
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

SERGIO FILONI

Sulla rigenerazione del mesencefalo nelle larve di *Xenopus laevis*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.6, p. 521–526.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_6_521_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. — *Sulla rigenerazione del mesencefalo nelle larve di Xenopus laevis*^(*). Nota di SERGIO FILONI, presentata^(**) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

Numerosi lavori hanno dimostrato l'elevato potere rigenerativo del sistema nervoso centrale degli Anfibi, sia Anuri che Urodeli, allo stadio embrionale e larvale.

Così si è accertato come asportazioni unilaterali della placca neurale (Lewis^(1,5), Bell^(2,3,4), Adelman⁽⁶⁾, Stefanelli^(7,8,9,10,11,12), Harrison⁽¹³⁾, Corner⁽¹⁴⁾) o di porzioni dell'encefalo in stadi embrionali più avanzati (Burr^(15,16), Spirito^(17,18,19,20), Detwiler^(21,22,23), Piatt⁽²⁴⁾, Burns⁽²⁵⁾, Hahn⁽²⁶⁾) siano seguite da una più o meno completa restituzione della parte asportata.

Questa potenza rigenerativa, così notevole negli stadi embrionali, viene mantenuta anche in quelli larvali precoci, sebbene in grado più limitato

(*) Ricerca eseguita nel Centro di Neuroembriologia del C.N.R., presso l'Istituto di Anatomia Comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma.

(**) Nella seduta del 12 dicembre 1964.

- (1) W. H. LEWIS, « Amer. J. Anat. », 5, XI (1905).
- (2) E. T. BELL, « Arch. f. mikr. Anat. », 68, 279 (1906 a).
- (3) E. T. BELL, « Anat. Anz. », 29, 185 (1906 b).
- (4) E. T. BELL, « Arch. Entw. mechan. », 23, 457 (1907).
- (5) W. H. LEWIS, « Anat. Rec. », 4, 191 (1910).
- (6) H. B. ADELMANN, « J. Exp. Zool. », 54, 249 (1929).
- (7) A. STEFANELLI, « Acta Acc. Pont. », 8, 135 (1945).
- (8) A. STEFANELLI, « Boll. Soc. It. Biol. Sperim. », 20, 24 (1945).
- (9) A. STEFANELLI, « Boll. Soc. It. Biol. Sperim. », 20, f. 1-3 (1945).
- (10) A. STEFANELLI, « Historia Naturalis », 4, 3 (1946).
- (11) A. STEFANELLI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 1, 2 (1947).
- (12) A. STEFANELLI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 2, 5 (1947).
- (13) R. G. HARRISON, « J. Exp. Zool. », 106, 27 (1947).
- (14) M. A. CORNER, « J. Exp. Zool. », 153, 301 (1963).
- (15) H. S. BURR, « J. Exp. Zool. », 20, 27 (1916 a).
- (16) H. S. BURR, « J. Comp. Neur. », 26, 203 (1916 b).
- (17) A. SPIRITO, « Rend. R. Acc. Lincei » (ser. VI), 8, 429 (1928).
- (18) A. SPIRITO, « Rend. R. Acc. Lincei » (ser. VI), 9, 797 (1929 a).
- (19) A. SPIRITO, « Rend. R. Acc. Lincei » (ser. VI), 10, 215 (1929 b).
- (20) A. SPIRITO, « Arch. Entw. mechan. », 122, 152 (1930).
- (21) S. R. DETWILER, « J. Exp. Zool. », 96, 129 (1944).
- (22) S. R. DETWILER, « Anat. Rec. », 94, 229 (1946).
- (23) S. R. DETWILER, « J. Exp. Zool. », 104, 53 (1947).
- (24) J. PIATT, « J. Comp. Neur. », 90, 47 (1949).
- (25) R. W. BURNS (1951), citato da R. J. TERRY (34).
- (26) L. D. HAHN (1952), citato da R. J. TERRY (34).

(Reinke ^(27,28), Fishel ⁽²⁹⁾, Koppányj e Weiss ⁽³⁰⁾, Sibbing ⁽³¹⁾, Jordan ^(32,33), Terry ⁽³⁴⁾, Srebro ⁽³⁵⁾, Kosciuszko ⁽³⁶⁾, Kwiatkowski ⁽³⁷⁾, Filoni ⁽³⁸⁾), ma, con il procedere dello sviluppo, si viene gradualmente a perdere, fino a divenire, nell'adulto, piuttosto esigua. Ciò è valido soprattutto per gli Anuri in quanto gli Urodeli adulti, pur dimostrando scarse (Weissfeiler ⁽³⁹⁾) o pressoché nulle (Sibbing ⁽³¹⁾) capacità di rigenerare porzioni encefaliche asportate, sono in grado di riformare completamente il midollo spinale del tronco e della coda (Stefanelli e Capriata ⁽⁴⁰⁾; Stefanelli e Cervi ⁽⁴¹⁾).

Fra gli Anuri, lo *Xenopus* è quello che senza dubbio mostra le più spiccate potenze rigenerative, perfino dopo la metamorfosi (Jordan ⁽⁴²⁾, Kwiatkowski ⁽⁴³⁾); negli stadi larvali è in grado di rigenerare gran parte del telencefalo (Srebro ⁽³⁵⁾, Kosciuszko ⁽³⁶⁾) e di ristabilire le connessioni interrotte fra i diversi segmenti dell'encefalo (Kwiatkowski ⁽³⁷⁾).

Nel mio recente lavoro (Filoni ⁽³⁸⁾), approfondendo le ricerche degli Autori precedenti, sulla rigenerazione del telencefalo in larve di *Xenopus laevis*, ho potuto dimostrare come, quando l'operazione di asportazione dei 3/4 del telencefalo venga eseguita allo stadio 47-48, la rigenerazione della parte asportata non sia limitata al livello morfologico generale, ma si estenda ai singoli neuroni, anche a quelli più specifici, quali le cellule mitrali del bulbo olfattorio. Mi è sembrato pertanto interessante estendere le mie ricerche sulla capacità rigenerativa del sistema nervoso centrale dello *Xenopus* anche ad altre regioni encefaliche e, in particolare, al mesencefalo che, negli altri Anuri allo stato larvale, si è mostrato dotato di un potere rigenerativo piuttosto esiguo.

In questa Nota preliminare, saranno esposti i primi dati sulla rigenerazione morfologica del mesencefalo.

Cinquanta larve di *Xenopus laevis* allo stadio 47-48 (sec. Nieukoop e Faber ⁽⁴⁴⁾) sono state operate di asportazione dell'intera parte destra del

(27) F. REINKE, « Arch. mikr. Anat. », 68, 252 (1906).

(28) F. REINKE, « Arch. Entw. mechan. », 24, 239 (1907).

(29) A. FISHEL, « Arch. Entw. mechan. », 40, 653 (1914).

(30) I. KOPPANYJ e P. WEISS (1922), cit. da J. PIATT « Regeneration in the central nervous system », pag. 20-46, Thomas, Springfield (1955).

(31) W. SIBBING, « Arch. Entw. mechan. », 146, 433 (1953).

(32) M. JORDAN, « Folia Biol. », 3, 11 (1955).

(33) M. JORDAN, « Folia Biol. », 3, 331 (1955).

(34) R. TERRY, « J. Exp. Zool. », 133, 389 (1956).

(35) Z. SREBRO, « Folia Biol. », 5, 211 (1957).

(36) H. KOSCIUSZKO, « Folia Biol. », 6, 117 (1958).

(37) C. KWIATKOWSKI, « Folia Biol. », 7, 309 (1959).

(38) S. FILONI, « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 111 (1964).

(39) J. WEISSFEILER, « Comp. Rend. Soc. Biol. », 91, 543 (1924).

(40) A. STEFANELLI e A. CAPRIATA, « Ric. Morf. », 20/21, 605 (1944).

(41) A. STEFANELLI e M. CERVI, « Boll. Soc. It. Biol. Sperim. », 22, 756 (1946).

(42) M. JORDAN, « Folia Biol. », 6, 103 (1958).

(43) C. KWIATKOWSKI, « Folia Biol. », 9, 27 (1961).

(44) P. D. NIEUWKOOP e J. FABER, Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin), Amsterdam (1956).

mesencefalo, compreso il corpo mesencefalico. L'operazione è stata eseguita al binoculare con l'ausilio di aghi di tungsteno e di forcicette da iridectomia.

Per verificare l'esattezza dell'operazione, alcuni animali sono stati fissati subito dopo e serialmente sezionati (Tav. I, fig. 1).

Dopo l'operazione, le larve sono state poste in un comune acquarietto la cui acqua veniva cambiata giornalmente, e nutriti con ortica bollita. La mortalità si è dimostrata molto elevata e solo 20 individui sono sopravvissuti. Di questi, 14 sono stati fissati dopo 20-50 giorni dall'operazione, serialmente sezionati, secondo il piano trasverso, a $10\ \mu$ di spessore e colorati con emalume e eosina e secondo il metodo di Bodian i rimanenti sono stati allevati fino alla metamorfosi e devono essere ancora sacrificati.

Gli animali operati non mostravano alcuna inibizione nell'accrescimento e sviluppo e metamorfosavano in modo del tutto regolare. Alcuni presentavano nei primi giorni dopo l'operazione notevoli alterazioni del battito della coda che appariva distorta. Tali alterazioni, tendevano, nella maggioranza dei casi, a diminuire.

I 14 casi esaminati si possono suddividere, in rapporto all'entità del processo rigenerativo, in tre gruppi:

nel 1° gruppo, costituito da 10 individui, si nota una rigenerazione morfologica, interessante il lobo ottico, il toro semicircolare e la base della parte destra del mesencefalo, assai notevole (Tav. I, figg. 3, 4, 5, 6).

In soli tre casi esaminati la forma del rigenerato si discosta, ma sempre limitatamente, dalla morfologia normale per ipersviluppo del toro semicircolare destro (Tav. I, fig. 4) che, talvolta, viene ad accollarsi allo strato ependimale della parte destra del tetto ottico, limitando così notevolmente il ventricolo mesencefalico.

Tuttavia, malgrado tali anomalie strutturali, anche quando queste, come nella parte antero-mediana del mesencefalo, sono piuttosto notevoli, le cellule del lobo ottico rigenerato non sono mai disposte caoticamente, ma si organizzano a costituire strati cellulari il più possibilmente allineati con quelli del lobo ottico controlaterale.

Inoltre, si sono talvolta riscontrati piccoli ventricoli soprannumerari tappezzati da ependima, spesso anche numerosi, non comunicanti con la cavità ventricolare principale.

Man mano che si procede verso la regione posteriore del mesencefalo, si assiste ad un graduale miglioramento nella organizzazione della parte rigenerata, tanto che, nelle sezioni più caudali, la forma del mesencefalo acquista un aspetto del tutto regolare (Tav. I, figg. 5-6).

Nei rimanenti 7 casi, l'esame dei telencefali rigenerati, ha rivelato una pressoché totale rigenerazione morfologica della parte asportata (Tav. I, fig. 3). In 4 individui il mesencefalo appare, a parte piccole distorsioni di forma del tutto trascurabili, di aspetto normale (Tav. I, fig. 3); negli altri tre si ha una completa restituzione della base, del toro semicircolare e della parte più laterale del tetto ottico; la parte più mediale del tetto si mostra invece molto assottigliata nelle sezioni interessanti la regione anteriore del mesencefalo;

nelle sezioni più caudali, lo spessore del tetto rigenerato è molto simile al normale.

È stata studiata in particolare l'architettura cellulare del lobo ottico destro e confrontata con quella del lato intatto. Nel tetto ottico degli Anfibi Anuri, si nota una differenziazione molto notevole (P. Ramon ⁽⁴⁵⁾, Gaupp ⁽⁴⁶⁾, Kollros ⁽⁴⁷⁾, Capanna ⁽⁴⁸⁾). Vi si possono distinguere essenzialmente 6 strati:

1) *stratum opticum*, il più esterno, è costituito da fibre del tratto ottico che si distribuiscono sulla superficie dei lobi ottici. Questo strato, il cui spessore è proporzionale alla grandezza degli occhi, è piuttosto esiguo nelle larve di *Xenopus* allo stadio da me esaminato (51-52, sec. Nieuwkoop e Faber ⁽⁴⁴⁾);

2) *stratum fibrosum* e *griseum superficiale*, costituito da vari strati di cellule e di fibre;

3) *stratum album centrale*;

4) *stratum griseum centrale*, di notevole spessore;

5) *stratum medullare profundum*, piuttosto esiguo ed infine, in prossimità dell'ependima;

6) lo *stratum griseum periventricolare*.

L'esame comparativo della parte destra e sinistra del tetto ottico ha dimostrato una pressoché perfetta corrispondenza della citoarchitettura dei

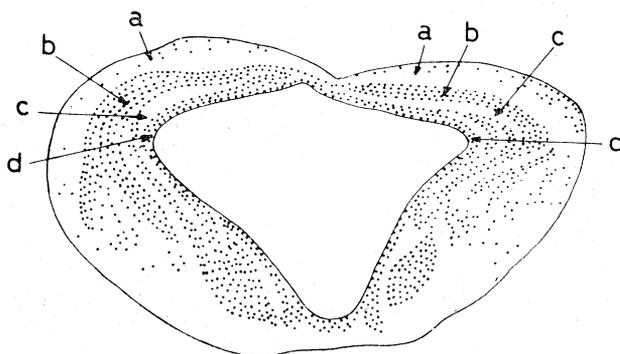


Fig. 1. - Disegno alla camera lucida del mesencefalo di *Xenopus laevis* dopo un mese dall'operazione (esperienza 5).

a = stratum fibrosum e griseum superficiale; *b* = stratum griseum centrale; *c* = stratum medullare profundum; *d* = stratum griseum periventricolare. Ingrandimento 100 X.

due lati, anche per quanto riguarda lo spessore dei singoli strati (fig. 1). La colorazione di Bodian eseguita su alcuni preparati, mi ha permesso di evidenziare, nella regione rigenerata, numerose fibre ottiche raggiungenti in gran parte lo strato grigio e fibroso superficiale ed in parte gli strati sottostanti.

(45) P. RAMON Y CAJAL, *Investigaciones de histología comparada en los centros ópticos de distintos Vertebrados*, Tesi, pp. 21-26 (Zaragoza) 1890.

(46) E. GAUPP, *Anatomie des Frosches*, T. II, pp. 52-68 (Braunschweig), 1899.

(47) J. KOLLROS, « J. Exp. Zool. » 123, 153 (1953).

(48) E. CAPANNA, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 30, 292 (1961).

Il 2° gruppo è costituito da due individui; essi mostrano una completa rigenerazione della base del mesencefalo e del toro semicircolare destro, ma presentano la parete del lobo ottico destro di spessore notevolmente inferiore rispetto al sinistro. Inoltre le cellule della parte rigenerata non si allineano a costituire strati cellulari ordinatamente disposti, ma si mostrano ammassate fra loro. La sostanza bianca si presenta molto ridotta in spessore.

Il 3° gruppo è costituito da due individui aventi un mesencefalo di forma del tutto aberrante. Anche la parte sinistra risulta notevolmente malformata, così come la regione posteriore del diencefalo. Tuttavia la massa di tessuto nervoso rigenerato ha un volume molto considerevole.

CONCLUSIONI E DISCUSSIONE.

I risultati esposti in questa breve Nota dimostrano come la capacità rigenerativa del mesencefalo in larve di *Xenopus laevis* operate allo stadio 47-48 di asportazione dell'intera metà destra di questo segmento del neurasse sia assai notevole. Infatti ben 12 dei 14 animali esaminati mostravano una cospicua restituzione della parte asportata; in 8 individui la rigenerazione era quasi completa ed in quattro, a parte piccole malformazioni del tutto trascurabili, completa. Nei rimanenti due casi, anche se il rigenerato era di forma aberrante, l'entità del processo rigenerativo era considerevole. D'altra parte l'insuccesso nel ristabilire l'aspetto morfologico normale della regione asportata, era dovuto all'inesattezza dell'operazione che aveva portato non solo all'asportazione dell'intera parte destra, ma anche alla lesione della regione sinistra del mesencefalo, nonché della parte caudale del diencefalo. Dalla bibliografia risulta che Detwiler⁽²²⁾ ha ottenuto, dopo asportazione unilaterale del mesencefalo ad embrioni di *Amblystoma* allo stadio di pieghe neurali chiuse, una rigenerazione completa. Anche Piatt⁽²⁴⁾, lavorando sul medesimo materiale, ha osservato la ricostituzione della parte asportata in un tutto simmetrico; solo le cellule costituenti il nucleo mesencefalico del V erano assenti nella grande maggioranza dei casi. Tuttavia Crelin⁽⁴⁹⁾ ha precisato che quando l'operazione di asportazione del tetto ottico destro era eseguita su embrioni a stadi più avanzati (stadio 40-46 di Harrison), si aveva una rigenerazione di un tessuto disorganizzato non funzionante. Burns⁽²⁵⁾ e Hahn⁽²⁶⁾ hanno constatato una rigenerazione completa in embrioni di *Rana pipiens* allo stadio 15-16 di Shumway, dopo asportazione della parte destra del mesencefalo.

Successivi studi di Terry⁽³⁴⁾ hanno confermato i risultati dei due precedenti Autori, ma hanno altresì dimostrato che quando l'operazione di asportazione del lobo ottico destro era eseguita a stadi embrionali successivi allo stadio 21 o a stadi larvali, non si aveva mai una rigenerazione notevole della parte asportata. Solo quando l'operazione era limitata ad una parziale aspor-

(49) E. S. CRELIN, « J. Exp. Zool. », 120, 547 (1952).

tazione del lobo ottico destro i risultati erano migliori; tuttavia in nessun caso si è avuto un lobo ottico paragonabile a quello del lato intatto.

Dall'esame dei dati bibliografici esposti e dalla considerazione che l'operazione da me eseguita interessa non solo il lobo ottico, ma l'intera parte destra del mesencefalo, appare evidente come lo *Xenopus* abbia un potere rigenerativo del sistema nervoso centrale fra i più notevoli, non solo rispetto agli altri Anuri, ma anche rispetto agli Anfibi Urodeli.

Evidentemente mentre in *Rana pipiens* la capacità rigenerativa si viene gradualmente a perdere a partire dallo stadio embrionale 21, nello *Xenopus laevis* tale proprietà viene pressoché interamente conservata anche negli stadi larvali, almeno fino allo stadio 47-48.

Un ruolo molto importante nella ricostituzione della parte lesa, è senza dubbio giocato dalle fibre provenienti dal tetto ottico che, come dimostrano i preparati impregnati col protargolo, sono piuttosto numerose nella regione rigenerata. Infatti, come risulta dagli studi di vari Autori fra cui (Burr ^(15,16) Barron ⁽⁵⁰⁾), le fibre provenienti da varie regioni del neurasse hanno una primaria importanza nella differenziazione delle cellule nervose; (Kollros ⁽⁴⁷⁾, McMurray ⁽⁵¹⁾) hanno osservato, come l'accrescimento delle fibre del tratto ottico stimoli l'accrescimento e lo sviluppo dei lobi ottici.

È opportuno osservare che i dati fino ad ora in mio possesso mi permettono di stabilire solo una rigenerazione morfologica generale della parte asportata; sarà pertanto necessario un approfondito esame sia dei singoli fasci di fibre che dei singoli neuroni della parte restituita per accertare se la rigenerazione si estende anche al livello istologico. In particolare sarà interessante verificare l'esistenza o meno, nel lato rigenerato, delle cellule mesencefaliche del V che, secondo gli studi di Piatt ⁽²⁴⁾ in *Amblystoma*, hanno, come le cellule di Mauthner (Detwiler ⁽²¹⁾, negli Urodeli, Stefanelli ⁽¹⁰⁾, negli Anuri), una determinazione molto precoce.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Controllo dell'operazione di asportazione dell'intera metà destra del mesencefalo. Larva di *Xenopus laevis* allo stadio 47 sec. Nieuwkoop e Faber.
- Fig. 2. - Sezione trasversale del mesencefalo di una larva normale allo stadio 52 sec. Nieuwkoop e Faber.
- Fig. 3. - Rigenerazione totale della parte destra del mesencefalo in larva di *Xenopus laevis* dopo un mese dall'operazione (esperienza 5).
- Fig. 4. - Rigenerazione della parte destra del mesencefalo dopo un mese dall'operazione (esperienza 9).
- Figg. 5-6. - Rigenerazione della parte destra del mesencefalo dopo 20 giorni dall'operazione (esperienza 2).
- Ogni divisione principale della scala 50 μ .

(50) D. H. BARRON, « J. Comp. Neur. », 85, 149 (1946).

(51) V. M. MCMURRAY, « J. Exp. Zool. », 125, 247 (1954).

