Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

# Rendiconti

Pierluigi Trevisan

## Sul differenziamento dei grossi neuroni bipolari dorsali del midollo spinale durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8*, Vol. **55** (1973), n.6, p. 771–774.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_55_6_771_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/

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Accademia Nazionale dei Lincei, 1973.

**Biologia.** — *Sul differenziamento dei grossi neuroni bipolari dorsali del midollo spinale durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo* (*). Nota di PIERLUIGI TREVISAN, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The largest dorsal neurons of the spinal cord of an urodelan Amphibian have been studied. The largest dorsal neurons of the adult are not to be considered as Rohon-Beard cells, having a bipolar cellular body and a medial dendrite; besides differentiate slower and rostralward and reach their highest number at the end of the metamorphosis.

In precedenti osservazioni eseguite nel nostro Istituto, è stata illustrata la citomorfosi delle cellule di Rohon–Beard (o neuroni gangliari intraspinali) in un Anfibio urodelo durante lo sviluppo normale [1, 2] ed in quello accelerato mediante ormone tiroideo [3]. Nel corso di queste ricerche hanno attirato la mia attenzione altri voluminosi neuroni dorsali di aspetto peculiare.

Nella presente Nota riferisco i risultati relativi alla citomorfosi di questi elementi, perchè i dati rinvenuti in letteratura a questo proposito sono scarsi e contraddittori.

Infatti Burckhardt [4], esaminando il midollo spinale di *Triturus*, interpreta ogni grosso neurone della regione dorsale della sostanza grigia come cellula di Rohon–Beard. Studnicka [5] descrive come cellule di Rohon–Beard i neuroni dorsali che riscontra nelle larve e adulti dello stesso Urodelo. Van Gehuchten [6, 7] da un esame sul midollo spinale in larve e adulti di *Salamandra*, non trova cellule di Rohon–Beard ed interpreta come neuroni cordonali, omologhi a quelli presenti nel midollo spinale di *Tropidonotus*, le grosse cellule dorsali della sostanza grigia.

Per questa ricerca mi sono servito dell'Anfibio urodelo *Triturus cristatus* Laur. raccolto nei dintorni di Modena. La seriazione degli stadi larvali è stata fatta seguendo la classificazione di Glücksohn [8]. Le larve sono state allevate in laboratorio, mentre gli adulti sono stati raccolti in natura. Sono stati fissati in liquido di Bouin almeno cinque animali per ogni stadio (40, 45, 54, 58, 61, 63) e tre adulti. Tutto il materiale è stato incluso in celloidina–paraffina e sezionato in serie trasversali a 7 $\mu$ di spessore. I preparati istologici sono stati colorati con il metodo di Nissl al bleu di toluidina in tampone fosfato–citrico a pH 4,6 con controlli pretrattati in acido perclorico. I conteggi riguardano tutto il midollo spinale (dal calamo all'apice caudale) di almeno due animali per ogni stadio di cui vengono riferiti i valori medi.

Le dimensioni rappresentano la media di misurazioni effettuate su almeno 20 cellule tra le meglio orientate sul piano di taglio, appartenenti alla regione del tronco e a quella della coda.

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

(**) Nella seduta del 26 novembre 1973.

In embrioni a stadio 40 il midollo spinale di *Triturus* è in differenziamento: il canale ependimale, per un buon tratto del midollo del tronco, si presenta come un ampio lume a cavità allungata, che solo caudalmente si riduce e diviene circolare. Lo strato mantellare è costituito da cellule indifferenziate, in attività mitotica sul bordo ventricolare, e da un anello periferico di elementi più voluminosi: questi sono caratterizzati da un nucleo vescicoloso con uno-tre nucleoli, circondato da un alone di granuli basofili; nella regione dorso-mediale le cellule di Rohon-Beard, disposte per lo più a coppie, si distinguono per la maggior quantità di citoplasma, contenente minuti granuli basofili, e per un grosso prolungamento diretto lateralmente; ma nel grigio dorsale, lateralmente alle cellule di Rohon-Beard, si riscontra una trentina di grossi elementi con nucleo ellittico e marcati granuli basofili perinucleari (Tav. I, 1).

All'inizio della vita larvale (stadio 45), nel midollo spinale di *Triturus* fenomeni mitotici sono ancora frequenti nell'epitelio ventricolare; nella regione ventrale della sostanza grigia si distinguono con chiarezza i neuroni motori; nel grigio dorsale, in posizione mediale, le cellule di Rohon-Beard conservano aspetto e numero tipici. Nel midollo del tronco, in posizione dorso-laterale, si osservano grosse cellule con lo stesso aspetto di quelle descritte nell'embrione; mentre nel midollo caudale sono presenti elementi più voluminosi (diam. med. = 20,3 μ) e differenziati, con il nucleo (diam. med. = = 15,4 μ) fortemente ellittico e fornito di un marcato nucleolo, e citoplasma con sostanza basofila abbondante, a zolle allungate, addensate specialmente ai poli nucleari; questi elementi sono inoltre caratterizzati da due evidenti prolungamenti citoplasmatici che decorrono tra la sostanza bianca e la sostanza grigia l'uno diretto lateralmente, l'altro medialmente. Il totale di questi elementi e di quelli del tronco si aggira sulla settantina. Essi nel midollo del tronco occupano una posizione alquanto laterale, mentre in quello della coda sono più mediali, assumendo talora la posizione delle cellule di Rohon-Beard (Tav. I, 2, 3, 4 e 5).

A stadio 54 sulla linea mediana del grigio dorsale le cellule di Rohon-Beard sono in numero ridotto ed alcune presentano aspetti involutivi. I grossi neuroni bipolari dorso-laterali presentano invece un incremento numerico, diventando in media 110, e mostrano tutti l'aspetto delle cellule caudali del precedente stadio, sia per dimensioni (corpo cellulare = 20,6 μ di diametro; nucleo = 15,4 μ) che per morfologia. Di tanto in tanto questi neuroni si riscontrano a coppie nella stessa sezione di midollo, distinguendosi chiaramente dalle cellule di Rohon-Beard per i caratteri morfologici già descritti.

Man mano che ci si avvicina alla metamorfosi il midollo spinale tende a modificarsi: lo strato di sostanza bianca diviene più spesso, nel grigio ventrale i neuroni motori spiccano per la loro grandezza, mentre in quello dorsale le cellule di Rohon-Beard divengono meno numerose e sono sempre più frequenti quelle in involuzione. Al contrario i neuroni bipolari dorsali subiscono un ulteriore incremento numerico (150 a stadio 58; 280 a stadio 61) (Tav. I, 6; Tav. II, 1, 2 e 3).

Negli animali metamorfosati e negli adulti il midollo spinale diversifica da quello della larva per il maggior spessore della sostanza bianca e per il distanziamento delle cellule del grigio. Nella porzione ventrale spiccano le grosse cellule multipolari motorie, in cui il nucleo voluminoso è fornito di uno–tre marcati nucleoli e il citoplasma presenta la sostanza basofila granulare con ispessimenti purinucleari. Nella regione dorsale le cellule di Rohon–Beard sono assenti; mentre i grossi neuroni bipolari alla metamorfosi raggiungono il numero (300) che resta nell'adulto. Talora queste cellule si rinvengono a coppie nella stessa sezione e le loro dimensioni si conservano pressoché invariate (diam. nucl. = 15,5 μ; diam. corpo cell. = 19,5 μ) (Tav. II, 4, 5, 6).

TABELLA

| Stadio | Età | Numero cellule Rohon–Beard | Numero neuroni bipolari | Incremento neuroni bipolari | Diametri neuroni bipolari | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | nucleo | corpo cellulare |
| 40 | 12 gg | 305 | 30 | — | 11,7 μ | — |
| 45 | 19 gg | 310 | 70 | 40 | 15,4 μ | 20,3 μ |
| 54 | 57 gg | 290 | 110 | 40 | 15,4 μ | 20,6 μ |
| 58 | 76 gg | 240 | 150 | 40 | 13,4 μ | 17,6 μ |
| 61 | 93 gg | 175 | 280 | 130 | 15,5 μ | 20,9 μ |
| 63 | 140 gg | 0 | 300 | 20 | 15,5 μ | 19,5 μ |
| Adulto | 2–3 anni | 0 | 300 | 0 | 15,5 μ | 19,5 μ |

I risultati ottenuti (ved. Tavole e Tabella) si possono così riassumere:

1) nel grigio dorso–laterale del midollo spinale dell'Urodelo, alla fine del periodo embrionale, compaiono una trentina di elementi più voluminosi che, per le caratteristiche morfologiche (nucleo ellittico, granuli basofili più grossi), si distinguono dalle cellule di Rohon–Beard in differenziamento.

2) All'inizio della vita larvale (st. 45) questi elementi aumentano di numero e nella regione caudale si presentano più differenziati: il nucleo è più allungato e con un solo nucleolo, nel citoplasma la sostanza basofila è a zolle particolarmente addensate ai due poli nucleari; sono evidenti due prolungamenti citoplasmatici, uno laterale ed uno mediale.

3) Il numero di questi neuroni cresce durante tutta la vita larvale, raggiungendo il massimo alla metamorfosi (300) e resta invariato nell'adulto.

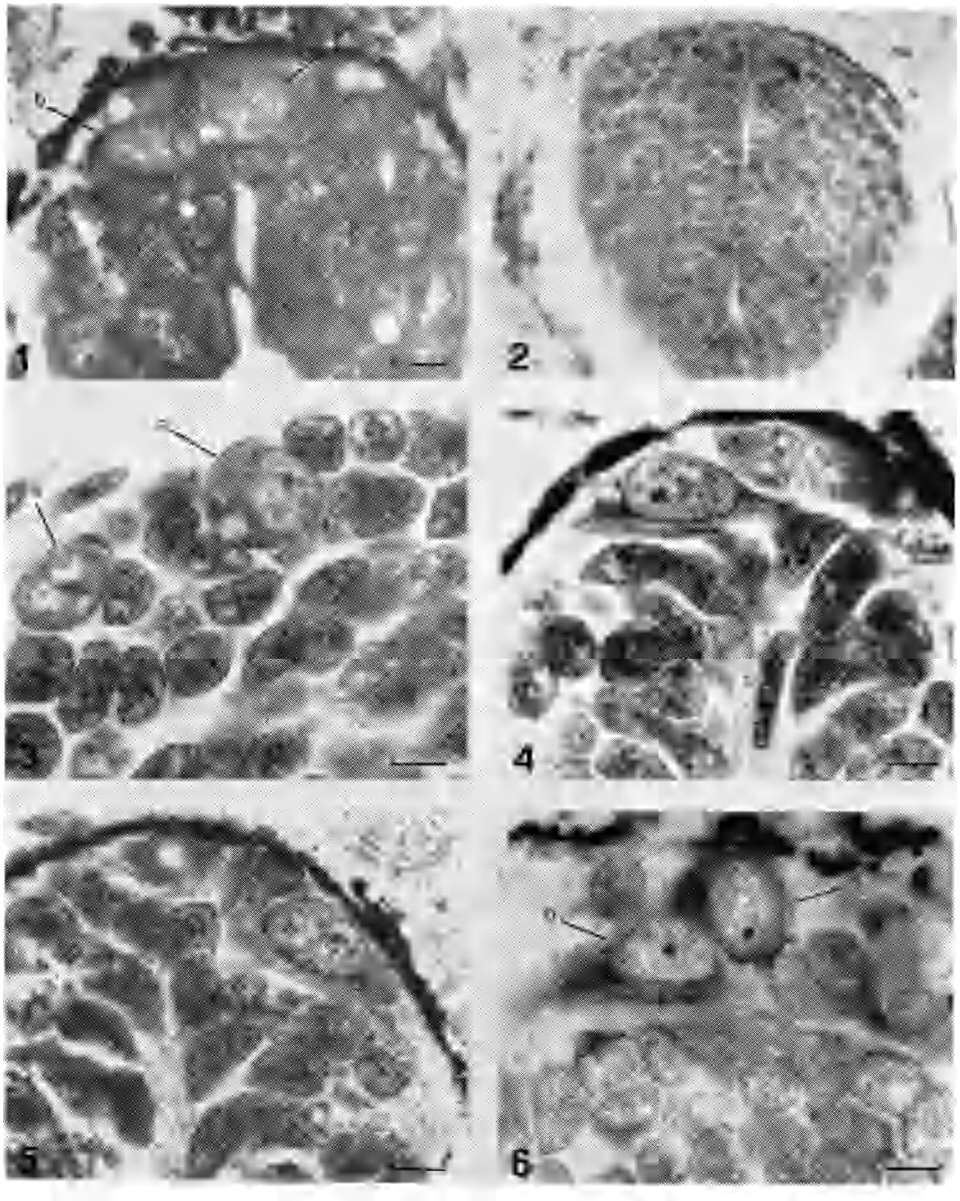
Va sottolineato che l'aumento numerico di questi neuroni bipolari non è uniforme durante la vita larvale, ma nell'unità di tempo presenta due periodi di maggiore incremento: il primo si verifica al termine del periodo embrionale

(st. 40–45) ed il secondo negli ultimi stadi larvali (st. 58–61), in cui l'incremento tocca la punta massima. Questi risultati concordano con quanto precedentemente riscontrato sul differenziamento e sull'accrescimento dei neuroni gangliari durante lo sviluppo dello stesso Urodelo [9, 10].

Da questi risultati emerge che nel grigio dorsale del midollo spinale di Urodeli (*Triturus*) vi sono grossi neuroni che si distinguono dalle cellule di Rohon–Beard per l'aspetto bipolare del corpo cellulare, per avere un nucleo ellittico con un solo nucleolo, e per la presenza di due robusti prolungamenti citoplasmatici, l'uno diretto lateralmente e l'altro medialmente. Con ogni probabilità è la loro localizzazione che ha indotto alcuni Autori [4, 5] ad interpretarli come cellule di Rohon–Beard. Inoltre tra le cellule di Rohon–Beard e i grossi neuroni bipolari vi sono altre differenze: infatti le cellule di Rohon–Beard, tipici neuroni transitori, si differenziano precocemente e rapidamente in senso rostro–caudale, raggiungendo il loro numero massimo al termine del periodo embrionale, e quindi si rarefanno nel periodo larvale scomparendo alla metamorfosi [1, 2]; i grossi neuroni bipolari, invece, si differenziano più tardi e lentamente a partire dal midollo caudale, aumentano durante il periodo larvale e raggiungono alla metamorfosi il numero che conservano nell'adulto. Pertanto i grossi neuroni dorsali bipolari non possono essere identificati con le cellule di Rohon–Beard, ma vanno interpretati come neuroni di altra natura: ritengo che essi siano cellule associative da identificarsi con le grosse cellule cordonali descritte da Van Gehuchten [7] nel midollo spinale di *Salamandra*.

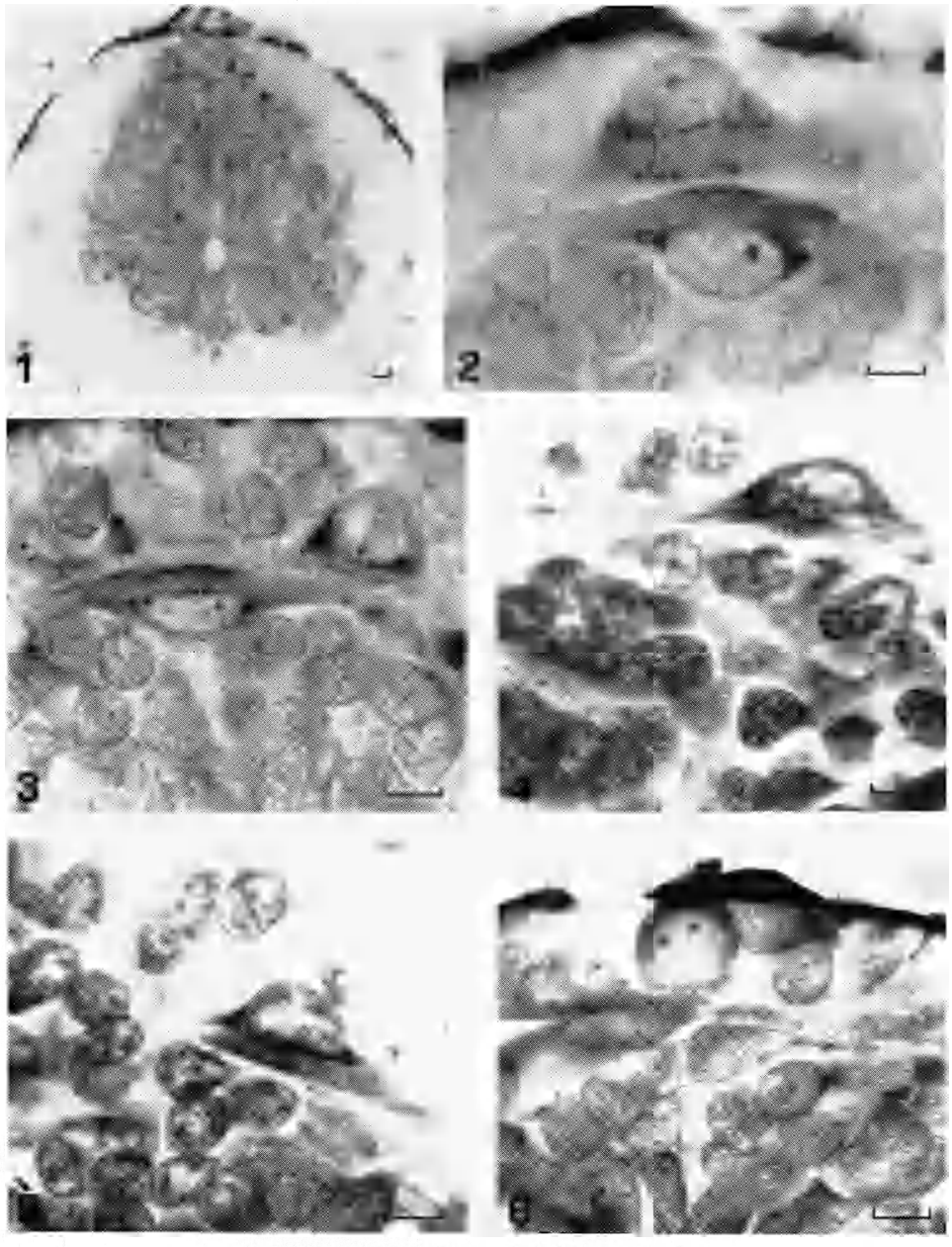
## Bibliografia

[1] Marchesini D. e Marini M., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), *45*, 84–89 (1968).
[2] Trevisan P. e Marini M., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), *52*, 965–968 (1972).
[3] Trevisan P., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), *53*, 217–220 (1973).
[4] Burckhardt K. R., « Arch. mikr. Anat. », *34*, 131–156 (1889).
[5] Studnicka F. K., « Sitz. Ber. Kön. Gesell. Wiss. Math. Nat. », *51*, 1–32 (1895).
[6] Van Gehuchten A., « Bull. Acad. Roy Belg. », *34*, 24–38 (1897).
[7] Van Gehuchten A., « Arch. de « Biol. », *15*, 599–619 (1897).
[8] Glucksöhn S., « Arch. Entw.–mech. Org. », *125*, 341–405 (1932).
[9] Fratello B., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), *39*, 577–582 (1965).
[10] Fratello B., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), *46*, 136–141 (1968).




Neuroblasta bipolare (*b*) e cellula di Rohon–Beard (R) a st. 40 (1) e st. 45 (3). Aspetto del midollo spinale a st. 45 (2) e dei neuroni bipolari del midollo caudale (4, 5). Cellula di Rohon–Beard (R) e neurone bipolare (*b*) a st. 61.

(Ogni tratto in calce alle figure = 10 μ)




Aspetto del midollo spinale (1) e neuroni bipolari a st. 61 (2, 3). Neuroni bipolari a st. 63, in animali metamorfosati (4, 5 e 6).

(Ogni tratto in calce alle figure = 10 μ)