

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

LAURA ALFEI, GUIDO PALLADINI, SILVIA CORRER

**Ricerche sullo sviluppo del telencefalo di pollo.  
Variazioni gliali e neuronali**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 44 (1968), n.3, p. 469–476.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1968\\_8\\_44\\_3\\_469\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_44_3_469_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.** — *Ricerche sullo sviluppo del telencefalo di pollo. Variazioni gliali e neuronali* (\*). Nota di LAURA ALFEI, GUIDO PALADINI e SILVIA CORRER, presentata(\*\*) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The change of the ratio glia: neuron cells in the telencephalon during the development of the chick was investigated before and after hatching. Three « crucial » periods were demonstrated to be peculiar for their sudden variations in cells number, morphology and enzymatic levels.

Nel quadro delle ricerche che si stanno compiendo nel nostro Istituto sul differenziamento del telencefalo di pollo, abbiamo preso in esame le variazioni dei rapporti del numero dei neuroni e delle cellule gliali durante lo sviluppo data la notevole importanza che le ricerche morfologiche quantitative hanno per l'interpretazione dei dati biochimici ed istochimici.

La scarsità dei dati morfologici sull'ontogenesi degli striati degli Uccelli è notevole, non potendosi citare che i lavori di Jones e Levi-Montalcini (1958) [30], Wechsler e Meller (1967) [1] e per il rapporto glio-neuronale solo i dati di Bensted ed altri (1957) [2] per il midollo spinale. Tali dati sono noti, invece per i Mammiferi (Hawkins e Olszewski, 1957 [3]; Brizee ed altri, 1959 a, b; 1964 [4-6], etc. Pertanto abbiamo ritenuto interessante uno studio di tale tipo di cui, in questa sede esponiamo i primi risultati.

La ricerca è stata compiuta su esemplari di razza Livornese bianca. I cervelli venivano prelevati a partire dal 10° giorno di incubazione, fissati in Bouin e formalina salata 10% tagliati in serie e colorati con emallume eosina e con il metodo di Nissl alla tionina. Per ogni stadio esaminato sono stati presi in esame 3 esemplari. Per ogni esemplare sono state contate tutte le cellule di due aree prese a caso nella porzione centrale (immersione, ingrandimento 1250 ×) corrispondente per tutti gli esemplari. Si sommavano tutte le cellule degli esemplari della stessa età, distinguendole secondo la loro natura gliale o neuronale e se ne calcolava il valore medio. Delle cellule gliali venivano contate solo gli astrociti e gli oligodendrociti non tenendo conto della microglia.

Dai due valori medi, ottenuti per ogni età, si calcolava il rapporto glio-neuronale. Nella Tabella è riportato il valore di tale rapporto per tutte le età considerate. È stato anche calcolato il diametro medio (media dei diametri massimi e minimi) dei nuclei e dei pericarioni dei neuroni con la stessa tecnica. I valori ottenuti venivano elaborati statisticamente secondo il testo di Cavalli-Sforza, 1961 [7] per l'intervallo fiduciale a  $p = 5\%$ .

La zona del telencefalo presa in esame, in questa Nota, è l'*iperstriato propriamente detto* che, insieme con l'iperstriato accessorio, archistriato e neostriato è omologo, negli Uccelli, al neopallio dei Mammiferi (Stingelin, 1956) [8].

(\*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Anatomia Comparata e Centro di Neuroembriologia del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta del 9 marzo 1968.

Tale zona diviene facilmente riconoscibile a partire dal 12<sup>o</sup> giorno di incubazione (Palladini ed altri, 1966) [9], così come diventa possibile riconoscere le cellule gliali in differenziamento da quelle nervose che presentano le zolle tigroidi ben sviluppate.

TABELLA I.

ETÀ	Rapporto glio-neuronale	
	max.	min.
XIII . . . . .	0.29	0.18
XIV . . . . .	0.68	0.66
XV . . . . .	0.69	0.30
XVI . . . . .	0.43	1.03
XXI . . . . .	0.91	0.33
1 . . . . .	0.91	1.07
7 . . . . .	1.02	1.26
20 . . . . .	1.31	1.18
30 . . . . .	1.42	0.89
42 . . . . .	0.94	0.95
50 . . . . .	1.20	1.27
3 m . . . . .	1.55	1.77
7 m . . . . .	1.06	0.89
18 m . . . . .	2.26	3.59

Con i numeri romani è indicata l'età, prima della schiusa, in giorni. Con i numeri arabi l'età postnatale in giorni e mesi (m).

I valori del rapporto massimi e minimi sono dati dai rapporti massimi e minimi dell'intervallo fiduciale.

Nelle figg. 2, 3 e 4 è riportato l'andamento delle conte con l'età. Si osserva che, analogamente a quanto si è visto nei Mammiferi, la densità delle cellule neuronali, espressa come numero di neuroni presenti nella stessa area, va decrescendo con l'aumentare dell'età dell'animale presentando una brusca caduta intorno al 13<sup>o</sup>-15<sup>o</sup> giorno di incubazione. Tale fenomeno è in rapporto a due ordini di fattori: 1) l'aumento del diametro neuronale; 2) l'isolamento delle cellule che, dapprima riunite in pacchetti di neuroni, vanno rapidamente allontanandosi le une dalle altre.

Come si può osservare dalla fig. 1, l'aumento del diametro medio dei nuclei neuronali continua fin dopo la nascita e raggiunge, poi, un valore

costante. A questo si accompagna un corrispondente aumento del diametro del pirenoforo che, come di regola per le cellule nervose nel periodo maturativo postnascita, in rapporto ad esigenze funzionali, prende il sopravvento. Il numero dei neuroni continua a decrescere fino al 3° mese di vita per poi raggiungere valori stazionari, fig. 2. Parallelamente a questo decremento neuronale si osserva un aumento costante della densità delle cellule gliali che raggiungono,

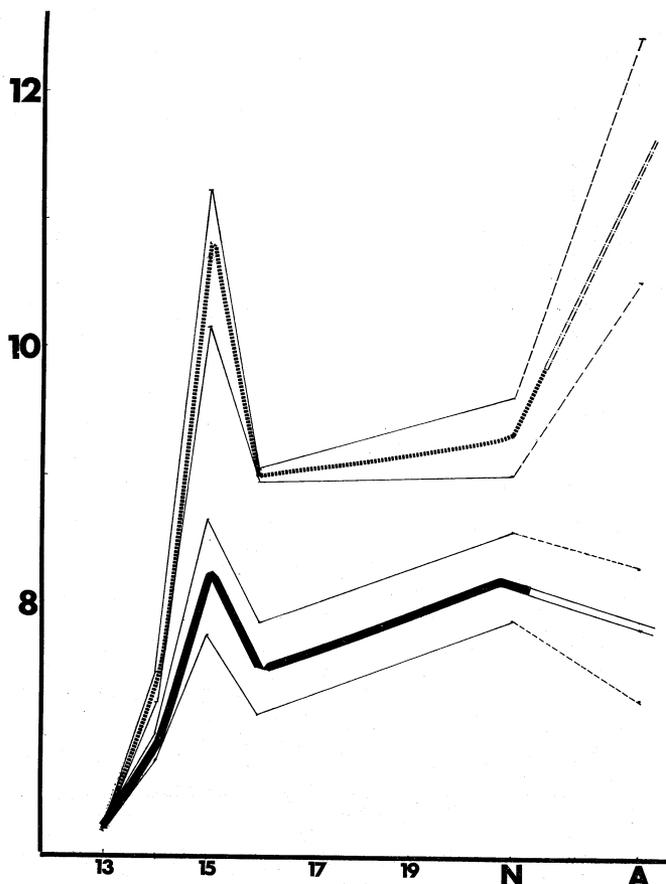


Fig. 1. -- Diametro medio in micron dei nuclei (tratto intero) e dei pericarioni (tratteggio) dei neuroni dell'iperstriato vero.

In ascisse età espressa in giorni di incubazione. N = nascita (21 giorni), A = adulto di diciotto mesi. Intervallo fiduciale per  $p = 5\%$ . Spiegazione nel testo.

sempre a parità d'area, un massimo dopo il 5° giorno di vita postnatale, rimangono in numero circa invariato fino al 3° mese di vita per poi risalire bruscamente di numero. Tale aumento continua fino al 18° mese di vita (fig. 3).

Dal 7° mese in poi, sembra esserci un netto prevalere delle cellule gliali rispetto ai neuroni con tendenza allo stabilirsi di un rapporto di circa 3 : 1. L'andamento delle figure è sostanzialmente simile a quanto descritto per la corteccia cerebrale di ratto (Brizee ed altri, 1964), [6] notandosi anche per

questo animale un netto aumento della densità della glia intorno all'anno di età.

Questo aumento si spiega facilmente se si tien conto delle innumerevoli funzioni svolte dalla glia (Hyden, 1962; Martino e Terio, 1962; Terio e Martino, 1963; Meyer, 1963; Torack e Barnett, 1963-64; Galambos, 1964) [10-15]. Nel cervello immaturo, infatti, la glia non ha contatti con i neuroni. Successivamente, invece, essa si interpone tra i neuroni e tra questi e i capillari (Pappas e Purpura, 1964; Peters e Palay, 1965; Wechsler, 1965; Wechsler e Meller, 1967) [16-18; 1].

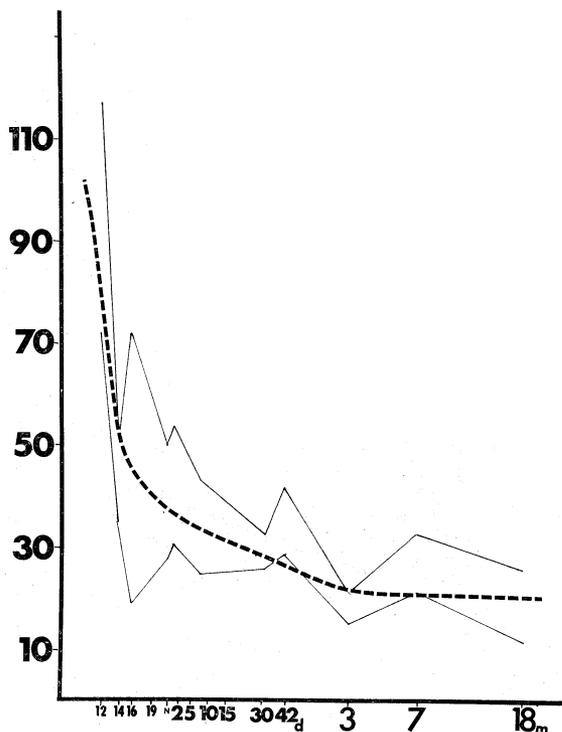


Fig. 2. - Densità dei neuroni dell'iperstriato vero espressa (in ordinate) come numero dei neuroni in un'area di 15.400 micron-.

In ascisse età espressa in giorni di incubazione (prima di N = nascita) e in giorni di vita e in mesi (m). La distanza dall'origine è proporzionale al logaritmo del numero dei giorni. Intervallo fiduciale per  $p = 5\%$ .

In particolare qui torniamo a sottolineare l'importanza della crescita gliale in rapporto all'incremento dell'attività ATP-asi,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dipendente che raggiunge il suo massimo tra il 19° giorno di vita prenatale e il 15° post-natale, intervallo in cui osserviamo il primo periodo di crescita di densità di cellule gliali. Abbiamo, inoltre, ipotizzato, in un precedente lavoro (Palladini e Alfei, in stampa) [19], come lo sviluppo della glia possa essere in relazione con l'aumento della PAS reazione osservata nel neuropilo del telencefalo di pollo e convalidare ulteriormente la partecipazione gliale agli scambi ionici.

È da notare, comunque, che analogamente a quanto osservato per il cervello in sviluppo dei Mammiferi, l'andamento della maturazione morfologica e funzionale non è uniforme ma si possono osservare *periodi critici* caratterizzati da subitanee comparse di complessi enzimatici e brusche variazioni morfologiche.

Un *primo* periodo critico si può localizzare intorno al 13<sup>o</sup>-15<sup>o</sup> giorno di incubazione, in cui si osserva una rapida dispersione delle cellule nervose che si allontanano le une dalle altre, un aumento brusco dei diametri cellulari e nucleari dei neuroni stessi, da riportarsi al subitaneo decremento della percentuale d'acqua del telencefalo stesso (Palladini e Venturini, 1966) [20] accompagnato dall'aumento del peso dell'organo stesso.

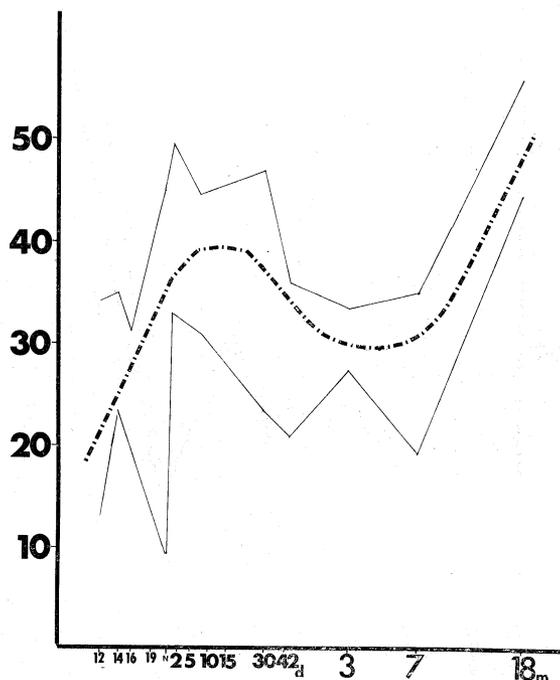


Fig. 3. — Densità della glia espressa (in ordinate) come numero dei nuclei degli astrociti e degli oligodendrociti in un'area di 15.400 micron<sup>2</sup>.

In ascisse età espressa come fig. 2.

Contemporaneamente le *cellule gliali* subiscono un forte aumento di densità (cellule/area) rispetto al numero dei neuroni presenti nella stessa superficie (innalzamento del rapporto glio-neuronale) mentre mostrano una basofilia citoplasmatica riportabile ad un aumento dell'RNA e cominciano ad impregnarsi con i metodi specifici, fenomeni riportabili con ogni probabilità ad un cambiamento della composizione chimica del protoplasma con acquisizione della struttura biochimica dello stato di differenziamento definitivo (Palladini ed altri, 1966) [9]. Nello stesso periodo si ha un rapido aumento della fosfatasi alcalina (enzima tipicamente gliale Rogers, 1960 a, b; 1963;

Vos ed altri, 1967) [21-24], dell'ATP-asi  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^-$  dipendente (enzima gliale Skou, 1957, 1965; Naidoo, 1962; Palladini e coll., 1965; 1966 a, b; Bignami e coll., 1966) [26-28, 20, 9, 29] e della colinesterasi (enzima tipicamente neuronale Rogers, 1960 a, b; 1963) [21-23]. Tali sistemi enzimatici sono tutti propri del tessuto nervoso attivamente funzionante.

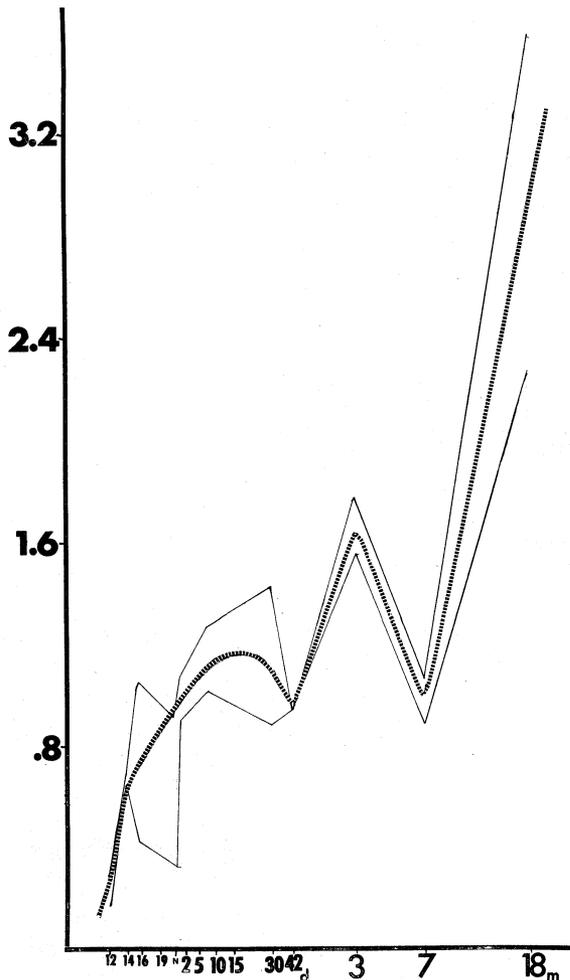


Fig. 4. - Rapporto glio-neuronale (in [ordinate) della densità della glia e dei neuroni in un'area di 15.400  $\mu\text{m}^2$  dell'iperstriato vero.

In ascisse età espressa come fig. 2.

In questo primo periodo compaiono le zolle di Nissl (12° giorno di incubazione), l'attività elettrica spontanea (13° giorno di incubazione) e l'inizio della mielinizzazione (15° giorno di incubazione).

Un *secondo* periodo critico si osserva nello sviluppo *postembrionale* tra il 5° e il 10° giorno di vita in cui si nota un brusco aumento dell'attività enzimatica ATP-asi tra il 5° e 7° giorno di vita (in corrispondenza ad un

nuovo, rapido incremento di peso dell'organo che quasi raddoppia) che supera i valori dell'adulto (114 % al 13° giorno, 109 % al 30°). In questo periodo compaiono nell'EEG le attività rapide che divengono dominanti dal 20° giorno di vita, la PAS reazione del neuropilo raggiunge i suoi valori più alti (Palladini e Alfei in stampa) [19] così come l'intensità di colorazione con la Sudan Black.

Sempre in questo periodo, inoltre, si raggiunge la maggiore attività di complessi enzimatici come la *glutamato decarbossilasi* (GAD), la *gamma-aminobutirrico-transaminasi* (GABAT) interessati al metabolismo dell'acido glutamico e del suo derivato, l'acido gamma-aminobutirrico (GABA) a cui si attribuisce una notevole importanza per la funzionalità cerebrale, e la *lattico deidrogenasi* (LDH) (Vos ed altri, 1967) [24].

Il nostro recente studio sul neuropilo del telencefalo di pollo (Palladini e Alfei in stampa) [19], ci ha permesso di evidenziare, inoltre, un *terzo* periodo critico intorno ai tre mesi di età, caratterizzato dai più bassi valori di densità neuronale e dall'inizio di un secondo periodo di aumento di densità gliale con una crescita, quindi, del rapporto glio-neuronale.

In corrispondenza di questo periodo si nota un secondo picco delle curve della PAS e SUDAN positività del neuropilo che in precedenza abbiamo attribuito all'aumento delle membrane gliali (Palladini e Alfei, in stampa).

Abbiamo inoltre notato che i polli di 3 mesi di età sono particolarmente sensibili all'azione del 3-3' iminodipropionitrile (IDPN) (Alfei, 1966) [31] e all'azione della ouabaina (Palladini, Venturini e Borghi, 1965) [32].

Riguardo questo terzo periodo « critico » da noi evidenziato nello sviluppo del telencefalo di pollo, si deve notare che esistono scarsi dati in letteratura dal momento che tutte le osservazioni si limitano al periodo immediatamente postnatale o all'adulto di cui non si specifica l'età.

In base, quindi, alle considerazioni suesposte si deve considerare *completamente sviluppato, in senso morfologico e fisiologico*, il telencefalo di pollo che abbia *superato il terzo mese di età*, in quanto dopo questo periodo, diviene stabile la densità dei neuroni e le varie attività enzimatiche hanno raggiunto i loro valori più elevati.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] W. WECHSLER e K. MELLER, « Progress in brain research », 26, 93 (1967).
- [2] J. P. M. BENSTED, J. DOBBING, R. S. MORGAN, R. T. W. REID e G. PAYLING WRIGHT, « J. Embryol. exp. Morph. », 5, 428 (1957).
- [3] A. HAWKINS e J. OLSZEWSKI, « Science », 126, 76 (1957).
- [4] K. R. BRIZEE e L. A. JACOB, « Growth », 23, 337 (1959 a).
- [5] K. R. BRIZEE e L. A. JACOBS, « Anat. Rec. », 134, 97 (1959 b).
- [6] K. R. BRIZEE, J. VOGT e X. KHARETCHO, « Progress in brain Research », 4, 136 (1964).
- [7] L. CAVALLI-SFORZA, « Analisi statistica per medici e biologi e analisi del dosaggio biologico », Boringhieri, Torino (1961).
- [8] W. STINGELIN, « Experientia », 12, 242 (1956).
- [9] PALLADINI G., A. BIGNAMI, G. VENTURINI, F. MACCAGNANI e S. CORRER, « Rend. Acc. Naz. Lincei », Serie VIII, 40, 933 (1966).

- [10] H. HYDEN, « *Endeavour* », 21, 144 (1962).  
[11] L. MARTINO e B. TERIO, « *Arch. Zool.* », 47, 27 (1962).  
[12] B. TERIO e MARTINO L., « *Riv. Neurobiol.* », 9, 664 (1963).  
[13] A. MEYER, « *Greenfield's Neuropathology* », Arnold, London (1963).  
[14] R. M. TORACK e BARNETT B., « *J. Neurol. Exp. Zool.* », 23, 46 (1964).  
[15] R. GALAMBOS, « *Progress in brain Research* », 15, 267 (1965).  
[16] G. D. PAPPAS e D. P. PURPURA, « *Progress in brain Research* », 4 (1964).  
[17] A. PETERS e S. L. PALAY, « *J. Anat. (London)* », 99, 419 (1965).  
[18] W. WECHSLER, « *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* », 124, 367 (1965).  
[19] G. PALLADINI e L. ALFEI, « in stampa ».  
[20] G. PALLADINI e G. VENTURINI, « *Rend. Acc. Naz. Lincei* », Serie VIII, 41, 122 (1966).  
[21] K. J. ROGERS, « *J. Exp. Zool.* », 144, 89 (1960 a).  
[22] K. J. ROGERS, « *J. Exp. Zool.* », 145, 49 (1960 b).  
[23] K. J. ROGERS, « *J. Exp. Zool.* », 153, 15 (1963).  
[24] J. VOS, J. P. SCHADÉ e H. J. VAN DER HELM, « *Progress in brain Research* », 26, 193 (1967).  
[25] J. C. SKOU, « *Biochim. Biophys. Acta* », 23, 394 (1957).  
[26] J. C. SKOU, « *Physiol. Rev.* », 45, 596 (1965).  
[27] D. NAIDOO, « *J. Histochem. Cytochem.* », 10, 731 (1962).  
[28] G. PALLADINI e G. VENTURINI, « *Rend. Acc. Naz. Lincei* », Serie VIII, 39, 572 (1965).  
[29] A. BIGNAMI, G. PALLADINI e G. VENTURINI, « *Brain Res.* », 3, 207 (1966).  
[30] A. W. JONES e R. LEVI-MONTALCINI, « *Arch. ital. Biol.* », 96, 231 (1958).  
[31] L. ALFEI, « *Rend. Acc. Naz. Lincei* », Serie VIII, 41, 408 (1966).  
[32] G. PALLADINI, G. VENTURINI e F. BORGHI, « *Boll. Zool.* », 32, 311 (1965).