
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARINA CAMATINI, SILVIO RANZI

Tubo neurale, vescicole e calice ottico dell'embrione di pollo nei loro meccanismi morfogenetici

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 54 (1973), n.6, p. 961-966.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_54_6_961_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Tubo neurale, vescicole e calice ottico dell'embrione di pollo nei loro meccanismi morfogenetici.* Nota (*) di MARINA CAMATINI e SILVIO RANZI, presentata (**) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — The neural plate formation in chick embryo is due to a change in cell shape. The cubic cells (Plate I, fig. 1) become cylindrical (Plate II, fig. 3). Their adhesion increases and microtubules appear in the cytoplasm.

The neural tube formation is due to the cells, which become bottle-shaped. These cells are linked at the surface of the neural plate by occludent junctions (Plate IV, fig. 8). The cells contract in the region where there are microfilaments between the junctions and expand at the opposite pole. The microtubules oriented along the cell axis (Plate II, fig. 4) seem to transport cytoplasmic material.

Junctions, microfilaments and microtubules do not change their topography when optic vesicle becomes optic cup (Plate VI, fig. 11). Evident in this stage is an increase of the microfilaments (Plate VII, fig. 13) and microtubules. Evident also is the presence of the Golgi apparatus (Plate VIII, figs. 16, 17) and, during the formation of optic cup, an active pinocytosis process.

At the bottom of the optical vesicles mitoses are abundant and between the cells are large intercellular spaces. The basal membrane surrounds all the nervous system rudiment and also the optic vesicles (Plate VI, fig. 12).

A mechanical action of the lens rudiment seems to determine optic cup invagination (Plate V, fig. 10). Numerous microtubules oriented along the cell axis can be seen in all the cells of the optic cup (Plate VIII, fig. 15).

In the first stage of neural tube formation the function of the microtubules seems to be that of transport; in stages of optic cup introflexion a mechanical function is probable.

Ruffini (1) pose il problema del comportamento delle cellule e dei foglietti embrionali nei movimenti morfogenetici. Egli descrisse un movimento delle cellule che chiamò sticotropismo, mise in evidenza che nel movimento dei foglietti embrionali hanno importanza fenomeni di secrezione delle cellule e precisò il significato delle mitosi, intese come aumento della massa di tessuto. Nello sticotropismo le cellule di un epitelio embrionale, una attaccata all'altra, si muovono determinando così le introflessioni. Uno studio del comportamento delle cellule durante lo sviluppo di parecchi organi primitivi portò uno di noi (2) alla conclusione che nella prima formazione degli organi pri-

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano. Contributo del CNR CT72.00004.04.

(**) Nella seduta del 19 giugno 1973.

(1) A. RUFFINI, *Fisiogenia*, « Vallardi, Milano » (1925).

(2) S. RANZI, *Contributo allo studio dei processi morfogenetici elementari del Ruffini*, « Boll. Ist. Zool. Univ. Roma », 2, 139 (1924).

mitivi dei Vertebrati il cambiamento di forma e il movimento delle cellule hanno importanza preponderante.

Scopo di questa Nota è di rivedere la questione in base ai dati della microscopia elettronica prendendo in esame nell'embrione di pollo la formazione del tubo neurale ⁽³⁾, la formazione delle vescicole ottiche e la loro trasformazione in calice ottico.

L'individuazione della piastra neurale si accompagna ad una maggiore adesione delle cellule che sono ora a stretto contatto tra loro. Questa adesione è accompagnata da un cambiamento di forma delle cellule per cui la piastra neurale presuntiva è costituita da un epitelio con cellule cubiche con superfici di contatto limitate (Tav. I, fig. 1); la piastra, una volta individuata, è fatta da cellule cilindriche strettamente aderenti tra loro ⁽⁴⁾ (Tav. II, fig. 3). In queste cellule cilindriche compaiono microtubuli disposti parallelamente all'asse del cilindro (Tav. II, fig. 4). Le giunzioni, prima costituite da brevi giustapposizioni delle membrane, con spazi tra cellula e cellula dell'ordine di 40 Å (Tav. III, fig. 5), divengono ora più consistenti ed hanno carattere di giunzioni occludenti discontinue (focal tight junctions) (Tav. III, fig. 6).

Il problema è quello delle forze che trasformano l'epitelio da cubico in cilindrico. La maggior adesione tra le cellule esiste ma non è il Ca che legandosi semplicemente alle superfici cellulari aumenta l'adesione, perché tra esse è lo strato di mucopolisaccaridi che costituisce il glicocalice. È l'adesione tra le cellule, determinata dalla presenza dei mucopolisaccaridi, sufficiente a cambiare la forma delle cellule? È difficile affermarlo. Nelle cellule compaiono però a questo stadio i microtubuli (Tav. II, figg. 3, 4). Questi, quando inizia il movimento delle cellule che determina la flessione, sembrano aver funzione di trasporto di citoplasma e pertanto, anche ai microtubuli, può essere attribuito il cambiamento di forma delle cellule senza richiedere ad essi una azione puramente meccanica.

La piastra poi si flette. La flessione è accompagnata da un cambiamento delle giunzioni occludenti. Questo si può rilevare aggiungendo al fissativo una soluzione di nitrato di lantanio. Allo stadio in cui le giunzioni sono occludenti discontinue il lantanio penetra tra le cellule e tutto il glicocalice è colorato dal lantanio, quando la piastra comincia a flettersi il lantanio non va oltre alle giunzioni tra le cellule, ormai occludenti continue ⁽⁵⁾. Queste giunzioni sono

(3) I movimenti morfogenetici, che portano alla formazione del tubo neurale, sono stati in questi anni riesaminati negli anfibi; cfr., P. KARFUNKEL, *The role of microtubules and microfilaments in neuralation in Xenopus*, «Develop. Biol.», 25, 30 (1971).

(4) M. CAMATINI, S. CHIERICHETTI, S. RANZI e A. SAITA, *La formazione del tubo neurale nell'embrione di pollo*, «Ist. Lombardo (Rend. Sc.)», B, 103, 287 (1969).

(5) M. CAMATINI, S. RANZI e A. SAITA, *Ulteriori ricerche sulla formazione del tubo neurale dell'embrione di pollo*, «Ist. Lombardo (Rend. Sc.)», B, 104, 193 (1970).

Per uno studio sulle giunzioni nei differenti foglietti dell'embrione di pollo cfr., R. L. TRELSTAD, J. P. REVEL e H. D. HAY, *Tight junctions between cells in the early chick embryo as visualized with the electron microscope*, «J. Cell. Biol.», 31, 6 (1966); R. L. TRELSTAD, E. D. HAY e J. P. REVEL, *Cell contact during early morphogenesis in chick embryo*, «Develop. Biol.», 16, 78 (1967).

prossime al polo più superficiale delle cellule (Tav. I, fig. 2), che ben presto prendono forma di fiasco e cioè più o meno di tronco di cono con base minore volta verso il lume e base maggiore volta verso il mesoderma. È questa la trasformazione che fa flettere la piastra e per essa il microscopio elettronico indica tre strutture: le giunzioni tra le cellule attualmente continue (e prossime alla superficie della piastra) (Tav. IV, fig. 8), i microtubuli tutti perpendicolari alla superficie della piastra (Tav. II, fig. 4), i microfilamenti tesi parallelamente alla superficie della piastra, al livello delle giunzioni (Tav. IV, fig. 7).

La funzione delle giunzioni, per quanto concerne il movimento, è tenere le cellule saldate tra loro nella zona apicale, dove si restringono, e permettere così il cambiamento di forma nella zona basale volta verso il mesoderma. I microfilamenti sono al livello delle giunzioni aderenti, ad esse strettamente addossati. In stadi successivi si vede che la zona da essi occupata si restringe, col conseguente avvicinamento delle giunzioni. È probabile che questi microfilamenti scorrano uno sull'altro per azione di molecole miosiniche, che però il microscopio elettronico non risolve, ed è qui il caso di ricordare che nei misomiceti il movimento avviene con filamenti di actina in presenza di molecole di miosina in piccoli aggregati (6). I microtubuli del diametro di 240 Å sono come si è detto disposti secondo l'asse delle cellule, da prima sono scarsi e limitati alla parte della cellula volta verso il lume in maniera che non sembrano essere gli unici responsabili della trasformazione della cellula da cubica a cilindrica. Quando le cellule cominciano ad allungarsi e a prendere l'aspetto a fiasco, i microtubuli sono più numerosi e disposti in fasci. L'idea sostenuta da Schmitt (7) che essi possono essere le rotaie lungo le quali si spostano particelle citoplasmatiche e quella sostenuta da Roth e collaboratori (8), che essi rappresentino degli edifici lungo i quali si muovono molecole, grazie a fenomeni di allosteria delle proteine globulari che costituiscono i microtubuli, spiegherebbero bene i cambiamenti di forma delle cellule. Queste prenderebbero la forma a fiasco perché il citoplasma si muove lungo i microtubuli, fluendo verso il polo della cellula volto verso il mesoderma.

Le tre strutture osservate al microscopio elettronico coopererebbero nella flessione della piastra in gronda prima, in tubo poi. Le giunzioni terrebbero unite le cellule verso il lume del tubo neurale mentre le cellule cambiano di forma. I microfilamenti sarebbero responsabili della contrazione del collo delle cellule. I microtubuli convoglierebbero materiale citoplasmatico verso il fondo della cellula. Si dirà che la funzione meccanica dei microtubuli evidente per esempio nel plasmare la forma del nucleo degli spermatozoi degli

(6) H. KOMNICK, W. STOCKEM e K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN, *Ursachen, Begleitphänomene und Steuerung zellulärer Bewegungserscheinungen*, «Forschr. d. Zoologie», 21, 1 (1972).

(7) F. O. SCHMITT, *Symposium on frontiers in molecular neurobiology: Fibrous proteins—Neuronal organelles*, «Proc. Nat. Acad. Sc.», 60, 1092 (1968).

(8) L. E. ROTH, D. A. PIHLAJA e Y. SHIGENAKA, *Microtubules in Heliozoan Axopodium*, «Ultrastructure Research», 30, 7 (1970).

oligocheti ⁽⁹⁾ qui non appare. Se anche una funzione di questo genere c'è, è in questo caso non evidente.

Negli stadi di gronda neurale non si evidenziano fenomeni di secrezione. Il microscopio elettronico conferma cioè la conclusione cui giunse Ranzi (*op. cit.*) che nella formazione di docce o fossette la secrezione non ha importanza notevole. Solo in stadi successivi si può evidenziare l'apparato di Golgi.

Quando si formano le vescicole ottiche primarie (Tav. V, fig. 9) la loro parete distale, nella zona che formerà la retina, è costituita da un epitelio pseudostratificato come quello che costituisce la parete del tubo neurale: le cellule hanno la tipica forma a fiasco e si osservano spazi intercellulari, più ampi che nelle altre regioni del tubo neurale. Le giunzioni tra le cellule sono sempre nella stessa posizione che hanno durante gli stadi di flessione della piastra. I microfilamenti sono aumentati e i loro fasci, sempre nella regione delle giunzioni, più cospicui. Anche i microtubuli sono più numerosi mentre tra essi si osservano vescicole dell'apparato di Golgi (Tav. VIII, figg. 16 e 17).

Al margine della vescicola ottica, nella zona dove si formerà il peduncolo, le cellule appaiono più larghe alla superficie che guarda verso il canale neurale. Anche in esse sono sempre presenti numerosi microfilamenti.

Una interpretazione della dinamica della estroflessione delle vescicole ottiche deve tener conto della pressione del liquido, che esiste nell'interno del canale neurale, e del fatto che le vescicole ottiche sono sedi di abbondanti mitosi ⁽¹⁰⁾. Tutto intorno alla vescicola ottica si continua la membrana basale (Tav. VI, fig. 12) che circonda il tubo neurale. I fattori che cooperano alla formazione delle vescicole ottiche evidentemente sono: aumento locale di cellule associato alla pressione nell'interno del canale neurale, attività delle cellule a fiasco che potrebbe favorire l'estroflessione col conseguente allargamento degli spazi intercellulari nella parete distale della vescicola.

Alla trasformazione di vescicola ottica in calice ottico le giunzioni sono sempre nella stessa posizione (Tav. VI, fig. 11), e cioè prossime al canale neurale. I microfilamenti (Tav. VII, figg. 13 e 14) e i microtubuli hanno identica localizzazione e sono aumentati in numero (Tav. VIII, fig. 15). Nel frattempo figure di mitosi indicano un aumento di cellule nella parete distale della vescicola ottica. Il cristallino, indotto dalla vescicola ottica primaria (Tav. V, fig. 10) che si porta a contatto con l'ectoderma, si sviluppa e, introflettendosi con movimenti delle sue cellule simili a quelli osservati nella formazione del tubo neurale, comprime il fondo della vescicola ottica e determina la prima trasformazione in calice ottico. In questo stadio, nella zona delle cellule prossima al canale neurale si osservano numerose figure di pinocitosi.

(9) Nella spermiogenesi degli oligocheti per esempio la funzione meccanica dei microtubuli è predominante, M. FERRAGUTI e G. LANZAVECCHIA, *Morphogenetic effects of Microtubules. I*, « J. Submicr. Cytol. », 3, 121 (1971); G. LANZAVECCHIA e C. LORA LAMIA DONIN, *Morphogenetic effects of microtubules. II*, « J. Submicr. Cytol. », 4, 245 (1972).

(10) G. M. FRANK, *Über Gesetzmässigkeiten in der Mitosenverteilung in den Gehirnblasen in Zusammenhange mit Formbildungsprozessen*, « Roux' Archiv », 104, 263 (1925).

È interessante notare che non si formano nuove giunzioni o microfilamenti al polo delle cellule opposto al lume del canale neurale, ma solo i microtubuli aumentano in numero ed in lunghezza perché praticamente si estendono nelle singole cellule per tutto lo spessore della parete del calice ottico. È probabile che, a questo stadio, abbiano una notevole funzione di sostegno, è anche probabile che collaborino a uno spostamento del citoplasma verso il lume del canale neurale, mentre la faccia delle cellule dove sono i microfilamenti si allarga.

Sarebbe questo il meccanismo che trasforma la vescicola ottica in calice, mentre un aumento del numero delle cellule delle pareti del diencefalo schiaccerebbe i margini a formare il peduncolo del calice ottico, dove infatti le cellule sono molto ammassate con netta differenza dalla zona che costituirà i diversi strati della retina.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-VIII

TAVOLA I

- Fig. 1. - Sezione trasversale di piastra neurale presuntiva: evidenti spazi intercellulari; L, superficie della piastra ($\times 8.000$).
- Fig. 2. - Le cellule della gronda neurale sono a fiasco e unite da estese giunzioni (\rightarrow). A destra tre cellule in mitosi in prossimità del lume (L) perché saldate dalle giunzioni ($\times 6.000$).

TAVOLA II

- Fig. 3. - Piastra neurale costituita da cellule cilindriche. Si notano alcuni microtubuli (M) ed estese giunzioni (\rightarrow); L, superficie della piastra ($\times 25.000$).
- Fig. 4. - Lembi citoplasmatici di cellule di gronda neurale con numerosissimi microtubuli ($\times 25.000$).

TAVOLA III

- Fig. 5. - Giustapposizione di membrane plasmatiche in prossimità della superficie della piastra (L) ($\times 100.000$).
- Fig. 6. - Giunzioni occludenti discontinue (*focal tight junctions*) (\rightarrow) tra cellule della gronda neurale in vicinanza della superficie (L) ($\times 100.000$).

TAVOLA IV

- Fig. 7. - Gronda neurale: sono evidenti fasci di microfilamenti (F) in prossimità di giunzioni aderenti ($\times 58.000$).
- Fig. 8. - Giunzione occludente continua tra gli apici di cellule di tubo neurale; L, lume del tubo ($\times 80.000$).

TAVOLA V

- Fig. 9. - Sezione semifine di vescicola ottica, evidenti gli spazi intercellulari tra le cellule della parete distale ($\times 350$).
- Fig. 10. - Sezione semifine di calice ottico con abbozzo di cristallino ($\times 350$).

TAVOLA VI

- Fig. 11. - Sezione della porzione volta verso la cavità neurale (L) di calice ottico. Si vedono densi fasci di microfilamenti (F) tra le giunzioni in corrispondenza degli apici cellulari ($\times 10.000$).
- Fig. 12. - Sezione della zona verso l'abbozzo del cristallino di cellule del calice ottico per mostrare gli spazi tra le cellule e la membrana basale (\rightarrow) ($\times 14.000$).

TAVOLA VII

- Fig. 13. - Fasci di microfilamenti (F) in corrispondenza del peduncolo del calice ottico tra due giunzioni aderenti; L, cavità neurale ($\times 45.000$).
- Fig. 14. - Aspetto delle giunzioni (\rightarrow) tra cellule del calice ottico. Evidenti numerose zone con microfilamenti; L, cavità neurale ($\times 50.000$).

TAVOLA VIII

- Fig. 15. - Fasci di microtubuli in una cellula del calice ottico ($\times 42.000$).
- Figg. 16, 17. - Apparato di Golgi costituito da numerose cisterne e vescicole. Evidenti alcuni microtubuli (M) ($\times 42.000$).















