
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIORGIO M. BAFFONI

**Le mitosi extraventricolari durante lo sviluppo del
sistema nervoso di Anfi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 47 (1969), n.5, p. 405–410.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_47_5_405_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_47_5_405_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. — *Le mitosi extraventricolari durante lo sviluppo del sistema nervoso di Anfibi* (*). Nota di GIORGIO M. BAFFONI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The extraventricular mitoses are a rare but regular event of the developing central nervous system in the Amphibians. The ratio of the extraventricular mitoses (their percentage on all the dividing cells) is peculiar to each systematic species considered, without being influenced by phyletic or ecologic factors. The ratio of the extraventricular mitoses is constant during the larval life and it appears to be independent of the variations of the general mitotic activity. The ratio of the extraventricular mitoses shows some negligible deviations at the various levels of the central nervous system.

Nel corso di osservazioni sull'andamento dell'attività mitotica nel sistema nervoso centrale durante lo sviluppo di Anfibi [1], ha colpito la mia attenzione il fatto che le mitosi non sono sempre allineate nell'epitelio ventricolare (o neuropitelio), ma una parte di esse si rinviene nel grigio periventricolare, talora anche alla superficie della sostanza grigia (mitosi extraventricolari).

La costanza di questi reperti ha motivato le presenti osservazioni, le quali sono intese a precisare se la frequenza delle mitosi extraventricolari vari durante lo sviluppo, se essa sia influenzata dall'attività mitotica ed in che maniera si modifichi in animali di specie diversa.

I primi istologi che hanno esaminato il tubo neurale in embrioni di vertebrati hanno descritto che le cellule in divisione sono localizzate in profondità, sui bordi della cavità ventricolare (Altmann, 1881 [2]; Merk, 1886-87 [3]). His (1889) [4], avendo verificato il fenomeno, ha supposto che nell'allineamento di elementi che tappezzano il canale centrale (strato germinativo) le cellule in mitosi fossero elementi germinali dai quali originano i neuroblasti, mentre quelle intercinetiche fossero spongioblasti dai quali evolvono gli elementi gliari e di supporto. Schaper (1897) [5] ha invece sostenuto che cellule germinali e spongioblasti di His appartengono allo stesso tipo di cellule in fasi diverse del ciclo mitotico e che il differenziamento cellulare inizia più tardi tra gli elementi indifferenziati dello strato mantellare. In un secondo tempo His (1904) [6] ha ammesso che le cellule germinali possano dare origine sia a neuroblasti che ad elementi gliari ed ha verificato che in certi casi tra elementi in mitosi e neuroblasti si osserva un tipo intermedio di cellule indifferenziate. Molto più tardi Sauer (1935) [7] avanza l'ipotesi che le cellule indifferenziate intercinetiche siano localizzate nello strato mantel-

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena, Via Berengario 14, 41100 Modena.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1969.

lare e che esse migrino nell'epitelio ventricolare solo per effettuare le mitosi, ritornando nello strato mantellare a mitosi ultimata. Questa ipotesi è confortata dai risultati di dosaggi isto-spettrofotometrici (Sauer e Chittenden, 1959) [8] i quali hanno verificato che i nuclei degli elementi che costituiscono il grigio periventricolare (strato subependimale) contengono una quantità di materiale Feulgen-positivo maggiore di quella presente in nuclei intercinetici sicuramente diploidi: ciò significa che nel grigio periventricolare vi sono elementi che hanno già raddoppiato il DNA nucleare (in antifase o periodo G₂) e pertanto sono pronti a dividersi; ma una decisiva conferma dell'ipotesi di Sauer emerge dai risultati di ricerche autoradiografiche, poiché, dopo trattamento con timidina marcata (³H) in embrioni di Uccelli (Sauer e Walker, 1959 [9]; Fujita, 1962 [10]; Källén e Valmin, 1963 [11]; Martin e Langman, 1965 [12]) e di Mammiferi (Sidman *et alii*, 1959 [13]; Smart, 1961 [14]; Fujita, 1964 [15], ecc.), è stato verificato che in un primo tempo la base pirimidinica viene incorporata nel DNA nucleare di elementi dello strato mantellare e solo in un secondo tempo compare tra le mitosi del neurepitelio.

Presenza di mitosi extraventricolari, segnalata in esperienze di regolazione del neurasse (Detwiler, 1944 [16]; Holzer, 1951 [17]), è stata osservata dopo trattamento con antimitotici in embrioni di Anfibi (Shell, 1961) [18], ma specialmente di Mammiferi (Watterson *et alii*, 1956 [19]; Wenger *et alii*, 1966 [20]; Kauffmann, 1969 [21]; Vasiliev *et alii*, 1969 [22]); ma questi fatti non hanno attirato l'attenzione dei ricercatori forse perché nel normale sviluppo del sistema nervoso centrale dei Mammiferi sono presenti estesi strati germinativi extraventricolari (cortece). Va inoltre ricordato che nel tubo neurale di embrioni di un Anfibi urodelo (*Ambystoma*) le mitosi extraventricolari rappresentano il 6-9 % delle mitosi (Mc Keehan, 1966) [23] e che un aumento di mitosi extraventricolari è stato segnalato nel neurasse di Anfibi anuri in metamorfosi dopo trattamento con ormone tiroideo (Baffoni, 1959) [24] e nel neurasse di Anfibi urodela (Marini, 1967) [25] ed anuri (Schönheit, 1967 [26]; Spagna e Lombardo, 1969 [27]) durante la rigenerazione del sistema nervoso di animali adulti.

Per questa ricerca sono state impiegate le serie di sviluppo già utilizzate per i computi sull'andamento dell'attività mitotica nel sistema nervoso durante lo sviluppo di Anfibi (Baffoni, 1957-68), pertanto ritengo superfluo indugiare nell'esposizione dei dettagli tecnici e degli accorgimenti impiegati (Baffoni, 1966) [28]. I computi delle mitosi extraventricolari riguardano un Anfibi urodelo (*Triturus cristatus carnifex* Laur.) e due Anfibi anuri: di questi uno dopo la metamorfosi resta in acqua (*Xenopus laevis* Daudin), l'altro invece passa ad una condizione terrestre (*Bufo bufo* L.). Nell'intento di verificare se vi fossero variazioni di mitosi extraventricolari durante lo sviluppo, ho ritenuto opportuno iniziare l'esame limitandolo a solo tre stadi larvali i quali però fossero molto distanziati nel tempo, presentassero differenze nell'attività mitotica del neurasse e rivestissero un particolare interesse biologico: perciò la mia scelta è caduta sul primo ed il penultimo stadio della vita larvale e

su un terzo stadio intermedio (inizio della prometamorfosi); i risultati ottenuti hanno sconsigliato, in quanto inutile, l'esame di altri stadi di sviluppo. I dati numerici riportati nella Tabella si riferiscono alla media dei valori assoluti ottenuti dall'esame di due individui per ogni stadio di sviluppo, ma i risultati dell'elaborazione statistica sono ovviamente basati sulle popolazioni totali. Nei computi mitotici di proposito sono state trascurate le fasi mitotiche che potessero confondersi con le picnosi di cellule nervose o con i nuclei di eritrociti e di alcune cellule connettivali. Infine sono state considerate come mitosi extraventricolari solo quelle che risultavano separate dal lume ependimale da almeno un nucleo intercinetico e che all'osservazione in contrasto di fase mancavano di evidenti connessioni con la cavità ventricolare, escludendo cioè le mitosi spostate dall'allineamento del neurepitelio o in rapporto con il lume mediante un grosso prolungamento cellulare, e quelle separate dalla cavità ventricolare per l'interposizione di un'altra cellula in mitosi. Una particolare prudenza ha richiesto la valutazione delle mitosi extraventricolari in quelle zone del neurasse ove le pareti ventricolari divengono tangenziali al piano di taglio (estremità rostrale del romboencefalo, estremità caudale del mesencefalo, pavimento del diencefalo ed estremità degli emisferi telencefalici).

TABELLA.

STADIO	Età in gg.	Lunghezza corpo+coda	Mitosi extravent.	N. Mitosi ependimali	Frequenza % $\pm \sigma$	Densità mitotica
<i>Triturus:</i>						
45	19	5,3 + 9 mm	29	457	6,0 \pm 0,7	4,6
55	60	8 + 11	82	1346	5,7 \pm 0,4	8,2
62	110	15 + 13	66	1044	5,8 \pm 0,5	3,1
<i>Xenopus:</i>						
			177	2847	5,8 \pm 0,3	
47	8	5 + 10	21	611	3,3 \pm 0,5	4,9
54	26	15 + 32	54	1686	3,1 \pm 0,4	12,9
65	57	17,5	27	693	3,7 \pm 0,5	1,2
<i>Bufo:</i>						
			102	2990	3,4 \pm 0,2	
I	14	5 + 10	54	929	5,5 \pm 0,4	15,2
VI	35	8 + 14	81	1326	5,8 \pm 0,4	11,2
XIV	65	9	44	723	5,7 \pm 0,5	6,1
			179	2978	5,6 \pm 0,3	

I risultati più salienti (ved. Tabella) possono così riassumersi:

1) le mitosi extraventricolari rappresentano un fenomeno poco frequente, ma che si verifica con costanza durante lo sviluppo del neurasse di Anfibi;

2) la frequenza delle mitosi extraventricolari diversifica nei tre animali esaminati: infatti se è vero che non vi è una differenza statisticamente significativa tra quella dell'Urodelo ed uno dei due Anuri (*Bufo*), tale coincidenza di valori deve essere ritenuta casuale perché la posizione sistematica farebbe prevedere valori simili tra i due Anuri e l'ecologia potrebbe giustificare una concordanza tra l'Urodelo e l'altro Anuro (*Xenopus*); se ne deve pertanto dedurre che, a differenza di quanto si verifica nell'andamento generale dell'attività mitotica [1], i fattori ecologici non influenzano la frequenza delle mitosi extraventricolari;

3) durante la vita larvale la frequenza delle mitosi non si modifica: infatti essa oscilla attorno a valori molto simili e non presenta scarti statisticamente significativi; ciò significa che la frequenza delle mitosi extraventricolari è costante durante tutto lo sviluppo di una data specie;

4) la frequenza delle mitosi extraventricolari non risulta influenzata dalle variazioni d'attività mitotica che si verificano nello sviluppo: questo dato è documentato dal fatto che esse restano immutate sia negli stadi dove le densità mitotiche risultano molto basse (primo stadio di *Triturus* e *Xenopus* ed ultimo di tutti e tre), sia dove esse sono più elevate (primo stadio di *Bufo* e stadio intermedio di *Triturus* e *Xenopus*);

5) tra i due esemplari di uno stesso stadio sono emerse alcune differenze nei valori assoluti, ma non sono state apprezzate sensibili deviazioni nei valori delle frequenze;

6) le frequenze parziali delle mitosi extraventricolari, ottenute nell'esame delle singole vescicole encefaliche e del midollo spinale di uno stesso esemplare, presentano oscillazioni modeste ed incostanti; pertanto queste vanno ritenute prive di significato.

7) la massima parte delle mitosi extraventricolari (80 %) si rinviene nel grigio periventricolare (strato subependimale) adiacente all'ependima, una parte, invece, non ha rapporti con l'ependima; in qualche caso (1-2 %) le mitosi extraventricolari si rinvencono alla superficie della sostanza grigia, contigue ai neuroni differenziati più lontani dal lume (ad esempio: presso il corpo cellulare di neuroni motori del midollo spinale).

Il risultato più interessante emerso da queste osservazioni, consiste nel fatto che la frequenza delle mitosi extraventricolari resta costante durante tutta la vita larvale e che essa non è influenzata né dall'attività mitotica generale, né dal differenziamento del tessuto nervoso. A quest'ultimo proposito ricordo che in esperienze compiute nel nostro Istituto sulla rigenerazione del neurasse in adulti di Anfibi urodela [25] ed Anuri [27] è stata riscontrata un'elevata frequenza (30 %) di mitosi extraventricolari nelle zone illese del tessuto nervoso; essa è stata spiegata con l'ipotesi più plausibile, supponendo

cioè che un tessuto altamente differenziato, qual'è quello nervoso dell'adulto, ostacoli la migrazione delle cellule in procinto di dividersi, che pertanto non riescono a raggiungere il neuropitelio. Inoltre ho verificato che nelle larve di Anuri trattate con tiroxina le mitosi extraventricolari divengono molto frequenti [24]. Basandomi su questi rilievi mi attendevo che le mitosi extraventricolari aumentassero negli ultimi stadi dello sviluppo larvale. Ciò non si verifica. Il fatto in se, però, non implica necessariamente che l'ipotesi avanzata per il tessuto nervoso degli Anfibi adulti sia infondata; ricordo infatti che al termine della metamorfosi il differenziamento dei centri nervosi destinati a presiedere le nuove funzioni della condizione di vita post-larvale non è terminato (Kollros e McMurray, 1955 [29]; Baffoni, 1959 [30]); inoltre l'attività mitotica nel neurasse degli Anfibi continua anche dopo la metamorfosi e pertanto il tessuto nervoso deve consentire la migrazione delle cellule in divisione; infine va tenuto presente che il grigio periventricolare negli Anfibi in metamorfosi è poco differenziato. Tutti questi fatti inducono a ritenere che un'ipotesi valida per il tessuto nervoso degli adulti, possa non esserla per quello del periodo larvale. Comunque sono in corso osservazioni nell'intento di analizzare con dettaglio le variazioni di frequenza delle mitosi extraventricolari nel neurasse di Anfibi per effetto di trattamenti sperimentali durante il periodo larvale e nel corso della rigenerazione degli adulti, nel tentativo di individuare i fattori che influenzano la frequenza delle mitosi extraventricolari nei due periodi di vita degli Anfibi ed eventualmente di risalire al significato di queste mitosi.

Concludendo: la frequenza delle mitosi extraventricolari nel neurasse di Anfibi in sviluppo è bassa, ma costante; essa è tipica per ogni specie zoologica e si conserva invariata durante tutto lo sviluppo, senza essere influenzata dall'intensità mitotica o dal differenziamento del tessuto nervoso.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] G. M. BAFFONI, « Boll. di Zool. », 28, 661-680 (1961); « Acta Med. Romana », 4, 8-14 (1966); « Arch. Zool. Ital. », 51, 337-358 (1966).
- [2] R. ALTMANN, *Ueber embryonales Wachstum* (Leipzig, 1881).
- [3] L. MERK, « Sitz-ber. K. Akad. Wiss. Wien », math.-naturw. Kl., 92, 356-376 (1886); « Denkschr. K. Akad. Wiss. », 53, 79-118 (1887).
- [4] W. HIS, « Arch. Anat. Physiol. » Jr. 1889: 249-300 (1889).
- [5] A. SCHAPER, « Arch. Entw.-mech. Org. », 5, 81-132 (1897).
- [6] W. HIS, *Die Entwicklung des menschlichen Gehirns während der ersten Monate* (Hirzel, Leipzig 1904).
- [7] F. C. SAUER, « J. Comp. Neurol. », 62, 377-405 (1935).
- [8] M. E. SAUER e A. C. CHITTENDEN, « Exptl. Cell Res. », 16, 1-6 (1959).
- [9] M. E. SAUER e B. E. WALKER, « Proc. Soc. Exptl. Biol. », 101, 557-560 (1959).
- [10] S. FÜJITA, « Exptl. Cell Res. », 28, 52-60 (1962).
- [11] B. KÄLLÉN e K. VALMIN, « Z. Zellforsch. », 60, 491-496 (1963).
- [12] A. MARTIN e J. LANGMAN, « J. Embryol. Exptl. Morphol. », 14, 25-35 (1965).
- [13] R. L. SIDMAN, I. L. MIALE e N. FEDER, « J. Exptl. Neurol. », 1, 322-333 (1959).
- [14] I. SMART, « J. Comp. Neurol. », 116, 325-347 (1961).

- [15] S. FUJITA, « J. Comp. Neurol. », 122, 311–327 (1964).
- [16] S. R. DETWILER, « J. Exptl. Zool. », 96, 129–142 (1944).
- [17] H. HOLZER, « J. Exptl. Zool. », 117, 523–557 (1951).
- [18] L. C. SHELL, « Amer. Zoologist », 1, 388 (1961).
- [19] R. L. WATTERSON, P. VENEZIANO e A. BARTHA, « Anat. Record », 124, 379 (1956).
- [20] T. VENGER, B. VIGHT e B. AAROS, « Acta Biol. Acad. Sci. Hung. », 17, 175–182 (1966).
- [21] S. L. KAUFFMAN, « Develop. Biol. », 20, 146–157 (1969).
- [22] J. M. VASILIEV, I. M. GELFAND, L. V. DOMNINA e R. I. RAPPOPORT, « Exptl. Cell Res. », 54, 83–93 (1969).
- [23] M. S. MCKEEHAN, « Anat. Record », 154, 705–712 (1966).
- [24] G. M. BAFFONI, « Boll. di Zool. », 26, 255–282 (1959).
- [25] M. MARINI, « Riv. Neurobiol. » (Perugia), 14, 16–45 (1968).
- [26] B. SCHÖNHEIT, « Z. mikr.-anat. Forschung », 78, 557–596 (1968).
- [27] A. SPAGNA e F. LOMBARDO, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 46, 302–307 (1969).
- [28] Ved.: G. M. BAFFONI, « Arch. Zool. Ital. », 51, 337–358; « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. 8^a, 41, 574–580 (1966).
- [29] J. J. KOLLROS e V. M. MCMURRAY, « J. Comp. Neurol. », 102, 47–64 (1955).
- [30] G. M. BAFFONI, « Riv. Neurobiol. » (Perugia), 5, 33–73 (1959).