
REGIA UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI

TORINO

FACOLTA' DI MEDICINA

-:-:-

RICERCHE SPERIMENTALI SULLA CORRELAZIONE FRA ACCRESCIMENTO

DEL SOMA E ACCRESCIMENTO DELLE CELLULE NERVOSE

TESI DI LAUREA

Anno Accademico 1934-35 XIII°

SALVATORE LURIA

1. RAPPORTI FRA MOLE SOMATICA E GRANDEZZA DEI NEURONI.

Il problema dei rapporti fra grandezza delle cellule nervose e mole somatica è stato oggetto di studio dal momento in cui fu constatato che la grandezza dei neuroni presenta un comportamento diverso da quella di quasi tutti gli altri elementi cellulari.

Infatti gli elementi che compongono l'organismo dei metazoi sono per la maggior parte soggetti alla legge formulata da DRIESCH della grandezza cellulare costante: vediamo così ad es. che le cellule ghiandolari del fegato, del rene, le cellule dell'epitelio intestinale di vari mammiferi sono di grandezza all'incirca uguale (LEVI); e così pure le cellule epiteliali e ossee di giganti e di nani. Invece alcuni tipi di cellule (fibre muscolari striate, cellule nervose, (fibre del cristallino?)) si presentano di grandezza diversa sia in animali di diversa specie, sia in animali di una stessa specie, ma di diversa mole somatica.

Il confronto fra cellule nervose omologhe di animali

di mole somatica diversa pervise a LEVI ed ai suoi collaboratori di constatare che negli animali di maggior mole la grandezza delle cellule nervose è maggiore che negli animali più piccoli (LEVI, TERNI, BUCCIANTE). Queste ricerche, svolte su gran numero di specie di vertebrati, furono confermate negli invertebrati (Crostacei, Molluschi) da ENRIQUES e DA CONKLIN.

Fu inoltre rilevato che anche in individui di una stessa specie, ma di diversa mole somatica, le cellule nervose sono più grandi nei soggetti di maggior mole (LEVI, CONKLIN).

Questi fatti trovano riscontro nel comportamento della grandezza delle cellule nervose durante il periodo dell'accrescimento.

Da MORFURGO e TIRELLI fu dimostrato che il numero delle cellule nervose dei gangli spinali di coniglio cessa di aumentare in un periodo molto precoce dello sviluppo (feto di 4 cm.); e questa precoce fissità del numero delle cellule nervose fu in seguito confermata in numerosi altri animali da S. HATAI e da molti altri AA.

Dal momento in cui cessa l'aumento numerico degli elementi nervosi, si inizia il loro accrescimento in volume: le modalità e l'entità di questo accrescimento furono studiate per primo da LEVI, che ne esaminò i rapporti con l'accrescimento del corpo e cercò di stabilirne le cause. Con ricerche su varie specie di vertebrati, questo A. constatò che durante lo sviluppo il volume medio delle cellule nervose (cellule dei gangli spinali) cresce parallelamente alla mole somatica, dapprima in misura maggiore durante la vita fetale: nella vita postnatale l'accrescimento delle cellule nervose si rallenta.

BUSACCA studiò ulteriormente le modalità dell'accrescimento delle cellule dei gangli spinali in rapporto all'accrescimento somatico: sui gangli di *Sus scrofa* e anche su quelli di uomo egli constatò che il volume delle cellule gangliari cresce, dapprima molto rapidamente, in misura maggiore che il peso del corpo; in seguito tale accrescimento si svolge sempre più lentamente fino a raggiungere valori minimi negli stadi più avanzati di sviluppo.

Da tutte queste ricerche risulta adunque che aumento del volume dei neuroni e accrescimento somatico stanno sicuramente in rapporto fra loro, pur senza che esista sempre una relazione di proporzionalità fra i due fenomeni. In questo stesso senso parlano le ricerche di DONALDSON e NAGASAKA, di KENJI HITTONO, di CHI PING, di OLIVO e GAGLIANO, di DELORENZI, ecc.-

Il movente dell'aumento di volume delle cellule nervose durante l'accrescimento è stato da LEVI riferito alla precoce cessazione dei fenomeni di divisione cellulare, mentre continua ancora a lungo il progressivo aumento di volume del soma ("elementi perenni" sec. BIZZOZERO) (1); viene così ad aumentare l'estensione del territorio di in-

(1) Da ricerche di CLARA risulterebbe che le cellule epatiche, abitualmente considerate come "elementi stabili", avrebbero la proprietà di aumentare di volume dopo la nascita, per quanto il loro accrescimento numerico continui fino al termine dell'accrescimento: l'aumento di volume non è però mai in rapporto con l'accrescimento del soma. D'altronde tale aumento di volume sarebbe, secondo LEVI, dovuto ad accumulo di paraplasma (grasso, glicogeno, ecc.).

nervazione periferica delle singole cellule nervose, e queste assumono una grandezza proporzionale all'estensione di tale territorio. La grandezza delle cellule nervose è in altre parole funzione della superficie da esse innervata: ci si rende così ragione delle differenze che cellule nervose omologhe presentano sia in animali di diversa mole, sia in animali in diverso stadio di accrescimento.

Il meccanismo dell'influenza dell'estensione del territorio di distribuzione sulla grandezza della cellula nervosa viene spiegato con l'ipotesi di VERWORN, secondo la quale gli eccitamenti imprimono nei neuroni delle tracce materiali, quantitativamente diverse a seconda dell'estensione e dalla molteplicità delle connessioni dei singoli neuroni: ciascun elemento cresce proporzionalmente al numero degli eccitamenti che esso riceve.

Conferme di questo modo di vedere si sono avute per varie vie: secondo DONALDSON e NAGASAKA, ad es., nel ratto albino durante il primo anno di vita extrauterina il volume delle cellule dei gangli spinali crescerebbe nelle

stesso grado che la superficie del corpo.

Più notevole è il fatto messo in luce da TERNI in quello che si potrebbe definire un esperimento della natura, vale a dire nella rigenerazione della coda dei Sauri (*Lacerta*, *Gondylus*) dopo mutilazione. L'A. osservò che l'innervazione della coda rigenerata è tutta a spese delle ultime tre paia di nervi spinali posti cranialmente al punto della lesione: orbene, le cellule dei gangli corrispondenti, i cui cilindrassi han dato luogo a una ramificazione periferica molto più estesa di quelle primitive, "... aumentano considerevolmente di volume, sì da divenire le più grandi cellule gangliari dell'organismo a cui appartengono, mentre erano originariamente ... fra le più piccole" (2).

(2) Parallelamente all'aumento di volume dei corpi cellulari, avviene negli elementi dei gangli sensitivi e simpatici di animali di grossa mole un'altra modificazione, di cui desidero far breve cenno: si tratta della comparsa, alla periferia del pirenoforo, di espansioni dette "parafiti", che si presentano in varia forma: lobi con tozzo peduncolo, fibre con clava terminale, apparato fenestrato. Queste



Se si riprendono in esame i risultati delle ricerche di LEVI e di BUSACCA sui rapporti fra accrescimento del soma e delle cellule nervose, si vede però che i due fenomeni, pur procedendo in modo parallelo, secondo tipiche "curve sigmoidi" (curve di ROBERTSON), non si svolgono in maniera identica l'uno all'altro.

formazioni, malgrado le differenze di forma, si producono con un meccanismo comune, e debbono esser considerate come "parti del protoplasma proiettate a distanza dal pirenoforo" (LEVI).

Data la loro presenza esclusiva negli animali di gran mole, è inverosimile attribuire a queste formazioni una funzione specifica di ricezione degli eccitamenti. E' più ovvio pensare con LEVI che le propaggini in questione siano espressione di un adattamento del corpo del neurone all'aumentato volume: Se il pirenoforo mantenesse la forma sferica, coll'aumento della massa protoplasmatica la superficie cellulare diverrebbe a un certo punto insufficiente all'esplicazione degli scambi del metabolismo (legge di SPENCER); a questo punto l'ulteriore accrescimento della cellula, manifestandosi colla formazione di parafitti, fa sì che la superficie cellulare diventi più estesa.

Maggior luce su questo e su altri punti fu portata dalle recenti ricerche di OLIVO, PORTA e BARBERIS; questi A.A. studiarono la grandezza delle cellule dei gangli spinali di pollo dal 6° giorno di vita embrionale fino ad oltre il primo anno di età. Misurando gran numero di cellule in ciascun caso, essi presero in esame, oltre al volume medio delle cellule gangliari, il volume delle singole classi di cellule di diversa grandezza e la variabilità della grandezza cellulare in ogni età, costruendo per ogni caso il poligono di frequenza delle grandezze cellulari. I principali risultati a cui essi giunsero sono i seguenti:

1°) - la grandezza delle cellule dei gangli spinali presenta sempre una tipica variabilità fluttuante continua, graficamente rappresentata da poligoni riportabili a curve quasi binomiali. L'ampiezza di questa variabilità aumenta con l'età fino ad un certo momento, per il differente accrescimento delle varie cellule, non perchè l'accrescimento sia limitato ad una certa categoria di cellule.

2°) - L'accrescimento delle cellule nervose procede, secondo la legge di LEVI, in modo simile all'accrescimen-

to corporeo. Gli A.A. però affermano che non si può parlare di una proporzionalità diretta fra volume delle cellule gangliari e superficie corporea: l'accrescimento delle cellule gangliari precede quello del corpo, e diventa minore di questo a un certo momento della vita postnatale. Una apparente proporzionalità si ha bensì in certi periodi di sviluppo, ma in via puramente accidentale (così si spiegherebbero i risultati apparentemente discordi di DONALDSON e NAGASAKA e di BUSACCA). Poichè non si può supporre che si abbia una carenza di sostanza nervosa durante gran parte della vita, deve ammettersi una esuberanza di tessuto nervoso nei primi stadi di sviluppo. Si avrebbe così una eterocronia nell'accrescimento delle cellule nervose in confronto a quelle del corpo, come del resto è noto avverarsi anche nell'accrescimento ponderale di varie parti del sistema nervoso.

I risultati di OLIVO, PORTA e BARBERIS, che trovano riscontro in quelle di DELORENZI sul ganglio cervicale superiore di uomo e di altri mammiferi, furono recentemente confermati da RONDININI (*Mus musculus*) e da PILATI (Uomo).

Noi vediamo adunque che l'accrescimento delle cellule nervose, che è certamente legato all'accrescimento del soma, si svolge però entro certi limiti con una certa autonomia, così da far pensare che le cellule gangliari si accrescano durante l'ontogenesi almeno in parte all'infuori delle immediate esigenze funzionali. Ora si presenta il problema; come si comporta la grandezza delle cellule nervose, quando l'accrescimento del corpo viene artificialmente da cause esterne influenzato nel senso di un arresto o di un rallentamento ?



2. INFLUENZE ESTERNE SULL'ACCRESIMENTO DEL SOMA E DEI VARI ORGANI.

E' noto che numerose influenze di agenti esterni possono esercitare sugli organismi giovani un'azione inibitrice dell'accrescimento somatico; è limite a ricordare a questo proposito alcuni esempi fra i più notevoli.

Le esperienze di GUDERNATSCH dapprima, poi di GOTRO-

NEI, GIACOMINI, ROMELS, ecc. han dimostrato che, se si somministra a girini di rana della tiroide o degli estratti tiroidei, i girini compiono la metamorfosi larvale in un'epoca molte anticipata, e le loro dimensioni al momento della metamorfosi sono notevolmente più ridotte di quelle dei girini allevati senza somministrazione di tiroide. Nello stesso tempo adunque che si ottiene un acceleramento dello sviluppo (inteso come differenziazione morfologica), si ha pure un arresto dell'accrescimento (aumento della massa corporea).

In campo diverso, interessanti sono i risultati ottenuti con la ipocalimentazione di animali (cani, ratti, vitelli) in corso di accrescimento. ARON dapprima, in seguito JACKSON, ARON e GRALKA, WATERS, STEKART, ecc., e recentemente GUASTALLA e RIGOLETTI, osservarono che si può ottenere con questo mezzo un notevole rallentamento, che può giungere fino al totale arresto, dell'accrescimento del peso corporeo (animali a peso costante). Questo risultato si ottiene quando l'alimento somministrato, pur essendo qualitativamente completo, viene ridotto alla minima ra-

zione alimentare necessaria alla vita ("Erhaltungsbedarf" secondo ARON).

L'arresto di accrescimento che i vari fattori possono indurre negli animali si ripercuote generalmente su quasi tutti gli organi e sistemi; però, come nell'accrescimento normale si ha talvolta una eterocronia fra l'accrescimento di parti diverse, così anche qui si hanno delle differenze fra il modo di comportarsi dei vari organi di fronte allo stimolo inibitore dell'accrescimento, così che si producono degli squilibri nelle normali proporzioni delle varie parti dell'organismo.

Ad esempio, nel caso per primo citato dei girini di Anuri nutriti con tiroide, COTRONEI prima, quindi ROMELIS, constatarono la presenza di varie sproporzioni nelle larve sottoposte al trattamento: COTRONEI anzi fa risalire a casi di eccessiva sproporzione fra i vari organi la causa della morte precoce di gran parte delle larve sottoposte all'esperimento, per la perdita di quel minimo di armonia strutturale necessaria allo svolgersi della vita degli organismi complessi.

Per ciò che si riferisce all'arresto di accrescimento che si può provocare con la ipocalimentazione nei mammiferi; anche qui si nota un diverso comportamento dei vari organi di fronte al diminuito apporto di materiale nutrizio. Già ARON e GRALKA sui cani e ratti, e WATERS sui vitelli, osservarono che scheletro e cervello continuano a crescere malgrado la costanza del peso dell'animale: si modificano le fattezze del corpo, e gli animali presentano un aspetto più slanciato dei normali. Esiste inoltre una maggior ricchezza d'acqua sia nell'organismo in toto che in alcuni organi (cervello).

JACKSON, con una serie numerosa di esperienze su ratti albinici, confermate dalle ricerche di STEWART, è giunto alla conclusione che si possono distinguere vari tipi di organi: alcuni continuano a crescere di peso malgrado la costanza del peso dell'animale (p. es. midollo spinale, ipofisi); altri mantengono il loro peso costante (p. es. cervello); altri organi infine diminuiscono di peso (timo, milza, ecc.). Notò inoltre, cosa del resto abbastanza ovvia, notevoli differenze nel comportamento dei diversi or-

gani a seconda dello stadio di sviluppo raggiunto dall'animale all'inizio dell'esperimento.

Analoghe constatazioni, specie per ciò che si riferisce all'accrescimento dello scheletro malgrado la ipocalcemia, furono fatte su bambini e lattanti da CAMERER ed altri, per quanto su questo punto di patologia umana non manchino osservazioni discordanti.

Esperimenti di ipocalcemia prolungata di ratti albini, recentissimamente pubblicati da GUASTALLA e RIGOLETTI, han condotto questi AA/ a conclusioni in massima parte concordanti con quelle di JACKSON; soltanto, il cervello crescerebbe di peso come nei ratti normali; e lo scheletro, dopo un periodo di accrescimento rallentato, più tardi cesserebbe del tutto di crescere. Secondo gli A.A. certi organi sarebbero predestinati ad un certo accrescimento, senza rapporto diretto con le esigenze funzionali dell'individuo.

Ora, come abbiamo visto precedentemente, l'accrescimento di volume delle cellule nervose è certamente legato all'accrescimento della mole somatica, ma sembra possa svol-

gersi, almeno in certi periodi di sviluppo, all'infuori delle immediate esigenze funzionali.

E' evidente dunque l'interesse che presenta lo studio della grandezza dei pirofori neuronici degli animali ad accrescimento arrestato, per decidere quanta sia realmente l'influenza immediata che sul volume delle cellule nervose esercita l'estensione del territorio di innervazione.

Questo il problema che mi sono proposto di studiare, misurando le cellule dei gangli spinali di ratti albini, di cui avevo arrestato o rallentato l'accrescimento per mezzo della ipocalimentazione.

RICERCHE PERSONALIMATERIALE E TECNICA

I miei esperimenti di ipocalimentazione furono iniziati quando gli animali avevano 35 e 40 giorni di età: sarebbe stato preferibile iniziare gli esperimenti in un periodo molto precoce, vale a dire alla nascita; ma è noto (JACKSON) che è ben difficile che animali, tenuti a dieta ridotta nei primi giorni di vita, sopravvivano per il tempo necessario al prodursi di un sufficiente divario di peso con i controlli.

Gli esperimenti eseguiti e portati a termine furono tre, su altrettante coppie di ratti albini, costituite ciascuna di due ratti appartenenti alla stessa nidiata, dello stesso sesso e di peso inizialmente uguale. La dieta era costituita per tutti gli animali di pane e lattuga, inoltre ogni soggetto ricevette quotidianamente una goccia di olio di fegato di merluzzo, per evitare la distrofia rachitica, non infrequente in questa specie ani-

male. (I.)

Dei due ratti formanti ciascuna coppia, mentre l'uno ricevette alimento a volontà, l'altro ne ebbe una quantità tale da provocare un arresto o almeno un notevole rallentamento dell'accrescimento ponderale: tale quantità dovette essere fissata di volta in volta, seguendo il procedere dell'esperimento con pesate giornaliere ad ora fissa ed a determinata distanza dalla somministrazione degli alimenti. Non è inutile che io ricordi alcuni fatti:

1) le dosi medie giornaliere di pane, necessarie per l'arresto di sviluppo, variarono da 3 a 4 g., fissa restando la quantità di 2-3 g. di lattuga; 2) le dosi che agiscono in un primo tempo devono in seguito venire ridotte, avendosi altrimenti un aumento di peso, dovuto forse a migliore utilizzazione delle piccole quantità di alimento somministrato (tale fatto era stato già osservato da GUASTALLA e RIGOLETTI); 3) per poter prolungare la vita degli animali iponutriti per il tempo necessario a creare un sufficiente divario di peso con l'animale di controllo

(I.) GUASTALLA e RIGOLETTI constatarono che la ipocalimentazione non è per sé stessa causa né fattore di rachitismo. -

lo, si devono dopo qualche tempo permettere degli aumenti di peso sia pur lievi, fatto questo già notato da altri AA. (ARON, JACKSON).

Gli animali delle varie coppie nutriti normalmente crebbero in modo regolare e servirono per controllo.

La durata degli esperimenti fu in un caso di 40 giorni, negli altri due di circa 3 mesi (rispettivamente 85 e 90 giorni).

I due ratti di ogni coppia vennero sacrificati in pari tempo. Dopo uccisione mediante dissanguamento, alcuni gangli spinali, naturalmente gli stessi per entrambi gli animali di ciascuna coppia, furono prelevati, fissati in liquido di RAHL (sublimato e acido picrico in soluzioni saturate ana) e inclusi in celloidine, procedimento che evita del tutto e sicuramente la retrazione delle cellule.

Sezioni seriali di 15 μ e colorazione con blu acido di alizarina.

In un certo numero di sezioni equidistanti non consecutive di ciascun ganglio misurai tutte le cellule presentanti nella sezione il nucleo coi nucleoli, avendo co-

si la probabilità di misurare gli elementi colpiti in corrispondenza del loro massimo diametro. Le cause di errore, che possono derivare sia dalla forma ellissoidale delle cellule che dalla posizione eccentrica del nucleo, si presentano ugualmente probabili in tutti i casi, per le cellule dei ratti sottoposti all'esperimento come per quelle dei controlli: si può pertanto presumere che gli eventuali errori si compensino.

Di ogni cellula si misurarono i diametri massimo e minimo; dalla media aritmetica fra questi due valori si calcolò il volume, considerando le cellule come sferiche. Di ogni ganglio misurai almeno 1000 cellule, raggruppandole in classi con una progressiva differenza di diametro medio di μ 1,35. Per questa seriazione delle classi mi servii dei diametri anzichè dei volumi, perchè, essendo questa la misura lineare realmente misurata, resta possibile la distribuzione delle classi in serie aritmetica.

Il numero di cellule trovate per ogni classe fu riportato a un totale di 1000, ottenendo così la frequenza per mille delle cellule delle singole classi.

Con questi dati costruii per ciascuno dei gangli studiati il poligono di frequenza delle grandezze cellulari, riportando i diametri sull'asse delle ascisse e i numeri corrispondenti di cellule sull'asse delle ordinate.

Calcolai inoltre il diametro medio (e quindi il volume medio) della cellula gangliare di ogni singolo ganglio, dividendo per il numero di cellule la somma dei diametri (rispett. volumi) di tutte le cellule misurate.

Infine, dalla coppia di ratti del secondo esperimento, allestii ed esaminai alcuni preparati di fegato e rene.

ESPOSIZIONE DEI RISULTATI.

Gli esperimenti eseguiti furono tre, su altrettante coppie di ratti albini.

I coppia - L'esperienza fu iniziata quando i ratti avevano 40 giorni di età e pesavano 35 g. Gli animali furono sacrificati dopo 40 giorni: l'animale tenuto a dieta ri-

TABELLA I

VOLUME DELLE CELLULE GANGLIARI.

		Volume in μ^3	
		Esperimento (peso g. 35)	Controllo (peso g. 65)
a) Prima coppia			
II ganglio spinale cervicale sinistro	Volume medio	2400	5400
	Cellule piú grandi	32000	60000
	Cellule piú piccole	440	660
III ganglio spinale cervicale sinistro	Volume medio	2800	5900
	Cellule piú grandi	36000	30000
	Cellule piú piccole	280	950
b) Seconda coppia		Esperimento (peso gr. 39)	Controllo (peso g. 120)
II ganglio spinale cervicale destro	Volume medio	7100	12500
	Cellule piú grandi	65000	76000
	Cellule piú piccole	660	950
VI ganglio spinale cervicale destro	Volume medio	6400	13000
	Cellule piú grandi	46000	117000
	Cellule piú piccole	660	1300
I ganglio spinale toracico sinistro	Volume medio	5300	13800
	Cellule piú grandi	46000	96000
	Cellule piú piccole	950	950
c) Terza coppia		Esperimento (peso g. 50)	Controllo (peso g. 120)
VII ganglio spinale cervicale sinistro	Volume medio	8000	12500
	Cellule piú grandi	60000	109000
	Cellule piú piccole	950	950
VIII ganglio spinale cervicale destro	Volume medio	6800	11500
	Cellule piú grandi	46000	117000
	Cellule piú piccole	950	950

dotta aveva mantenuto il peso iniziale (35 g.) con variazioni in più o in meno fino a 2 g. L'animale di controllo pesava 65 g.

I risultati ottenuti dalla misurazione delle cellule gangliari del II e del III ganglio cervicale sinistro sono riportati nelle tabelle I°, a) e II°, a). Figure 1 e 2.

II coppia - L'esperienza, iniziata al 35° giorno di età, quando i due ratti pesavano 20 g., si prolungò per 90 giorni, in capo ai quali l'animale normale pesava 124 g., mentre quello tenuto a dieta ridotta pesava 39 g., era cioè cresciuto sì, ma in misura molto minore che non il controllo.

I gangli spinali esaminati furono tre (II° cervicale destro, VI cervicale destro, I toracico sinistro), e i risultati son riportati nelle tab. I, b) e II, b). Figure 3, 4 e 5.

III coppia - L'esperienza, iniziata all'età di 40 giorni, col peso iniziale di 32 g., si protrasse per 85 giorni; gli animali raggiunsero rispettivamente il peso di 50 e 120 g. (tab. I, c) e II, c)). Figure 6 e 7.

I gangli esaminati furono tre; di uno di questi però (VI cervicale sinistro), misurai soltanto meno di 500 cellule, e i risultati furono talmente diversi da quelli ottenuti sugli altri gangli (VII cerv. sin. e VIII cerv. destro), da farmi supporre che il numero di cellule misurate fosse troppo scarso per dare risultati esatti. Ciò dimostra la necessità di misurare gran numero di cellule per ottenere risultati probativi.

29,7	31,05	32,4	33,75	35,1	36,45	37,8	39,15	40,5	41,85	43,2	44,55	45,9	47,25	48,6	49,95	51,3	52,65	54	55,35	56,7	58,05	59,4	60,75	Diam. medio 18/2
9	3	1		1	1		1																	16,6
39	29	27	32	23	14	12	5	5	5	2	2		1	1										21,8
12	7	9	6	5	6	2	2	2																17,5
9	23	32	31	22	18	8	4	7	1															22,4
40	34	28	32	26	28	12	10	5	2	3	3	4	4	2	2									23,7
55	52	35	35	32	41	26	16	19	26	21	17	20	9	8	5	1	1							28,8
46	49	43	25	25	11	14	10	6	8	3	2													23
41	42	41	37	35	32	40	22	27	23	23	23	10	9	12	10	2	2	3	1	2	1		1	29,2
23	34	33	19	11	14	9	7	4	1	1	1													21,7
40	28	36	34	30	38	27	29	21	33	33	31	19	13	14	8	10	4	4	1	2				29,9
47	43	43	34	42	18	22	10	10	10	8	6	3	2	2										24,8
45	34	39	44	35	37	24	26	24	22	22	18	12	10	7	5	2	2	4	2	1		1		29
8	19	26	20	17	19	8	14	11	12	7	4													23,5
50	42	57	56	50	40	28	30	23	12	9	8	7	5	1	2		1	1				1	1	28

Come si vede dall'esame dei dati riferiti nelle tabelle, i risultati ottenuti nelle tre coppie di animali studiate sono a grandi linee fra loro concordanti: posso così brevemente esporli.

Per quel che riguarda il volume delle cellule gangliari (Tab. I), bisogna tener conto sia del volume medio che dei valori estremi, vale a dire del volume delle cellule più grandi e di quelle più piccole. Il volume medio delle cellule gangliari è sempre, in tutti i casi e in tutti i gangli, molto minore negli animali ad accrescimento arrestato che negli animali normali: questo dato è di importanza fondamentale, poichè dimostra che, nell'animale ad accrescimento arrestato, la quantità assoluta di protoplasma neuronico è minore che nell'animale normale, così come minore è nel primo la massa corporea.

Così pure è minore nei ratti ipocalimentati il volume delle cellule gangliari di massima grandezza; la differenza è di entità più o meno rilevante nei vari gangli, ma data la scarsità di queste cellule (1-2 %/cc) è possi-

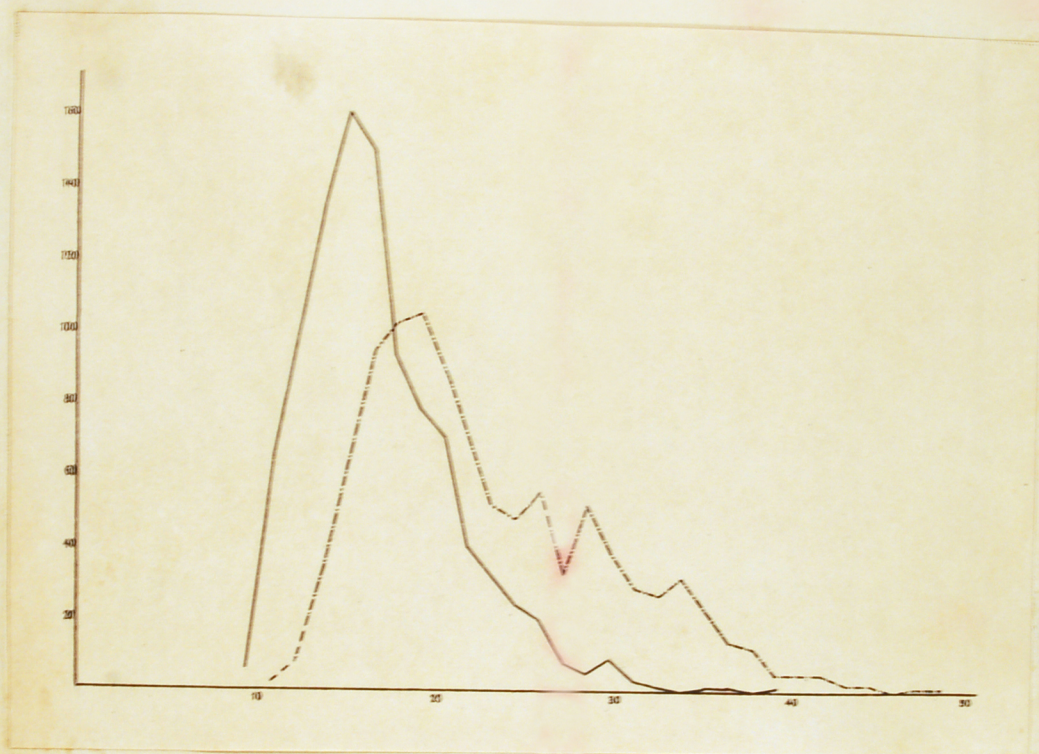


FIG. 1 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del II ganglio cervicale sinistro dei due ratti della prima coppia. Linea continua: animale ad accrescimento arrestato; linea tratteggiata: animale normale. Sull'ascissa: diametri medi in μ . Sull'ordinata: frequenza di cellule per 1000.

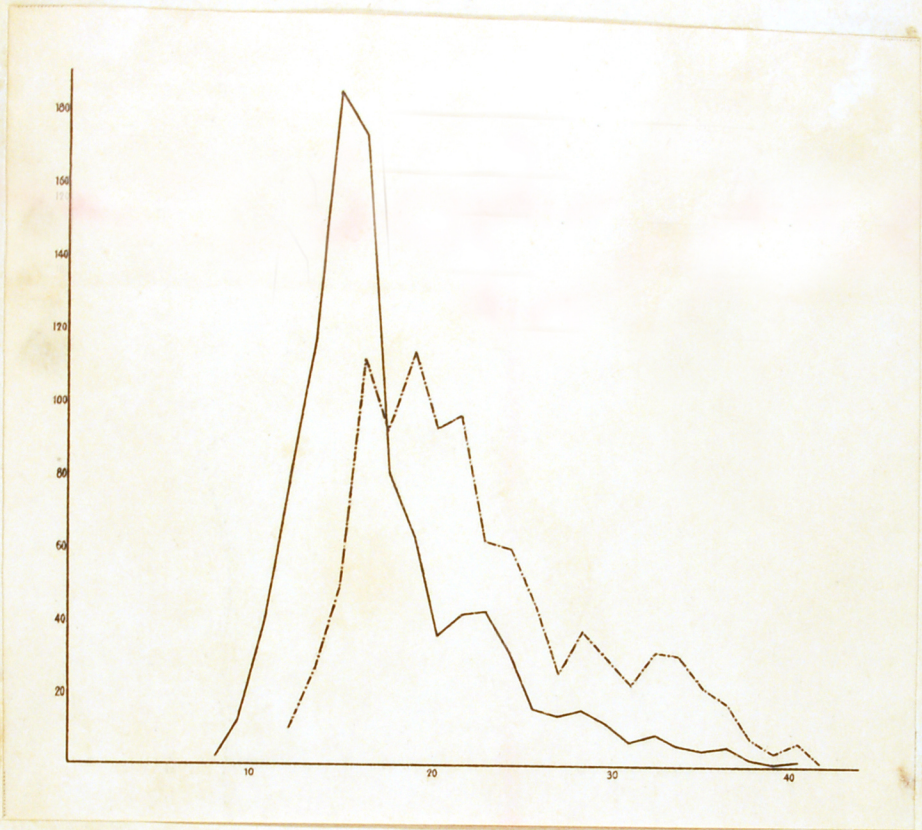


FIG. 2 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del III ganglio cervicale sinistro dei due ratti della prima coppia. (V. fig. 1).

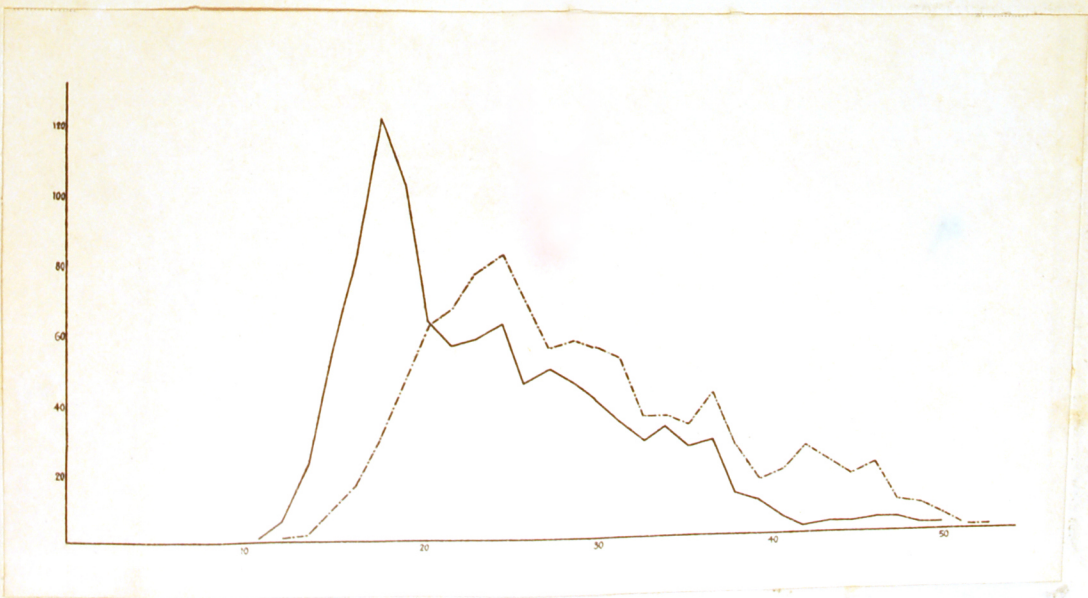


FIG. 3 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del II ganglio cervicale destro dei due ratti della seconda coppia. (V. Fig. 1).

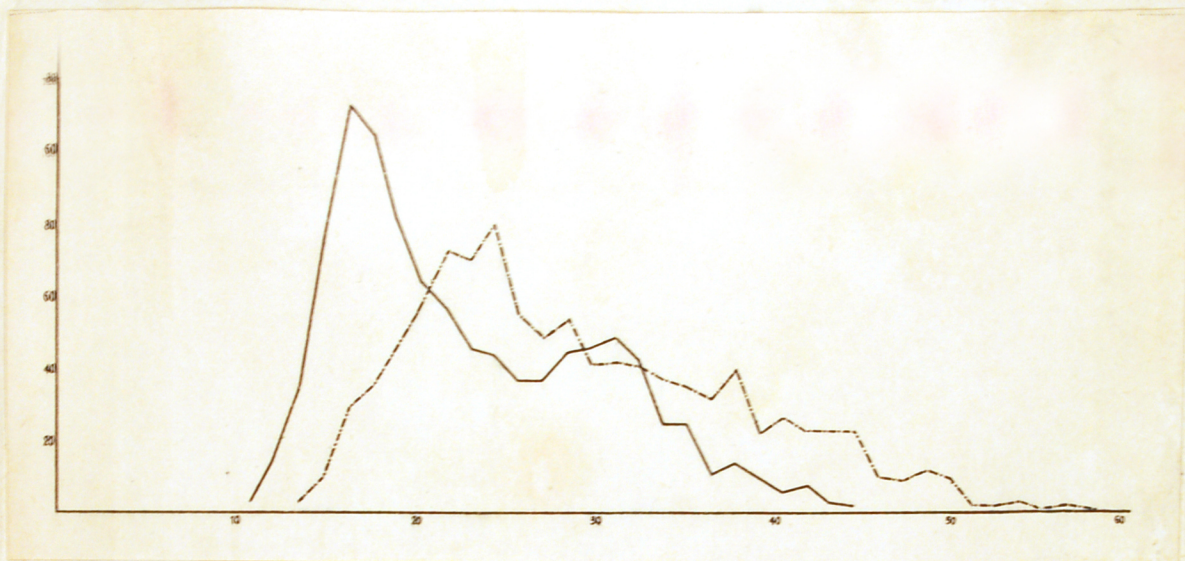


FIG. 4 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del VI ganglio cervicale destro dei due ratti della seconda coppia. (V. Fig. 1).

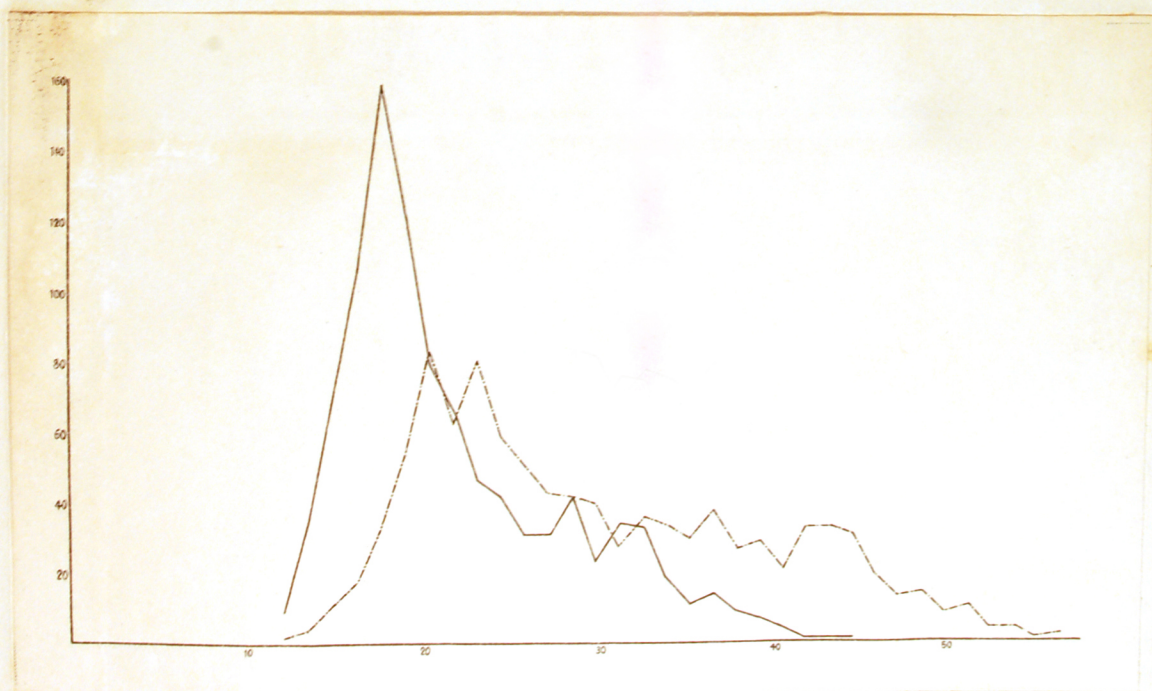


FIG. 5 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del I ganglio toracico sinistro dei due ratti della seconda coppia. (V. Fig. 1).

bile che talvolta qualche grossa cellula possa essere sfuggita alla misurazione, per avere il nucleo in una sezione non esaminata.

Le cellule più piccole sono talvolta di volume minore negli animali ad accrescimento arrestato, talvolta invece hanno la stessa grandezza in entrambi gli animali di ciascuna coppia (non esistono però mai nei ratti normali cellule gangliari più piccole di quelle minime dei ratti ipoplasici). Le cellule più piccole sono nei ratti ad accrescimento arrestato sempre più numerose che in quelli normali.

Quanto alla distribuzione delle cellule nelle varie classi di diametro progressivamente crescente (vedi Tabella II), si nota anzitutto che, sia negli animali ad accrescimento arrestato che in quelli normali, la grandezza delle cellule gangliari presenta una variabilità fluttuante continua, che ha la sua espressione grafica in poligoni di frequenza riportabili a curve quasi binomiali (figure 1-7).

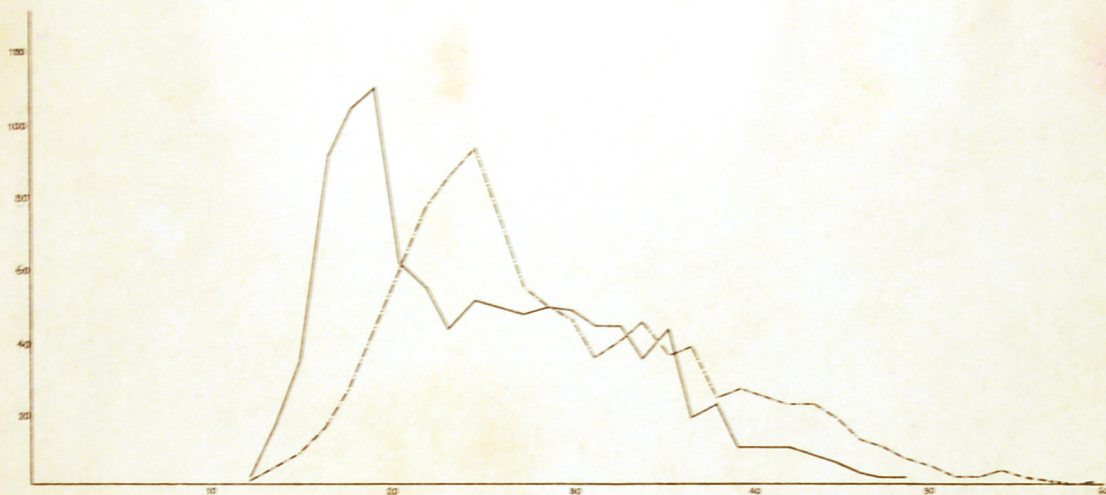


FIG. 6 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del VII ganglio spinale cervicale sinistro dei due ratti della terza coppia (V. Fig. 1).

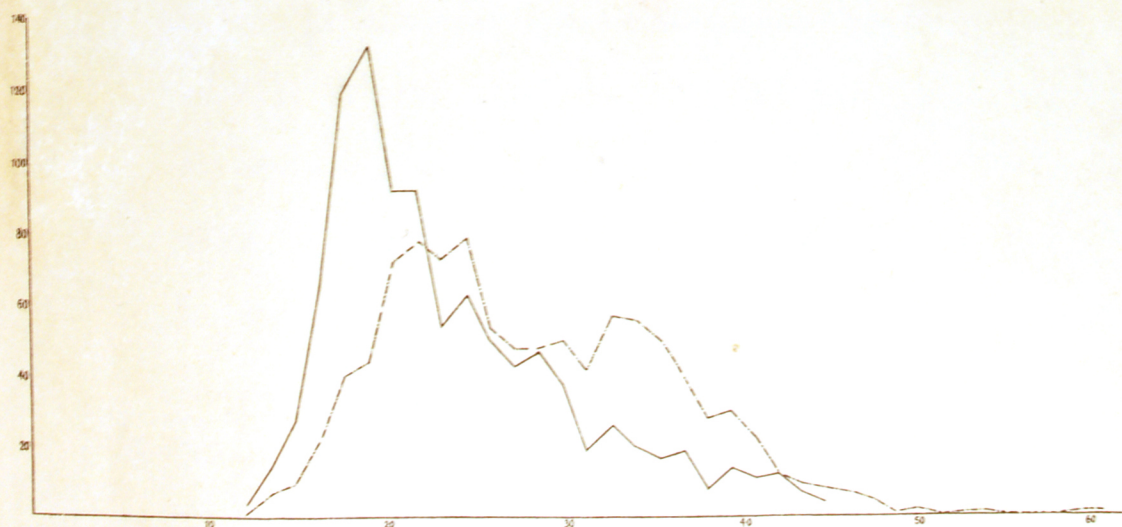


FIG. 7 - Poligoni di frequenza delle cellule gangliari di differente grandezza del VIII ganglio cervicale destro dei due ratti della terza coppia. (V. Fig. 1).

I poligoni di frequenza che si riferiscono ai gangli di ratti ad accrescimento arrestato si presentano, in confronto a quelli dei ratti normali, spostati complessivamente a sinistra, vale a dire verso i valori bassi dei diametri cellulari; il che corrisponde al comportamento sopra constatato del volume medio delle cellule. Inoltre la classe di cellule più numerosa (vertice del poligono) è nei primi composta da maggior numero di cellule, e minore è la differenza fra i valori estremi (base del poligono): questi dati significano che la variabilità della grandezza delle cellule gangliari è minore negli animali ipocalimentati che in quelli regolarmente cresciuti.

RELAZIONE FRA VOLUME DELLE CELLULE GANGLIARI E SUPERFICIE
CORPOREA.

Più sopra ho ricordato che il volume delle cellule nervose è in diretto rapporto con il loro territorio di innervazione, e quindi con l'estensione della superficie del corpo. Per di più abbiamo visto che, secondo le ricerche di DONALDSON e HAGASAKA, esisterebbe nel ratto albino, durante il primo anno di vita extrauterina, una proporzionalità diretta fra superficie corporea e volume medio delle cellule gangliari.

Mi è parso opportuno studiare se questa proporzionalità sussista o meno negli animali ad accrescimento arrestato o rallentato. A tale scopo ho calcolato da un lato il rapporto fra i volumi medi delle cellule di ogni paio di gangli corrispondenti dei due animali di ciascuna coppia; d'altro lato ho calcolato il rapporto fra le superficie corporee dei due animali di ciascuna coppia. Tale superficie fu considerata come proporzionale alla radice cubica del quadrato del peso, secondo la formula

classica di Mech: $E = k \sqrt[3]{P^2}$ (X).

I rapporti fra le superfici corporee e quelli fra i volumi medi delle cellule gangliari sono riportati nella Tabella III.

TABELLA III.

Rapporti fra superfici corporee e volumi cellulari.

	Rapporto fra le superfici corporee (1)		Rapporto fra i volumi medi delle cellule gangliari (2)		
	P_C^2	P_E^2	$V_C : V_E$		
I coppia	1,5		II g. cerv. s.	III g. cerv. s.	—
			2,2	2,1	—
II "	2,1		II g. cerv. d.	VI g. cerv. d.	I g. tor. s.
			1,8	2,3	2,1
III "	1,75		VII g. cerv. s.	VIII g. cerv. d.	—
			1,6	1,7	—

- (1) P_C = peso del ratto di controllo; P_E = peso del ratto sottoposto all'esperimento;
 (2) V_C = volume medio delle cellule del ganglio del ratto di controllo;
 V_E = volume medio delle cellule del ganglio del ratto sottoposto all'esperimento.

(X) È bensì noto che la presunta costante k non è in realtà tale, variando il suo valore, oltre che nelle diverse specie animali, anche in animali della stessa specie, se di età e mole son, diversa. Poiché però queste ultime differenze sono notoriamente poco rilevanti, la formula può venire applicata, qualora non si richieda al calcolo che una discreta approssimazione.

Come risulta da questi dati, negli animali del secondo e del terzo esperimento la proporzionalità fra superficie somatista e volume delle cellule gangliari appare conservata, poichè i rapporti fra i valori riferentisi ai due animali di ciascuna coppia sono abbastanza vicini; le differenze, di piccola entità, sono tali da rientrare nella probabilità di errore da causa tecnica.

Nel primo esperimento, quello che ebbe durata minore, la proporzionalità non è altrettanto manifesta: la grandezza delle cellule gangliari dell'animale ad accrescimento arrestato risulta minore di quanto comporterebbe la supposta proporzionalità con la superficie del corpo.

A questo riguardo però meritano di esser tenuti presenti alcuni fatti; prima di tutto, in animali in cui si ha una più o meno notevole disarmonia di sviluppo fra le varie parti del corpo (ARON, JACKSON, STEWART, GUASTALLA e RIGOLETTI, vedi sopra), il calcolo della superficie corporea con la formula di Meck può essere causa di errori non del tutto trascurabili; in secondo luogo, già ARON ed altri constatarono che gli animali ad accresci-

mento arrestato o rallentato contengono nell'organismo una quantità percentuale di acqua molto superiore a quella degli animali normali: quest'acqua, che almeno in parte starebbe a sostituire il grasso scomparso, deve essere certo suscettibile di variazioni quantitative da caso a caso, variazioni che potranno essere tanto più estese nei primi periodi dell'esperimento, e che si ripercuoteranno naturalmente sul peso del soggetto.

In conclusione, malgrado i risultati non del tutto concordi, basandomi principalmente sui risultati dei due esperimenti di maggior durata, sarei portato a credere che, almeno entro certi limiti, la proporzionalità fra volume delle cellule gangliari e superficie corporea possa considerarsi esistente anche nei ratti ad accrescimento arrestato o rallentato.

. ° .



FIG. 8 - Microfotografia di una sezione del I ganglio toracico sinistro di un ratto ad accrescimento arrestato (seconda coppia) - Ingrand. 290 x .

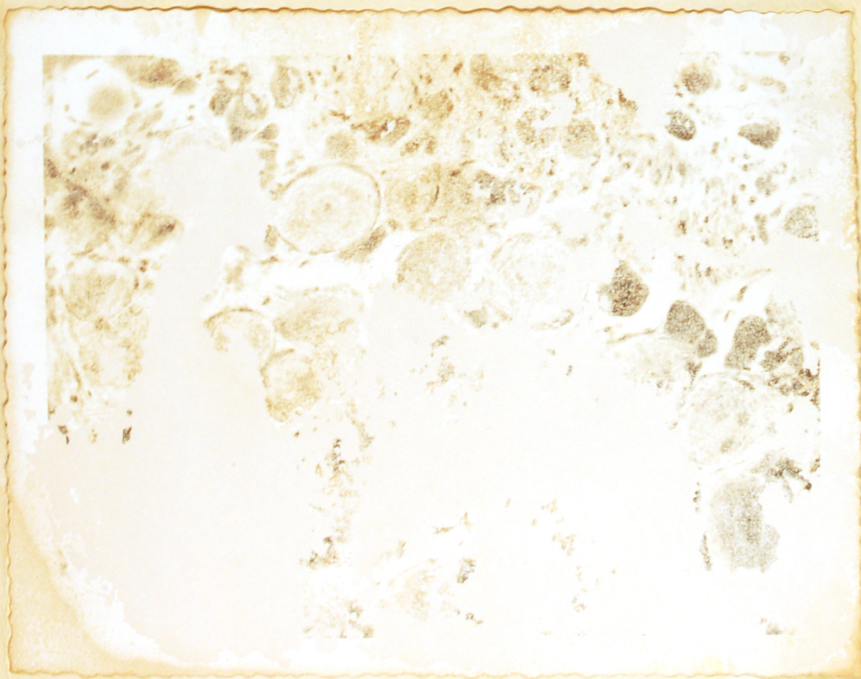


FIG. 9 - Microfotografia di una sezione del I ganglio toracico sinistro del ratto normale della seconda coppia (vedi fig.8). Ingrand. 290x.

STRUTTURA DEI GANGLI SPINALI.

Se si confrontano sezioni di gangli spinali dei ratti ad accrescimento arrestato e di quelli normali di controllo (figg. 8 e 9) si rileva innanzi tutto la imponente differenza di grandezza media degli elementi nervosi. Inoltre, nei gangli di ratti normali, si nota la presenza di maggior quantità di tessuto connettivo; le cellule nervose appaiono più stipate nei gangli degli animali ipoplasiaci, così che l'aspetto dei gangli è simile a quello che si riscontra in animali normali più giovani. Per quanto riguarda la struttura delle cellule nervose, essa appare negli animali ad accrescimento arrestato perfettamente normale; mancano qui totalmente quelle alterazioni (diminuzione della sostanza tigroide, alterazione di colorabilità, ecc.) che sono state descritte, se pure non concordemente, nelle cellule nervose di animali digiunanti.

° °

Dalla coppia di ratti del secondo esperimento allestiti ed esaminati alcuni preparati di fegato e di rene. Pur non

avendo praticato metodiche misurazioni, posso, dall'esame complessivo accurato, affermare che gli elementi cellulari specifici di questi organi si presentano all'incirca della stessa grandezza nell'animale ad accrescimento arrestato ed in quello normalmente cresciuto.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI.

Da quanto abbiamo visto, emerge quale fatto più notevole la costante minor grandezza delle cellule dei gangli spinali dei ratti ad accrescimento arrestato in confronto a quelle dei gangli dei ratti normalmente cresciuti.

Se ora noi teniamo presenti i risultati delle ricerche di OLIVO, PORTA e BARBERIS e quelli di R. BONDININI, ottenuti colla misurazione delle cellule gangliari di animali (pollo, topolino) in diversi stadi di sviluppo, ci si rende manifesto che i valori da me trovati negli animali ad accrescimento arrestato, in confronto a quelli degli animali normali di controllo, sono simili a quelli che si otterrebbero misurando le cellule gangliari di

animali di età meno avanzata.

Infatti, non solo i valori medi e i valori massimi delle grandezze cellulari sono minori nei ratti ipoplastici, ma anche il comportamento delle singole classi di cellule è in questi simile a quello che si verifica in ratti più giovani: la variabilità delle grandezze cellulari è minore nei ratti sottoposti all'ipocalimentazione che in quelli normali, il che corrisponde appunto a quanto si osserva negli animali di età più giovane in confronto a quelli più vecchi.

Anche il comportamento delle piccole cellule, che si presentano ^{in numero} sempre ~~molto~~ ^{maggior} negli animali ad accrescimento arrestato che in quelli normali, per quanto talvolta i valori minimi delle grandezze cellulari siano gli stessi, trova riscontro nei dati ottenuti da OLIVO, PORTA e BARBERIS e da RONDININI negli animali in stadio di sviluppo corrispondente, vale a dire nei primi mesi di vita.

Tutto questo porta a concludere che negli animali in cui per mezzo della ipocalimentazione si provoca un arre-

sto dell'accrescimento somatico, si ha parallelamente a questo un corrispondente ritardo nell'accrescimento delle cellule dei gangli spinali. La relazione di proporzionalità fra volume delle cellule nervose e superficie somatica, che, almeno entro certi limiti, abbiamo visto sussistere nei ratti ad accrescimento arrestato, come pare si verifichi nello sviluppo normale di questi animali, ci conferma inoltre che l'arresto di accrescimento delle cellule gangliari è di pari grado di quello dell'organismo.

°
° °

Da queste ricerche viene per la prima volta dimostrato che la correlazione fra mole somatica e grandezza delle cellule nervose rimane invariata, anche quando l'accrescimento del soma sia artificialmente arrestato o rallentato: accrescimento somatico e accrescimento di volume dei neuroni stanno dunque realmente fra loro in rapporti da causa ad effetto.

Che il comportamento degli elementi nervosi sia in relazione col precoce arresto del loro accrescimento nume-

rico ("elem. perenni", sec. BIZZOZERO), lo dimostra il fatto che le cellule di altri organi, composti da "elementi stabili" e soggetti alla legge di DRIESCH della grandezza cellulare costante, si comportano in modo del tutto diverso; infatti queste cellule si presentano di ugual grandezza negli animali ad accrescimento arrestato e in quelli normali. La differenza di volume che questi organi hanno negli animali sottoposti all'ipocalimentazione e in quelli normali è certo dovuta a differenza numerica dei loro elementi cellulari.

°
° °

Ancora vorrei brevemente soffermarmi su quanto riguarda le piccole cellule, che furono variamente interpretate dai diversi AA., alcuni considerandole come elementi immaturi di riserva, altri come cellule gangliari funzionanti al pari di tutte le altre.

Dai risultati dei vari ricercatori, appare ormai fuori di dubbio essere tutte le cellule gangliari, comprese le più piccole, impegnate nella funzione nervosa sensitiva.

come fu affermato da OLIVO, PORTA e BARBERIS, inquantochè tutte crescono in misura maggiore o minore col crescere della mole somatica.

D'altronde i risultati dello studio delle grandezze cellulari col metodo dei poligoni di frequenza, dimostrando la variabilità fluttuante continua di tali grandezze, toglie importanza alla divisione delle cellule gangliari in cellule piccole, medie e grandi, considerate un tempo come classi cellulari distinte.

Ogni cellula ha certamente la grandezza che le compete in relazione all'estensione del territorio da essa innervato, in relazione dunque colla somma di stimoli ricevuti e di lavoro compiuto. Accrescendosi i territori delle singole cellule in modo non uniforme, aumenta parallelamente la variabilità delle grandezze cellulari, avendosi tutti i termini di passaggio dai valori eccezionalmente alti e bassi ai valori medi di massima frequenza, secondo una curva binomiale a tipo però non perfettamente galtoniano, ma con diversa ripidità delle due branche, come avviene per la maggior parte dei fenomeni biologici.

Da un certo momento in poi i valori minimi delle grandezze cellulari si mantengono costanti, diminuendo solo il numero delle cellule corrispondenti; ciò è verisimilmente dovuto al fatto che alcuni territori di innervazione cessano di crescere più presto degli altri.

° ° °

RIASSENTO

Dallo studio della grandezza delle cellule dei gangli spinali di animali ad accrescimento arrestato o rallentato e dal confronto con la grandezza delle cellule gangliari di animali normalmente cresciuti, ho ottenuto i seguenti risultati :

I. La grandezza delle cellule gangliari degli animali ad accrescimento arrestato o rallentato è costantemente minore di quella delle cellule gangliari degli animali della stessa età normalmente cresciuti.

II. La variabilità della grandezza delle cellule gangliari è minore negli animali ad accrescimento arrestato che in quelli normali.

III. Il volume medio delle cellule gangliari si mantiene, negli animali ad accrescimento arrestato, proporzionale, almeno entro certi limiti, alla superficie del corpo.

IV. Si verifica dunque, parallelamente all'arresto di accrescimento del soma, un arresto di pari entità dell'accrescimento volumetrico delle cellule gangliari.

V. Tale arresto di accrescimento è proprio delle cellule nervose: infatti le cellule di altri organi (rene, fegato) si presentano di ugual grandezza negli animali ad accrescimento arrestato e in quelli normali.

BIBLIOGRAFIA

- ARON, H. - Wachstum und Ernährung - Bioch. Zeitschr., XXX, 1911.
- " - "Handbuch d. Biochemie d. Menschen u.d. Tiere" di C. Oppenheimer, vol. VII, 1927.
- " e GRAJKA, R. - Handbuch d. Biol. Arb. Meth., IV, 1921.
- BUCCIANTE, L. - La struttura del ganglio di Casser di Elefante. Arch. It. Anat. Embr., XXIII, 1926.
- BUSACCA, A. - Studi sulla curva di accrescimento delle cellule nervose dei gangli spinali nei Mammiferi - Arch. It. Anat. Embr., XV, 1916.
- " - Nuovi studi sulla curva di accrescimento della cellula gangliare nei Mammiferi - Arch. It. Anat. Embr., XX, 1923.
- CHI PING - On the growth of the largest nerve cells in the superior cervical sympathetic ganglion of the albino rat from birth to maturity. J. comp. Neurol., XXXIII, 1921.
- GLARA, M. - Accrescimento e rigenerazione dei tessuti ad "elementi stabili" - Mon. Zool. It., XLII, 1931.
- CONKLIN - cit. da LEVI.
- COTRONEI, G. - Primo contributo sperimentale allo studio delle relazioni degli organi nell'accrescimento e nelle metamorfosi degli Anfibi Anuri. L'influenza della nutrizione con tiroide di Mammiferi - Bios, II, 1913.

- DELORENZI, E. - Modificazione dei neuroni simpatici dei mammiferi domestici in relazione all'accrescimento somatico e alla senescenza. Arch. It. Anat. Emb., XXVIII, 1931.
- DONALDSON, H.H. e NAGASAKA G. - On the increase in the diameters of nerve cells bodies and of the fibers from them, during the later phases of growth. J. comp. Neurol., XXIX, 1918.
- ENRIQUES, P. - La forma come funzione della grandezza. Ricerche sui gangli nervosi degli Invertebrati.- Arch. f. Entw-mech., XXV, 1908.
- GIACOMINI, E. - Varie note alla R. Accad. d. Scienze dell'Ist. di Bologna, 1914-17.
- GUASTALLA, R. e RIGOLETTI, L. - Iponutrizione di lunga durata e rinutrizione di giovani ratti albini - Arch. Scienze Med., LIX, 1935.
- GUDERNATSCH, J.F. - Feedings experiments on tadpoles. I. - Arch. f. Entw-mech., XXXV, 1912.
- " Feedings experiments on tadpoles. II. Amer. J. Anat., XV, 1914.
- HATAI, S. - Number and size of the spinal ganglion cells and dorsal root fibers in the white rat at different ages. J. comp. Neurol., XII, 1902.
- JACKSON, C.M. - The effects of inanition and malnutrition upon growth and structure. Philadelphia, 1925.

- JACKSON, C. H. - Structural changes when growth is suppressed by undernourishment in the albino rat. *Amer. J. Anat.*, LI, 1932.
- KENNY HITTONO - On the growth of the neurons composing the gas-serian ganglion of the albino rat between growth and maturity. *J. comp. Neurol.*, LXXII, 1920.
- LEVI, G. - Studi sulla grandezza delle cellule. I. Ricerche comparative sulla grandezza delle cellule dei Mammiferi. *Arch. It. Anat. Embr.*, V, 1906.
- " - I gangli cerebrospinali. Studi di istologia comparata e di istogenesi - *Arch. It. Anat. Embr.*, Suppl. VII, 1908.
- " - Wachstum und Körpergrösse - *Ergeb. d. Anat. u. Entw.*, XXVI, 1925.
- MEER - *Zeitschr. f. Biol.*, XV, 1879.
- MORPURGO, B. e TIRELLI, V. - Sulle sviluppo dei gangli intervertebrali di coniglio - *Ann. Fren. e Sc. aff.*, III, 1892.
- OLIVO, O. M. e GAGLIANO G. - Modificazioni di forma e di grandezza delle cellule piramidali della circonvoluzione centrale anteriore umana, durante l'accrescimento somatico. *Atti VII Congr. Soc. It. Neurol.*, 1926, pubbl. 1929.
- OLIVO, O. M., PORTA E. e BARBERIS L. - Ricerche sulla velocità di accrescimento delle cellule e degli organi. IV. Modalità di accrescimento delle cellule dei gangli spinali nel pollo durante la vita embrionale e postnatale. - *Arch. It. Anat. Embr.*, XXX, 1932.

- PILATI, L. - La velocità di accrescimento delle cellule gangliari nei gangli spinali nell'uomo prima della nascita - *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, VIII, 1933.
- ROMEIS, B. - Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischen Organe. II. - *Arch. f. Entw-mech.* XL-XLI, 1914-15.
- " - Histologische Untersuchungen zur Analyse der Wirkung der Schilddrüsenfütterung auf Froschlärven - *Arch. f. Mikr. Anat. u. Entw-mech.*, XCVIII, 1923.
- RONDININI R. - Velocità di accrescimento delle cellule gangliari di *Mus musculus*. *Mon. Zool. It.*, Suppl. XLIV, 1933.
- STEWART, C.A. - cit. da Jackson.
- TERNI, T. - Sulla correlazione tra territorio d'innervazione e volume delle cellule gangliari. I: Ricerche sui gangli spinali della coda dei Cheloni. - *Anat. Anz.*, XLVII, 1914.
- " - Id. id. - II: Ricerche sui gangli spinali che innervano la coda rigenerata nei Sauri (*Gongylus*, etc.) - *Arch. It. Anat. Embr.*, XVII, 1919.
- " - Sull'ipertrofia delle cellule dei gangli spinali che innervano la coda rigenerata della *Lacerta muralis*. *Giorn. R. Acc. Med. di Torino*, LXXXIII, 1920.
- WATERS - cit. da Jackson.