

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

ANTONIO SPAGNA, FERDINANDO LOMBARDO

**La rigenerazione del telencefalo in adulti di un  
Anfibio anuro**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 46 (1969), n.3, p. 302–307.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1969\\_8\\_46\\_3\\_302\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_46_3_302_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.** — *La rigenerazione del telencefalo in adulti di un Anfibio anuro* (\*). Nota di ANTONIO SPAGNA e FERDINANDO LOMBARDO, presentata (\*\*) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The regenerative power of the telencephalon of Anurans is studied.

The results of the experiments showed that regeneration is very incomplete when one or both hemispheres are fully removed; but when only strips including pallium and primordium hippocampi or pallium and striatum are removed, a complete regeneration occurs. In these experiments mitotic activity begins at the end of the first week after operation and ends four months later.

Mitotic activity arises in both operated and unoperated hemisphere. It is assumed that mitoses of the injured hemisphere provide the cells for the regenerative processes, where mitoses of the uninjured hemisphere induce the hyperplasia.

Considerazioni emerse da recenti osservazioni fanno ritenere che il tessuto nervoso degli Anamni sia « ad elementi stabili » [1] sia perché l'attività mitotica nel neurasse persiste fino al raggiungimento della taglia somatica specifica, sia perché nell'adulto si rinvergono occasionali mitosi ed elementi che conservano i caratteri del neuroblasta [2, 3]. Nel nostro Istituto sono in corso esperienze per verificare se anche il tessuto nervoso degli Anamni, come i tipici tessuti ad elementi stabili, conserva nell'adulto capacità rigenerative. Precedenti osservazioni in merito hanno stabilito che la retina negli adulti di Anfibi anuri [4] e di Teleostei [5] è capace di rigenerare un intero quadrante; è stato anche verificato che asportazioni di frammenti nel telencefalo di un Anfibio anuro (*Rana*) sono seguiti da completa rigenerazione morfologica [6]. In questa Nota riferiamo i risultati emersi dal proseguimento di quest'ultime ricerche.

Va notato che negli adulti di Urodela, rispettando le capsule olfattive, i lobi olfattori possono rigenerare [7], ma non si ha rigenerazione in seguito all'asportazione di un intero emisfero [8]; solo le larve di *Ambystoma* sono capaci di riformare un intero emisfero [9]. Per quanto si ritenga che gli Anuri perdano ogni capacità rigenerativa a stadi precoci di sviluppo, di recente sono state verificate buone capacità rigenerative del telencefalo a stadi larvali [10, 11] ed in giovani appena metamorfosati [12, 13]; negli adulti, però, le capacità rigenerative del telencefalo risultano molto ridotte [14]; va però ricordata un'antica annotazione, non confermata nè documentata, la quale sostiene la completa rigenerazione degli emisferi in adulti di *Rana* [15].

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Modena. Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta dell'8 marzo 1969.

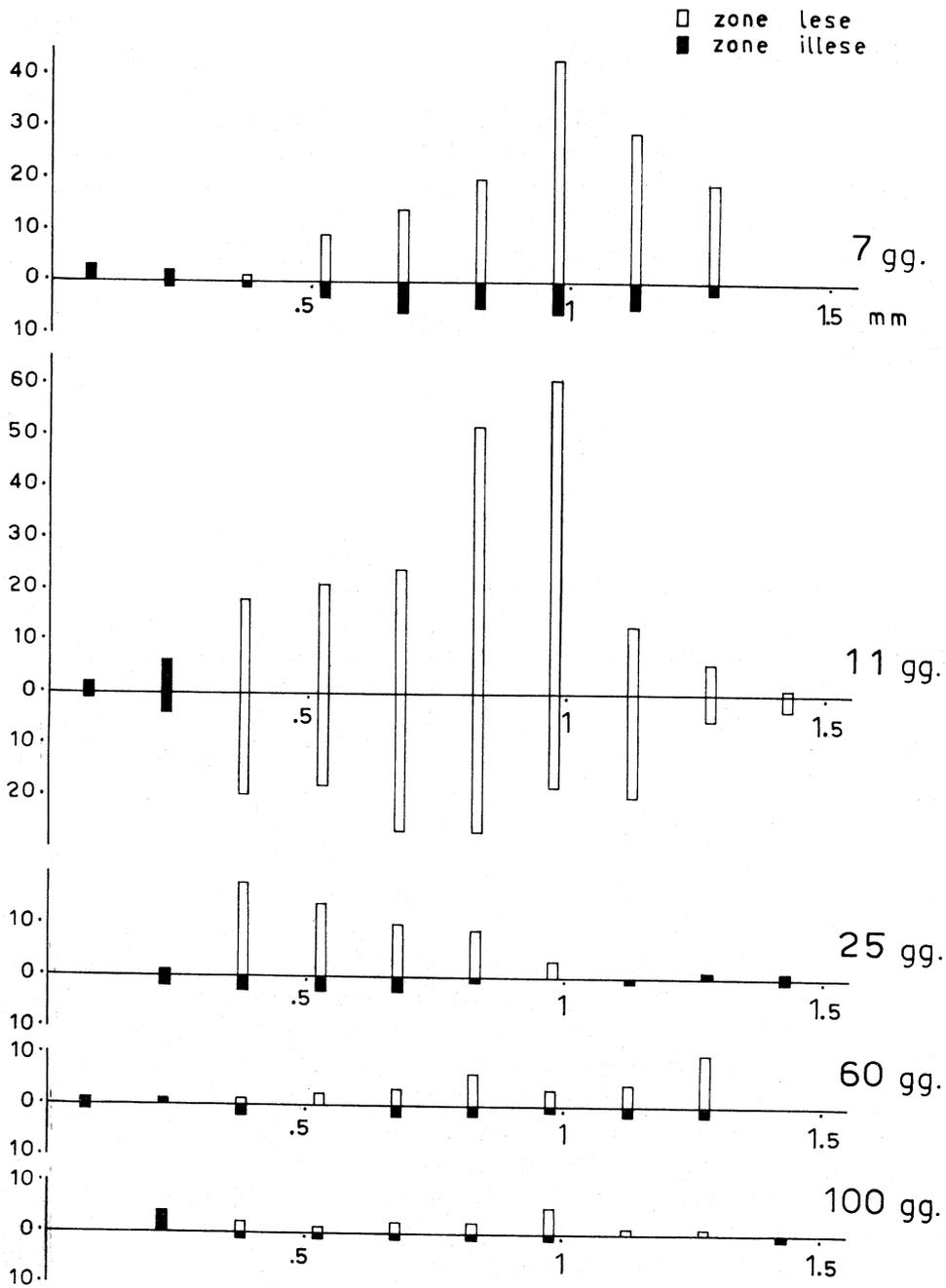


Fig. 1. - Mitosi in adulti di *Rana* a vari tempi della rigenerazione del pallio telencefalico. Nei singoli individui la parte superiore di ogni grafico indica le mitosi dell'emisfero sinistro (operato), quella inferiore le mitosi dell'emisfero destro. In ordinata il numero di mitosi ed in ascissa la lunghezza lungo l'asse rostro-caudale (da sinistra a destra).

In nostre preliminari esperienze di asportazione bilaterale o unilaterale degli emisferi telencefalici, come sarà documentato nel lavoro per esteso, abbiamo riscontrato che gli adulti di *Rana* sono incapaci di ricostituire un emisfero completo.

Dati questi risultati, ci siamo limitati ad asportare tasselli (lunghi 1,5-2 mm e larghi 1 mm circa) comprendenti il pallio e lo striato o il pallio ed il primordio d'ippocampo dell'emisfero telencefalico sinistro. Sotto anestesia sono stati operati 37 maschi di *Rana esculenta* L. sessualmente maturi (lunghi 6-7 cm e del peso di 20-25 g); la zona operata veniva disinfettata con sulfatiazolo. Gli animali sono stati allevati in vasche di vetro con poca acqua e disinfettante (sulfatiazolo 1 ‰) ed alimentati forzatamente con carne tritata. Dopo l'operazione gli animali non mostravano evidenti disturbi di comportamento. Almeno una coppia di animali è stata sacrificata per decapitazione a vari tempi (1,2,3,5,7,11,14,20,25,35,45,60,90,110,150 gg.) dopo l'operazione; la testa è stata fissata in liquido di Sanfelice; gli encefali isolati sono stati inclusi in celloidina-paraffina, affettati in serie a 7-10  $\mu$  di spessore e colorati con l'emallume di Mayer.

In cinque casi (7,11,25,60,100 gg. dopo l'operazione) sono state computate le mitosi e raggruppate in unità di lunghezza (150  $\mu$ ) (fig. 1).

I preparati istologici nei primi cinque giorni dopo l'operazione mostrano che il sangue occupa la zona ove è avvenuta l'asportazione ed invade il ventricolo dell'emisfero destro (ved. Tav. I, 1); in mezzo al sangue si notano cellule mesenchimali sparse; nell'emisfero sinistro, sui bordi della lesione la sostanza grigia presenta cellule con nuclei picnotici (con frequenza crescente fino al quinto giorno) e la sostanza bianca mostra una progressiva perdita di compattezza. Al 7° giorno dopo l'operazione compare l'attività mitotica sui bordi della lesione dell'emisfero sinistro e compare simultaneamente, per quanto con intensità minore (17 ‰), nell'emisfero illeso (fig. 1); in ambedue le sedi una parte delle mitosi (35 ‰) non sono allineate nell'epitelio endimale, ma si rinvergono entro il grigio periventricolare. Nella seconda settimana dopo l'operazione inizia la rigenerazione della membrana vascolare (ved. Tav. I, 2) mentre gli elementi sanguigni si rarefanno nei ventricoli; al 14° giorno la membrana vascolare riveste completamente la porzione rostrale della lesione, ma non quella caudale; in un individuo di questo periodo (11 giorni) abbiamo verificato i più elevati valori di attività mitotica (fig. 1): le mitosi sono particolarmente frequenti sui bordi della lesione, ma si rinvergono anche in zone anteriori e posteriori a questa; particolarmente numerose risultano le mitosi nell'emisfero destro (40 ‰), ma nel caso esaminato questo risultava scalfito dorsalmente per 1 mm e pertanto nella fig. 1 le relative colonnine sono bianche (fig. 1). Nel corso della terza settimana la membrana vascolare avvolge anche la porzione caudale della lesione e nei ventricoli restano pochi elementi sanguigni che sono scomparsi del tutto al 25° giorno; nella quarta o quinta settimana, sotto alla membrana vascolare compare uno strato unicellulare, continuo con l'epitelio endimale e che presso ai

bordi è bi-tristratificato (ved. Tav. I, 3); nella regione caudale, lo strato si trova vicino ai margini lesi, ma si esaurisce a distanza più o meno breve da esso e pertanto è incompleto; in un esemplare al 25° giorno dopo l'operazione l'attività mitotica risulta diminuita in ambedue gli emisferi (fig. 1), specie nell'emisfero illeso (destro) ove torna ai valori percentuali che aveva al termine della prima settimana (17%). Due mesi dopo l'operazione lo strato cellulare che origina ai bordi della lesione, nella regione rostrale è pluristratificato e, ad eccezione di un breve tratto dorsale, è tappezzato esternamente da un mantello di fibre (abbozzo della sostanza bianca) (ved. Tav. I, 4); l'attività mitotica presenta un'ulteriore diminuzione specialmente nell'emisfero operato (fig. 1); la frequenza delle mitosi nell'emisfero destro è infatti aumentata (27%); quella delle mitosi extraventricolari si conserva costante (33%). Tre mesi dopo l'operazione la rigenerazione della parte asportata è pressoché completa ma le pareti neoformate sono più sottili (0,2 mm di spessore medio) rispetto a quelle dell'emisfero illeso (0,5 mm.); tale differenza è dovuta principalmente a difetto di sostanza bianca (ved. Tav. I, 5); le mitosi sono molto rare sia nell'emisfero operato (= 18) che in quello illeso (= 6). Al quinto mese dopo l'operazione l'emisfero sinistro si presenta più piccolo rispetto a quello destro, ma la struttura del primo è in tutto e per tutto simile a quella dell'emisfero illeso (v. Tav. I, 6); l'attività mitotica può dirsi esaurita, per quanto possa verificarsi qualche eccezionale evento. Va osservato che in alcuni animali operati sono state constatate anomalie delle cavità ventricolari simili a quelle descritte nel telencefalo rigenerato di embrioni [16] e di larve [9, 11].

Dai risultati analitici esposti emergono le seguenti considerazioni:

1) Il telencefalo degli adulti di *Rana* è capace di rigenerare il pallio unitamente al primordio di ippocampo o allo striato; ciò non si verifica negli adulti di *Xenopus* [14]; non possiamo dedurre da ciò che gli adulti di *Rana* abbiano capacità rigenerative maggiori di quelli di *Xenopus* perché riteniamo che la diversa tecnica operatoria impiegata nel secondo caso (asportazione per aspirazione) arrechi gravi danni ai tessuti circostanti e che ciò possa ostacolare i processi rigenerativi; infatti nei nostri preparati non osserviamo le massicce formazioni di connettivo riscontrate in *Xenopus* [14];

2) durante la prima settimana dopo l'asportazione in adulti di *Rana* si realizzano solo fenomeni degenerativi (infiltrazione di sangue e mesenchima nelle cavità, comparsa di elementi picnotici e rarefazione di fibre nei bordi lesi) i quali si esauriscono entro la terza settimana con il completo riassorbimento del sangue;

3) la fase riparativa inizia al 7° giorno con la comparsa dell'attività mitotica e dura fino al quinto mese;

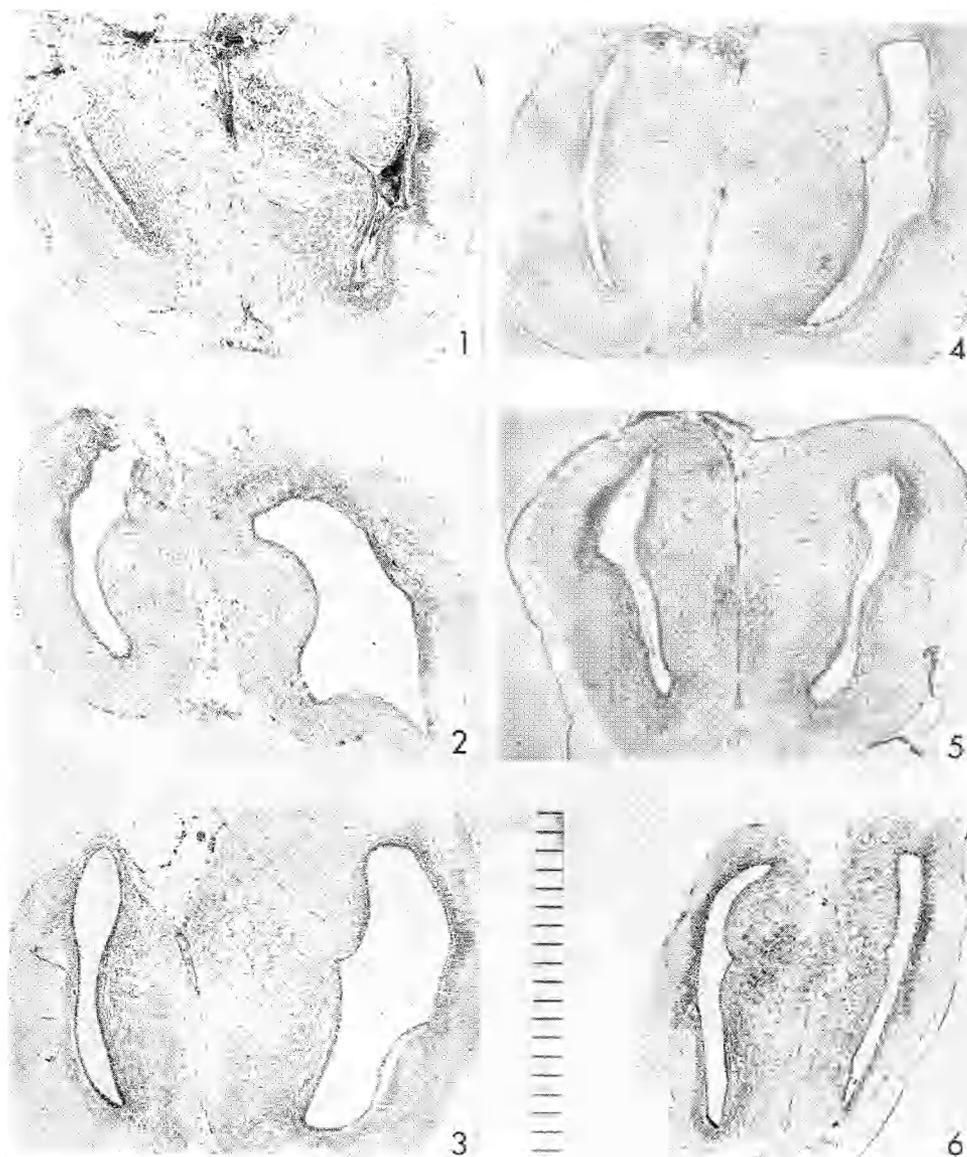
4) nel telencefalo la rigenerazione del tessuto nervoso è preceduta da quella della membrana vascolare, la quale rappresenta il supporto per l'accrescimento del nuovo tessuto nervoso; ciò dimostra che la rigenerazione delle vescicole encefaliche inizia con modalità comuni: infatti fenomeni simili

sono stati osservati nella rigenerazione del tetto mesencefalico in larve di *Xenopus* [18];

5) la formazione della membrana vascolare determina l'allineamento dei neuroblasti che si formano nel grigio periventricolare; questi proliferando limitano l'area lesa prima rostralmente e poi caudalmente e costituiscono un abbozzo inizialmente monostratificato ed in un secondo tempo pluristratificato; l'abbozzo infine si riveste di sostanza bianca costituita dalla rigenerazione delle fibre interrotte e dal neuropilo delle cellule differenziate *in situ*.

I primi dati sull'attività mitotica hanno verificato che durante la rigenerazione del telencefalo negli adulti di *Rana* si ha un progressivo aumento delle frequenze mitotiche in senso rostro-caudale, analogamente a quanto è stato osservato nel corso del normale sviluppo di un altro Anuro [18]; inoltre una gran parte delle mitosi (32 % in media) non si rinvergono nell'epitelio ventricolare, ma nello strato mantellare (mitosi extraventricolari); l'elevata frequenza delle mitosi extraventricolari negli Anuri adulti può rispecchiare le difficoltà meccaniche incontrate dai neuroblasti migranti in un tessuto differenziato, analogamente a quanto è stato supposto per il midollo spinale del moncone durante la rigenerazione della coda di un Anfibio urodelo [19].

Il dato più inatteso, emerso dalle presenti osservazioni è la relativamente sostenuta attività mitotica (17 % del totale) che si verifica nell'emisfero illeso; essa compare (a 7 gg.) e si estingue (quattro mesi dopo) contemporaneamente a quella dell'emisfero operato. L'osservazione dei nostri preparati non ha messo in evidenza migrazioni cellulari tra i due emisferi, né localizzazioni mitotiche preferenziali all'inizio della fase riparativa: pertanto le nuove cellule formate nell'emisfero indenne non partecipano alla riparazione dell'emisfero operato, né l'attività mitotica può essere attribuita ad uno stimolo che diffonda dai margini delle lesioni. Al termine del processo riparativo si osserva una ipertrofia dell'emisfero telencefalico illeso: riteniamo che tale ipertrofia sia in effetti un'iperplasia poiché essa non si accompagna solo alla dilatazione del ventricolo, ma anche all'accrescimento del perimetro telencefalico; e poiché il calibro delle pareti del telencefalo e delle sue componenti (specie della sostanza grigia) resta invariato, ne deriva che il fenomeno è dovuto ad aumento numerico di cellule. Va ricordato che in seguito al trapianto di placodi olfattori soprannumerari in embrioni [20] ed all'asportazione di un emisfero in larve di *Ambystoma* [9] ed in giovani larve di *Xenopus* [11] è stata verificata un'iperplasia compensativa; poiché lo stesso fenomeno avviene anche in seguito all'asportazione del pallio in adulti di *Rana*, se ne deduce che anche negli adulti la rigenerazione del telencefalo conserva la peculiarità dei primi stadi di sviluppo. Le nostre osservazioni documentano infine che l'iperplasia nell'emisfero illeso non è condizionata dalla completa asportazione dell'emisfero telencefalico, poiché essa si verifica dopo l'interruzione delle sole fibre che connettono il bulbo olfattorio alla regione palliale; pertanto il significato dell'attività mitotica nell'emisfero illeso va ravvisato nel sovraccarico funzionale [9, 11, 20]. Resta però ignota la natura dello stimolo dell'attività mitotica nell'emisfero illeso; l'esame



Sezioni trasversali di emisferi telencefalici di *Rana* a 5 gg. (1), 15 gg. (2), 35 gg. (3), 60 gg. (4), 100 gg. (5) e 150 gg. (6). Dopo l'asportazione del pallio e del primordio di ippocampo.

(ogni intervallo della scala in calce = 100  $\mu$ )



morfologico e la simultanea comparsa dell'attività proliferativa in ambedue gli emisferi (al 7° giorno) escludono che l'iperplasia sia effetto del differenziamento di neuroblasti [20]. Comunque il fenomeno verificato nel telencefalo illeso degli adulti di *Rana* è diverso da quella transitoria iperplasia riscontrata di recente nel midollo spinale delle larve di un Anuro in seguito all'asportazione dell'arto [21], poiché quest'ultima non è accompagnata da attività proliferativa, ma è provocata da migrazione cellulare.

## BIBLIOGRAFIA.

- [1] G. M. BAFFONI, « Arch. Zool. Ital. », 51, 337-358 (1966); « Boll. di Zool. », 34, 86-87 (1967).
- [2] G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 21, 491-497 (1956).
- [3] G. M. BAFFONI, « Boll. di Zool. », 24, 153-164 (1957).
- [4] F. LOMBARDO, « Arch. Anat. Embr. », 74, (*in stampa*) (1969).
- [5] F. LOMBARDO, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (ser. VIII) 45 (*in stampa*) (1968).
- [6] F. LOMBARDO, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (ser. VIII) 41, 126-129 (1966).
- [7] J. WEISSFEILER, « Rev. Suisse Zool. », 32, 1-43 (1925).
- [8] W. SIBBING, « Arch. Entw.-mech. », 146, 433-486 (1953).
- [9] K. KIRSCH e W. KIRSCH, « Zeitschr. mikr. anat. Forsch. », 71, 505-525 (1964).
- [10] S. SREBRO, « Folia Biol. », 5, 211-231 (1957).
- [11] S. FILONI, « Rend. Ist. Sci. Univ. Camerino », 5, 111-134 (1964).
- [12] M. JORDAN, « Folia Biol. » (Krakow), 6, 103-116 (1958).
- [13] C. KWIATOWSKI, « Folia Biol. » (Krakow), 9, 27-41 (1961).
- [14] S. SREBRO, « Folia Biol. » (Krakow), 13, 269-280 (1965).
- [15] B. DANILEWSKI, « Verh. X. Internat. Med. Kongr. », 2, 18 (1891).
- [16] A. SPIRITO « Arch. Entw.-mech. », 122, 152-178 (1930).
- [17] S. FILONI (Comunicazione letta al 37° convegno UZI) « Boll. Zool. », 35, (*in stampa*) (1968).
- [18] G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (ser. VIII), 45, 4-11 (1968).
- [19] M. MARINI, « Riv. di Neurobiol. », 14, 16-45 (1967).
- [20] H. S. BURR, « J. Exptl. Zool. », 55, 171-191 (1930).
- [21] G. PALLADINI e L. ALFEI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », (ser. VIII), 40, 296-304 (1966).