-671 (1923).
- (13) E. VAN CAMPENHOUT, « J. Exptl. Zool. », LVI, 295-320 (1930).
- (14) C. L. YNTEMA e W. S. HAMMOND, « J. Exptl. Zool. », C, 237–263 (1945); W. S. HAMMOND e C. L. YNTEMA, « J. Comp. Neurol. », LXXXVI, 237–265 (1947).
 - (15) J. A. WESTON, «Develop. Biol.», VI, 279-310 (1963).
 - (16) A. KUNTZ e O. V. BATSON, « J. Comp. Neurol. », XXXII, 335-345 (1920).
 - (17) A. KUNTZ, « J. Comp. Neurol. », XXXIV, 1-36 (1922).
 - (18) Chr. P. RAVEN, « Roux' Arch. Entw-mech. Organ. », CXXV, 210-292 (1932).
- (19) D. S. JONES, « Anat. Rec. », LXX, 45–65 (1937); LXXIII, 343–357 (1939); LXXIX, 7–15 (1941).
- (20) K. R. BRIZZEE e A. KUNTZ, « J. Neuropathol. Exptl. Neurol. », IX, 164–171 (1950).
- (21) J. F. Tello, «Trab. Inst. Cajal Invest. Biol.» (Madrid), XXXVII, 103-149 (1945).
 - (22) R. LEVI-MONTALCINI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. 8a), III, 140-144 (1947).

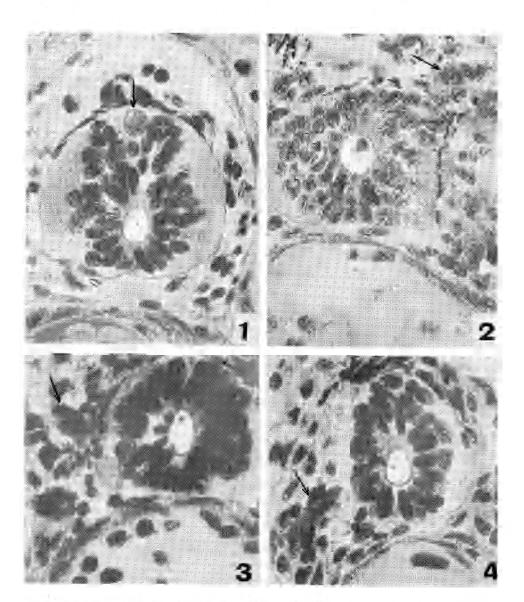


Fig. 1: cellula di Rohon-Beard nel midollo neoformato; fig. 2: uscita dorsale di elementi dal midollo; fig. 3: cellule dorsali in migrazione e abbozzo gangliare ventrale; fig. 4: uscita ventrale di un neurone in differenziamento. (Ingrandimento: 410 X).

Tenendo conto delle nostre osservazioni e delle nozioni bibliografiche possiamo ritenere che nel processo rigenerativo da noi esaminato: a) le cellule migrate dalla regione dorsale del tubo neurale vadano a costituire i primi abbozzi dei gangli spinali, al cui sviluppo successivo provvede l'attività mitotica; b) le cellule migrate dalla regione ventrale diano origine ai gangli simpatici, oltre ad altri tipi cellulari non meglio identificati.

Vanno ricordati infine gli elementi in avanzato differenziamento che escono dalla regione ventrale del midollo e si dirigono ai gangli spinali in sviluppo; il comportamento di questi elementi non permette di escludere che neuroni usciti dal midollo ventrale si associno, almeno temporaneamente, ai gangli spinali.