Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Enzo Ottaviani

L'attività mitotica nella retina durante lo sviluppo normale di un Anfibio urodelo

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **57** (1974), n.6, p. 718–722.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_57_6_718_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. — *L'attività mitotica nella retina durante lo sviluppo normale di un Anfibio urodelo* (*). Nota di ENZO OTTAVIANI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The divisions of retinal cells in a developing Urodelan Amphibian (*Triturus cristatus carnifex*, Laur.) are located in the outer layer of the margin of the pars optica retinae (anterior margin).

The mitotic ratio of anterior margin during the eye growth is constant, except for a fall at the beginning of the larval period, which occurs also in other sites of the nervous system.

The morphological observations and the mitotic ratio during the Urodelan growth show that the anterior margin is the meristematic tissue which supplies the growing retina with new cells.

The different rate of cell divisions and the regular differentiation of new nerve cells during the growing retina induce the variations both on the number of the indifferentiated cells and on the length of the anterior margin.

Nel nostro Istituto sono state compiute osservazioni sull'andamento dell'attività proliferativa nel sistema nervoso centrale [1] e periferico di Anfibi [2].

Nel sistema nervoso la retina presenta una situazione peculiare: infatti, a differenza del neurasse e dei gangli, le mitosi sono localizzate in una zona limitata al margine della *pars optica retinae* (margine ateriore); ciò si desume dalle osservazioni su larve di Anfibi trattate con ormone tiroideo [3] e con colchicina [4, 5, 6], confermate da esami autoradiografici di retina in accrescimento [7, 8, 9] e in rigenerazione [10, 11].

Da queste ricerche, inoltre, risulterebbe che il margine anteriore, almeno negli Anfibi, è costituito da cellule indifferenziate: se ne dovrebbe pertanto dedurre che il margine anteriore abbia un valore cambiale per i fenomeni dell'accrescimento e della rigenerazione nella retina degli Anfibi.

Questa considerazione mi ha indotto ad analizzare l'andamento dell'attività mitotica nella retina durante lo sviluppo normale di un Anfibio urodelo.

Ai fini della presente ricerca sono stati impiegati embrioni e larve di *Triturus cristatus carnifex* Laur. che sono stati raccolti in natura. Gli stadi embrionali (st. 36, 40) sono stati classificati secondo Twitty e Bodenstein in *Triturus torosus* [12] e quelli larvali (st. 45, 47, 50, 53, 55, 58, 62) secondo Glücksohn [13]. Almeno un paio di individui per ogni stadio sono stati fissati in liquido di Sanfelice, inclusi in paraffina–celloidina e sezionati in serie tra-

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

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1974.

sversali di 7μ di spessore; i preparati istologici sono stati in parte colorati con il metodo di Mallory–Azan e in parte trattati con il metodo di Feulgen. I valori di densità mitotica sono stati ottenuti con il metodo diretto, cioè calcolando la percentuale di mitosi sulla popolazione delle cellule indifferenziate. Sono stati considerati elementi indifferenziati quelle cellule con nuclei che presentano materiale Feulgen-positivo sotto forma di granuli minuti uniformemente distribuiti nel carioplasma [14].

Va notato che nel primo stadio embrionale (st. 36) la retina è costituita da cellule indifferenziate tranne la fascia cellulare più interna in corrispondenza del fondo dell'occhio; a questo livello i nuclei delle cellule hanno aspetto differenziato (al centro) o in differenziamento (sui lati). Le mitosi sono localizzate solo nello strato esterno, adiacente all'epitelio superficiale. A stadio 40 l'epitelio superficiale della retina è pigmentato, le cellule indifferenziate sono assenti in tutto lo spessore della retina che tappezza il fondo dell'orbita e costituiscono un sottile anello laterale, o margine anteriore, ove le mitosi sono localizzate solo in prossimità delle cellule pigmentate (Tav. I, fig. 1). La presenza di due strati bianchi (più spesso quello interno) attesta che la retina neurale è differenziata; tale aspetto non risulta qualitativamente modificato nel successivo periodo larvale.

All'inizio del periodo larvale (st. 45) dallo strato superficiale del margine anteriore si è formata l'iride e le cellule indifferenziate costituiscono solo uno stretto e corto anello continuo che borda la coppa retinica. Va ribadito che le mitosi sono presenti solo nel margine anteriore e sono localizzate in prossimità dell'epitelio pigmentato (Tav. I, fig. 2).

Un'analisi statistica preliminare (col metodo del X^2) ha accertato che le differenze dei valori di densità mitotica tra gli occhi di uno stesso animale e tra quelli di animali allo stesso stadio, non sono significative.

I risultati sull'andamento dell'attività mitotica durante lo sviluppo di *Triturus* sono raccolti nella Tabella I.

TABELLA I

Stadio	Età	Lunghezza	Mitosi	Cellule indifferenziate	Densità mitotica
36	9 gg.	4 mm.	184	3680	5,0%
40	12	4,5	281	5789	4,9
45	19	5,5	218	6224	3,5
47	25	6	95	4230	2,2
50	47	7	91	3882	2,3
53	55	8	286	5355	5,3
55	60	9	480	9479	5,1
58	75	10	331	8051	4,1
62	110	15	360	9022	4,1

Nel periodo embrionale esaminato (st. 36 e 40) il numero delle mitosi e delle cellule indifferenziate aumenta, ma i valori della densità mitotica restano costanti.

Nel periodo larvale (st. 45–62) la morfologia della retina non presenta notevoli modificazioni, a parte l'aumento di spessore (da 130 μ a 170 μ) e soprattutto di estensione della sua superficie (da 1,1 mm e 2 mm). Per quanto concerne l'attività mitotica vanno distinti tre periodi:

a) all'inizio del periodo larvale (tra st. 45 e 50) si osserva una forte rarefazione delle mitosi accompagnata da una diminuzione del numero delle cellule indifferenziate (circa metà) del margine anteriore; il fatto che la densità mitotica scenda da 5 % a 2,3 % indica che la riduzione numerica delle mitosi è più drastica di quella delle cellule indifferenziate.

b) Tra st. 50 e 55 il numero delle mitosi aumenta considerevolmente (circa 5 volte), ma aumenta, sebbene in grado minore (circa 2 volte e mezzo), anche il numero delle cellule indifferenziate del margine anteriore; pertanto la densità mitotica ritorna ai valori del periodo embrionale.

c) Nell'ultimo periodo della vita larvale (tra st. 55 e 62) il numero delle cellule indifferenziate e delle mitosi oscilla intorno a valori relativamente costanti; la densità mitotica si mantiene pressappoco costante; in effetti nell'ultimo mese si osserva un lieve decremento dei valori di densità, ma tale diminuzione non è risultata statisticamente significativa.

Nel periodo larvale le mitosi sono localizzate esclusivamente nel margine anteriore in corrispondenza dello strato esterno, adiacente all'epitelio pigmentato (Tav. I, figg. 2–6).

I risultati ottenuti seguendo l'attività mitotica durante l'accrescimento della retina mostrano un andamento diverso da quello osservato nel neurasse [1] e nei gangli [2]: infatti in queste regioni la densità mitotica è elevata nel periodo embrionale e diminuisce notevolmente alla fine del periodo larvale; nella retina, invece, la densità al termine del periodo larvale oscilla sugli stessi valori del periodo embrionale.

Questa differenza può essere spiegata dal fatto che le mitosi del sistema nervoso centrale e dei gangli sono sparse e pertanto le densità mitotiche sono influenzate dalle cellule che via via si differenziano. Nella retina, invece, le mitosi sono localizzate sempre nel margine anteriore; l'osservazione morfologica conferma che questo è costituito da cellule indifferenziate e pertanto le densità mitotiche non sono influenzate dalle cellule in differenziamento che sono localizzate sul bordo della coppa retinica.

Questi fatti confermano l'ipotesi che il margine anteriore rappresenti il tessuto cambiale durante tutto lo sviluppo e provveda al normale accrescimento della retina.

Analizzando con più attenzione l'andamento mitotico nel margine anteriore si nota una caduta di mitosi all'inizio del periodo larvale; ciò conferma quanto osservato nelle varie regioni del neurasse e nei gangli dell'Anfibio

urodelo. Ricordo che tale decremento è stato ritenuto effetto del digiuno che si verifica al momento del cambiamento del tipo di nutrizione [1].

Il numero delle cellule indifferenziate della retina, durante lo sviluppo, non presenta un progressivo aumento, mentre l'accrescimento somatico è continuo.

Questo fatto ha suggerito una verifica sull'accrescimento dell'occhio, analizzando la porzione di retina differenziata e quella indifferenziata. Perciò sono stati disegnati alla camera lucida il contorno esterno della retina neurale nella sezione più mediale degli occhi e con un curvimetro sono state misurate separatamente le lunghezze della porzione differenziata e del tratto di cellule indifferenziate. I risultati ottenuti, riportati in valori decimali, sono rappresentati dalla Tabella II.

TABELLA II

Stadio	Età	Lunghezza	Retina differenziata	Margine anteriore	Rapporto
36	9 gg.	4 mm.	—	825 μ	—
40	12	4,5	775 μ	270	35 %
45	19	5,5	1000	280	28
47	25	6	1120	230	20
50	47	7	1225	160	13
53	55	8	1500	260	17
55	60	9	1775	300	17
58	75	10	1875	295	16
62	110	15	2000	300	15

Da essi si deduce che:

a) l'accrescimento della retina è continuo e proporzionale all'accrescimento somatico;

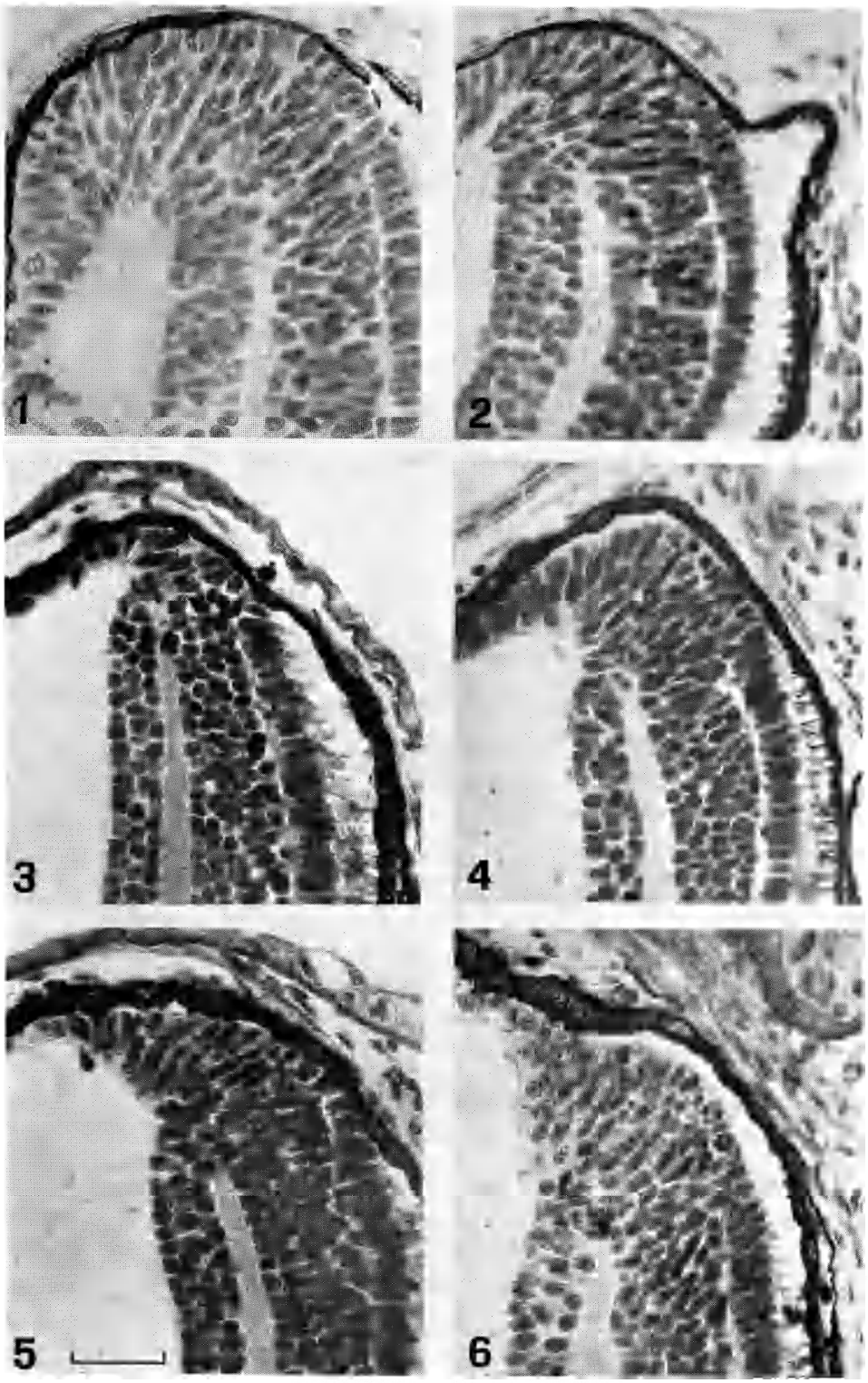
b) la lunghezza del tratto di retina costituito da cellule indifferenziate (margine anteriore) presenta variazioni che concordano con quelle verificate nel numero assoluto: infatti essa presenta una forte riduzione nel periodo embrionale che continua all'inizio del periodo larvale (fino a st. 50); in seguito (tra st. 50 e 55) la lunghezza del tratto aumenta e si stabilizza nell'ultimo periodo larvale.

La riduzione del tratto indifferenziato nel periodo embrionale (tra st. 36 e 40) si accompagna al prevalere dei processi di differenziamento dei neuroni della retina che già alla schiusa devono essere pronti a percepire gli stimoli luminosi. L'accorciamento del margine anteriore che si osserva all'inizio del periodo larvale (st. 45–50) (Tav. I, figg.2–3) va messo in relazione al declino dell'attività mitotica dovuto al digiuno ed al procedere dell'accrescimento (differenziamento di neuroni retinici); l'aumento in lunghezza del margine

anteriore tra st. 50 e 55 (Tav. I, figg. 3–5) va ritenuto conseguenza della ripresa attività mitotica; nell'ultimo periodo larvale (st. 55–62) la lunghezza del margine anteriore resta costante (Tav. I, figg. 5–6): ciò indica che la proliferazione cellulare nel margine anteriore è bilanciata dalla quantità di cellule che si differenziano.

Bibliografia

[1] Baffoni G. (1966) – « Arch. Zool. It. », *51*, 337–358.
[2] Fratello B. (1968) – « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, *45*, 620–625.
[3] Champy C. (1922) – « Arch. de Morphol. » (Morph. expér), *4*, 1–58.
[4] Glüksmann A. (1940) – « British. J. Ophtalm. », *24*, 153–178.
[5] Sentein P. (1946) – « C. R. de la Soc. de Biol. », *140*, 185–187.
[6] Saxén L. (1954) – « Ann. Acad. Sci. Fenn. », ser. A4, *23*, 1–107.
[7] Hollyfield J. G. (1968) – « Develop. Biol. », *18*, 164–179.
[8] Hollyfield J. G. (1971) – « Develop. Biol. », *24*, 264–286.
[9] Straznicky K. e Gaze R. M. (1971) – « J. Embryol. exp. Morph. », *26*, 67–79.
[10] Gaze R. M. e Watson W. E. (1968) – In: Wolstenholme G. E. W. e O'Connor M., *Growth of the Nervous System* (Churchill, London, 1968).
[11] Keefe J. R. (1973) – « J. exp. Zool. », *184*, 239–258.
[12] Rugh R. (1952) – *Experimental embryology* (Burges, Minneapolis, 1952).
[13] Glücksohn S. (1932) – « Arch. Entw.-mech. Org. », *125*, 341–405.
[14] Marini M. (1956) – « Riv. di Neurobiol. », *2*, 495–516.



Aspetti del margine anteriore a stadio 40 (fig. 1), 45 (fig. 2), 50 (fig. 3), 53 (fig. 4), 55 (fig. 5) e 62 (fig. 6). (Il tratto in calce = 50 μ).