

ORIGINE ED EVOLUZIONE
DEL NUCLEO ACCESSORIO DEL NERVO ABDUCENTE
NELL'EMBRIONE DI POLLO (*)

(Con due tavole)

RITA LEVI-MONTALCINI

SUMMARY. — Inquirendo in originem nuclei accessorii nervi abducentis in pullorum foetibus, patuit accessorium nervi VI nucleum ex neuroblastorum migratione constitui, qui iam discreti sint e cellularum agmine (cuius sedes est ubi nucleus principalis erit); accessorii nuclei neuronum migrationem e medio in latum fieri, et incomposite, nec nisi a sexto ad octavum diem; accessorii nuclei neurones, durante migratione, principali nucleo similiores esse, a quo postea ob maiorem longitudinem differant, et ob formam in fusi speciem expressam (quod ideo fit quia dendrites, non ad polum ex quo neurites oritur, sed ad oppositum fasciatim vertuntur).

Il nervo abducente innerva negli uccelli il muscolo retto laterale ed i muscoli della membrana nittitante, rappresentati dal muscolo quadrato e dal muscolo bursale.

VAN GEHUCHTEN ha per primo osservato, studiando l'embrione di pollo, che non tutte le fibre del VI nervo derivano dal nucleo noto da tempo che è situato lateralmente al fascicolo longitudinale mediale, in diretta prossimità del rafe. Egli ha segnalato la presenza di un nucleo accessorio, situato lateralmente e ventralmente al nucleo principale e compreso tra la radice discendente del trigemello e l'oliva superiore. Le cellule del nucleo, a forma allungata, multipolari, inviano, secondo tale Autore, il neurite in direzione latero-ventrale con incli-

(*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio Pietro Rondoni nella Tornata del 30 settembre 1942.

nazione obliqua dal basso in alto, verso il nucleo principale, ed insieme escono ventralmente dal nevrasse.

Tale reperto, confermato in seguito da tutti gli Autori, è stato oggetto di un'analisi accurata e completa da parte di TERNI⁽¹⁾ (1921) che l'ha esaminato in un gran numero di classi animali (pesci, rettili, uccelli, mammiferi). Questo Autore, integrando le ricerche anatomiche con ricerche fisiologiche, ha posto in luce il significato funzionale della bipartizione del nucleo.

Il nucleo accessorio provvede, secondo TERNI, all'innervazione dei muscoli i quali «direttamente o indirettamente si connettono ai movimenti della terza palpebra»⁽²⁾. La bipartizione costituirebbe un interessante esempio di spostamento di un nucleo per neurobiotassi (KAPPERS); secondo l'ipotesi di questo Autore un nucleo motore tenderebbe ad avvicinarsi nella filogenesi al sistema dal quale gli perviene la maggior somma di eccitamenti. In questo caso il nucleo accessorio si sposterebbe verso la radice discendente del V, dalla quale appunto perverrebbero in prevalenza al nucleo gli eccitamenti funzionali, della chiusura della membrana nittitante⁽³⁾. TERNI ha dimostrato infatti che stimolando nei Sauropsidi

⁽¹⁾ TERNI, *Ricerche sul nervo abducente e in special modo intorno al significato del suo nucleo accessorio d'origine*. Folia Neuro-Biologica, 1921, 13 ottob., XII, n. 2.

⁽²⁾ In una recente ricerca STEFANELLI (« Boll. Soc. Biol. Sperim. », 1940, Vol. XV, N. 4), ha constatato l'assenza del nucleo accessorio del VI nel *Chamaeleon vulgaris*, nel quale manca una membrana nittitante e i muscoli che l'azionano: bursalis e derivati, e il retractor bulbi, pure innervato nei rettili, secondo TERNI dall'accessorio del VI.

Tale reperto è considerato da STEFANELLI una verifica naturale del significato funzionale del nucleo.

⁽³⁾ KAPPERS nel formulare la sua ben nota, interessante ipotesi della neurobiotassi, prospetta esclusivamente la possibilità che gli eccitamenti funzionali determinino durante la filogenesi uno spostamento dei neuroni.

Non mi risulta che né KAPPERS, né altri, abbiano addotto argomenti in favore di un'azione attuale durante l'ontogenesi.

Dopo che le mie ricerche erano ultimate, ebbi l'opportunità, in grazia alla cortesia del Dr. AMPRINO, di compiere un'osservazione, la quale è in deciso contrasto con la possibilità che gli eccitamenti funzionali determinino uno spostamento di neuroni durante lo sviluppo embrionale.

Infatti in preparati di embrioni di 10-12 giorni, nei quali il Dr. AMPRINO aveva asportato al 3° giorno completamente il ganglio del V, e che perciò erano privi della radice discendente del V, ho potuto osservare che il nucleo accessorio occupava la sua sede abituale, ed era normalmente costituito. Il che è in palese contrasto con la possibilità che la sede laterale del nucleo accessorio del VI sia determinata da eccitamenti funzionali da parte della radice discendente del V i quali agiscano durante lo sviluppo embrionale.

il territorio di distribuzione sensitiva del V (muso o congiuntiva) si determina un rapido movimento di chiusura della nittitante, atto « che riveste tutti i caratteri di un movimento riflesso ».

Oltre a questa prova di carattere funzionale, egli ha invocato un altro dato d'indole anatomica. Egli ha contato in embrioni di *Gongylus* il numero delle cellule del nucleo accessorio e il numero di fibre dell'abducente che si distribuiscono, dopo la biforcazione periferica del nervo, ai muscoli motori della nittitante, e in questo animale anche al muscolo retrattore del bulbo. Il numero di tali fibre, circa una trentina, coincide con molta approssimazione, con quello delle cellule del nucleo accessorio del VI, portando così una nuova prova indiretta della funzione di tale nucleo.

Sulle modalità di formazione e sull'evoluzione del nucleo accessorio nel corso dello sviluppo embrionale, mancano dati nella letteratura.

I vari Autori si limitano a descrivere i caratteri morfologici dei neuroni maturi e la loro sede definitiva.

Nel corso di una ricerca sperimentale che ho intrapresa sulle relazioni tra centri e campo d'innervazione del VI durante lo sviluppo nell'embrione di pollo, sono emersi alcuni dati interessanti la costituzione e l'evoluzione del nucleo, dati che esporrò in questa nota.

Mi sono servita per tale ricerca di embrioni di pollo dal 2° al 16° giorno d'incubazione, tutti ottimamente impregnati secondo il metodo CAJAL-DE CASTRO, e tagliati in serie, in parte trasversalmente, e in parte secondo un piano frontale.

È noto che tutti i nuclei dei nervi motori encefalici somatici o viscerali hanno un'origine comune da una colonna che dal mesencefalo si segue sino al midollo, situata in immediato contatto con le fibre del fascicolo longitudinale mediale. Questa colonna si abbozza molto precocemente, secondo TELLO⁽¹⁾, e cioè alla fine della seconda giornata d'incubazione. I miei dati concordano con i suoi.

Da questa colonna i vari nuclei si individualizzano secondo un determinato ordine. Per i dati relativi rimando alla monografia molto completa di TELLO.

Il nucleo dell'abducente risulta nei miei preparati ben delimitato a 72 ore. In sezioni trasverse i neuriti riuniti in un esile tronco nor-

(¹) TELLO F., *Trabajos*, XXI, 1923.

voso fortemente impregnato, fuoriescono dal nevrasse ventralmente. Le cellule di origine raggruppate in un nucleo in via di formazione, lateralmente al fascicolo longitudinale mediale, sono in prevalenza allo stadio di neuroblasti unipolari.

Sino alla fine del 5° giorno d'incubazione, non vi è alcun cenno alla comparsa di un nucleo accessorio dell'abducente. Il nucleo che topograficamente occupa la posizione che avrà anche in seguito il nucleo principale, aumenta di volume per la differenziazione di nuovi neuroblasti che si vanno addossando ai precedenti in una massa sempre più compatta. In sezioni trasverse si presentano a questo stadio con il maggior asse disposto longitudinalmente. I pirenofori sono in prevalenza provvisti di vari dendriti, e questi si diramano in direzione opposta al neurite, dando alla cellula un carattere affusato.

I neuriti emessi dal polo inferiore della cellula, non decorrono riuniti in fascio, ma in modo piuttosto lasso, riunendosi in un sottile nervo soltanto al punto di emergenza dal bulbo. Appena fuoriuscito, il tronco decorre per un primo tratto orizzontalmente in avanti, con lieve convergenza verso la linea mediana, per poi ripiegare lateralmente e raggiungere la periferia. Qui giunto il nervo si dirama a ventaglio in un blastema retrobulbare nel quale non è ancora possibile riconoscere i vari componenti. A questo periodo (5ª giornata) non si riconoscono in questo blastema in preparati impregnati all'argento, le miofibrille; però la disposizione seriale dei nuclei fa pensare che esse siano già differenziate in buon numero. Le fibre nervose si approfondano per breve tratto nella massa di blastema e vi terminano con espansioni terminali.

Nel corso della 6ª giornata d'incubazione inizia la formazione del nucleo accessorio del VI, e la sua evoluzione procede in modo tumultuario tra la sesta, settima e ottava giornata, alla fine della quale è completamente costituito.

Il nucleo si forma per migrazione di neuroblasti già ben differenziati dal nucleo principale, e le modalità di questo processo meritano di essere accuratamente seguite, trattandosi di un fatto imperfezzatamente analizzato nell'istogenesi dei centri nervosi.

La migrazione dei neuroblasti costituenti i vari nuclei avviene per lo più in tutto il sistema nervoso ad uno stadio molto arretrato della loro differenziazione, e gli elementi in via di migrazione non pre-

sentano caratteri che permettano di riconoscerli dalle cellule indifferenti che le circondano.

Come esempio di migrazione di neuroblasti già discretamente differenziati, CAJAL cita (¹) lo spostamento attivo delle cellule simpatiche in fase multipolare lungo le radici motrici midollari e lungo la radice del V nervo. Ma questi dati non sono stati in seguito confermati, ed anzi TELLO nelle sue ricerche più recenti contesta la possibilità di una migrazione di simpatogoni dal midollo. Però nell'istogenesi del sistema nervoso centrale vi sono sicuramente esempi di migrazione di neuroblasti con caratteri specifici (ad es. nel cervelletto).

Nel caso del nucleo accessorio del VI, è possibile seguire le varie tappe di questa migrazione, per un tratto notevolmente lungo, e il processo è così evidente che non può sussistere alcun dubbio sull'interpretazione.

Lo studio è facilitato dalla grande semplicità dei sistemi di nuclei e vie nervose esistenti a questo periodo nel midollo allungato. Ritengo utile descrivere brevemente la topografia dei nuclei della regione del rombencefalo che c'interessa, quale si presenta alla fine del 6° giorno d'incubazione.

A livello dell'abducente, in sezione trasversa, si nota l'ingresso dell'acustico-facciale in corrispondenza dell'angolo dorso-laterale del midollo. Le fibre penetrano nel bulbo dove è già evidente la costituzione dei nuclei del campo acustico, dei quali tuttavia non è ancora possibile distinguere i vari componenti.

Procedendo medialmente si nota la radice discendente del V molto voluminosa e subito medialmente a questa le prime cellule del nucleo accessorio del VI che presentano già il caratteristico orientamento dal basso in alto e da fuori in dentro, che persisterà negli stadi successivi. Medialmente al nucleo appena abbozzato dell'accessorio, si vede il nucleo del facciale; le sue fibre fuoriescono lateralmente descrivendo il caratteristico arco aperto in basso e in fuori.

Disseminate tra questi nuclei si trovano molte cellule intensamente impregnate, di un volume maggiore delle precedenti, multipolari, interpretate da CAJAL come componenti del nucleo magnocellulare disseminato o nucleo tegmentale, secondo la nomenclatura moderna.

Immediatamente lateralmente al fascicolo longitudinale mediale in posizione dorsale, il nucleo principale dell'abducente e sopra questo le vie centrali dell'acustico che incrociando il rafe si portano al lato opposto (fig. 1).

(¹) CAJAL, *Études sur la neurogenèse de quelques vertébrés*, 1929.

Le cellule costituenti il nucleo principale del VI, hanno perduto verso la fine della 6ª giornata, il loro orientamento longitudinale caratteristico dei primi stadi, e si presentano meno fittamente addossate che negli stadi precoci. Sono orientate in prevalenza con l'asse maggiore disposto trasversalmente e pur essendo multipolari, presentano a questo stadio un aspetto affusato.

Dal margine laterale del nucleo principale del VI, in quasi tutte le sezioni si vedono uno o più neuroblasti, il cui asse è orientato obliquamente rispetto alle altre cellule del nucleo. Essi tendono a staccarsi dalla massa principale del nucleo, pur rimanendone in rapporto con la loro estremità prossimale, e presentano lo stesso orientamento delle cellule del nucleo accessorio. Il neurite diretto dorso-medialmente verso il nucleo principale, e i dendriti opposti a quello, contribuiscono a fare apparire maggiormente affusata la cellula. Neuroblasti con uguali caratteri si trovano disseminati per tutto il tratto, relativamente lungo, che separa il nucleo principale dal nucleo accessorio del VI, e costituiscono una specie di catena di cellule in certi punti continua, che con tragitto obliquo di dentro in fuori e dall'alto in basso, congiungono il nucleo principale del VI al nucleo accessorio che si va formando (fig. 1-2).

Questi neuroblasti migrano in prevalenza separatamente, a volte però si vedono piccoli raggruppamenti di elementi sorpresi durante la migrazione più o meno vicino all'uno o all'altro nucleo. In determinate sezioni anzi questi raggruppamenti contingenti di elementi in via di migrazione, si presentano costituiti da un numero di cellule anche più numerose di quello ancora esiguo che costituisce il primo abbozzo del nucleo accessorio nella sua sede definitiva.

A questo stadio, come nei successivi, i pirenofori del nucleo accessorio del VI, si presentano più intensamente colorati e più fusiformi e sottili di quelli del nucleo principale i quali tendono ad assumere una forma globosa e pluridentritica. In questi elementi disseminati tra i due nuclei si vedono tutti i gradi di passaggio dall'uno all'altro tipo cellulare.

Qual'è il substrato di tale differenza morfologica? Si deve considerare come esponente di differenze essenziali nei due tipi cellulari?

È noto per le ricerche antecedenti che la forma delle cellule del nucleo accessorio del VI differisce sostanzialmente negli embrioni inoltrati da quella delle cellule del nucleo principale.

In questa ricerca fu dimostrato che questa forma affusata si manifesta già molto precocemente, e cioè all'inizio della migrazione dal nucleo principale verso quello che sarà il nucleo accessorio. Il pirenoforo è piccolo ed a forma globosa negli elementi dei due nuclei; il differente aspetto è determinato dall'orientamento dei dentriti, ramificati in tutte le direzioni e brevi nelle cellule del nucleo principale, dopo il 6° giorno, mentre negli elementi del nucleo accessorio sono raccolti ai due poli opposti della cellula, molto allungati e disposti nella direzione della migrazione delle cellule. Questa forma così caratteristica e che si mantiene invariata in tutti gli stadi successivi, è legata al fatto della migrazione per un tragitto abbastanza lungo, di elementi già differenziati e provvisti di numerosi dentriti, o si deve considerare come predeterminata e indipendente quindi dall'orientamento impresso dalla migrazione?

Accogliendo l'ipotesi di TERNI ispirata alla dottrina della neurobiotassi di KAPPEES, che il nucleo accessorio del VI si sia spostato verso la radice discendente del V, dalla quale riceverebbe la maggior somma di eccitamenti, si potrebbe supporre, che questa forma affusata della cellula ed il suo orientamento parallelo all'asse maggiore della radice stessa, rappresenti la disposizione più favorevole per la trasmissione degli eccitamenti che possono così investirla in tutta la sua lunghezza. Si tratta di un'ipotesi alla quale mancano dati positivi che permettano di esprimersi più esplicitamente.

In embrioni più inoltrati esaminati in sezioni trasversali, già alla fine dell'ottavo giorno, non si sorprendono più elementi migranti. Dal nucleo accessorio in questo stadio e in quelli successivi (fig. 3) emerge un fascio ben riconoscibile di neuriti che raggiunge il nucleo principale seguendo il tragitto prima segnato dalle cellule migranti. Qui giunti i neuriti piegando ad angolo acuto si confondono con quelli del nucleo principale, ed insieme fuoriescono ventralmente dal bulbo. Nel nervo non è possibile distinguere i componenti delle fibre provenienti dai due nuclei. Già alla fine del 6° giorno tuttavia, in corrispondenza del primo abbozzarsi del nucleo accessorio, il nervo arrivato alla massa mesodermica retrobulbare, la quale presenta ormai caratteri chiaramente muscolari, si biforca in due rami, l'uno diretto lateralmente e l'altro medialmente. Quest'ultimo ramo è molto verosimilmente diretto ai mu-

scoli bursale e quadrato che a questo stadio non sono ancora ben riconoscibili.

Gli stadi successivi esaminati in sezioni trasverse non presentano fatti di particolare interesse, e le mie osservazioni concordano completamente con quelle degli altri Autori. Si accentua sempre più la forma globosa e pluridentrica delle cellule del nucleo principale, il cui asse maggiore è disposto orizzontalmente, e le cellule del nucleo accessorio conservano i caratteri e l'orientamento descritti.

In sezioni frontali di embrioni alla fine del 6° giorno, il nucleo accessorio del VI costituito da poche cellule non è ancora facilmente identificabile. I molti elementi in via di migrazione tra i due nuclei contribuiscono a rendere meno facile lo studio del nucleo in via di formazione. Molto interessante è invece l'aspetto del nucleo alla fine della 7ª giornata. Si nota a questo stadio il nucleo molto sviluppato in senso frontale. Le cellule intensamente impregnate si presentano anche più affusate che in sezione trasversa. Al polo opposto a quello da cui origina il neurite, si distacca dalla cellula un esile gruppo di dentriti, conglobati in un fascio, che raggiunge il margine laterale del bulbo, misurando complessivamente in alcuni casi 65-70 μ .

Alla fine dell'8° giorno, sempre in sezioni frontali, sono completamente scomparsi gli elementi in via di migrazione, e la colonna dell'accessorio, pur occupando ancora una zona molto estesa in senso longitudinale, non si presenta più costituita da elementi sparsi disordinatamente. Le cellule si sono raccolte in 6-7 gruppi per lato separati l'uno dall'altro da brevi intervalli. Da ogni gruppetto di neuroni del nucleo accessorio del VI, i neuriti partono riuniti, e separatamente i vari gruppi raggiungono la colonna del nucleo principale (fig. 4-5).

Nei giorni successivi il nucleo accessorio va soggetto a ulteriori rimaneggiamenti che consistono essenzialmente nel ravvicinarsi dei vari gruppi cellulari in una colonna unica, la quale tuttavia presenta ancora qualche discontinuità. Al 15° giorno, in sezioni rigorosamente frontali come le precedenti, il nucleo si è molto appiattito in senso verticale, ed ha mutato la propria fisionomia. Il nucleo principale non presenta invece mutamenti sensibili, e risulta come negli stadi precoci, costituito da una lunga colonna continua di piccole cellule globose pluridendritiche.

Una misurazione della lunghezza dei due nuclei ai varî stadi dà i seguenti dati:

Sezione frontale	Nucleo Principale	Nucleo accessorio VI
7 giorni	324 μ	324 μ
8 »	378 »	324 »
11 »	378 »	270 »
15 »	480 »	215 »

Risulta dai dati esposti che il nucleo principale aumenta in altezza per l'incremento di volume delle singole cellule e per l'allontanarsi l'una dall'altra, come sempre si verifica durante la maturazione dei nuclei dei nervi cranici, mentre il nucleo accessorio diminuisce considerevolmente in altezza nel corso dello sviluppo. Tale diminuzione è compensata da un aumento del diametro trasversale. Un conteggio delle cellule dimostra infatti che il numero già fissato all'8° giorno (periodo nel quale è cessata la migrazione) si mantiene pressochè uguale nei periodi successivi aggirandosi sui 155-165 elementi.

Ritengo di un certo interesse il fatto che a 7 giorni, quando cioè il nucleo accessorio appare ben delimitato in sezione frontale in forma di colonna di elementi disseminati, le due colonne, principale e accessoria, presentino un'altezza assolutamente uguale.

Infatti se pure i preparati dimostrano con ogni evidenza che i neuroni del nucleo accessorio emigrano in direzione laterale già differenziati, si potrebbe sempre obbiettare che almeno un certo numero si differenzi a spese di elementi migrati in fase antecedente a quella neuroblastica; si sa infatti che in tutto il nevrasso la maggior parte di neuroni emigra dallo strato germinativo verso la superficie molto prima di essersi trasformati in neuroblasti.

Se i neuroni della colonna accessoria fossero migrati, sia pure in parte, in periodo antecedente alla loro differenziazione neuroblastica, per la tendenza dei varî elementi ad avvicinarsi gli uni agli altri una volta raggiunta la sede definitiva, la colonna del nucleo accessorio, risulterebbe sin dalla sua prima comparsa meno sviluppata in altezza della principale. In realtà ho constatato che a 7 giorni, quando il

nucleo accessorio è completamente costituito, esso presenta la stessa altezza del nucleo principale, e che soltanto nel corso successivo dello sviluppo, il nucleo principale aumenta in altezza, mentre il nucleo accessorio si riduce. Dato questo comportamento inverso delle due colonne, la loro altezza non può coincidere che nel breve periodo immediatamente successivo alla costituzione del nucleo accessorio a spese del nucleo principale.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I e II

FIG. 1. — Embrione di pollo di 6 giorni 7 ore. Sezione trasversa.

Metodo Cajal-De Castro.

- a) nucleo principale del VI,
- b) vari neuroni in procinto di migrare verso il nucleo accessorio,
- c) nucleo accessorio in formazione,
- d) radice discendente del V,
- e) elementi attribuiti al nucleo tegmentale (Ingr. 130 ×).

FIG. 2. — Lo stesso embrione della fig. 1. Sezione trasversa.

I neuroblasti sorpresi nell'atto di abbandonare il nucleo principale presentano già la caratteristica forma affusata degli elementi del nucleo accessorio (Ingr. 600 ×).

FIG. 3. — Embrione di pollo di 11 giorni d'incubazione. Sezione trasversa.

- a) nucleo principale del VI,
- b) nucleo accessorio del VI. Questo si presenta ormai completamente costituito. Dal suo margine mediale emergono i neuriti che seguendo il tragitto prima segnato dalle cellule in via di migrazione, raggiungono ad angolo acuto il nucleo principale (Ingr. 85 ×).

FIG. 4. — Embrione di pollo di 8 giorni d'incubazione. Sezione frontale.

- a) colonna cellulare del nucleo principale del VI,
- b) nucleo del VII,
- c) nucleo masticatore del V.

Lateralmente al rafe, tra questo e il nucleo principale del VI, fibre del fascicolo longitudinale mediale.

Lateralmente sotto l'ingresso delle fibre radicolari del V, fibre della sua radice discendente (Ingr. 40 ×).

FIG. 5. — Embrione di pollo di 8 giorni d'incubazione. Sezione frontale.

La sezione cade a un livello un po' anteriore rispetto a quella della fig. 4. Non appare più il nucleo principale.

- a) nucleo accessorio del VI costituito a questo stadio da neuroni raccolti in gruppi sovrapposti, intensamente imprugnati.
- b) nucleo del VII,
- c) nucleo masticatore del V (Ingr. 40 ×).

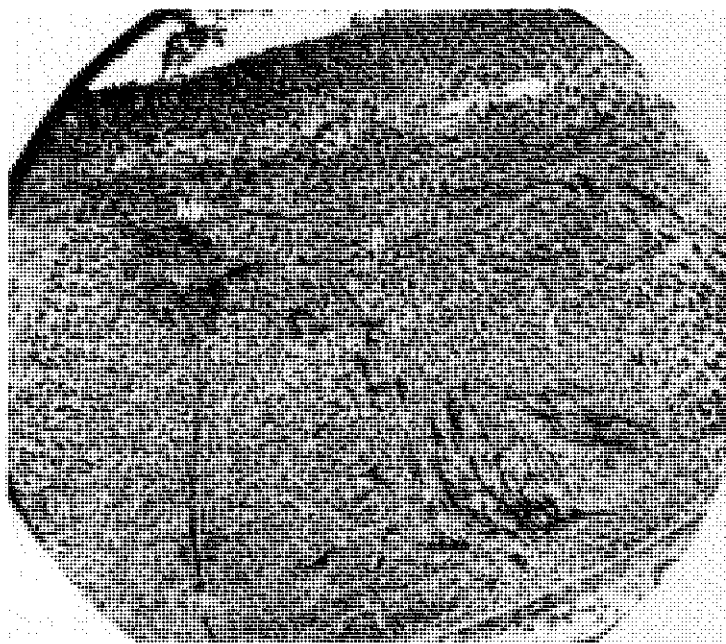


FIG. 1.

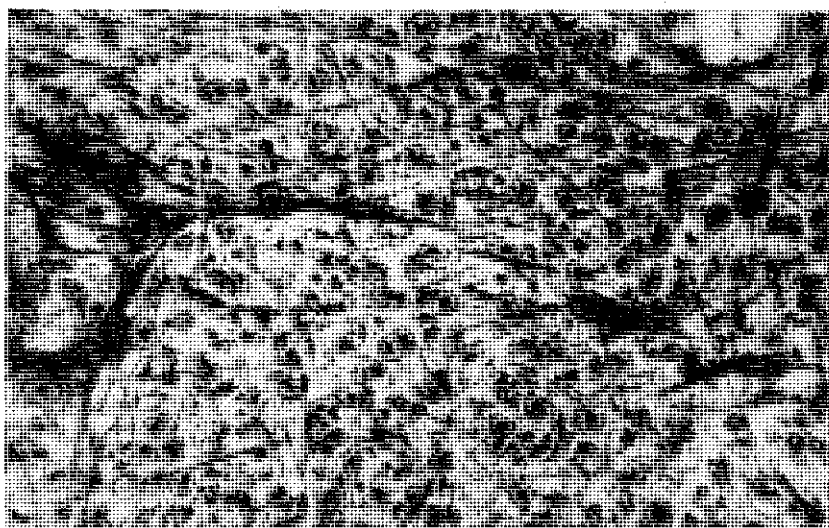


FIG. 2.

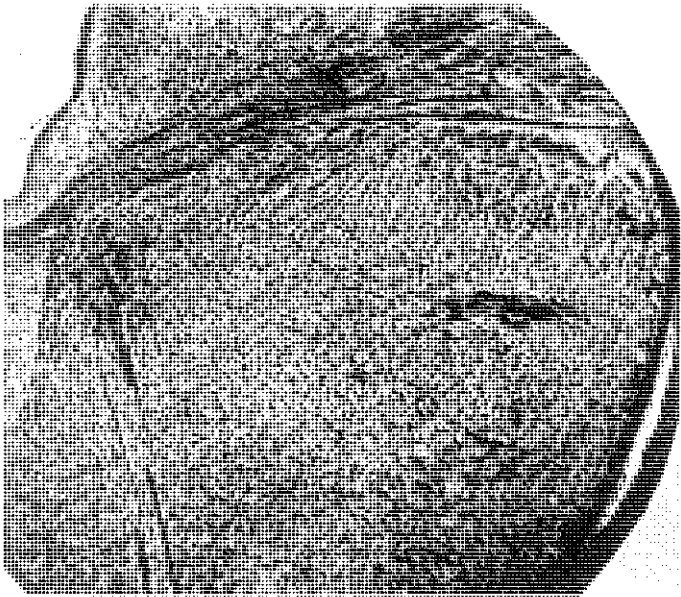


FIG. 3.

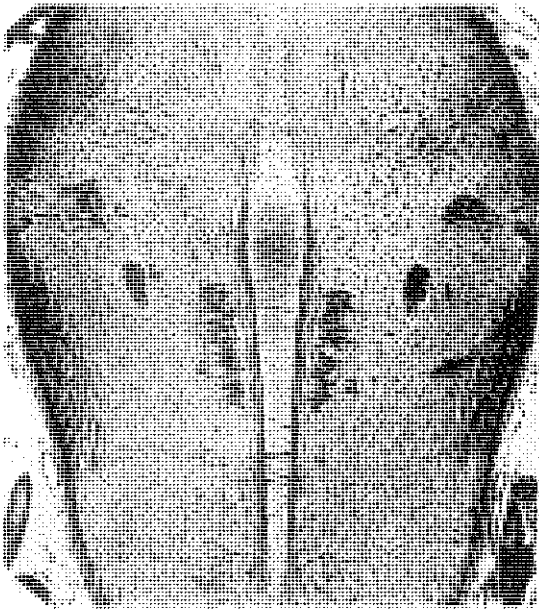


FIG. 4.



FIG. 5.