### ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# Rendiconti

Antonio Quaglia, Mario Grasso

## Sull'ultrastruttura del sistema nervoso di un ceppo agamo di Dugesia tigrina con particolare riferimento ai neuroni neurosecernenti

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **75** (1983), n.5, p. 225–230. Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\_1983\_8\_75\_5\_225\_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, 1983.

### SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — Sull'ultrastruttura del sistema nervoso di un ceppo agamo di Dugesia tigrina con particolare riferimento ai neuroni neurosecernenti<sup>(\*)</sup>. Nota di ANTONIO QUAGLIA<sup>(\*\*)</sup> e MARIO GRASSO<sup>(\*\*\*)</sup>, presentata<sup>(\*\*\*\*)</sup> dal Corrisp. G. CHIEFFI.

SUMMARY. — An electron microscopic survey of the nervous system of the planarian *Dugesia tigrina* (agamic strain) has revealed the presence of three presumptive types of neurons giving rise to as many nerve fibre types: cholinergic motor neurons, aminergic sensory neurons (or interneurons) and peptidergic neurosecretory neurons. It has been found that aminergic nerve fibres form efferent synapses on either cholinergic or peptidergic nerve fibres. These latter, in turn, show omegashaped, neurosecretory release sites in axon areas post-synaptic with respect to aminergic terminals.

Negli ultimi anni, numerose ricerche, eseguite su svariate specie di planarie, hanno ben documentato l'esistenza di stretti rapporti fra neurosecrezione, fissione e potere rigenerativo [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8], ma hanno alquanto trascurato i neuroni neurosecernenti e soprattutto i possibili meccanismi di controllo sulla neurosecrezione stessa.

In questa Nota – che fa seguito ad un breve contributo [9] – viene fatto un tentativo di colmare le lacune anzidette, riportando le nostre più recenti osservazioni <sup>(1)</sup> sulla fine struttura del sistema nervoso di un ceppo agamo (proveniente dal lago Maggiore) di *Dugesia tigrina*, già preso in esame in precedenti ricerche [1, 2].

A livello ultrastrutturale, i gangli cerebrali ed i cordoni nervosi (commissure e plessi compresi) di *D. tigrina* (ceppo agamo) presentano una zona periferica (corticale, a diretto contatto dei tessuti circostanti) ed una centrale (neuropilare) formate in prevalenza, rispettivamente, da pirenofori e da fibre nervose (Tav. I, fig. 1).

I pirenofori (spesso a gruppi di due-tre) hanno forma rotondeggiante (multipolari) od ovoidale (bipolari) e mostrano un nucleo voluminoso circondato da un esile alone di citoplasma (Tav. I, figg. 1, 2). Quest'ultimo contiene cister-

- (\*) Ricerca eseguita con il contributo del Ministero della Pubblica Istruzione.
- (\*\*) Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Bologna.
- (\*\*\*) Istituto di Biologia Animale dell'Università di Lecce.
- (\*\*\*\*) Nella seduta del 26 novembre 1983.

(1) Il materiale è stato preparato con le modalità esposte in altri lavori [10] ed è stato studiato prevalentemente con microscopio elettronico Philips EM 401 T, presso l'Istituto di Biologia Animale dell'Università di Lecce.

ne di reticolo rugoso, ribosomi liberi, particelle di glicogeno, microtubuli (22-24 nm. di diametro), mitocondri e uno-due complessi del Golgi comprendenti, ciascuno, una pila di quattro-sette sacculi ed un numero variabile di vescicole (Tav. I, figg. 1, 2; Tav. II, figg. 3, 4).

Le vescicole golgiane possono essere: a) rotondeggianti-ovoidali (35-50 nm di diametro), moderatamente elettron-opache, presenti in tutte le cellule nervose, associate o no (nei neuroni bipolari) a vescicole di uno dei due tipi seguenti; b) rotondeggianti (50-70 nm di diametro), contenenti un piccolo granulo elettron-opaco, tipiche di alcuni neuroni multipolari distribuiti casualmente in tutti i distretti nervosi; c) rotondeggianti-ovoidali (80-150 nm di diametro), contenenti un voluminoso granulo elettron-opaco, caratteristiche di numerosi neuroni multipolari particolarmente concentrati nei gangli cerebrali (Tav. I, figg. 2, 2 inserto; Tav. II, figg. 3, 4, 6).

Le fibre nervose che formano, fittamente intrecciate, la zona neuropilare, appaiono fornite di mitocondri, particelle di glicogeno, microfilamenti (8–10 nm di spessore, 100–150 nm di lunghezza) e, soprattutto, di microtubuli orientati parallelamente all'asse longitudinale delle fibre stesse (Tav. I, fig. 1); inoltre, come i pirenofori, tutte contengono delle vescicole di tipo a) a cui si aggiungono, in certe fibre, delle vescicole di tipo b) o c).

Le fibre nervose presentano, poi, contatti sinaptici (simmetrici o asimmetrici) terminali o « en passant » secondo il seguente schema. Le fibre contenenti esclusivamente vescicole di tipo a) hanno sinapsi terminali asimmetriche (« singole » o, più raramente, « multiple ») solo con fibre dello stesso tipo (Tav. II, fig. 5); le fibre contenenti anche vescicole di tipo b) mostrano sinapsi terminali simmetriche fra di loro, sinapsi terminali asimmetriche con fibre del tipo precedente e sinapsi « en passant » asimmetriche con fibre fornite di vescicole di tipo c) (Tav. II, fig. 6; Tav. III, figg. 7, 9). Quest'ultime fibre (che, almeno nei plessi sub-epidermici, decorrono prevalentemente a ridosso della muscolatura) non sembrano formare sinapsi efferenti (Tav. III, fig. 8).

Comunque, dette giunzioni mostrano, oltre alle vescicole prima ricordate, una fessura sinaptica (15–20 nm di ampiezza), proiezioni sinaptiche unilaterali o bilaterali rispetto alla fessura (se asimmetriche o simmetriche, rispettivamente) e un addensamento post-sinaptico consistente in una fascia (circa 20 nm di ampiezza) di materiale elettron-denso (se asimmetriche e terminali) (Tav. II, figg. 5, 6; Tav. III, figg. 7, 9). Le sinapsi « en passant », infine, presentano, nella porzione post-sinaptica, delle figure ad omega di esocitosi (negli spazi intercellulari) dei voluminosi granuli elettrondensi contenuti nelle vescicole di tipo c) (Tav. III, fig. 9).

Alcune di queste osservazioni meritano un commento, tenuto conto che il sistema nervoso di *D. tigrina* (ceppo agamo) non sembra differire, per organizzazione generale e complessità neurologica, da quello di altri Platelminti Turbellari, sessuati [11, 12, 13, 14] e non sessuati [15, 16]. Presenta, infatti, una sostanziale separazione fra pirenofori e fibre nervose, non possiede una guaina perineurale, né comprende cellule accessorie come sembra essere la regola dei Platelminti anche se non mancano le eccezioni [11, 14, 16]. Inoltre, mostra un notevole grado di diversificazione dei suoi neuroni che si possono interpretare per analogia come appresso, tenendo presente che le cellule nervose possono presentare più di un tipo di vescicola golgiana [17].

Così, gli elementi bipolari di *Dugesia*, contenenti solo piccole vescicole moderatamente elettron-opache, dovrebbero essere colinergici e motori [14, 15]. Invece, quelli multipolari, dotati (anche) di vescicole contenenti un piccolo granulo elettron-denso, dovrebbero essere aminergici, sensitivi e/o associativi [16]. Infine, gli elementi multipolari, muniti di vescicole contenenti un voluminoso granulo elettron-opaco, dovrebbero rappresentare dei neuroni neurosecernenti peptidergici, come in altri Turbellari, sessuati [5, 6, 8, 10, 11, 12, 13] e non sessuati [16]. Tenuto conto che le fibre nervose si possono interpretare come i neuroni, si può quindi dire che nel sistema nervoso di *D. tigrina* (ceppo agamo) sono presenti due tipi di neuroni neurotrasmettitori ed uno di neuroni neurosecernenti – quest'ultimi corrispondenti, per localizzazione, a quelli già osservati al microscopio ottico [1] – che danno origine ad altrettanti tipi di fibre nervose costituenti la zona neuropilare del sistema stesso.

Le fibre nervose non sembrano avere dei particolari strutturali degni di rilievo, se si eccettuano i microfilamenti che potrebbero rappresentare delle proteine implicate nel trasporto intra-assonico [18].

Molto più interessanti le giunzioni sinaptiche fra queste fibre, non tanto per la struttura – che rientra, di massima, in modelli già noti [19] – quanto per le implicazioni funzionali. Infatti, permettono di stabilire che le fibre aminergiche (sensitive e/o associative), unite in circuito non polarizzato, controllano unidirezionalmente, sia le fibre colinergiche (motrici in senso lato), sia quelle peptidergiche neurosecernenti. In particolare, le giunzioni « en passant » fra le fibre aminergiche e peptidergiche – che hanno nella zona post-sinaptica delle figure ad omega di esocitosi – potrebbero rappresentare, da un lato, le strutture di controllo (da parte dei neuroni aminergici) sulla neurosecrezione [20] e, dall'altro, il sito di estrusione del neurosecreto stesso. Ed è il caso di rilevare che il meccanismo di estrusione per esocitosi del neurosecreto non era stato ancora descritto nei Turbellari, ma solo nei Cestodi nei quali, però, sembra avvenire anche per protrusione [21].

Comunque e per concludere, questo neurosecreto, estruso negli spazi intercellulari, dovrebbe, per diffusione, raggiungere le cellule bersaglio. Queste, nel caso di *Dugesia*, potrebbero essere rappresentate dalle fibre muscolari (in vicinanza delle quali decorrono, spesso, le fibre peptidergiche) che sarebbero « modulate » dal neurosecreto [21] in vista della fissione. D'altra parte, si può anche ipotizzare l'esistenza di una pluralità di cellule bersaglio poiché il neurosecreto peptidico sembra, in ultima analisi, controllare numerosi processi cellulari di base, inclusi la concentrazione di enzimi (anche implicati nelle sintesi di proteine, DNA ed RNA) e la permeabilità di membrana [7, 22]. Questi processi verrebbero, così, esaltati o depressi, nelle diverse cellule (epiteliali, parenchimatiche, ecc.) interessate nella fissione e nei fenomeni rigenerativi e proliferativi che la accompagnano [4, 23].

#### Autori citati

- M. GRASSO (1965a) Dimostrazione di cellule neurosecretrici in Dugesia tigrina.
  « Rend. Accad. Naz. Lincei », 38, 712-714; M. GRASSO (1965b) Prime indagini sul significato funzionale della neurosecrezione in Dugesia lugubris e Dugesia tigrina.
  « Boll. Zool. », 32, 1037-1049.
- [2] A.M. STAGNI e M. GRASSO (1965) Osservazioni preliminari sulla schizogenesi di Dugesia tigrina. «Rend. Accad. Naz. Lincei», 38, 905-910.
- [3] J.B. BEST, A.B. GOODMAN e A. PIGON (1969) Fissioning in planarians : control by the brain. « Science », 164, 565-566.
- [4] TH. LENDER e F. ZGHAL (1969) Influence des conditions d'elevage et de la neurosécretion sur les rythmes de scissiparité de la race asexuée de Dugesia gonocephala. « Ann. Embryol. Morphol. », 2, 379-385.
- [5] M.J. SAUZIN-MONNOT (1972) Étude ultrastructurale du tissue nerveux et de produits de secretion nerveuse, au cours des prèmieres heures de régénération de la planaire Polycelis nigra (Turbellarié-Triclade) au niveau de la blessure. «Ann. Embryol. Morphog. », 5, 257-265.
- [6] TH. LENDER (1974) The role of neurosecretion in freshwater planarians. In: "Biology of the Turbellaria". Riser, N.W. e Morse, M.P. (eds.), McGraw-Hill, New York.
- [7] R.A. WEBB e T. FRIEDEL (1978) Isolation of a neurosecretory substance which stimulates RNA synthesis in regenerating planatians. «Exp. », 35, 657-658.
- [8] G. GARDENGHI, A. QUAGLIA e M. GRASSO (1980) On the relationship between nervous system, gonads and neurosecretion in Dendrocoelum lacteum. «Rend. Accad. Naz. Lincei », 49, 255-259.
- [9] M. GRASSO e A. QUAGLIA (1982) Neuroni neurose cernenti in un ceppo agamo di Dugesia tigrina. « Boll. Zool. », 49, 96.
- [10] M. GRASSO e A. QUAGLIA (1970a) Studies on neurosecretion in planarians. I. Neurosecretory fibres near the testes of Dugesia lugubris. «J. Submicrosc. Cytol. », 2, 119-125; M. GRASSO e A. QUAGLIA (1970b) Studies on neurosecretion in planarians. II. Observations on the ovaries of Dugesia lugubris. «J. Submicrosc. Cytol. », 2, 127-132; M. GRASSO e A. QUAGLIA (1971) Studies on neurosecretion in planarians. III. Neurosecretory fibres near the testes and ovaries of Polycelis nigra. «J. Submicrosc. Cytol. », 3, 171-180.
- [11] M. MORITA e J.B. BEST (1965) Electron microscopic studies on planaria. II. Fine structure of the neurosecretory system in the planaria Dugesia dorotocephala. « J. Ultrastruct. Res. », 13, 396-408; M. MORITA e J.B. BEST (1966) – Electron microscopic studies of planaria. III. Some observations on the fine structure of planarian nervous tissue. « J. Exp. Zool. », 161, 391-412.
- [12] T. OOSAKI e S. ISHII (1965) Observations on the ultrastructure of nerve cells in the brain of the planarian Dugesia gonocephala. «Z. Zellforsch.», 66, 782-793.
- [13] T.L. LENTZ (1967) Fine structure of nerve cells in a planarian. «J. Morph. », 121, 323-338.
- [14] H. KOOPOWITZ e P. CHIEN (1974) Ultrastructure of the nerve plexus in flatworm.
  I. Peripheral organization. « Cell Tiss. Res. », 155, 337-351.
- [15] A. CZUBAJ (1979) Ultrastructural distribution of AChE in Catenula leptocephala (Nuttycombe, 1956). «Histochem.», 61, 189-198.
- [16] M. REUTER, M. WIKGREN e I. PALMBERG (1980) The nervous system of Microstomum lineare (Turbellaria, Macrostomida). I. A fluorescence and electron microscopic study. « Cell Tiss. Res. », 211, 31-40.
- [17] L.H. FINLAYSON e M.P. OSBORNE (1975) Secretory activity of neurons and related electrical activity. «Adv. Comp. Physiol. Biochem.», 6, 165-258.
- [18] J.H. SCHWARTZ (1980) Il trasporto di sostanze nelle cellule nervose. «Le Scienze», 142, 78-88.

- [19] M. REUTER (1981) The nervous system of Microstomum lineare (Turbellaria, Macrostomida). II. The ultrastructure of synapses and neurosecretory release sites. «Cell Tiss. Res.», 218, 375-387.
- [20] M. GERSCH (1975) Prinzipien neurohormonaler und neurohumoraler Steuerung physiologisher Prozesse bei wirbellosen Tieren und Versuch einer ersten komplexen Charakterisierung. «Wissensch. Beiträge » der Friedrich-Schiller-Universität, Jena.
- [21] M.K.S. GUSTAFSSON e M.C. WIKGREEN (1981a) Peptidergic and aminergic neurons in adult Diphyllobothrium dendriticum Nitzsch, 1824 (Cestoda, Pseudophyllidea).
   «Z. Parasitenkd.», 64, 121-134; M.K.S. GUSTAFSSON e M.C. WIKGREN (1981b) -Release of neurosecretory material by protrusions of bounding membranes extending through the axolemma in Diphyllobothrium dendriticum (Cestoda). « Cell Tiss. Res. », 220, 473-479.
- [22] B. SCHARRER e M. WEITZMAN (1970) Neurosecretion in invertebrates. Current problems in invertebrate neurosecretion. In «Aspects of neuroendocrinology». BARG-MANN, W. e SCHARRER, B. (eds.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York; J. MORACZEWSKI, R. FRANQUINET e A. LE MOIGNE (1983) – Characterization and activity during planarian regeneration of two types of protein kinases: cyclic AMPdependent and calcium-dependent, cyclic AMP-independent. «Biol. Cell», 47, 171-178.
- [23] T. FRIEDEL e R.A. WEBB (1979) Stimulation of mitosis in Dugesia tigrina by a neurosecretory fraction. « Can. J. Zool. », 57, 1818-1819.

#### SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

#### TAVOLA I

- Fig. 1. Gangli cerebrali: fibre nervose (fn) neuropilari delimitate da un neurone corticale. Notare (nel neurone) il voluminoso nucleo (n), i mitocondri (m), le particelle di glicogeno (g), i ribosomi liberi (r) e (nelle fibre) i microtubuli (mt), i microfilamenti (mf), i mitocondri (m), le particelle di glicogeno (g), le vescicole granulate (vg) e non granulate (v).  $\times$  30.000.
- Fig. 2. Gangli cerebrali: neurone multipolare neurosecernente. Notare il voluminoso nucleo (n), il reticolo rugoso (rer), i microtubuli (mt), i ribosomi liberi (r), le particelle di glicogeno (g) e le vescicole granulate (vgc) di tipo c). × 40.000. Inserto: vescicole di tipo c) con una evidente membrana limitante (frecce) ed un voluminoso granulo (gr). × 100.000.

#### TAVOLA II

- Fig. 3. Cordoni nervosi: neurone bipolare neurotrasmettitore. Notare il nucleo (n), i mitocondri (m), l'apparato del Golgi (ag) e le vescicole non granulate (va) di tipo a).  $\times$  50.000.
- Fig. 4. Gangli cerebrali: neurone multipolare neurosecernente. Notare il nucleo (n)e l'apparato del Golgi (ag) dal quale gemmano (frecce) vescicole granulate (vgc)di tipo c) e vescicole non granulate (va) di tipo a). × 80.000.
- Fig. 5. Cordoni nervosi: sinapsi (terminale, asimmetrica e «multipla») fra fibre contenenti vescicole (va) di tipo a). Notare la fessura sinaptica (fs), le proiezioni presinaptiche (ppr) e l'addensamento post-sinaptico (apo). × 90.000.
- Fig. 6. Gangli cerebrali: neurone multipolare neurotrasmettitore e sinapsi (terminale e simmetrica), entrambi muniti di vescicole granulate (vgb) di tipo b) e di vescicole (va) di tipo a). Notare, nella sinapsi, le proiezioni pre- e post-sinaptiche (ppr, ppo) e la fessura sinaptica (fs) priva di addensamento post-sinaptico.  $\times$  60.000.

#### Tavola III

- Fig. 7. Plesso sub-epidermico: sinapsi (terminale e asimmetrica) fra una fibra contenente (anche) vescicole (vgb) di tipo b) ed un'altra fibra contenente solo vescicole (va) non granulate. Notare i microtubuli (mt), la fessura sinaptica (fs) e l'addensamento post-sinaptico (apo). × 80.000.
- Fig. 8. Plesso sub-epidermico: fibre nervose, contenenti vescicole granulate (vgc) di tipo c), che decorrono presso la muscolatura (mu).  $\times$  25.000.
- Fig. 9. Cordoni nervosi: sinapsi «en passant» (asimmetrica e priva di addensamento post-sinaptico) fra una fibra contenente vescicole granulate (vgb) di tipo b) ed un'altra fibra contenente vescicole granulate (vgc) di tipo c). Notare le proiezioni pre-sinaptiche (ppr), la fessura sinaptica (fs), le vescicole (va) di tipo a) e le figure ad omega  $(\Omega)$  di esocitosi, negli spazi intercellulari (si), delle vescicole di tipo c).  $\times$  90.000.

AttiAcc.Lincei–Rend.fisici,A.QUAGLIA e M.GRASSO,Sull'ultrastrut-<br/>tura del sistema, ecc.vol.LXXV.tura del sistema, ecc.TAV.I.

tura del sistema, ecc. - TAV. I.



vol. LXXV.

Atti Acc. Lincei – Rend. fisici, A. QUAGLIA e M. GRASSO, Sull'ultrastruttura del sistema, ecc. - TAV. II.



vol. LXXV.

Atti Acc. Lincei - Rend. fisici, A. QUAGLIA e M. GRASSO, Sull'ultrastruttura del sistema, ecc. - 'TAV. III.

