

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

VITO MARGOTTA , GUIDO PALLADINI, ANTONIO  
CAROLEI

## **Il ruolo del «cervello» di *Dugesia gonocephala* s.l. nella risposta motoria a stimoli**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 61 (1976), n.1-2, p.  
133–142.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1976\\_8\\_61\\_1-2\\_133\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_61_1-2_133_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 ruolo del «cervello» di Dugesia gonocephala s.l. nella risposta motoria a stimoli.* Nota (\*) di VITO MARGOTTA (\*\*), GUIDO PALLADINI (\*\*\*) e ANTONIO CAROLEI (\*\*\*\*), presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Motor patterns under different stimuli related to the functional role of the *brain* in *Dugesia gonocephala s.l.* The motor system of flatworms, with its dopaminergic-cholinergic interactions, seems to be very close to the extrapyramidal system of Mammalia (Man also). We have investigated the threshold dose of apomorphine and amphetamine, related to the histological regeneration of *brain* in different experimental conditions, i.e. cranial and caudal fragments of operated animals, unoperated or half-*brain* ablated specimens.

Our data strongly support the hypothesis that *brain* related structures possess a lower stimulation-threshold that allow different patterns, all related to the experimental conditions.

#### INTRODUZIONE

Le planarie rappresentano i primi esseri viventi, nella scala zoologica, provvisti di un sistema nervoso in cui si realizzano la centralizzazione neuronale e la cefalizzazione, fasi evolucionistiche di estrema importanza, in quanto (Stefanelli, 1975) hanno permesso l'articolazione in un vero e proprio sistema sinaptico, relativamente complesso. Questi Invertebrati possiedono un sistema motorio in equilibrio bilanciato dopaminergico-colinergico (DA/Ach) simile, per questo aspetto, a quanto si osserva nel c.d. sistema extrapiramidale (Wilson, 1914) dei Mammiferi superiori, compreso l'uomo (Carolei *et al.*, 1975 a, 1975 b; Margotta *et al.*, 1975; Palladini *et al.*, 1976).

Il sistema nervoso delle planarie, composto da autentici neuroni in connessione sinaptica (Bullock e Horridge, 1965), presenta anteriormente un ganglio cerebroide o «cervello» costituito da cellule neuronali e di sostegno disposte alla periferia del neuropilo, da cui partono due cordoni ventrali, costituiti da cellule e fibre, riuniti da commissure a «scala a pioli» (fig. 1, nel testo).

In particolare, l'organizzazione funzionale e gerarchica di strutture e centri di tale sistema è tuttora oggetto di attenta indagine, scarsi ed antiquati essendo i dati rinvenibili, al riguardo, in letteratura. L'asportazione dei gangli cerebroidi provoca ipomobilità o blocco completo di ogni attività motoria nei Policladi (Loeb, 1907; Olmsted, 1922; Moore, 1924) e nei Tricladi (Parker e Burnett, 1901; Robertson, 1930; Beauchamp, 1935; Benazzi, 1936, 1938; Liotti, 1961; Bullock e Horridge, 1965), mentre la rimozione di uno soltanto

(\*) Pervenuta all'Accademia il 27 luglio 1976.

(\*\*) Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma

(\*\*\*) Istituto di Biologia e Zoologia generale dell'Università di Roma.

(\*\*\*\*) I Clinica delle Malattie Nervose e Mentali dell'Università di Roma.

dei gangli, determina nei Policladi, un blocco della estrinsecazione motoria omolateralmente alla lesione (Olmsted, 1922) ed una incapacità a reagire a stimolazioni portate sugli organi chemiosensibili, nei Tricladi (Beauchamp, 1935). Esemplari decapitati sono in grado di rispondere con un comportamento descritto come non dissimile o del tutto sovrapponibile a quello di esemplari integri, se stimolati artificialmente per via chimica (fenolo 1 : 25.000, NaCl/KCl 0.6M) o meccanica (Loeb, 1907; Benazzi, 1936).

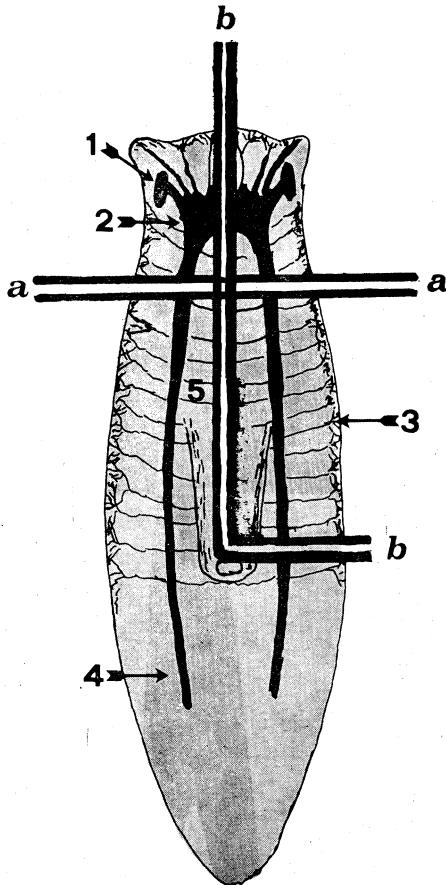


Fig. 1. - Sistema nervoso (in nero) di Planaria. 1) «occhio»; 2) ganglio cerebroide o «cervello»; 3) plesso superficiale; 4) cordoni ventrali con relative commissure; 5) *a-a* = taglio relativo alla prima operazione; *b-b* = taglio relativo alla seconda operazione, di cui alla fig. 2 nel testo.

L'attività motoria, assicurata nelle planarie da onde di contrazione muscolare (Stringer, 1917; Crozier, 1918; Olmsted, 1922; Beauchamp, 1935) ed espressione più elementare di attività nervosa coordinata, ci è parsa, di conseguenza, come il parametro da prendere nella più attenta considerazione. Nel quadro delle ricerche neurofisiologiche e neurofarmacologiche che il nostro gruppo va conducendo su *Dugesia gonocephala s.l.*, meritano nuova attenzione i dati relativi al comportamento motorio di frammenti craniali e caudali di esemplari sezionati con taglio trasverso tra faringe ed auricole, dopo le iniziali osservazioni di Benazzi (1936). In particolare, ci è sembrato

interessante l'indagare con apomorfina ed amfetamina la soglia di eccitazione farmacologica dei recettori dopaminergici nelle diverse condizioni sperimentali, correlandola con gli aspetti rigenerativi istologici del ganglio cerebroide o «cervello».

#### MATERIALI E METODI

La ricerca è stata eseguita impiegando due popolazioni di planarie della specie *Dugesia gonocephala* s.l. (Platyhelminthes, Turbellaria, Tricladida), forma agama scissipara. Una delle due popolazioni utilizzate proveniva dai nostri allevamenti ed era stata prelevata, originariamente, nel settembre 1975, lungo il corso del fiume Mignone (località Rovine Canale Monterano, Roma), l'altra è stata raccolta nel corso d'acqua Fosso delle Tre Fontane, lungo la via Ardeatina (Roma). Anche quest'ultima popolazione, come la precedente, è stata determinata dal prof. M. Benazzi, che gli Autori vivamente ringraziano.

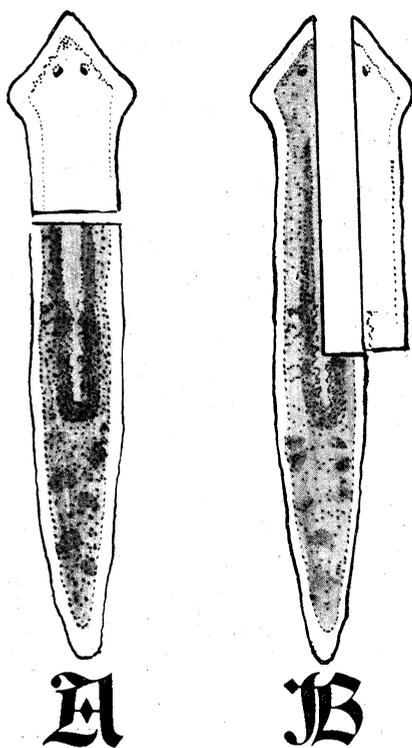


Fig. 2. — Schema degli interventi. In chiaro il frammento asportato. A) asportazione della porzione cefalica; B) asportazione dell'emitesta (sec. Liotti, 1961).

In totale, sono stati utilizzati 100 esemplari, sottoposti a due tipi di intervento:

1) in 80 individui si è proceduto all'asportazione totale della porzione cefalica del corpo, mediante un taglio trasverso, eseguito posteriormente alle due «auricole» ed all'incirca equidistante da esse e dal faringe (fig. 2 A, nel testo).

2) in 20 individui si è proceduto all'asportazione di una metà longitudinale del corpo della planaria, mediante due tagli, uno emitrasverso all'altezza del faringe ed uno giacente nel piano sagittale mediale, secondo quanto descritto da Liotti (1961) (fig. 2 B, nel testo).

Le operazioni sono state eseguite al microscopio binoculare Wild con l'ausilio di un sottile bisturi. Le planarie, subito dopo l'intervento e per tutta la durata degli esperimenti, sono state tenute in camera termostatica a temperatura costante ( $18/20^{\circ}\text{C}$ ), a debole illuminazione.

Le osservazioni del comportamento degli esemplari operati, sottoposti a stimolazioni naturali (stimoli luminosi, meccanici deboli ed alimentari) ed a stimolazioni farmacologiche artificiali (apomorfina ed amfetamina), sono state compiute al microscopio binoculare, generalmente pochi minuti prima della fissazione; si è provveduto, con particolare attenzione, al confronto di tale comportamento con quello di esemplari normali, sottoposti agli stessi tipi di stimoli.

Le prove di stimolazione farmacologica sono state eseguite ponendo gli esemplari in concentrazioni scalarmente crescenti, a ragione 2, di apomorfina solfato, a partire dalla concentrazione di  $7.8 \cdot 10^{-5}$  mg/ml e di amfetamina solfato, a partire dalla concentrazione di  $3 \cdot 10^{-3}$  mg/ml, stabilendo così la concentrazione-soglia alla quale comparivano, entro 20 minuti, le ipercinesie (spiralizzazione su due piani, attorno all'asse longitudinale) caratteristiche della sovrastimolazione recettoriale dopaminergica (Carolei *et al.*, 1975b; Margotta *et al.*, 1975; Palladini *et al.*, 1976).

Le planarie operate di asportazione totale della porzione cefalica del corpo sono state fissate, pochi minuti dopo le stimolazioni, tra il 2° ed il 10° giorno dall'intervento, a regolari intervalli di tempo di due giorni, mentre quelle operate sec. Liotti (1961) sono state fissate dopo 1 e 15 giorni dall'intervento.

Le planarie operate, di cui sono stati allestiti preparati istologici, sono state fissate in estensione in liquido di Bouin e, dopo disidratazione ed inclusione in paraffina, sono state tagliate al microtomo rotativo a  $10 \mu$  di spessore, secondo il piano trasverso; le sezioni seriate sono state colorate con emallume-eosina. Sono stati allestiti altresì preparati di controllo di planarie normali (Tav. I, fig. 1) e, per verificare l'entità delle asportazioni, di planarie fissate subito dopo l'intervento.

## RISULTATI

### *Sezione della porzione cefalica.*

L'asportazione della porzione cefalica con ablazione di tutto il « cervello » (fig. 1, a-a, nel testo; fig. 2, A nel testo) produce l'immobilizzazione quasi immediata della parte posteriore dell'animale, non interessando invece in modo apprezzabile il comportamento motorio del frammento anteriore; dopo il taglio, la parte posteriore tende a rimanere immobile, adesa alle pareti del recipiente, senza reagire alla luce diffusa, nè a quella concentrata; se vivamente stimolata con un pennello, la parte posteriore è però ancora capace di movimento, che si estrinseca lentamente, ma con modalità apparentemente normali.

Il trattamento con soluzioni di apomorfina, alla concentrazione di 1,25  $\gamma$ /ml, e di amfetamina, alla concentrazione di 12  $\gamma$ /ml, non è in grado di determinare la caratteristica spiralizzazione attorno all'asse longitudinale, tipica della sovrastimolazione dopaminergica in questi animali, in esemplari operati; invece, sia in planarie integre che nel frammento anteriore degli animali sezionati, le stesse sostanze alla stessa concentrazione provocano vivaci spiralizzazioni ipercinetiche; solo concentrazioni superiori sono in grado di determinare il comportamento ipercinetico anche nel frammento posteriore

(fig. 3, nel testo). Soluzioni estremamente diluite di apomorfina ( $7.8 \cdot 10^{-2}$  e  $7.8 \cdot 10^{-4}$   $\gamma/ml$ ) non determinano, neppure dopo 90 ore, alcuna alterazione del comportamento motorio nè di esemplari integri nè dei due frammenti.

L'esame istologico mostra che i frammenti posteriori, che si sono comportati in questo modo, sono completamente privi del «cervello» e presentano solo i cordoni ventrali.

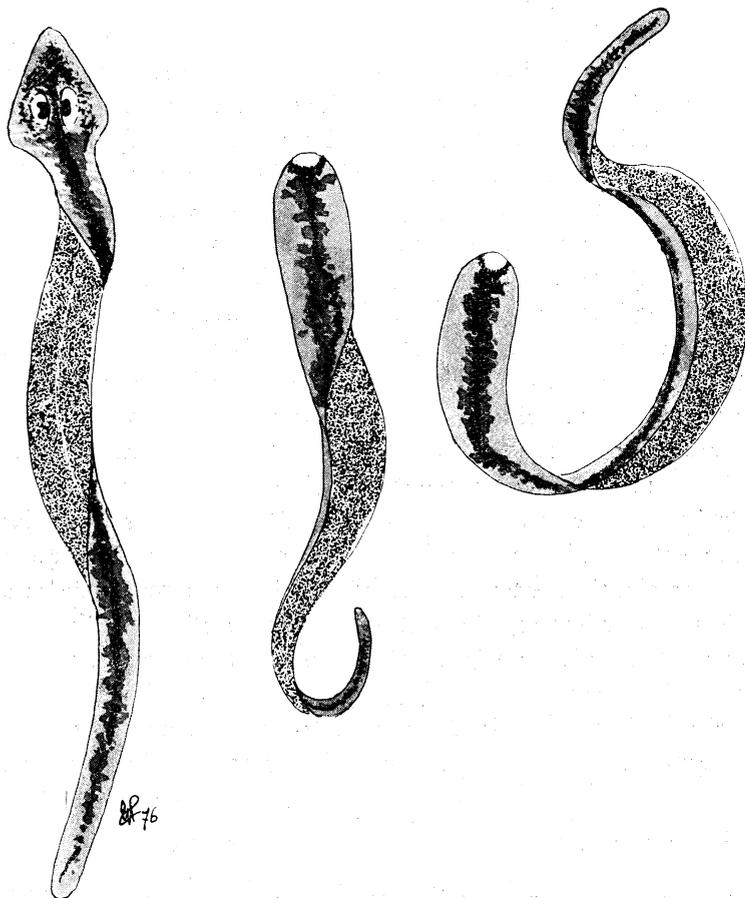


Fig. 3. — Ipercinesia di planarie integre (a sinistra) e di planarie decapitate (a destra) esposte a concentrazioni di 10  $\gamma/ml$  di apomorfina, 10 minuti dall'inizio del trattamento. Acquarello eseguito al binoculare.

Il comportamento dei frammenti posteriori non varia sostanzialmente fino al quarto giorno dall'intervento, quando abbiamo notato che alcune planarie, pur nell'assenza di macchie oculari <sup>(1)</sup>, cominciano a reagire alla luce diffusa con il comportamento fototropico negativo, proprio di questa specie; esposti alle soluzioni di apomorfina ed amfetamina questi frammenti

(1) La sensibilità alla luce dei Tricladi è presente anche in assenza di queste strutture recettoriali (Parker e Burnett, 1901).

mostrano la capacità di reagire con ipercinesie anche alla dose-soglia; l'esame istologico mostra in essi la rigenerazione del « cervello » (non ancora degli « occhi »). Al contrario, i frammenti ancora inattivi alla luce e su cui la dose-soglia è inefficace, presentano solo un blastema rigenerativo anteriore.

Al sesto giorno, molti esemplari hanno rigenerato una porzione cefalica di aspetto normale, con evidenti macchie oculari. Queste planarie rigenerantesi si comportano come planarie integre, sia per quanto riguarda la motilità spontanea alla luce diffusa, che per quanto concerne le reazioni alla stimolazione meccanica ed alla luce concentrata; come le planarie integre, inoltre, esse reagiscono con vivaci ipercinesie alle concentrazioni-soglia di apomorfina ed amfetamina; all'esame istologico (Tav. I, fig. 2) questi esemplari mostrano una rigenerazione completa del « cervello » e degli « occhi ».

Quegli esemplari che, invece, mostrano all'esame istologico di aver rigenerato il « cervello », ma non gli « occhi »<sup>(2)</sup>, si comportano come quelli che si trovano nelle stesse condizioni istologiche, descritti al quarto giorno. Gli esemplari, nei quali non si è verificata la rigenerazione del « cervello » e degli « occhi », si comportano come quelli osservati prima del quarto giorno.

All'ottavo giorno, esistono ancora alcune planarie prive di « occhi », che non reagiscono alla luce diffusa ed alla dose-soglia di apomorfina ed amfetamina e che all'esame istologico mostrano anteriormente ancora un blastema indifferenziato; una notevole percentuale di esemplari con « cervello », ma senza « occhi », che si muovono alla luce diffusa, reagiscono vivacemente alla luce concentrata ed alla stimolazione meccanica, e spiralizzano alle dosi-soglia degli stimolanti recettoriali dopaminergici; una percentuale assai elevata di planarie che reagiscono, sia agli stimoli naturali che alla stimolazione farmacologica, come planarie integre, hanno rigenerato sia il « cervello » che gli « occhi ».

Al decimo giorno dall'intervento, tutte le planarie hanno rigenerato « occhi » e « cervello » (Tav. I, figg. 3 e 4) e reagiscono come planarie integre.

#### *Asportazione di metà testa.*

Appena operati, gli esemplari mostrano una evidente ipomotilità del lato lesso, che non si contrae o si contrae poco, quando l'animale è in movimento. Di regola, l'animale per le prime quattro ore circa dopo l'intervento non si muove spontaneamente. Quando riprende gradualmente l'attività locomotoria spontanea, si muove descrivendo curve, in cui il lato integro occupa la concavità (fig. 4, A nel testo), ed appare nettamente più contratto e mobile di quello operato. Il trattamento con apomorfina ed amfetamina, alla dose-soglia, provoca ipercinesie in modo praticamente indistinguibile da quanto si osserva in esemplari integri (fig. 4, B nel testo). Il controllo istologico conferma l'assenza di un « occhio » e dell'« emicervello » del lato omologo operato.

(2) La cui rigenerazione è indotta dal « cervello » (Lender, 1952).

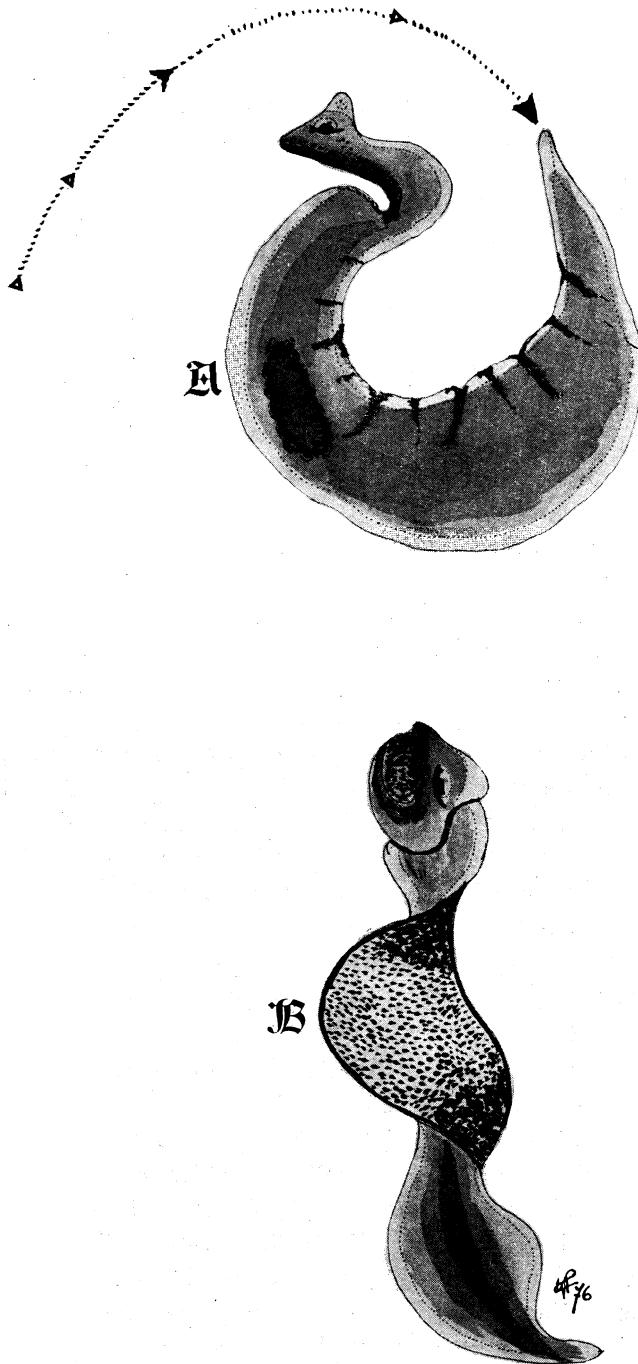


Fig. 4. - Planaria operata di asportazione dell'emitesta, 12 ore dall'intervento, in marcia normale (A) ed in ipercinesia (B), perché esposta alla dose-soglia di amfetamina. Si osservi la traccia curva del cammino dell'esemplare operato. Acquarello eseguito al binocolare.

A quindici giorni dall'intervento, gli animali mostrano una attività locomotoria spontanea in luce diffusa e sotto stimoli naturali ed artificiali del tutto normale, con rigenerazione totale dell'emitesta. Il controllo con apomorfina e amfetamina mostra un comportamento ipercinetico alle dosi-soglia indistinguibile da quello di esemplari integri e di esemplari a quattro ore dall'intervento; il controllo istologico mostra la rigenerazione dell'«occhio» e dell'«emicervello» del lato operato.

#### DISCUSSIONE

La presumibile *gerarchia funzionale* del sistema nervoso della planaria è stata oggetto di ricerche comportamentali, condotte sia su esemplari integri che su esemplari ai quali era stato preventivamente asportato il «cervello». I risultati, discordanti e poco significativi, hanno trovato ulteriori elementi limitativi, sul piano dell'interpretazione, in talune peculiarità delle planarie stesse. A questo proposito, ci sembra sufficiente accennare al fatto che, mentre i recettori meccanici sono distribuiti su tutta la superficie corporea (Koehler, 1926, 1932), i recettori chemiosensibili ed, in una certa misura, fotosensibili sono prevalenti nel frammento craniale (Pigon *et al.*, 1974); l'asportazione, infatti, delle «macchie oculari» non sembra limitare sensibilmente la risposta alla luce (Parker e Burnett, 1901).

Poichè l'attività nervosa di questi Tricladi dipende da un'organizzazione neuronale che sintetizza e libera taluni mediatori, con modalità simili a quanto osservabile nei sistemi nervosi dei Mammiferi superiori (uomo compreso), la ricerca e la quantificazione farmacologica della dose-soglia dei recettori dopaminergici di esemplari in diverse condizioni sperimentali, ci è sembrato costituire un parametro in grado di fornire deduzione globalmente più valide.

La soglia di eccitazione è stata indagata con l'apomorfina e l'amfetamina in esemplari sia integri sia operati di asportazione totale della porzione cefalica del corpo o di una metà della testa. I risultati delle nostre esperienze indicano chiaramente che nelle planarie le strutture nervose del «cervello» possiedono una soglia di eccitazione più bassa, rispetto a quella della rete nervosa dei cordoni ventrali e delle anastomosi ortogonali. È verosimile che l'azione direttiva e modulativa della armonica estrinsecazione dell'attività motoria, quando conseguente a stimoli esogeni, sia correlabile alla più bassa soglia di eccitazione; ciò è dimostrato dalla immobilità della parte posteriore, subito dopo il taglio, anche in presenza della stimolazione della luce diffusa. Sembra logico supporre che la stimolazione di strutture sensitive del moncone posteriore, a più alta soglia, sia in grado di indurre una risposta motoria, con modalità apparentemente normali, per archi riflessi mediati a livello inferiore; la funzione preminente del «cervello» nei Tricladi sarebbe soprattutto, quindi, quella di mantenere un alto livello di eccitabilità (Bullock e Horridge, 1965); tali dati conferiscono maggior rilevanza alla evidente assenza nelle planarie di fenomeni

di liberazione o *release*, riscontrabili, invece, in sistemi nervosi più complessi (Vertebrati, Insetti). Una ulteriore conferma all'ipotesi di un controllo omolaterale ed omologo, con evidente substrato anatomo-funzionale, da parte del «cervello», è fornita dalle nostre osservazioni sugli esemplari sottoposti all'asportazione di metà testa. Ad ulteriore conferma vanno messi in rilievo i risultati conseguiti con sostanze in grado di stimolare il recettore dopaminergico: solo concentrazioni doppie, rispetto a quelle in grado di agire sull'esemplare integro o sulla porzione cefalica, sono state in grado di determinare ipercinesie nel frammento posteriore.

Le osservazioni istologiche hanno dimostrato che gli esemplari quando rispondono agli stimoli, naturali e farmacologici, alla dose-soglia, presentano la totale rigenerazione del «cervello».

L'estrema brevità dei tempi di esposizione alla droga, rispetto a quelli usati dal Liotti, rendono ragione dell'assenza, nei nostri esperimenti, del fenomeno dell'inibizione della rigenerazione della testa da amfetamina, osservata da Liotti (1961, 1963) e Liotti e Andreoli (1964) e la cui interpretazione è certamente assai complessa.

Un cenno particolare meritano i risultati ottenuti con soluzioni estremamente diluite di apomorfina, che non hanno determinato alcuna alterazione del comportamento motorio nè di esemplari integri, nè dei frammenti cefalici e caudali. Tale esperienza ci è stata suggerita dalle osservazioni di Carlsson *et al.* (1974), secondo i quali dosi molto piccole di apomorfina sono in grado di inibire l'attività motoria del ratto, verosimilmente per il coinvolgimento di *prerecettori dopaminergici inibitori*. La nostra osservazione comportamentale, non permette allo stato attuale, in assenza di dati sul *turnover* della dopamina, nessuna interpretazione del dato, peraltro discordante.

#### BIBLIOGRAFIA

- BEAUCHAMP R. S. A. (1935) - « J. exp. Biol. », 12, 271.  
BENAZZI M. (1936) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VI, 23, 152.  
BENAZZI M. (1938) - « Acc. Naz. Lincei, Memoria », ser. VI, 7, 33.  
BULLOCK T. H. e HORRIDGE G. A. (1965) - *Structure and function in the nervous systems of Invertebrates*. W. H. Freeman and Co., S. Francisco and London, 1, 556.  
CARLSSON A., ENGEL J., STRÖMBOM U., SVENSSON T. N. e WALDECK B. (1974) - Naunyn-Schmiedeberg's, Arch. Pharmacol., 283, 117.  
CAROLEI A., PALLADINI G. e MARGOTTA V. (1975 a) - « Lega Ital. per la Lotta contro il Morbo di Parkinson e le Malattie Extrapiramidali » « Atti II Riunione, Verona 4 Ottobre 1975 », 128.  
CAROLEI A., MARGOTTA V. e PALLADINI G. (1975 b) - « Neuropsychobiology », 1, 355.  
CROZIER W. J. (1918) - « Proc. Nation. Acad. Sci. U.S.A. », 4, 379.  
KOEHLER O. (1926) - « Verh. dtsh. zool. Ges. », 31, 182.  
KOEHLER O. (1932) - « Ztschr. Vergl. Physiol. », 16, 606.  
LENDER TH. (1952) - « Année biol. », 56, 191.  
LIOTTI S. F. (1961) - « Riv. Biol. », 54, 415.  
LIOTTI S. F. (1963) - « Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim. », 39, 921.  
LIOTTI S. F. e ANDREOLI V. (1964) - « Arch. Sc. Biol. », 48, 1.

- LOEB J. (1907) - *Fisiologia comparata del cervello e psicologia comparata* (ed. italiana, trad. F. Raffaele), R. Sandron Ed., Milano-Palermo-Napoli.
- MARGOTTA V., PALLADINI G., CAROLEI A. e CONFORTI A. (1975) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 59, 201.
- MOORE A. R. (1924) - « J. gen. Physiol. », 6, 73.
- OLMSTED J. M. D. (1922) - « J. Exp. Zool. », 36, 57.
- PALLADINI G., MARGOTTA V., CAROLEI A. e CONFORTI A. (1976) - « Acta Neurologica », 31, 1.
- PARKER G. H. e BURNETT F. L. (1901) - « Amer. J. Physiol. », 4, 373.
- PIGON A., MORITA M. e BEST J. B. (1974) - « J. Neurobiol. », 5, 443.
- ROBERTSON J. A. (1930) - « J. exp. Biol. », 7, 88.
- STEFANELLI A. (1975) - « Accademia Nazionale Lincei. Seminario sulla Evoluzione Biologica. Centro linceo interdisciplinare », 7, 239.
- STRINGER C. E. (1917) - « Proc. Nation. Acad. Sci. U.S.A. », 3, 691.
- WILSON S. A. K. (1914) - « Brain », 36, 427.

### SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Colorazione emallume-eosina; luce monocromatica 563 m $\mu$ .

Le frecce bianche indicano gli « occhi », le frecce nere il « cervello ».

- Fig. 1. - Planaria normale. Bene evidenti gli « occhi » ed il « cervello » con il suo neuropilo.
- Fig. 2. - Esemplare rigenerato, sesto giorno dall'intervento. Bene evidente un « occhio » rigenerato (il controlaterale si trova in una sezione precedente) ed il « cervello » di entrambi i lati.
- Figg. 3, 4. - Esemplari rigenerati, decimo giorno dall'intervento. « Cervello » di aspetto normale, « occhio » in fase di differenziazione molto avanzata. Solo le dimensioni della testa mostrano che si tratta di esemplari che hanno rigenerato (cfr. con fig. 1).

