
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

IVAN BENEDETTI

Il glicogeno nel sistema nervoso centrale durante lo sviluppo di un Teleosteo. I. *Gambusia affinis*

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 57 (1974), n.6, p. 713–717.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_57_6_713_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. — *Il glicogeno nel sistema nervoso centrale durante lo sviluppo di un Teleosteo.* I. *Gambusia affinis* (*). Nota di IVAN BENEDETTI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In 2mm long *Gambusia* embryos, glycogen is lacking in all the central nervous system (CNS). In 2,5 mm long embryos glycogen is present in some well definite areas of the brain and, during further development, it appears in other areas of the CNS. The glycogen content is always high in the nervous centers where the neuropil is well developed, for instance the axon-cup of the Mauthner cells and the *nucleus rotundus*. The Mauthner cells show a peculiar behaviour: their cytoplasm has an high glycogen content just before birth, but soon after it is completely empty. The glycogen content in the CNS of adult females is higher than in males.

È noto che nel sistema nervoso centrale degli Anamni è presente glicogeno in quantità talora rilevante. Nel nostro Istituto sono state effettuate ricerche [1] sulle localizzazioni del glicogeno nel neurasse di un Anfibio urodello durante lo sviluppo. Tali ricerche, oltre a precisare la distribuzione e le variazioni del glicogeno nelle singole regioni dell'encefalo, hanno messo in evidenza che nel midollo spinale le cellule glicogeniche si differenziano precocemente alla periferia del grigio e solo nel tardo periodo larvale raggiungono la periferia della sostanza bianca, ove erano state descritte nell'adulto [2].

Mi è parso pertanto interessante estendere l'indagine alle localizzazioni del glicogeno nel sistema nervoso centrale di Teleostei ovipari e vivipari sia durante lo sviluppo che negli adulti. I dati bibliografici a questo riguardo sono scarsi e limitati alle sole forme adulte.

Masai [3] osserva che nel neurasse di *Carassius*, il glicogeno è presente nella sostanza intercellulare del grigio e tra le fibre nervose del bianco; l'Autore elenca le aree dell'encefalo in cui il glicogeno è più evidente e osserva che nel grigio abbonda a gennaio e diminuisce a luglio. La stessa variazione del glicogeno si riscontra in *Cyprinus* e *Misgurnus*. In *Salmo*, a differenza di altri Teleostei, a gennaio il glicogeno è scarso in tutto il sistema nervoso centrale; esso resta però attorno al corpo cellulare e ai prolungamenti delle cellule di Mauthner ed attorno alle cellule del nucleo vestibolare e dei nuclei di origine dei nervi cranici. L'Autore conclude notando che in tutti i Teleostei esaminati i plessi corioidei e le cavità ventricolari presentano granuli di glicogeno a gennaio come a luglio; anche il glicogeno presente nelle endomeningi e negli spazi attorno ai vasi non subisce variazioni stagionali.

Romeu [4] nel midollo spinale di *Jeninsia* descrive una struttura che si estende in profondità, dalla superficie dorsale al canale ependimale; questa

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

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1974.

è caratterizzata da una grande quantità di glicogeno che la rende simile, secondo l'Autore, al corpo glicogenico degli Uccelli.

Saxena [5] impiegando il carminio di Best e la PAS-reazione accenna che in *Notopterus* il glicogeno (desmoglicogeno) è presente solo a livello della guaina del nervo ottico, mentre in *Puntius* è assente.

Nella presente Nota riferisco i primi risultati relativi ad un Teleosteo viviparo d'acqua dolce. Sono stati impiegati embrioni, neonati e adulti di *Gambusia affinis* (Baird e Girard, 1854). Gli embrioni sono stati prelevati da femmine gravide allevate in laboratorio. Poiché a parità di lunghezza corporea gli embrioni possono presentarsi a stadi diversi di sviluppo, ho scelto individui che a parità di lunghezza totale presentassero la stessa morfologia esterna (testa, pinne e pigmentazione). Con tale criterio sono stati fissati in liquido di Gendre a 0 °C secondo Lison [6], almeno sei individui per ogn'una delle seguenti lunghezze: 2 mm, 2,5 mm, 3,5 mm, 4 mm, 7 mm (poco prima della nascita). Ho anche fissato sei individui al momento della nascita e il sistema nervoso centrale di sei adulti (3 maschi e 3 femmine). Tutto il materiale, incluso in celloidina-paraffina, è stato sezionato in serie trasversali dello spessore di 7 μ e steso sui vetrini con alcool a 70°. I preparati istologici protetti con celloidina, sono stati ossidati per due ore con acido periodico all'1% in alcool a 70° seguendo il suggerimento di Palladini e Reitano [7] e quindi trattati con il metodo della PAS-reazione (Periodic Acid Schiff); per ogni individuo sono stati allestiti preparati di controllo che, senza protezione, sono stati digeriti con saliva per 30' a 37 °C prima della PAS-reazione.

Va premesso che durante lo sviluppo e negli adulti di *Gambusia* il sistema nervoso centrale presenta zone, sia nel grigio che nel bianco, in cui rimane materiale omogeneo PAS-positivo anche dopo digestione con saliva; anche le tele corioidee, le meningi ed alcune aree dell'ependima contengono, oltre al glicogeno, materiale che resta PAS-positivo dopo digestione salivare. Saranno pertanto riferiti solo i risultati che riguardano il glicogeno, cioè il materiale PAS-positivo che scompare dopo la digestione con saliva.

In embrioni di *Gambusia* lunghi 2 mm il sistema nervoso centrale presenta pareti sottili che delimitano vescicole ampie; le pareti sono costituite da uno strato compatto di cellule rivestito da un sottilissimo strato discontinuo di fibre; nel neurasse di questi embrioni il glicogeno è assente ovunque.

Negli embrioni di 2,5 mm lo spessore della sostanza bianca aumenta e si notano granuli di glicogeno nella zona ipotalamica e a livello del solco talamico medio; piccoli granuli sono presenti anche nell'ependima che tappezza il pavimento del ventricolo mesencefalico e nella porzione mediale e ventrale della vescicola romboencefalica.

In embrioni lunghi 3,5-4 mm si osservano: ammassi di glicogeno nelle meningi e nell'ependima, piccoli granuli nella parte rostrale degli emisferi telencefalici e del diencefalo, granuli grossi e numerosi tra le fibre del nervo ottico nel tratto prossimale al tetto; anche il corpo del mesencefalo presenta

granulazioni sparse, più fitte a livello della commessura ansulata; nel midollo spinale i granuli di glicogeno sono piccoli e distanziati.

Negli embrioni di 7 mm il glicogeno è più abbondante nelle zone già citate; esso inoltre compare nelle seguenti regioni: in granuli piccoli e radi a livello delle abenule e del nucleo anteriore, in granuli numerosi nella porzione centrale del nucleo rotondo (ove sono i glomeruli), in granuli grossi nella commessura posteriore, in granulazioni fini nella regione sopranucleare dell'organo sottocommessurale. Inoltre glicogeno finemente particolato è presente nei lobi ottici (tranne che nel grigio periventricolare), nel cervelletto in granuli piccoli e molto abbondanti, nel romboencefalo in quantità maggiore a livello dell'area acustico-laterale e del tegmento motorio; medialmente all'area acustica, spiccano le cellule di Mauthner per avere il citoplasma pieno di grossi granuli di glicogeno e l'*axon-cup* farcito di granuli minuti e numerosi. Nel midollo spinale il glicogeno è presente in piccoli granuli solo nella sostanza bianca. Infine va notato che il glicogeno localizzato nel tratto prossimale del nervo ottico si presenta in granulazioni più rade.

Negli animali appena nati la distribuzione del glicogeno in genere rimane quella degli embrioni di 7 mm a parte le seguenti novità: una maggiore quantità di glicogeno è presente nella porzione centrale del nucleo rotondo; rade granulazioni compaiono nella *valvula cerebelli*, mentre la restante porzione del cervelletto ne contiene una quantità notevole in tutto il suo spessore; nel romboencefalo spicca per la concentrazione di minuti granuli di glicogeno l'*axon-cup* delle cellule di Mauthner, ma il citoplasma di queste ne è sprovvisto.

Negli adulti di *Gambusia* di sesso maschile il glicogeno è presente in quantità nelle meningi, nell'epitelio ependimale e nelle tele corioidee; minute granulazioni si osservano a livello delle abenule, del corpo pineale e della regione ipotalamica; glicogeno di aspetto polverulento è presente nelle cellule dell'organo sottocommessurale; il nucleo rotondo nella porzione centrale è ricco di glicogeno in granuli voluminosi e ammassati; il mesencefalo presenta piccoli granuli di glicogeno nei tori longitudinali, nel tratto ottico laterale e nei nuclei motori; nel cervelletto il glicogeno si osserva in minute granulazioni nello strato molecolare e specialmente, in concentrazioni marcate, attorno alle cellule di Purkinje; nel romboencefalo solo tra i fasci si notano rade granulazioni di glicogeno.

Il midollo spinale presenta, lungo l'asse, dei punti in cui il glicogeno è più abbondante.

In adulti di *Gambusia* di sesso femminile il glicogeno si osserva in tutte le zone in cui è stato descritto nel maschio, ma in quantità superiore; inoltre lo si rinviene in granulazioni rade nei lobi olfattori e negli emisferi telencefalici, in gran quantità nel grigio periventricolare del mesencefalo e nei lobi della linea laterale.

I dati esposti si prestano alle seguenti considerazioni:

1) Negli embrioni di *Gambusia* di 2 mm, quando il sistema nervoso centrale è all'inizio del differenziamento, il glicogeno è assente lungo tutto

il neurasse. Questo dato differisce da quanto osservato negli Anfibi [8, 9, 1] ove il glicogeno abbonda già nel tubo neurale.

2) Il glicogeno compare negli embrioni di 2,5 mm a livello dell'ipotalamo, del solco talamico medio, dell'ependima che tappezza il pavimento del terzo ventricolo e nella zona ventrale e mediale del romboencefalo (Tav. I, fig. 1). Nei successivi stadi di sviluppo fino alla nascita, il glicogeno compare in altre aree del neurasse. Un progressivo aumento di glicogeno è evidente nelle meningi, nell'ependima e nel cervelletto, ma specialmente nei centri nervosi dove i neuropili sono maggiormente sviluppati. Gli esempi più appariscenti sono rappresentati dall'*axon-cup* della cellula di Mauthner e dal nucleo rotondo (Tav. I, fig. 2); la porzione centrale di quest'ultimo si carica progressivamente durante lo sviluppo e nell'adulto rappresenta la sede dove il glicogeno è più abbondante. Questo dato è in accordo con le osservazioni compiute su adulti di altri Teleostei [3].

3) Il glicogeno osservato tra le fibre del nervo ottico e nel citoplasma delle cellule di Mauthner mostra un comportamento peculiare: infatti nel tratto prossimale del nervo ottico esso diminuisce nel tardo periodo embrionale ed è assente nell'adulto; nella cellula di Mauthner invece è presente nel citoplasma in quantità notevole prima della nascita, ma scompare subito dopo (Tav. I, figg. 3 e 4).

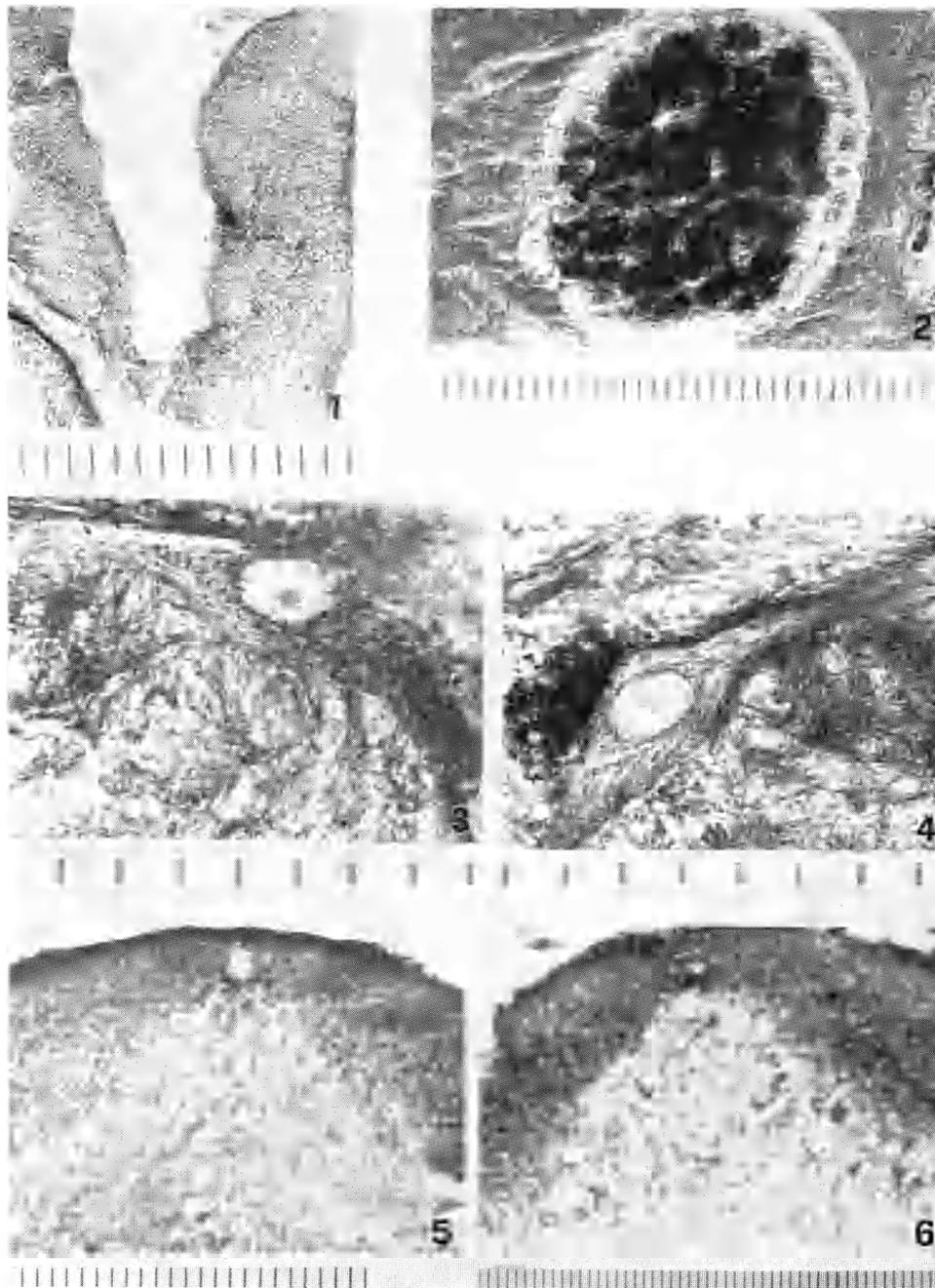
Il comportamento del glicogeno nel citoplasma delle cellule di Mauthner di *Gambusia* risulta diverso da quello osservato negli Anfibi urodeli; infatti ricordo che in *Ambystoma* [9] il glicogeno compare nel citoplasma mauthneriano all'inizio dei movimenti di nuoto, aumenta nella larva e rimane invariato negli adulti; anche in *Triturus* [1] il glicogeno abbonda nel citoplasma della cellula di Mauthner e non presenta variazioni durante lo sviluppo. Ricerche in corso sulle variazioni di glicogeno durante lo sviluppo di un Teleosteo oviparo sono intese a valutare il significato di questo comportamento delle cellule di Mauthner.

4) Negli adulti di *Gambusia* il glicogeno, oltre a presentare differenze di localizzazione rispetto ai neonati, mostra differenze quantitative e qualitative nei due sessi; nelle femmine infatti esso è presente nei lobi olfattori, negli emisferi telencefalici, nel grigio periventricolare dei lobi ottici e nei lobi della linea laterale, in aree cioè dove nei maschi è assente; inoltre nel sistema nervoso centrale delle femmine il glicogeno è in quantità maggiore di quanto osservato nei maschi (ad esempio il cervelletto: Tav. I, figg. 5 e 6).

Ricerche in corso sono intese a precisare le variazioni di glicogeno nel neurasse di adulti maschi e femmine di *Gambusia* durante il ciclo annuale, per vedere se le differenze riscontrate siano effettivamente correlate al sesso.

Concludendo, dall'esame della localizzazione del glicogeno nel sistema nervoso centrale di *Gambusia affinis* durante lo sviluppo e nell'adulto, è emerso che:

I) Nei più piccoli embrioni esaminati (2 mm) il glicogeno è assente lungo tutto il neurasse.



Glicogeno nel solco diencefalico medio e nell'ipotalamo in embrioni di 2,5 mm (fig. 1),
nucleo rotondo in adulto (fig. 2), cellula di Mauthner in embrioni di 7 mm (fig. 3) e
nel neonato (fig. 4), cervelletto in adulti di sesso maschile (fig. 5) e femminile (fig. 6).
(Fiss. Gendre, PAS-reazione; ogni intervallo della scala in calce = 10μ).

II) Esso compare in quattro ristrette zone dell'encefalo in embrioni di 2,5 mm e durante lo sviluppo si localizza in aree sempre più numerose del neurasse.

III) Il glicogeno è sempre abbondante, oltre che nelle meningi e nell'ependima, nei centri nervosi ove i neuropili sono particolarmente sviluppati; l'*axon-cup* delle cellule di Mauthner e la porzione centrale del nucleo rotondo ne sono gli esempi più appariscenti.

IV) Alcune zone del neurasse cariche di glicogeno a certi stadi di sviluppo si trovano vuote a stadi successivi; ciò è particolarmente evidente nel citoplasma dei neuroni di Mauthner ove il glicogeno è presente solo poco prima della nascita, ma scompare subito dopo.

V) Il glicogeno nel sistema nervoso centrale delle femmine adulte è più abbondante che nei maschi ed è inoltre presente in aree dove nei maschi è assente.

BIBLIOGRAFIA

- [1] SACCANI M. e MARINI M. (1968) - « Riv. Neurobiol. », 14, 606-621.
- [2] BERTOLINI B. (1961) - « Arch. Ital. Anat. Embriol. », 66, 255-274.
- [3] MASAI H. (1961) - « Yokohama Med. Bull. », 12, 239-260.
- [4] ROMEU F. G. (1962) - « Z. Zellforsch. », 57, 355-359.
- [5] SAXENA P. K. (1970) - « Acta Anat. », 76, 439-453.
- [6] LISON L. (1960) - *Histochimie et cytochimie animales*. (Gauthier-Villars, Editeurs, Paris, III ed., 1960).
- [7] PALLADINI G. e REITANO M. (1973) - « Micr. Acta », 75, 32-42.
- [8] GAGE S. H. (1917) - « J. Comp. Neurol. », 27, 451-465.
- [9] JANOSKI I. D. e WENGER B. S. (1956) - « J. Comp. Neurol. », 105, 127-150.