
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

DONATELLA MARCHESINI, MILENA MARINI

**Osservazioni sulle cellule di Rohon-Beard durante lo
sviluppo di un Anfibio urodelo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.1-2, p. 84-89.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_1-2_84_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 cellule di Rohon-Beard durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo*^(*). Nota^(**) di DONATELLA MARCHESINI e MILENA MARINI, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The Rohon-Beard neurons in Urodelan Amphibians (*Triturus cristatus*) take their typical shape and size early and quickly (in embryo st. 36); they do not differentiate at the same time, their definitive number being reached only at the hatching time (st. 40-41). At the beginning of the larval period (st. 48-50) some Rohon-Beard cells of the cervical region show degenerative aspects and start to rarefy; their rarefaction runs caudally. In the metamorphosed animals, the Rohon-Beard cells have disappeared.

The Rohon-Beard cells of the Urodelan Amphibians are transient neurons, whose function, as sensory system, is carried out before the spinal ganglia differentiation.

Le cellule di Rohon-Beard, come è noto, sono dei voluminosi neuroni sensitivi, tipici degli Ittiopsidi, localizzati nella regione dorsomediale del midollo spinale. Questi elementi, descritti in passato come cellule gangliari giganti, cellule gangliari transitorie o cellule dorsali, negli Anfibi anuri sono state segnalate da Beard [1] e da Studnička [2] e di recente esaminate da Nieuwkoop e Faber [3], Hughes [4] e De Filippis [5]; gli Autori, oltre ad accertare il precoce differenziamento di questi peculiari neuroni e a precisarne le caratteristiche morfologiche, dimostrano che essi si involgono durante la vita larvale e sono assenti negli animali metamorfosati.

Per quanto riguarda gli Anfibi urodela, la presenza di tali neuroni è segnalata nel midollo spinale di Tritoni *metamorfosati* da Burckhardt [6], il quale li ritiene simili ai neuroni dorsali dei Ciclostomi. Nello stesso anno Beard [1] descrive un sistema di neuroni dorsali giganti nel midollo spinale di larve di Urodela ed asserisce che tali cellule scompaiono prima della metamorfosi. Studnička [2] osserva che i neuroni dorsali giganti non si rinvergono nel midollo spinale di Salamandra, mentre sono presenti negli embrioni e negli *adulti* di Tritone.

Infine vanno ricordate le ricerche di Coghill [7] intese ad analizzare il sistema sensorio del tronco in embrioni di *Ambystoma punctatum* serciati in base a criteri fisiologici. Poiché le cellule di Rohon-Beard sono differenziate in tutti gli stadi esaminati, mentre non sono ancora formate le radici dorsali del midollo spinale, l'Autore deduce che la prima funzione sensoria (estero-cettiva e propriocettiva) è assolta da questi neuroni, i cui prolungamenti sono in rapporto con la pelle e con i miotomi.

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

(**) Pervenuta all'Accademia il 26 luglio 1968.

In una ricerca sulla rigenerazione del midollo spinale di un Anfibio urodelo adulto (*Triturus cristatus*) è emerso che nel midollo neoformato si differenziano precocemente alcuni neuroni voluminosi, i quali, per aspetto morfologico e posizione dorsomediale, sono interpretati come le cellule gangliari intraspinali di Rohon-Beard; nei tratti di midollo rigenerati da più tempo questi neuroni presentano aspetti involutivi o sono assenti; inoltre non si osservano nei midolli di controllo [8]. Tale reperto, e il fatto che le nozioni relative alle cellule di Rohon-Beard negli Urodela sono incomplete, ci hanno indotto ad esaminare il comportamento di questi neuroni durante lo sviluppo di *Triturus*. Nella presente Nota esponiamo i primi risultati emersi a questo riguardo.

Ai fini della presente ricerca sono stati esaminati stadi embrionali (st. 36, 38, 40-41, 45; sec. Twitty e Bodenstein in *Triturus torosus*; ved. Rugh [9]), larvali (47-48, 50, 53; 54-55, 58, 62 e 63; sec. Glücksohn [10]) ed animali metamorfosati di *Triturus cristatus carnifex* Laur. Almeno un paio di individui per ogni stadio sono stati fissati in Sanfelice, inclusi in celloidina-paraffina e sezionati in serie dello spessore di 7 μ ; i preparati istologici sono stati in parte colorati con il metodo di Mallory-Azan e in parte trattati con il metodo di Feulgen. Le densità delle cellule di Rohon-Beard ai vari stadi sono state determinate computando tutte le cellule presenti nel tratto di midollo che dal calamo si estende fino a livello della cloaca (XVII-XVIII paio di nervi spinali).

In embrioni di *Triturus* che presentano i primi movimenti di nuoto (st. 36) il midollo spinale è in differenziamento e sono già abbozzate le radici motorie; il differenziamento cellulare nei gangli spinali comincia, invece, all'epoca dello sgusciamiento (st. 40-41), e solo al termine del periodo embrionale (completo riassorbimento del tuorlo = st. 45) compaiono le prime fibre dorsali. Allo stadio 47-48 le radici dorsali sono ispessite ed i gangli spinali presentano molti elementi in avanzato differenziamento.

A stadio 36 nella porzione dorsale del midollo spinale (dal calamo al XVIII nervo spinale) si distinguono, oltre ad alcuni neuroblasti rotondeggianti in differenziamento (per lo più laterali), 140 neuroni con nuclei vescicolosi ed eccentrici, con citoplasma abbondante ed un grosso prolungamento diretto lateralmente, che vanno interpretati come cellule di Rohon-Beard. Negli stadi immediatamente successivi le cellule di Rohon-Beard aumentano di numero (allo sgusciamiento = st. 40-41 sono 235) e completano il loro differenziamento (il citoplasma si libera dei granuli di tuorlo e il prolungamento si ispessisce), mentre i neuroblasti laterali poco differenziati si rarefanno (Tav. I, figg. 1 e 2).

A partire dallo stadio 48-50, nella regione cervicale del midollo, accanto a cellule di Rohon-Beard che conservano immutate le loro caratteristiche morfologiche (Tav. I, fig. 3), se ne osservano alcune che presentano modificazioni citoplasmatiche e nucleari; tali modificazioni, inizialmente di piccola

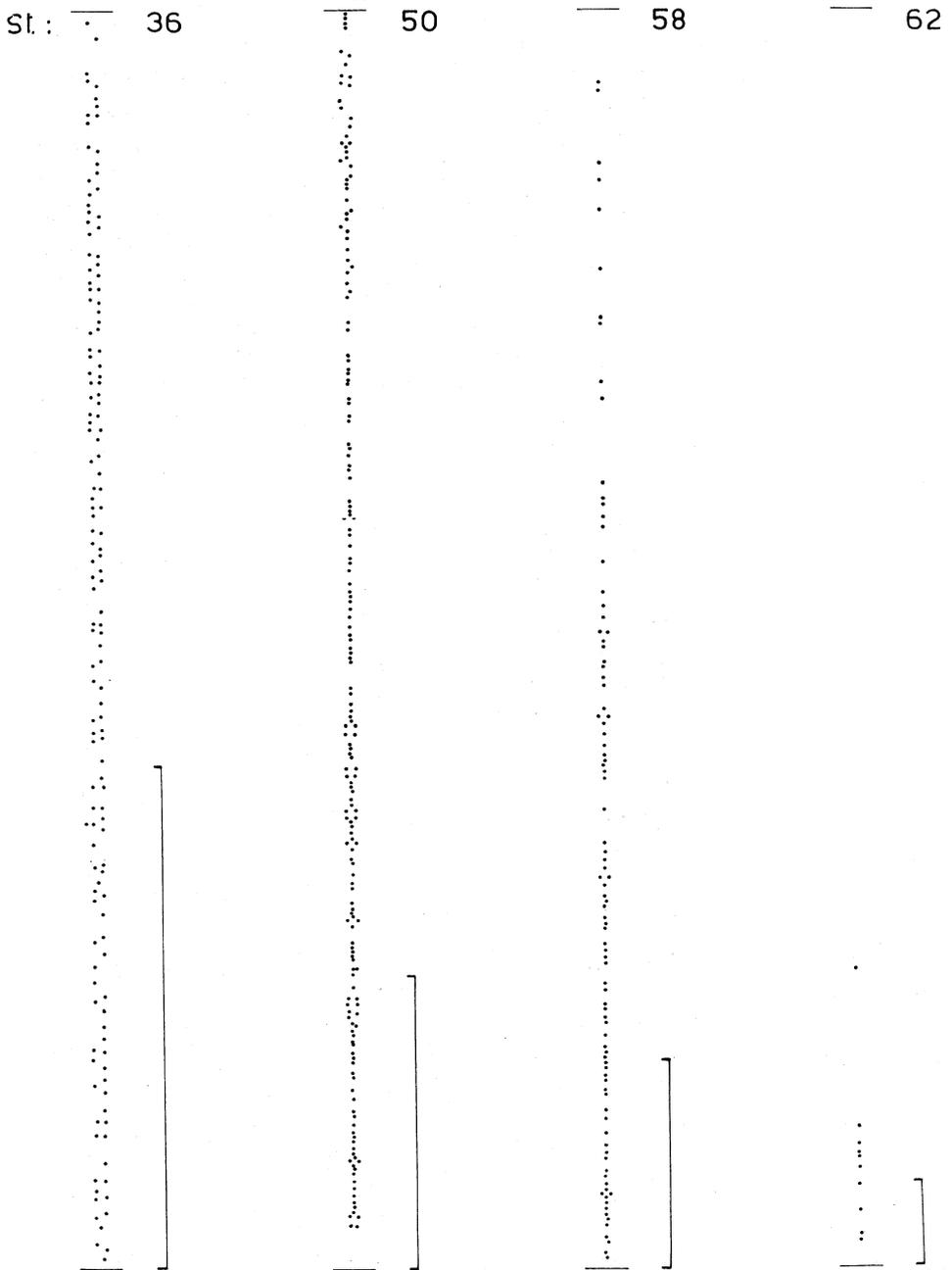


Fig. 1. - Distribuzione delle cellule di Rohon-Beard lungo il midollo spinale di embrioni e larve di *Triturus*.

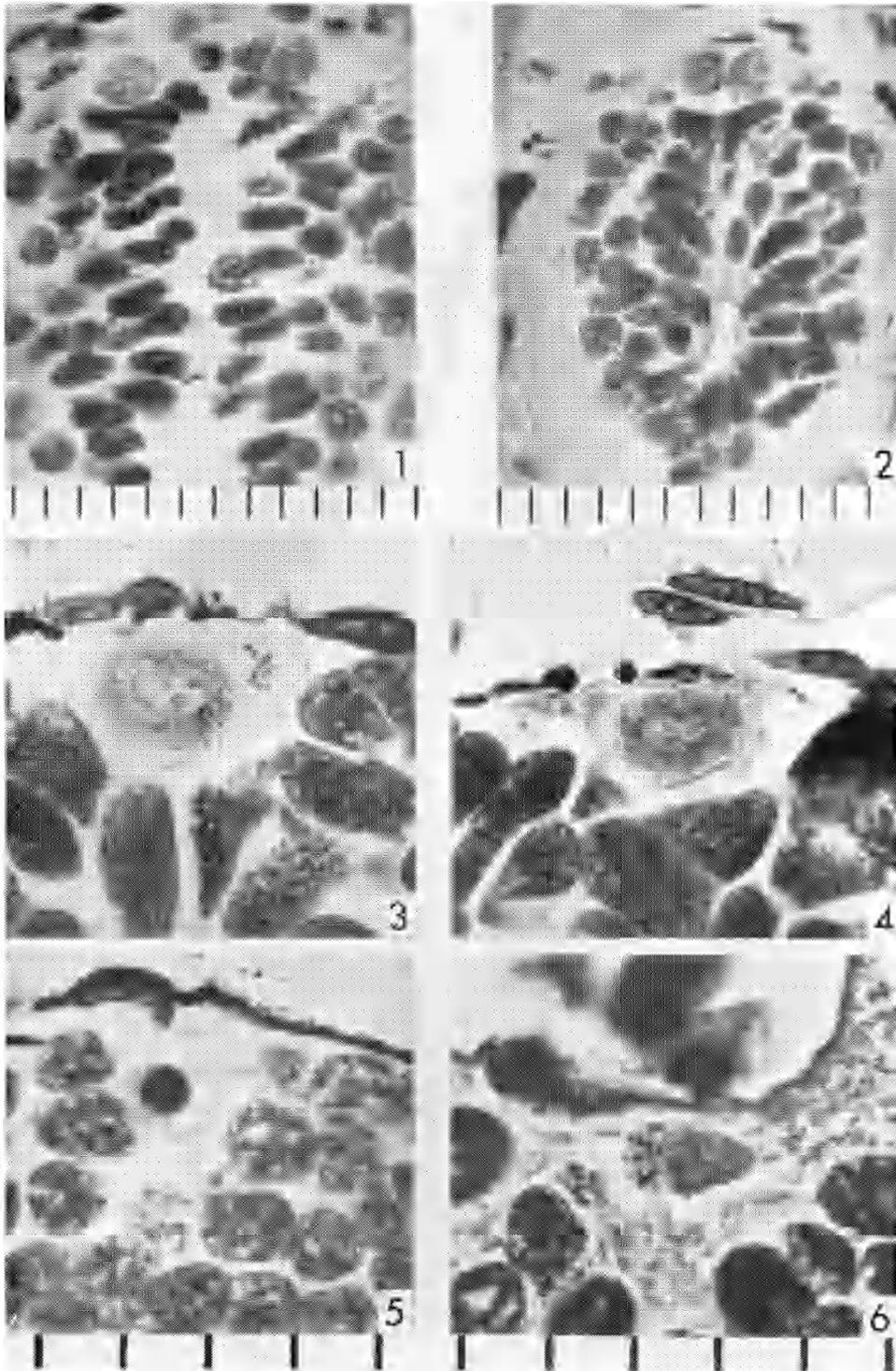
(La lunghezza dei tratti a fianco è pari = 1 mm).

entità (lieve riduzione del citoplasma e lobature della carioteca; Tav. I, fig. 4), si accentuano successivamente (drastica atrofia citoplasmatica e nucleare, alterazione delle strutture cromatiniche; Tav. I, figg. 5 e 6). Le cellule di Rohon-Beard con gli aspetti suddetti diventano più numerose negli stadi larvali avanzati e compaiono a livelli sempre più caudali. All'insorgere di questi fenomeni inizia, nella regione cervicale, la rarefazione numerica delle cellule di Rohon-Beard. Tale rarefazione prosegue in direzione caudale: infatti nelle larve prossime alla metamorfosi (st. 62) le poche (circa 10) cellule superstiti sono localizzate nella regione lombo-sacrale, e alla metamorfosi sono scomparse del tutto (fig. 1).

TABELLA.

Stadio	Giorni	N. cellule di R-B	DIAMETRI CELLULARI			DIAMETRI NUCLEARI			$\frac{N}{P} = \frac{r_N^3 \times 100}{r_c^3}$		
			Cervi- cali	Lombo- sacrali	Media	Cervi- cali	Lombo- sacrali	Media	Cervi- cali	Lombo- sacrali	Media
36	9	140	—	—	18,8	—	—	14,5	—	—	45,8
38	10	165	—	—	18,8	—	—	14,4	—	—	44,9
40-41	12-13	235	19,3	18,9	19,1	14,4	14,5	14,5	41,5	45,1	43,7
45	19	220	16,8	18,6	17,7	13,2	14,4	13,8	48,5	46,4	47,3
47-48	23-30	221	17,8	18,5	18,2	13,7	14,3	14	45,5	46	45,5
50	47	182	18,1	19,3	18,7	14,1	15,1	14,6	47,2	47,8	47,5
53	55	180	16,3	16,1	16,2	13,1	13,0	13,1	51,9	52,6	52,8
54-55	57-60	144	15,9	17,3	16,6	13,2	14,4	13,8	57,2	57,6	57,4
58	76	88	16,1	16,8	16,5	13,7	13,8	13,8	61,6	55,4	58,5
62	106	10	—	16,7	16,7	—	13,8	13,8	—	56,4	56,4

Le misurazioni compiute sulle cellule di Rohon-Beard di aspetto tipico, dimostrano che i loro diametri medi nucleari durante lo sviluppo conservano valori pressoché costanti (13,4-14,6 μ), quelli citoplasmatici, invece, dallo stadio 36 allo stadio 50 oscillano tra 17,7 μ e 19,1 μ , quindi si abbassano (16,2-16,7 μ); pertanto il rapporto N/P, inizialmente compreso tra 43,7 e 47,5, diviene maggiore (52,8-58,5). Poiché le cellule di Rohon-Beard scompaiono prima nella regione rostrale e poi in quella caudale, in ogni esemplare è stato compiuto un confronto tra i diametri medi nucleari e citoplasmatici di almeno 10 cellule della regione cervicale e 10 della regione lombo-sacrale; tale confronto ha messo in evidenza che (da st. 40 in poi) le cellule caudali presentano in media dimensioni superiori (ved. Tabella).



Cellule di Rohon-Beard in un embrione (fig. 1 a st. 38) e in larve (fig. 2 a st. 47-48; fig. 3 a st. 53) di *Triturus*; cellule di Rohon-Beard in involuzione di larve a st. 53 (fig. 4) e a st. 62 (figg. 5 e 6).

(Ogni intervallo delle scale in calce = 10 μ).

La posizione delle cellule di Rohon-Beard varia durante il periodo embrionale: inizialmente (a st. 36) esse sono laterali o dorsolaterali (generalmente alla periferia, raramente all'interno del grigio), quindi si portano in posizione dorsomediale e si dispongono per lo più a coppie regolarmente scaglionate lungo il midollo spinale.

In base ai risultati esposti si possono trarre le seguenti conclusioni:

A) Negli Anfibi urodela, come negli Anuri (Nieuwkoop e Faber [3]; Hughes [4]; De Filippis [5]), le cellule di Rohon-Beard si differenziano precocemente; esse inoltre acquisiscono rapidamente l'aspetto e le dimensioni tipiche: infatti i loro diametri nucleari e citoplasmatici e il rapporto N/P restano pressoché invariati dallo stadio 36 allo stadio 53.

B) Il differenziamento delle cellule di Rohon-Beard non è sincrono: lo dimostra il fatto che esse raggiungono la loro definitiva consistenza numerica solo all'epoca dello sgusciamento. In concomitanza con il loro incremento numerico si rarefanno i grossi neuroblasti laterali per cui se ne deduce che questi si trasformano in neuroni di Rohon-Beard. Va anche sottolineato che le cellule di Rohon-Beard, inizialmente sparse nel grigio dorsale, durante i processi del differenziamento si allineano nella regione dorsomediale, al di sotto della membrana limitante esterna; dato che la loro forma non si modifica, riteniamo che il loro spostamento sia passivo; pertanto la loro regolare distribuzione lungo il midollo spinale e la loro posizione definitiva vanno attribuiti rispettivamente all'allungamento del tubo neurale e all'aumento della sostanza bianca.

C) A partire dallo stadio 48-50, alcune cellule di Rohon-Beard della regione cervicale presentano alterazione morfologiche; esse diventano più frequenti negli stadi successivi e compaiono a livelli sempre più caudali, frammiste a cellule che conservano aspetto invariato. Poiché tale fenomeno si accompagna alla rarefazione numerica delle cellule di Rohon-Beard, che procede anch'essa in direzione rostrocaudale, se ne deduce che le alterazioni morfologiche sono espressione dei processi degenerativi i quali portano alla scomparsa di questi neuroni. In proposito vanno ricordati due dati di un certo interesse: *a)* la frequenza dei quadri degenerativi finali (Tav. I, figg. 5 e 6), è bassa in rapporto al numero delle cellule di Rohon-Beard che scompaiono da uno stadio all'altro; *b)* nel periodo della maggior rarefazione (st. 53-62) anche le cellule di Rohon-Beard che conservano aspetto inalterato, presentano una lieve riduzione dei diametri citoplasmatici, che si ripercuote in un innalzamento del rapporto N/P. Questi reperti indicano che la degenerazione delle cellule di Rohon-Beard avviene in due fasi: una prima fase, molto lunga, che esordisce con una lieve riduzione dei diametri citoplasmatici e termina con la comparsa delle prime modificazioni nucleari (aspetto lobato del nucleo; Tav. I, fig. 4); una seconda fase, di breve durata, in cui citoplasma e nucleo presentano una drastica atrofia, e le strutture cromatiniche perdono di definizione (Tav. I, fig. 6) riducendosi infine a sferule intensamente Feulgen-positive (Tav. I, fig. 5).

Il processo involutivo delle cellule di Rohon-Beard, pertanto, si compie con modalità simili a quelle verificate nelle cellule di Mauthner durante l'involuzione normale (Baffoni e Catte [11]) o sperimentale (ormone tiroideo, Baffoni e Catte [11]; digiuno, Baffoni [12]).

L'involuzione delle cellule di Rohon-Beard in *Triturus* avviene gradualmente e si protrae per tutta la durata del periodo larvale, procedendo in direzione rostrocaudale, come osservato da De Filippis [5] in *Rana*; in *Xenopus* la scomparsa delle cellule di Rohon-Beard è invece più precoce (st. 55), come risulta dalle osservazioni di Nieuwkoop e Faber [3] e di Hughes [4]. A parte la maggiore o minore durata delle cellule di Rohon-Beard, le presenti osservazioni hanno accertato che anche negli Anfibi urodela questi neuroni degenerano durante il periodo larvale e sono assenti negli animali metamorfosati. Va precisato che le cause che determinano l'involuzione dei neuroni di Rohon-Beard non agiscono simultaneamente su tutte le cellule della stessa zona, poiché elementi in involuzione sono intercalati ad altri apparentemente inalterati.

D) Le presenti osservazioni hanno infine verificato che i gangli spinali cominciano a differenziarsi all'epoca dello sgusciamiento (st. 40-41), ma solo al termine della vita embrionale (completo riassorbimento del tuorlo = st. 45) compaiono le radici dorsali. Poiché gli embrioni di *Triturus* rispondono agli stimoli già a stadio 36, ne consegue che durante il periodo embrionale la funzione sensoria del tronco è assolta dalle cellule di Rohon-Beard, a conferma delle vedute di Coghill (in *Ambystoma*) [7]. Quanto sopra è confortato dal fatto che, una volta differenziatisi i gangli spinali, le cellule di Rohon-Beard entrano nella prima fase involutiva, avendo perduto la loro funzione.

Si può quindi concludere che le cellule di Rohon-Beard degli Anfibi urodela sono « neuroni a ciclo vitale limitato » [13] che esplicano la loro funzione essenzialmente durante il periodo embrionale.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] BEARD J., « Proc. Roy. Soc. », 46, 108-118 (1889).
- [2] STUDNIČKA F. K., « Sitz.-ber. Kon. Gesell. Wiss. Math.-Nat. », 51, 1-32 (1895).
- [3] NIEUWKOOP P. D. e FABER J., *Normal table of Xenopus laevis (Daudin). A systematical and chronological survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis*. North-Holland Pu. Co., Amsterdam 1967.
- [4] HUGHES A., « J. Anat. », 91, 323-338 (1957).
- [5] DE FILIPPIS S., « La Ric. Sci. », 28, 967-972 (1958).
- [6] BURCKHARDT K. R., « Arch. mikr. Anat. », 34, 131-156 (1889).
- [7] COGHILL G. E., « J. Comp. Neurol. », 24, 161-233 (1914).
- [8] MARINI M. e BAFFONI G. M., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 42, 943-947 (1967); MARINI M., « Riv. Neurobiol. » (Perugia) (in corso di stampa).
- [9] RUGH R., « *Experimental embryology* » (Burgess, Minneapolis, 1952).
- [10] GLÜCKSOHN S., « Arch. Entw.-mech. Org. », 125, 341-405 (1932).
- [11] BAFFONI G. M. e CATTE G., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 9, 282-287 (1950); « Riv. Biol. » (Perugia), 43, 373-397 (1951).
- [12] BAFFONI G. M., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 13, 281-287 (1952).
- [13] Ved.: STEFANELLI A., « La Ric. Sci. », 25, 2778-2795 (1955); « Riv. Biol. » (Perugia), 53, 41-64 (1960).