
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIORGIO M. BAFFONI

L'andamento dell'attività mitotica nel midollo spinale durante lo sviluppo di un Anfibio anuro acquatico

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.5, p. 412–418.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_41_5_412_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 generale. — *L'andamento dell'attività mitotica nel midollo spinale durante lo sviluppo di un Anfibio anuro acquatico* (*).
Nota di GIORGIO M. BAFFONI, presentata (***) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The mitotic pattern of the nerve cord during the growth of an anuran aquatic Amphibian is more similar to that of an aquatic Urodelan than to that of another Anuran, but terrestrial; this indicates that the mitotic ratio in the Amphibians is affected by ecologic factors, but non by philetic ones. The persistence of mitotic activity and some regenerative events in the spinal cord of adult Anourans postulate that the nervous system in Amphibians is a tissue formed by stable cellular elements.

In precedenti ricerche sono stati resi noti i risultati più salienti sull'andamento del ritmo mitotico nelle varie regioni del neurasse durante lo sviluppo (embrionale e larvale, fino ad un mese dopo la metamorfosi) di un Anfibio anuro nostrano tra i meglio adattati alla condizione di vita terrestre (*Bufo bufo* L.)⁽¹⁾ e durante la metamorfosi anticipata ed accelerata mediante somministrazione di ormoni tiroidei⁽²⁾. In un secondo momento ho seguito l'andamento del ritmo mitotico nel neurasse durante lo sviluppo di un Anfibio urodelo nostrano che dopo la metamorfosi resta in acqua (*Triturus cristatus carnifex* Laur.) e nel quale le modificazioni della metamorfosi sono meno accentuate⁽³⁾.

L'intento di verificare se le differenze di comportamento del ritmo mitotico nel sistema nervoso in sviluppo, che sono emerse dal confronto tra l'Anfibio anuro e l'urodelo⁽⁴⁾, fossero dovute a fattori ecologici od a fattori filetici, mi ha indotto ad intraprendere l'esame dell'attività mitotica nel neurasse in sviluppo su un altro Anfibio che appartenesse ad uno dei gruppi zoologici già considerati, ma che presentasse un diverso adattamento dopo la metamorfosi.

La scelta è caduta su un Anuro sudafricano che dopo la metamorfosi resta in acqua (*Xenopus laevis* Daudin) e che da anni è allevato con successo nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Roma⁽⁵⁾.

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena; Gruppo per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 12 novembre 1966.

(1) G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 22, 109-114 (1957); 25, 128-134 (1958); 26, 598-603; (1959) « Boll. di Zool. », 24, Suppl., 135-144 (1957); R. PINACCI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 29, 150-153 (1960).

(2) Ved.: G. M. BAFFONI, « Boll. di Zool. », 26, Suppl. 255-282 (1960).

(3) G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 23, 90-96 (1957); 30, 802-08 e 954-59; 31, 86-91 e 158-164 (1961).

(4) G. M. BAFFONI, « Boll. di Zool. », 28, Suppl., 661-80 (1961).

(5) Ringrazio il prof. A. Stefanelli, Direttore dell'Istituto, ed il dott. E. Capanna che ha gentilmente provveduto a fissare ed inviare il materiale.

In questa Nota riferisco i primi risultati conseguiti dall'esame sull'andamento del ritmo mitotico nel midollo spinale di *Xenopus laevis* in sviluppo.

Per esigenze comparative, come in *Bufo*, anche in *Xenopus* si è considerato il tratto di midollo spinale della regione del tronco (dal calamo al livello dell'apertura anale), escludendo di proposito il midollo caudale per non includere nei computi la porzione di midollo che scompare prima del termine della metamorfosi. Gli animali esaminati provengono da lotti di uova deposte da una singola coppia, stimolata con ormoni ipofisari. Di ogni stadio morfologico (individuato in base alla descrizione di Nieuwkoop e Faber (6)) sono stati fissati almeno quattro esemplari in liquido di Bouin, inclusi in celloidina-paraffina, orientati sul piano trasversale ed affettati in serie a 5μ di spessore; i preparati sono stati colorati con il Mallory-Azan. I computi mitotici sono stati effettuati con forti obbiettivi a secco ($40 \times$) e spesso controllati con obbiettivi ad immersione ($100 \times$). Le mitosi sono state considerate limitatamente ai quadri che vanno dalla prometafase alla anafase, per evitare valutazioni soggettive delle prime figure profasiche, e su sezioni alterne per non ricorrere a fastidiose formule di correzione. Poiché le mitosi del neurasse di solito sono confinate nell'epitelio ventricolare e poiché le dimensioni degli elementi di questo epitelio negli Anfibi non presentano sensibili modificazioni di grandezza durante lo sviluppo (7), anche in questo caso, come per il passato (1-3), oltre ai valori medi dei computi mitotici, ho proceduto alla ricerca dei valori di densità mitotica con il metodo indiretto delle superfici, cioè riferendo i valori assoluti all'unità della superficie ventricolare ($0,01 \text{ mm}^2 = 10.000 \mu^2$): a tale scopo sono stati disegnati alla camera lucida i contorni delle cavità ventricolari delle sezioni sulle quali erano stati eseguiti i computi mitotici, con un curvimetro ne è stato calcolato lo sviluppo lineare e convertito in valori decimali; l'area ventricolare è stata ricavata dal prodotto dello sviluppo lineare per lo spessore delle sezioni (5μ). Ritengo che i valori di densità mitotica siano più idonei di quelli assoluti ad indicare le variazioni del ritmo mitotico in quanto essi prescindono dalle variazioni della superficie ventricolare, dovute a processi d'accrescimento e di morfogenesi dei ventricoli del sistema nervoso centrale.

L'esame morfologico del midollo spinale di *Xenopus* in sviluppo ha messo in evidenza che durante il periodo embrionale la cavità del tubo neurale è relativamente ampia e larga (a sezione quasi circolare) e va assottigliandosi in direzione caudale, mentre le pareti del tubo neurale sono sottili; nella prima metà del periodo larvale il canale ependimale diviene alto e stretto; a causa dell'ispessimento delle pareti (piastra basale e piastra alare) del midollo, dovuto all'aumento del grigio periventricolare ed allo sviluppo della sostanza bianca, la cavità ventricolare, in sezione, si presenta a stadio 54 come una

(6) P. D. NIEUWKOOP e J. FABER, *Normal table of Xenopus laevis (Daudin)* (North-Holland Pu. Co, Amsterdam, 1956).

(7) M. MARINI, « Riv. di Neurobiol. », 2, 495-517 (1956); G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 21, 491-97 (1956).

fessura dorso-ventrale; a partire dallo stadio 54 (corrispondente allo stadio IX di *Bufo*), il canale endimale di *Xenopus* va restringendosi ed alla metamorfosi è ridotto ad uno stretto canalino a sezione quasi circolare, di calibro uniforme, tranne nella regione caudale (o *philum terminale*) ove si presenta un po' più largo. Che si verifichi un vero e proprio restringimento del canale endimale al termine della vita larvale è attestato dai valori della superficie ventricolare, i quali dallo stadio 54 allo stadio 65 si riducono di oltre il 60 % (ved.: Tabella); il fatto che durante il restringimento del canale endimale i valori di densità mitotica continuano a decrescere, oltre a confortare la bontà del metodo impiegato in queste ricerche, ribadisce che negli Anfibii la morfologia del canale endimale non è dovuta all'attività proliferativa (come sostenuto da Prenant⁽⁸⁾), ma si effettua per il differenziamento cellulare del grigio periventricolare e specialmente per lo sviluppo dei fasci commessurali ventrali e dorsali del midollo spinale. Le modificazioni morfologiche del midollo spinale trovano riscontro con una prevalenza di mitosi orientate secondo definite direzioni nei vari periodi dello sviluppo: infatti nel periodo embrionale prevalgono le mitosi orientate lungo l'asse del tubo neurale (50 % di piastre equatoriali nei preparati), nella prima metà del periodo larvale (da stadio 48 a 54) prevalgono invece le mitosi orientate parallelamente all'epitelio ventricolare (70-75 % di fusi) ed infine, nel secondo periodo larvale (da stadio 56 a 65), le mitosi orientate normalmente al canale endimale diventano particolarmente numerose (45-50 % di fusi radiali nei preparati); ritengo ragionevole che le mitosi orientate secondo l'asse del tubo neurale siano in rapporto con l'allungamento del midollo spinale (che deve tener dietro a quello somatico, specie della coda) e che prevale durante il periodo embrionale; le mitosi orientate parallelamente all'epitelio ventricolare, invece, sono in rapporto con l'ampliamento della cavità ventricolare, la quale nella prima metà del periodo larvale aumenta sette volte circa (ved. Tabella); le mitosi orientate radialmente, infine, vanno messe in rapporto con l'arricchimento di elementi del grigio periventricolare. Questi dati porterebbero ad estendere la validità della legge di Sachs⁽⁹⁾ anche alla morfogenesi di alcuni apparati animali.

In *Xenopus laevis* l'andamento del ritmo mitotico (vedi valori di densità) parte da valori relativamente bassi che poi aumentano, ma all'inizio del periodo larvale presentano un abbassamento, seguito da una notevole accentuazione (a stadio 52) e quindi da un lento declino che dura fino alla metamorfosi; ma l'estinzione dell'attività mitotica non avviene neppure un mese dopo.

A causa della rapida morfogenesi del canale endimale, nel midollo spinale di *Xenopus*, come in quello di *Bufo*⁽¹⁰⁾, è praticamente impossibile

(8) A. PRÉNANT, « Intern. Monatschr. Anat. u. Physiol. », II, 281-296 (1894).

(9) J. SACHS, cfr.: E. B. WILSON, *The cell in development and inheritance* (MacMillan, New York, 1906).

(10) G. M. BAFFONI, e R. PINACCI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 25, 128-34 (1958).

discriminare le mitosi della piastra alare da quelle della piastra basale, a partire dallo stadio 54 in poi, tranne per un breve tratto rostrale (presso al calamo); i dati analitici in mio possesso comunque dimostrano che dall'inizio del periodo larvale (stadio 48) in poi le densità mitotiche della piastra alare prevalgono costantemente su quelle della piastra basale; ciò può esser messo in rapporto con il più precoce differenziamento dei neuroni motori rispetto a quelli sensitivi.

TABELLA I.

<i>Xenopus laevis</i>						<i>Bufo bufo</i>				<i>Triturus cristatus</i>			
Stadio	Età gg.	Lungh. (*) mm.	Area ventric. (**)	N. mitosi	Densità mitotica	Stadio	Età gg.	Lungh. (*) mm.	Densità mitotica	Stadio	Età gg.	Lungh. (*) mm.	Densità mitotica
42	3	2,5	7,1	33,6	4,7	24	8	4	14,8	40	12	4	12,3
45	4	3	7,8	80	10,2	25	10	4,5	23,5	42	15	4,5	9,8
48	8	5	9,8	45	4,6	I	14	5,2	13	45	19	5,5	6,5
50	15	9	14,4	45	3,1								
52	21	12	35,1	1045	29,7	III	26	7	15,3	52	55	8	10,9
54	26	15	66,1	939,5	14,2	VI	35	8	8				
56	36	19	62,9	407	6,5	IX	50	9,3	4,4	60	90	11	7,7
59	46	18	27,9	83,3	3,0	XI	55	9	7,3	62	110	15	5,5
65	57	17,5	26,4	24,5	0,9	XIV	65	9	8,7	63	140	17	4,2
	80	18,5	30,3	35	1,1		95	13	4,3		170	18,5	1,5

(*) Limitata alla distanza rostro-cloacale.

(**) In decimillimetri quadrati.

L'esame comparato tra l'andamento del ritmo mitotico lungo il midollo spinale di *Xenopus laevis* in sviluppo è quello osservato precedentemente in *Bufo* ⁽¹⁰⁾ e *Triturus* ⁽¹¹⁾ (ved. fig. 1), comporta le seguenti considerazioni:

1. — In tutti gli Anfibi esaminati l'attività mitotica è presente nell'epitelio ventricolare del midollo spinale anche un mese dopo la metamorfosi; si presume che essa si estingua solo al termine dell'accrescimento somatico dell'organismo; poiché la nevroglia nel midollo spinale degli Anfibi è poco differenziata e molto scarsa (Herrich, Bairati, Maccagnani ⁽¹²⁾), l'attività mi-

(11) G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 30, 802-08 (1961).

(12) C. J. HERRICH, « Jour. Comp. Neurol. », 77, 191-354 (1942); A. BAIRATI e F. MACCAGNANI, « Monit. Zool. Ital. », 58, Suppl., 49-52 (1950).

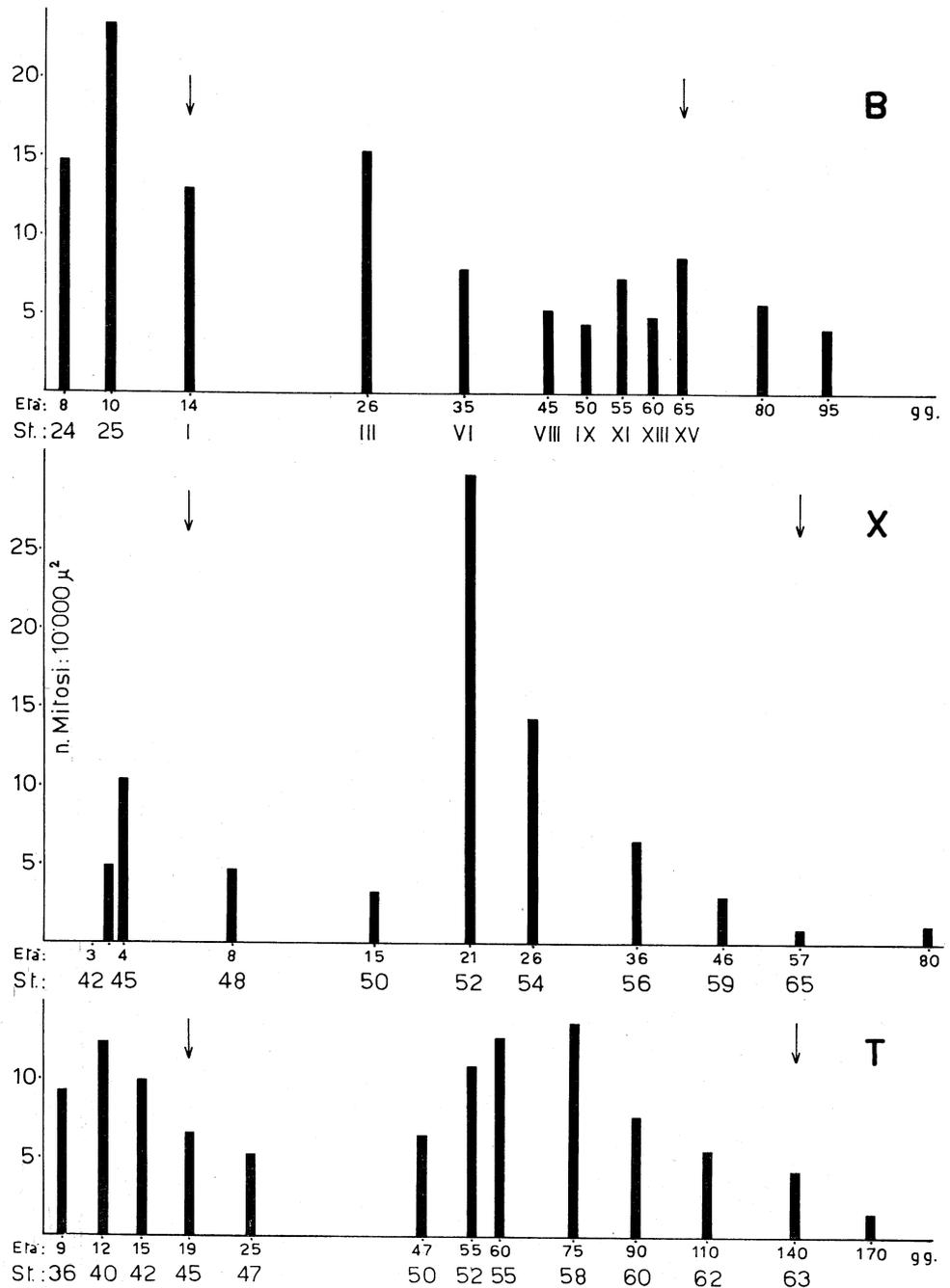


Fig. 1. - Andamento dell'attività mitotica nel midollo spinale durante lo sviluppo di *Xenopus laevis* (X) e confronto con quello di *Bufo bufo* (B) e di *Triturus cristatus* (T).

I tempi di ascissa sono in scala logaritmica; sulle ordinate i valori delle densità mitotiche; la prima freccia (a sinistra) indica l'inizio del periodo larvale e la seconda (a destra) il termine della metamorfosi.

totica che persiste dopo la metamorfosi non può attribuirsi alla formazione della glia, ma alla formazione di quegli elementi dell'epitelio ventricolare e del grigio periventricolare che conservano aspetto di neuroblasta anche nell'adulto ⁽¹³⁾ e che, pur diminuendo numericamente durante lo sviluppo, conservano capacità proliferative in individui che hanno raggiunto la mole somatica specifica (Lombardo ⁽¹⁴⁾); la tardiva determinazione numerica delle cellule nervose nel midollo spinale degli Anfibi anuri e le capacità rigenerative riscontrate nel midollo di adulti (Schönheit ⁽¹⁵⁾), conferiscono al tessuto nervoso degli anuri i caratteri peculiari di un tessuto ad elementi stabili (secondo la classificazione proposta da Bizzozero ⁽¹⁶⁾).

2. - Durante lo sviluppo di *Xenopus*, a partire dallo stadio 45 e fino allo stadio 59, il midollo spinale presenta due zone di maggior attività mitotica; l'una rostrale e l'altra caudale; questo fenomeno è stato verificato in *Bufo* ⁽¹⁰⁾, ma è meno appariscente in *Triturus* ⁽¹¹⁾; questo fatto e la localizzazione morfologica delle due accentuazioni mitotiche indicano che il fenomeno va messo in rapporto con la formazione delle intumescenze del midollo (più sviluppate negli Anuri che negli Urodeli) e va quindi attribuito alla formazione delle cellule nervose che provvedono alla sensibilità ed alla motilità degli arti. I dati analitici in mio possesso hanno inoltre verificato che lungo il midollo spinale si nota una successione di modeste accentuazioni dell'attività mitotica in una diecina di zone della regione del tronco; un comportamento simile è stato osservato anche in *Bufo* ed in *Triturus*, nel quale però le accentuazioni sono una quindicina; la corrispondenza numerica tra le accentuazioni ed i nervi spinali della regione del tronco degli Anfibi conforta la teoria dei neuromeri avanzata da Källén ⁽¹⁷⁾.

3. - Nel midollo spinale di *Xenopus* in sviluppo l'andamento globale del ritmo mitotico presenta due netti flessi: all'inizio ed al termine del periodo larvale; questo fatto è stato verificato anche in *Triturus* ⁽¹¹⁾, ma non in *Bufo* (nel quale gli ultimi stadi embrionali hanno un'attività mitotica più accentuata e quelli al termine della metamorfosi presentano una ripresa); i due periodi di rarefazione mitotica in *Xenopus*, coincidono con i due periodi di digiuno che precedono l'epoca del cambiamento del tipo di nutrizione (da vitellina ad onnivora, iniziando il periodo larvale, e da onnivora in carnivora, terminando la metamorfosi), quando nell'organismo degli Anfibi si verificano le crisi metaboliche, epoche caratterizzate da profonde modificazioni morfologiche ed alterazioni del biochimismo animale ⁽¹⁸⁾.

(13) G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 21, 491-97 (1956); « Riv. di Neurobiol. », 5, 33-73 (1959).

(14) F. LOMBARDO, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 41, 126-29 (1966).

(15) B. SCHÖNHEIT, « Zeitschr. mikr. Anat. Forsch. », 72, 519-62 (1964).

(16) G. BIZZOZERO, « Arch. Sci. Med. », 18, 245-87 (1893).

(17) B. KÄLLÉN, « Journ. Exptl. Morphol. », 4, 66-72 (1956).

(18) Ved.: E. URBANI, « Rend. Ist. Lomb. Sci. Lett. », B 92, 69-179 (1957); J. A. MOORE (ed.) *Physiology of Amphibia* (Acc. Press, New York-London 1964).

4. - L'andamento generale del ritmo mitotico nel midollo spinale in sviluppo di *Xenopus*, pur conservando nei dettagli alcune peculiarità dell'altro Anuro, dovute a comuni esigenze di sviluppo (maggior sviluppo degli arti ed egual consistenza numerica dei nervi spinali), presenta una maggior somiglianza con quello dell'Anfibio urodelo (ved.: fig. 1); poiché tra *Xenopus* e *Triturus* l'unica condizione comune è l'adattamento all'ambiente acquatico dell'animale metamorfosato, se ne deduce che, in armonia con i presupposti della presente ricerca, l'andamento del ritmo mitotico nel midollo spinale in sviluppo è influenzato prevalentemente dall'adattamento ecologico postmetamorfico, mentre resta praticamente indifferente agli altri fattori intrinseci di natura filetica.