
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

PIER LUIGI TREVISAN, MILENA MARINI

Osservazioni sulle cellule di Rohon-Beard in un Anfibio urodelo in sviluppo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 52 (1972), n.6, p. 965–968.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_52_6_965_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 in un Anfibio urodelo in sviluppo* (*). Nota di PIER LUIGI TREVISAN e MILENA MARINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The Rohon-Beard cells of an urodelan Amphibian (*Triturus cristatus*) show their typical aspect and their highest number in the first larval stage.

In the trunk region these neurons begin to degenerate at early larval stages and disappear a month before the metamorphosis. In the tail region, on the contrary, these neurons maintain the same number and morphological aspects till the oldest larval stages. Most of them degenerate in the last larval month.

The Rohon-Beard cells of urodelan Amphibians progressively rarefy backwards and are quite lacking at the metamorphosis.

The involutive features of these neurons are described.

Nell'ambito delle ricerche che si stanno svolgendo nel nostro Istituto sui neuroni gangliari intraspinali (o cellule di Rohon-Beard) degli Anammi sono stati riferiti alcuni risultati relativi al differenziamento e alle variazioni di densità di questi neuroni durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo [1]. Tali risultati hanno dimostrato che, nella regione del tronco, le cellule di Rohon-Beard cominciano a differenziarsi precocemente nella zona dorso-laterale del midollo spinale, quindi si portano nella tipica posizione mediale; negli embrioni appena sgusciati esse sono differenziate e raggiungono il numero massimo. Durante la vita larvale le cellule di Rohon-Beard si rarefanno in senso rostro-caudale e sono del tutto scomparse alla metamorfosi.

Nella presente Nota saranno riferiti i risultati di un esame inteso ad analizzare il processo involutivo che porta alla scomparsa di questi neuroni e ad estendere le osservazioni alla regione caudale.

Va ricordato in proposito che la presenza di neuroni dorsali negli Anfibi urodela è stata segnalata da Burckhardt [2], Beard [3], Studnicka [4] e Van Gehuchten [5], ma i dati degli Autori sono incompleti e talora contraddittori. Secondo le ricerche di Coghill [6] su *Ambystoma*, le cellule di Rohon-Beard assolvono la funzione sensoria propriocettiva ed esterocettiva prima che si differenzino i gangli spinali.

Il materiale impiegato è il *Triturus cristatus carnifex* Laur. Le larve sono state allevate in laboratorio e classificate in base alle tavole di Glücksohn [7].

Sono stati fissati sia in Helly che in Bouin almeno due animali per ogni stadio (45, 52, 54, 56, 58, 61, 62, 63); tutto il materiale è stato incluso in celloidina-paraffina e sezionato in serie trasversali dello spessore di 5 μ .

I preparati istologici sono stati colorati con il metodo del bleu di toluidina in tampone a pH 4,6 con controlli pretrattati con acido perclorico. Alcuni preparati, fissati, in Helly,

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena.

(**) Nella seduta del 16 giugno 1972.

sono stati colorati con il bleu di toluidina, osservati, disegnati, fotografati e quindi marcati, smontati e trattati con la reazione di Feulgen. Questa procedura è stata adottata per chiarire la natura di alcune inclusioni nucleari e citoplasmatiche che compaiono nelle cellule alterate.

Abbiamo fissato come limite tra tronco e coda il margine posteriore della cloaca (invece della vertebra sacrale) per avere un punto di repere valido anche per le larve più giovani.

Il numero delle cellule di Rohon-Beard è stato calcolato separatamente nella regione del tronco e in quella della coda.

I valori dimensionali rappresentano la media di misurazioni del diametro massimo e minimo effettuate su almeno 20 delle cellule di Rohon-Beard, meglio orientate sul piano di taglio ed appartenenti a diversi livelli del tronco o della coda.

All'inizio del periodo larvale (completo riassorbimento del tuorlo = = st. 45) le cellule di Rohon-Beard sono in media 214 nel midollo del tronco e 96 in quello della coda. Esse sono disposte per lo più a coppie ed hanno tutte lo stesso aspetto: il nucleo è rotondeggiante con materiale Feulgen-positivo finemente particolato e due o più vistosi nucleoli (fig. 2); il citoplasma presenta abbondante sostanza basofila granulare (fig. 1). Il diametro nucleare delle cellule di Rohon-Beard è di 15μ , il diametro cellulare è di $21,4 \mu$ nel tronco e $22,1 \mu$ nella coda.

Nei successivi stadi larvali le cellule di Rohon-Beard del tronco si rarefanno numericamente: infatti esse sono in media 174 a stadio 56, 135 a stadio 58, 74 a stadio 61 e solamente una decina a stadio 62. In concomitanza con la rarefazione numerica, tra cellule di Rohon-Beard che conservano aspetto (figg. 1 e 2) e dimensioni invariate (diametro nucleare $15-16 \mu$; diametro cellulare $21-22,5 \mu$) compaiono, a partire della regione rostrale del midollo, elementi alterati; questi allo stadio 61 rappresentano il 30% del totale.

Tali elementi non possono essere serati in base alle dimensioni cellulari, che oscillano attorno alla media ($20-22 \mu$), ma in base all'aspetto morfologico:

A) elementi in cui la sostanza basofila comincia a perdere l'aspetto granulare e il materiale nucleare appare in granulazioni marcate Feulgen-positivo;

B) elementi con citoplasma uniformemente basofilo e nucleo contenente granuli e sferule che si colorano in varie tonalità con il bleu toluidina (fig. 3); tali strutture in parte risultano Feulgen-positivo (fig. 4);

C) elementi torbidi a contorni irregolari e privi di nucleo, contenenti una o più sferule di dimensioni variabili; queste, colorate in diverse tonalità con il bleu di toluidina (figg. 5 e 7), sono in parte Feulgen-positivo (figg. 6 e 8).

Va infine sottolineato che addossati ad alcune cellule di Rohon-Beard alterate sono stati talora osservati piccoli elementi con nucleo di aspetto mesenchimatico.

A differenza di quanto si verifica nel tronco, nel midollo spinale della coda, dallo stadio 45 allo stadio 61 il numero delle cellule di Rohon-Beard rimane pressochè costante (circa un centinaio) e solamente nell'ultimo stadio larvale (st. 62) si accenna un decremento (circa 80). Anche l'aspetto e le dimensioni delle cellule di Rohon-Beard della coda si conservano a lungo invariati

(diametro nucleare 15,5–16,5 μ ; diametro cellulare 21,2–23,1 μ); infatti la frequenza dei neuroni di Rohon-Beard alterati nella coda è del 5 % a stadio 61 e del 10 % a stadio 62.

Comunque alla metamorfosi (st. 63) il midollo spinale del tronco e della coda è completamente privo di cellule di Rohon-Beard.

Il differenziamento dei gangli spinali, nella regione più rostrale del tronco è già in atto all'inizio del periodo larvale (st. 45); infatti molte cellule gangliari presentano nuclei vescicolosi, circondati da un alone di sostanza basofila; inoltre sono evidenti le radici dorsali. Nei successivi stadi di sviluppo si differenziano gli abbozzi gangliari di regioni sempre più caudali: a stadio 56 le radici dorsali, sebbene sottili, sono evidenti sino a circa 4 mm dall'apice della coda (fig. 9), ma ancora a stadio 61 nella porzione apicale della coda (circa 3 mm) i gangli sono costituiti da pochi elementi in differenziamento e appaiono privi di radici dorsali (fig. 10).

In base ai dati analitici esposti i risultati più salienti si possono così riassumere:

1) All'inizio della vita larvale (st. 45) nel midollo del tronco le cellule di Rohon-Beard sono in media 214 e presentano aspetto tipico; nei successivi stadi esse si rarefanno in direzione caudale, finchè nell'ultimo stadio prima della metamorfosi (st. 62) ne restano solo una decina. In concomitanza con la rarefazione numerica, alcune cellule di Rohon-Beard presentano alterazioni a carico del nucleo e del citoplasma; tali alterazioni sono espressione del processo involutivo che porta alla scomparsa di questi neuroni. Le presenti osservazioni pertanto confermano quanto osservato da Marchesini e Marini [1]; qualche differenza riguardante il numero delle cellule di Rohon-Beard negli stadi in cui la loro involuzione è già in atto (st. 58), va imputata a variazioni individuali.

2) L'esame di preparati colorati prima con il bleu di toluidina e poi con il metodo di Feulgen (figg. 3–8) ha permesso di precisare che il processo involutivo delle cellule di Rohon-Beard inizia con la dissoluzione dei granuli di sostanza basofila che conferisce al citoplasma una basofilia diffusa e con l'addensamento del materiale nucleare in granulazioni marcate; quindi tali granulazioni si fondono in sferule di varia grossezza. Infine il nucleo scompare e il corpo cellulare si presenta come una massa torbida in cui spiccano una o più sferule di diversa grossezza; queste si colorano in varie tonalità con il bleu di toluidina e in parte risultano Feulgen-positive. Attorno alle cellule di Rohon-Beard in degenerazione sono stati osservati, in qualche caso, piccoli elementi con nucleo simile a quello delle cellule mesenchimatiche, che possono interpretarsi come macrofagi. Il processo involutivo da noi descritto in *Triturus* a carico dei neuroni di Rohon-Beard ricorda quello osservato da Hughes durante l'involuzione dei motoneuroni in alcuni stadi larvali di *Xenopus* [8]; a differenza di questo Autore, non abbiamo però riscontrato variazioni volumetriche del corpo cellulare e del nucleo.

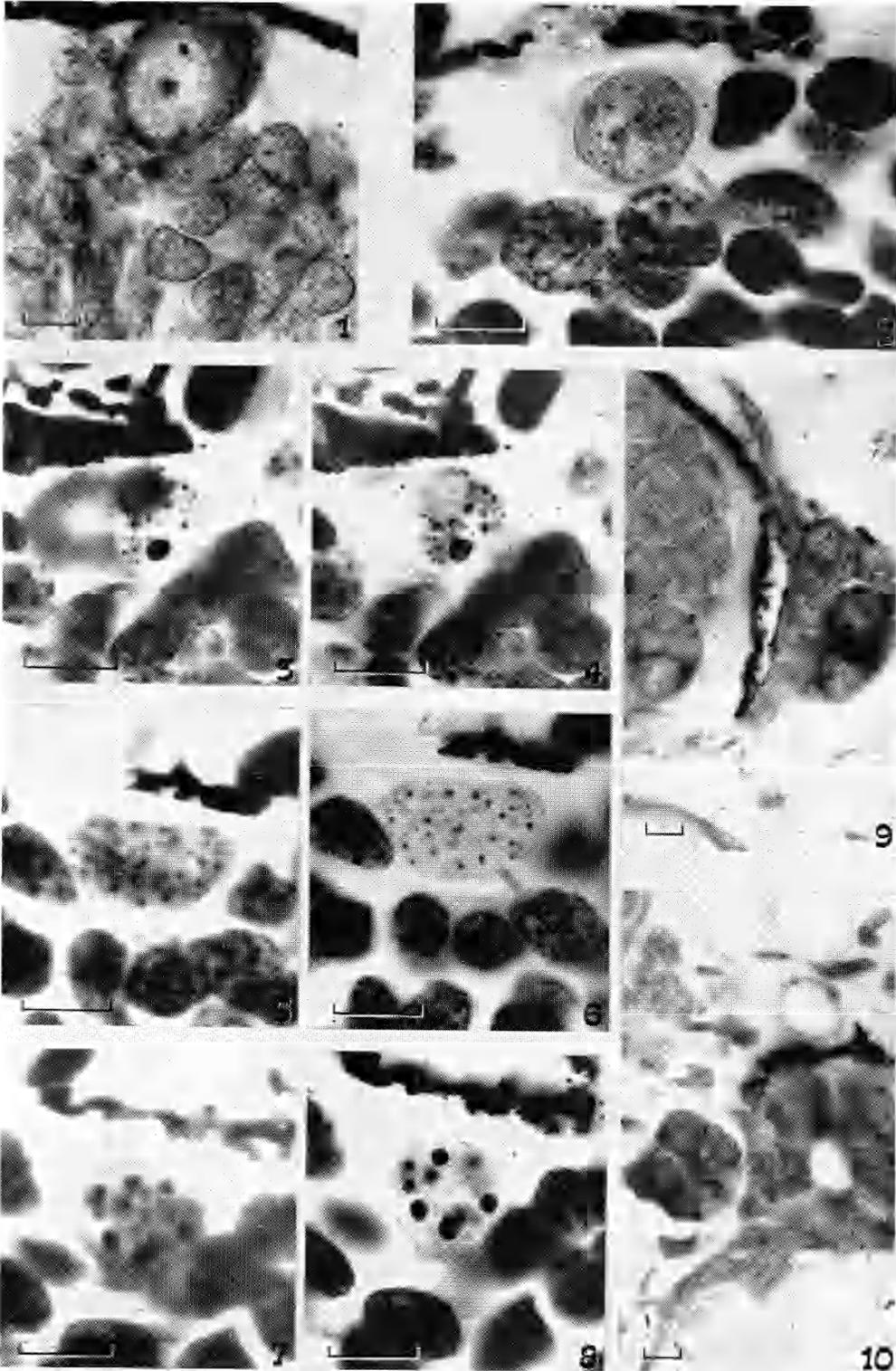
3) A differenza di quanto osservato nel tronco, la rarefazione delle cellule di Rohon-Beard nel midollo della coda inizia nel tardo periodo larvale; infatti il loro numero (circa un centinaio) rimane invariato fino a stadio 61 e solo nelle larve a stadio 62 accenna a diminuire. Anche il quadro morfologico delle cellule di Rohon-Beard nella coda si conserva a lungo inalterato e nelle larve più avanzate la percentuale degli elementi in involuzione è inferiore (5 % a st. 61 e 10 % a st. 62) rispetto a quanto si osserva nel tronco (30 % a st. 61).

Dai dati esposti risulta che mentre nel tronco l'involuzione delle cellule di Rohon-Beard procede gradualmente durante il periodo larvale per concludersi circa un mese prima della metamorfosi (solo una decina di cellule superstiti a st. 62), nella coda, invece, le cellule di Rohon-Beard si involgono in massima parte nell'ultimo mese che precede la metamorfosi (tra st. 62-63) e sono completamente scomparse nell'animale metamorfosato.

La tardiva involuzione delle cellule di Rohon-Beard nel midollo della coda può essere messa in relazione con il fatto che la morfogenesi dei gangli spinali a questo livello è ancora in atto nel tardo periodo larvale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] MARCHESINI D. e MARINI M., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 45, 84-89 (1968).
- [2] BURCKHARDT K. R., « Arch. mikr. Anat. », 34, 131-156 (1889).
- [3] BEARD J., « Proc. Roy. Soc. London », 46, 108-118 (1889).
- [4] STUDNICKA F. K., « Sitz.-ber. Kon. Gesell. Wiss. Math-Nat. », 51, 1-32 (1895).
- [5] VAN GEHUCHTEN A., « Bull. Acad. Roy. Belg. », 34, 24-38 (1897).
- [6] COGHILL G. E., « J. Comp. Neurol. », 24, 161-233 (1914).
- [7] GLÜCKSOHN S., « Arch. Entw.-mech. Org. », 125, 341-405 (1932).
- [8] HUGHES A., « J. Embryol. exp. Morphol. », 9, 269-284 (1961).



Cellule di Rohon-Beard tipiche (figg. 1 e 2) e in involuzione (figg. 3-8); gangli spinali nella coda di larve a stadio 56 (fig. 9) e a stadio 61 (fig. 10). (figg. 1, 9 e 10 fiss. Bouin, Bleu di toluidina; figg. 2-8 fiss. Helly; Bleu di toluidina figg. 3, 5, 7, e Feulgen figg. 2, 4, 6, 8. Ogni tratto in calce alle figure = 10 μ).