
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

IVAN BENEDETTI, MILENA MARINI

Le cellule gangliari intraspinali nei Teleostei. V. Lavarello

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 54 (1973), n.1, p. 157–161.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_54_1_157_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. — *Le cellule gangliari intraspinali nei Teleostei. V. Lavarello* (*). Nota di IVAN BENEDETTI e MILENA MARINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Rohon-Beard cells in *Coregonus (forma hybrida)* spinal cord early differentiate during embryonal life and gradually degenerate after hatching.

Some dorso-medial large neuroblasts are observed in the spinal cord of the oldest embryos; these elements are about 30 in number after hatching and differentiate as supra-medullary neurons in the adults.

The homology between the Rohon-Beard cells and supramedullary neurons may be excluded.

Nei Teleostei in sviluppo è nota la presenza di cellule gangliari intraspinali o cellule di Rohon-Beard, le quali si involgono prima che lo sviluppo sia ultimato [1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7].

Oltre alle cellule di Rohon-Beard, alcuni Teleostei presentano dei neuroni dorsali detti comunemente «neuroni sopramidollari» nel midollo spinale degli adulti [8, 9, 10, 11 e 12]. Questi elementi hanno per lo più forma piriforme e un grosso neurite non mielinato che si porta entro i fascicoli dorsali. Alcuni Autori [10, 13 e 14] ritengono che i neuroni sopramidollari dell'adulto siano cellule di Rohon-Beard persistenti. Questa opinione non è però suffragata da ricerche esaurienti in quanto solo Dahlgren [10] ha esaminato adulti ed embrioni, ma tali reperti, a detta dello stesso Autore, sono troppo frammentari per essere dimostrativi.

In precedenti Note [15, 16, 17 e 18] abbiamo descritto la citomorfosi delle cellule di Rohon-Beard durante lo sviluppo di Teleostei ovipari ed abbiamo dimostrato che tali neuroni sono assenti nei vivipari.

Attualmente le nostre ricerche sono rivolte a quelle specie di Teleostei che, in base ad un elenco riportato da Kappers, Huber e Crosby [13], risultano provviste di cellule di Rohon-Beard durante lo sviluppo e di neuroni sopramidollari nell'adulto.

Tale indagine inizia con un Teleosteo del genere *Coregonus* nei cui adulti abbiamo preventivamente verificato la presenza di neuroni sopramidollari. La scelta del materiale è stata motivata dalla facilità con cui si possono ottenere tutti gli stadi dello sviluppo embrionale e post-embriionale.

Ai fini della presente ricerca abbiamo esaminato embrioni, giovani dopo la schiusa e individui adulti del genere *Coregonus*. Non possiamo determinare la specie in quanto il Coregone che vive nei Laghi italiani è una forma ibrida comunemente denominata «Lavarello» [19].

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università, Via Berengario 14, 41100 Modena.

(**) Nella seduta del 13 gennaio 1973.

Gli stadi embrionali e gli individui a vari tempi dopo la schiusa sono stati ottenuti da uova spremute da una sola femmina e fecondate artificialmente. I due esemplari per la riproduzione sono stati pescati nel lago di Garda a gennaio. Le uova sono state allevate nell'incubatoio di Peschiera (1).

Gli embrioni sono stati prelevati settimanalmente a partire da 6 giorni dopo la fecondazione fino al momento della schiusa (circa 40 giorni dopo); inoltre sono stati fissati giovani schiusi da 7, 13, 22 e 37 giorni.

Gli individui adulti (lungi circa 30 centimetri), da cui è stato prelevato l'intero midollo spinale, sono stati pescati nel lago di Garda in ottobre e fissati immediatamente dopo la cattura.

Di ogni stadio sono stati fissati 5 individui in liquido di Bouin.

Il materiale incluso in celloidina-paraffina è stato sezionato di norma in serie trasversali dello spessore di 5 o 7 μ .

Di alcuni individui, fissati dopo la schiusa, sono state allestite anche sezioni sagittali e frontali.

I preparati istologici di almeno 3 individui per ogni stadio sono stati colorati con il bleu di toluidina in mezzo tamponato a pH 4,6 insieme a controlli pretrattati con acido perclorico. Una serie di animali è stata impregnata secondo il metodo di Bodian.

Le misurazioni cellulari e nucleari sono state effettuate su almeno 10 elementi per ogni individuo, scelti a vari livelli del midollo spinale, tra quelli meglio orientati sul piano di taglio nel testo saranno riportati i valori medi.

Negli embrioni fissati 13 giorni dopo la fecondazione (lungi circa 2mm) il tubo neurale appare come un cordone di cellule indifferenziate e in attività mitotica a parte qualche neuroblasta laterale (Tav. I, fig. 1); solo nella porzione rostrale si osservano tracce del canale endimale.

Negli embrioni di 20 giorni (lungi 3 mm) il canale endimale è presente lungo tutto il midollo spinale ed è più dilatato nella regione rostrale. Il midollo spinale presenta uno spesso strato mantellare costituito da cellule indifferenziate, talora in attività mitotica, e da neuroblasti marginali con nucleo rotondeggiante, nucleolo marcato e un anello perinucleare di sostanza basofila. Tra questi neuroblasti se ne distinguono alcuni con sostanza basofila più abbondante disposti in posizione dorso-laterale (Tav. I, fig. 2).

Lo strato mantellare è rivestito da un esile velo.

Negli embrioni di 27 giorni (lungi 5,5 mm) a livello del midollo spinale del tronco la maggior parte delle cellule è in differenziamento, mentre nel midollo caudale sono ancora numerosi gli elementi indifferenziati e la figure mitotiche. Attorno allo strato mantellare è evidente uno strato marginale più spesso rostralmente.

Nella regione dorsale del midollo spinale si distinguono una cinquantina di cellule con grosso nucleo (diametro medio 10,8 μ) rotondeggiante, vescicoloso e fornito di 1 o 2 nucleoli; il citoplasma presenta abbondante sostanza basofila granulare ammassata ad un polo del nucleo (diametro medio 15,3 μ). I più rostrali di questi neuroni occupano una posizione dorso-mediale, ma, procedendo caudalmente, essi divengono laterali e si rarefanno nella coda. Per la posizione e l'aspetto morfologico questi neuroni sono da interpretare

(1) Ringraziamo sentitamente il prof. Costanzo De Angelis, Direttore dell'Istituto Ittiogenico di Brescia, per aver gentilmente provveduto a fornirci il materiale.

come cellule di Rohon-Beard (Tav. I, figg. 3, 4 e 5). Inoltre nel grigio dorso-laterale si rinvencono alcuni grossi neuroni bipolari con nucleo allungato e sostanza basofila distribuita ai due poli del nucleo; queste cellule sono con ogni probabilità associative.

Nel midollo spinale degli embrioni di 34 giorni (lunghi 6 mm) il canale ependimale si restringe mentre le cellule ependimali della placca dorsale si allungano e si assottigliano formando un cuneo che divarica il grigio dorsale. Le cellule di Rohon-Beard conservano l'aspetto e le dimensioni osservate nello stadio precedente, ma sono più numerose (in media 75) e particolarmente addensate nella regione del tronco; esse sono tutte in posizione nettamente dorso-mediale.

Tra i neuroni di Rohon-Beard, in posizione dorso-mediale, si osservano anche una decina di elementi con grosso nucleo rotondeggiante, vescicoloso e fornito di 1 o 2 marcati nucleoli; la sostanza basofila è scarsa e addensata in un anello perinucleare (Tav. II, fig. 9). Questi elementi vanno interpretati come neuroblasti.

Nei gangli spinali si notano ora elementi con nuclei voluminosi circondati da un alone di sostanza basofila.

All'epoca della schiusa (individui lunghi 8-9 mm) il midollo spinale, pur conservando un aspetto simile a quello embrionale, appare ispessito per l'aumento delle fibre e per il più avanzato differenziamento del grigio.

Le cellule di Rohon-Beard sono aumentate di numero (in media 90).

In alcune di esse il nucleo presenta una concavità e la sostanza basofila è pulverulenta. Le misurazioni effettuate sulle cellule di Rohon-Beard a questo stadio indicano un decremento dei diametri cellulare (diametro medio $14\ \mu$) e nucleare (diametro medio $8,8\ \mu$).

Lungo il midollo spinale, tra le cellule ependimali della placca dorsale, i voluminosi neuroblasti osservati nello stadio precedente sono più numerosi (circa una ventina).

I gangli spinali presentano neuroni in avanzato differenziamento ed esili radici dorsali.

Nel midollo spinale degli individui fissati dopo la schiusa si osserva una progressiva rarefazione dei neuroni di Rohon-Beard: essi sono in media 70 a 13 giorni e 60 a 37 giorni. Va però sottolineato che solo alcuni di essi conservano aspetto tipico perché i rimanenti, in numero sempre maggiore (circa il 40 % a 13 giorni e l'80 % a 37 giorni), mostrano alterazioni più o meno marcate a carico del nucleo e del citoplasma: infatti i nuclei di queste cellule presentano un'introflessione della membrana, talora tanto profonda, da far assumere al nucleo un'aspetto prima reniforme e poi semilunare; in questi ultimi casi il contenuto nucleare è torbido. Nel citoplasma degli elementi con nucleo reniforme la sostanza basofila è pulverulenta e in quelli con nucleo semilunare il citoplasma è atrofico e omogeneamente basofilo (Tav. I, fig. 6; Tav. II, figg. 7 e 8). Le misurazioni effettuate sulle cellule di Rohon-Beard degli animali dopo la schiusa mostrano che il diametro cellulare medio è ridotto a $12,2\ \mu$ e il diametro nucleare medio a $7,6\ \mu$.

Tra le cellule endodermali della placca dorsale sono aumentati di numero i grossi neuroblasti descritti negli stadi precedenti (diametro cellulare medio $10,2 \mu$; diametro nucleare medio $8,6 \mu$ - Tav. II, fig. 10); essi raggiungono la trentina 15 giorni dopo la schiusa e mantengono questo numero anche a 37 giorni.

Nel midollo spinale degli animali adulti, oltre alle piccole cellule periventricolari e cordonali e ai moto-neuroni, si osservano elementi con abbondante sostanza basofila a tutti i livelli del grigio e qualcuno anche nella sostanza bianca. Tra questi elementi, di forma e localizzazione variabili, se ne distinguono una trentina per l'uniformità di aspetto, dimensioni e posizione; essi si presentano come voluminosi neuroni piriformi (diametro cellulare medio $24,2 \mu$; diametro nucleare medio $11,9 \mu$) forniti di un robusto prolungamento diretto ventralmente; il loro nucleo, rotondeggiante e vescicoloso, presenta un grosso nucleolo centrale; la sostanza basofila è finemente particolata e abbondante specie al polo ventrale (Tav. II, figg. 11, 12 e 13). I neuroni di questo tipo sono distribuiti in prevalenza lungo il midollo del tronco e sono localizzati esclusivamente nel triangolo formato dalle cellule endodermali della placca dorsale.

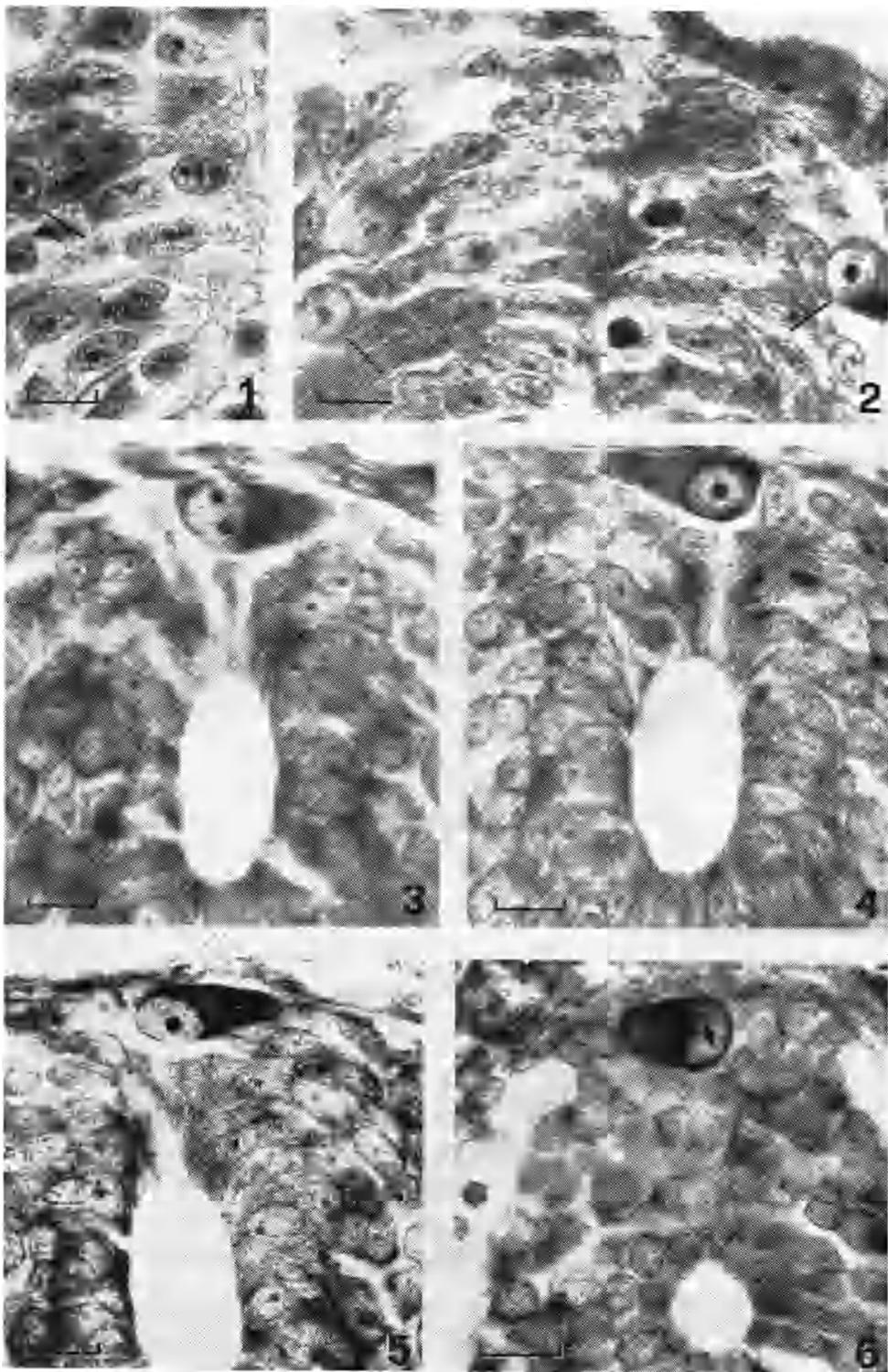
Dai dati analitici esposti risulta che nel midollo spinale di embrioni di Lavarello 20 giorni dopo la fecondazione sono presenti in posizione dorso-laterale numerosi grossi neuroblasti rotondeggianti (Tav. II, fig. 2).

Successivamente, nel grigio dorsale si differenziano, oltre ad alcuni grossi neuroni associativi, elementi che per aspetto, dimensioni e posizione debbono essere interpretati come cellule di Rohon-Beard (Tav. I, figg. 3, 4 e 5). Queste aumentano di numero durante lo sviluppo embrionale e raggiungono una media di 90 alla schiusa.

Dopo la schiusa le cellule di Rohon-Beard gradualmente si rarefanno e una percentuale sempre maggiore presenta alterazioni a carico del nucleo e del citoplasma accompagnate da atrofia (Tav. I, fig. 6; Tav. II, figg. 7 e 8). Questi quadri, del tutto simili a quelli da noi verificati per le cellule di Rohon-Beard di altri Teleostei [17 e 18], sono espressioni del processo involutivo che porta alla scomparsa di questi neuroni.

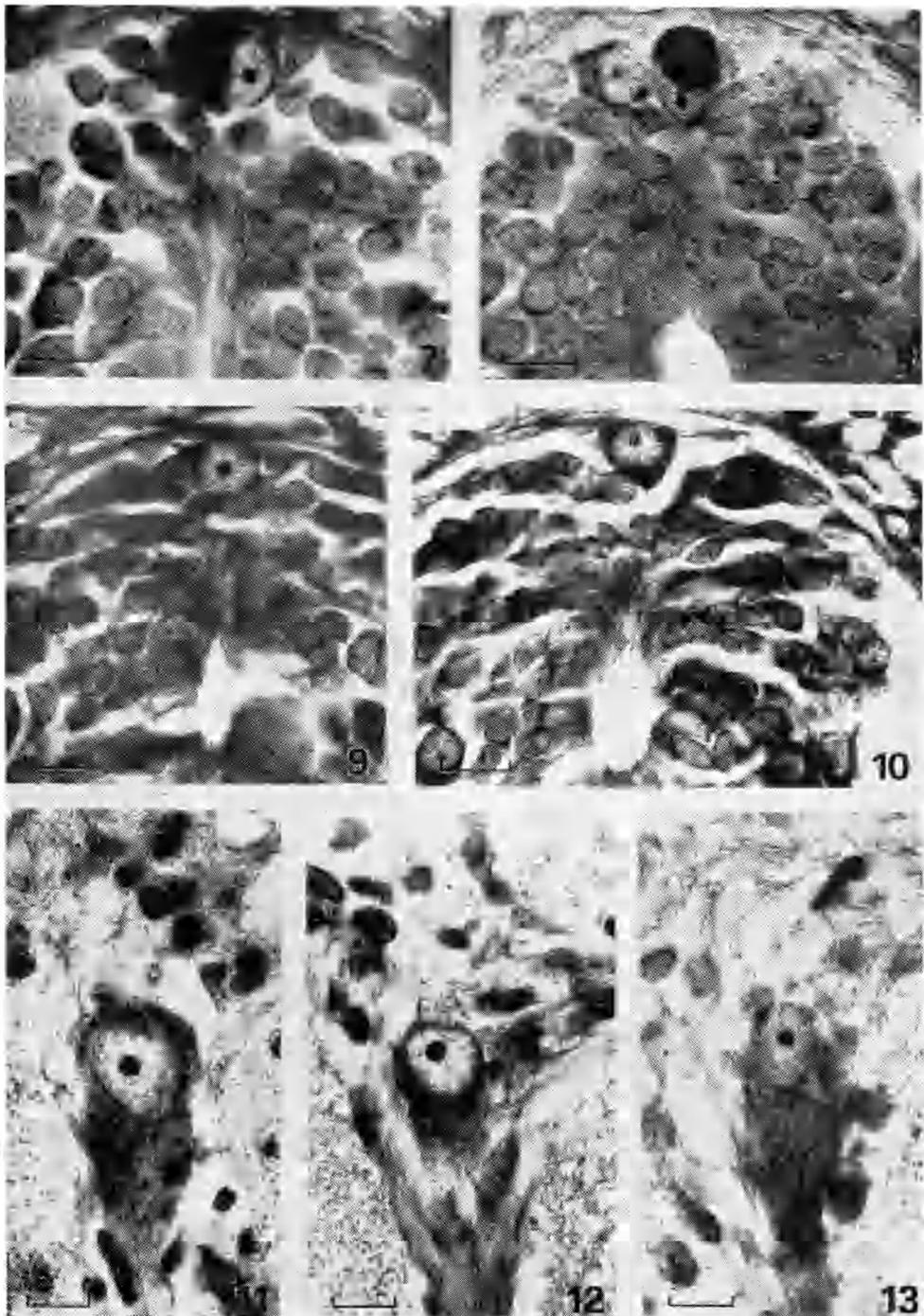
Nel midollo spinale degli embrioni prossimi alla schiusa, tra le cellule endodermali della placca dorsale, compaiono alcuni grossi neuroblasti che aumentano di numero dopo la schiusa e diventano una trentina nei giovani di 15 e 37 giorni. La posizione, l'aspetto e le dimensioni di questi elementi sono costanti (Tav. II, figg. 9 e 10); essi sono distribuiti di preferenza nella regione del tronco e si distinguono chiaramente dalle cellule di Rohon-Beard in involuzione.

Nel midollo spinale degli individui adulti, tra le cellule endodermali della placca dorsale, si notano una trentina di voluminosi neuroni piriformi con un grosso prolungamento ventrale (Tav. II, figg. 11, 12 e 13); per posizione e aspetto morfologico essi vanno interpretati come neuroni sopramidollari e sono in prevalenza distribuiti lungo il midollo del tronco. Da quanto sopra se



Neuroblasti (figg. 1 e 2) e neuroni di Rohon-Beard differenziati (figg. 3, 4 e 5) in embrioni di Lavarello; cellula di Rohon-Beard in involuzione in giovane dopo la schiusa (fig. 6).

(Ogni tratto in calce alle figure = 10 μ).



Cellule di Rohon-Beard in involuzione in giovani dopo la schiusa (figg. 7 e 8); neuroblasti dorsali alla schiusa (fig. 9) e dopo 37 giorni (fig. 10); neuroni sopramidollari in adulti di Lavarello (figg. 11, 12, e 13).

(Ogni tratto in calce alle figure = 10 μ).

ne deduce che i neuroblasti osservati nel tardo periodo embrionale e dopo la schiusa si sono differenziati nei neuroni sopramidollari dell'adulto.

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

1) nel Lavarello sono presenti le cellule di Rohon-Beard le quali si differenziano precocemente durante lo sviluppo embrionale e si involgono dopo la schiusa con le modalità già descritte in altri Teleostei ovipari.

2) Al termine del periodo embrionale nella regione dorsale del midollo spinale cominciano a differenziarsi dei grossi neuroblasti che raggiungono il loro numero definitivo dopo la schiusa. Nell'adulto si rinviene con la stessa localizzazione un egual numero di neuroni sopramidollari evidentemente derivati da essi.

3) Questi dati fanno apparire molto improbabile che i neuroni sopramidollari dell'adulto siano cellule di Rohon-Beard persistenti.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ROHON J.V., «Sitz. ber. math.-phys. Kl. K. bayr. Akad. Wiss.» (München), 14, 39-56 (1884).
- [2] STUDNICKA F. K., «Sitz. ber. Kön. böhm. Gesell. Wiss. Math. Nat.», 51, 1-32 (1895).
- [3] VAN GEHUCHTEN A., «Bull. Acad. Roy. Sci.» (Belg.), 30, 495-519 (1895); 34, 24-38 (1897).
- [4] JOHNSTON J. B., «J. Comp. Neurol.», 10, 375-381 (1900).
- [5] HARRISON R. G., «Arkiv mikr. Anat. Entwick.», 57, 354-444 (1901).
- [6] INSABATO L., «Arch. Ital. Anat. Embriol.», 18 (Suppl.), 11-28 (1922).
- [7] TRACY H. C., «J. Comp. Neurol.», 116, 291-315 (1961).
- [8] FRITSCH G., «Sitz. Ber. Kon. preus. Akad. Wiss.» (Berlin), 2, 1145-1149 (1884); «Arch. mikr. Anat.», 27, 13-31 (1886).
- [9] TAGLIANI G., «Monit. Zool. Ital.», 5, 248-258 (1894); «Boll. Soc. Nat.» (Napoli), 9, 60-69 (1895); «Monit. Zool. Ital.», 8, 264-275 (1897); «Anat. Anz.», 15, 234-237 (1898).
- [10] DAHLGREN U., «Anat. Anz.», 13, 281-293 (1897); «J. Comp. Neurol.», 8, 177-179 (1898).
- [11] KOLSTER R., «Anat. Anz.», 14, 250-253 (1898).
- [12] SARGENT P. E., «J. Comp. Neurol.», 8, 183-194 (1898); «Anat. Anz.», 15, 212-225 (1899).
- [13] ARIENS KAPPERS C. U., HUBER G. C. e CROSBY E. C., *The comparative anatomy of the nervous system of Vertebrates, including Man.* (Hafner Pu. Co., New York, 1960).
- [14] SCHARF H. J., *Sensible Ganglien*, «Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen», 4 (W. v. Möllendorf-W. Bergmann Ed., Berlin, Springer, 1958).
- [15] BENEDETTI I. e MARINI M., «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 49, 223-228 (1970).
- [16] MARINI M. e BENEDETTI I., «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 51, 260-263 (1971).
- [17] BENEDETTI I. e MARINI M., «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 52, 101-105 (1972).
- [18] MARINI M. e BENEDETTI I., «Rend. Acc. Naz. Lincei», ser. VIII, 52, 579-582 (1972).
- [19] TORTONESE E., *Fauna d'Italia. X. Osteichthyes*, parte I (Calderini, Bologna, 1970).