
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIORGIO M. BAFFONI

**Localizzazione delle mitosi nel sistema nervoso
centrale in rigenerazione di adulti di Anfibì**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 48 (1970), n.6, p. 733–738.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1970_8_48_6_733_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. — *Localizzazione delle mitosi nel sistema nervoso centrale in rigenerazione di adulti di Anfibi* (*). Nota di GIORGIO M. BAFFONI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In the new structures of the regenerating central nervous system of adults of Amphibians the ventricular migration of undifferentiated nervous cells goes on as in the normal developing tissue. The ratio of the extraependymal mitoses rises in the unaffected old nervous tissue. This rise is a true increase which indicates that the ventricular migration is hindered by the well differentiated nervous tissue of the adult. Therefore the ventricular migration in the unaffected nervous tissue of the adult Amphibians is not influenced by modifications of the cytoplasmic viscosity as happens during the development.

Sauer [1] ha supposto che nel sistema nervoso centrale in sviluppo dei Vertebrati le cellule indifferenziate siano localizzate nel grigio mantellare; quando esse si accingono a dividersi, però, migrano in profondità, raggiungono l'allineamento di cellule che tappezza i ventricoli (neurepitelio), ove effettuano la mitosi, e quindi ritornano nel grigio mantellare. È noto da tempo (1886) che non tutte le cellule in divisione raggiungono il neurepitelio, poiché alcune mitosi sono presenti nel grigio mantellare (Raubert 121, Schaper [3], Sclavunos [4], Paton [5], Hamilton [6], Hardesty [7], Allen [8], Milone [9], Hamburger [10]): tali mitosi sono state denominate «extraventricolari» o «extrependimali».

In una precedente Nota su questi Rendiconti [11] ho verificato che la frequenza relativa delle mitosi extraventricolari si mantiene costante nelle singole specie di Anfibi durante lo sviluppo larvale; ne ho dedotto che la migrazione ventricolare non viene influenzata dalle variazioni di densità mitotica né dal differenziamento del tessuto nervoso, almeno fino al termine della metamorfosi. In una Nota successiva [12] ho analizzato le variazioni di frequenza delle mitosi extraventricolari in seguito all'azione di un alcaloide (colchicina) e di un ormone (tiroxina) su giovani girini di rospo (*Bufo bufo*), giungendo alla conclusione che durante lo sviluppo larvale la migrazione ventricolare può essere influenzata da alterazioni di viscosità delle cellule indifferenziate in procinto di dividersi.

In questa Nota sono riferiti i risultati di un esame sulla localizzazione delle mitosi durante la rigenerazione del sistema nervoso centrale in adulti di Anfibi. Ricordo in proposito che un aumento di mitosi extraventricolari (negli adulti forse è più corretto: extrependimali) è stato segnalato di recente nel sistema nervoso centrale in rigenerazione di Anfibi adulti (nel midollo

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata dell'Università, Via Berengario 14, 41100-Modena.

(**) Nella seduta del 13 giugno 1970.

spinale della coda di un Urodelo - Marini [13] - e del tronco di un Anuro - Schönheit [14] - e nel telencefalo di un Anuro - Lombardo e Spagna [15]).

Per gli intenti che mi ero proposto, seguendo i criteri adottati nelle precedenti osservazioni [11], ho iniziato l'esame della localizzazione delle mitosi nel sistema nervoso in rigenerazione di un Anuro adulto, utilizzando i protocolli relativi ad uno studio sulle capacità rigenerative del telencefalo di rana (*Rana eschulenta* L.) ed analizzando in particolare le mitosi durante la rigenerazione della volta di un emisfero [15]. Nella Tabella I sono riportati i valori medi ottenuti a vari tempi dopo l'operazione.

TABELLA I.

TEMPO	Mitosi endpendimali			Mitosi extrepndimali			Frequenze	
	E. operato	E. illeso	Totale	E. operato	E. illeso	Totale	%	σ
A 7 giorni .	98	12,5	110,5	45,5	18	63,5	$36 \pm 2,6$	
a 14 giorni .	197	54	251	84	12,5	96,5	$28 \pm 1,7$	
a 22 giorni .	37	11	48	18,5	3,5	22	$31 \pm 3,9$	
a 45 giorni .	35	15	50	11	2	13	$21 \pm 5,1$	
a 60 giorni .	18	6	24	14	5	19	$44 \pm 7,7$	
a 100 giorni.	10	4	14	8	1	9	$39 \pm 10,0$	
Totale e media	727	180	907	329	76	415	$31 \pm 1,3$	

L'esame della localizzazione delle mitosi durante la rigenerazione della volta di un emisfero telencefalico in un Anuro adulto comporta le seguenti considerazioni:

1) i valori assoluti medi delle mitosi extrepndimali aumentano rapidamente dal 5° al 14° giorno dopo l'operazione, diminuiscono rapidamente nella settimana successiva e lentamente poi, fino al quarto mese; perciò le mitosi extrepndimali presentano un andamento simile a quello delle mitosi endpendimali, come lo conferma il livello delle frequenze percentuali;

2) la percentuale delle mitosi extrepndimali (su tutta la popolazione delle cellule in divisione) durante la rigenerazione del tessuto nervoso dell'adulto risulta maggiore a quella verificata durante il normale sviluppo su altri Anuri (3,5 — 5,6 %) [11]; ciò significa che nel sistema nervoso in rigenerazione dell'adulto la migrazione ventricolare delle cellule indifferenziate è disturbata;

3) nel primo mese e mezzo dopo l'operazione, ove i dati numerici hanno una certa consistenza, la frequenza delle mitosi extrepndimali diminuisce (dal 36 al 21 %); anche la frequenza media delle mitosi extrepndimali nell'emi-

sfero operato risulta inferiore (31 %) a quella dell'emisfero illeso (33 %); per quanto l'elaborazione statistica non sia riuscita a documentare la significatività di quest'ultima differenza ($X^2 = 0,22$), i due fenomeni possono esser messi in rapporto con la formazione di nuovo tessuto nervoso; infatti l'osservazione dei preparati mette in evidenza che nell'emisfero abortivo, che si forma dopo l'asportazione totale di un emisfero, e nella lamina nervosa, che si forma dopo l'asportazione della volta di un emisfero, le mitosi sono localizzate quasi esclusivamente nel neurepitelio.

Nell'intento di verificare il valore delle indicazioni emerse durante la rigenerazione del telencefalo dell'Anuro, ho esaminato la localizzazione delle mitosi durante la rigenerazione del midollo spinale in seguito all'amputazione della coda in adulti di un Urodelo (*Triturus cristatus carnifex* Laur.), perché in questo caso è possibile un'analisi separata delle mitosi localizzate nel nuovo tessuto nervoso e di quelle localizzate nel tessuto nervoso adulto del moncone, ove, con'è noto [13], l'attività mitotica è presente fino a un mese dopo l'operazione. I valori ottenuti da questo esame sono raccolti nella Tabella II.

TABELLA II.

TEMPO	Zona rigenerata			Zona di lesione			Zona rostrale moncone		
	M. epend.	M. extrep.	%	M. epend.	M. extrep.	%	M. epend.	M. extrep.	%
a 10 giorni . .	39	2	5	26	55	68	—	—	—
a 20 giorni . .	167	11	6	147	32	18	101	79	44
a 30 giorni . .	274	16	5	69	23	24	99	44	34
a 40 giorni . .	315	20	6	151	27	16	—	—	—
Somme e medie.	795	49	$5,5 \pm 0,8$	393	137	26 ± 2	200	123	38 ± 4

I dati ottenuti dimostrano che:

1) nell'ampolla ependimale e nel midollo neoformato (zona rigenerata) la frequenza delle mitosi ependimali resta molto bassa ($5,5 \pm 0,8\%$) e presenta valori molto simili a quelli riscontrati durante lo sviluppo larvale dello stesso animale ($5,8 \pm 0,3\%$); ciò significa che nel tessuto nervoso in rigenerazione la migrazione ventricolare non è disturbata, o meglio che questa lo è come durante il normale sviluppo del neurasse;

2) nella zona rostrale del moncone, costituita da midollo spinale adulto non interessato dall'operazione, le mitosi extrepndimali divengono molto più numerose che nel midollo spinale nuovo e presentano valori molto vicini a quelli osservati nel telencefalo in rigenerazione dell'Anuro; l'aumento di

mitosi extrepindimali nel midollo spinale dell'adulto è statisticamente significativa ($= 32,5 \pm 2,3 \%$; $P. > 0,01$); l'analisi morfologica tra le due strutture mette in evidenza che il grigio subependimale dell'adulto non ha quell'aspetto epiteliale che si osserva nel midollo spinale in sviluppo ed in rigenerazione: le sue cellule, infatti, sono distanziate tra di loro e separate dall'ependima a causa del neuropilo; ritengo pertanto che la migrazione ventricolare delle cellule in divisione sia meccanicamente ostacolata dal neuropilo dell'adulto, considerando questo costituito non solo dai prolungamenti cellulari delle cellule differenziate, ma anche dai numerosi desmosomi e rapporti sinaptici che lo rendono come un feltro a maglie molto strette;

3) tra il 20° e 30° giorno la frequenza relativa delle mitosi extrapendimali nella zona rostrale del midollo spinale del moncone diminuisce (da 44 a 34 %); l'elaborazione statistica dei dati dimostra che questo abbassamento è significativo ($X^2 = 6,33$; $P. = 0,01$); il fatto indica che, col trascorrere del tempo, la compattezza del tessuto nervoso adulto diminuisce; l'interpretazione più plausibile va ravvisata nell'avvenuta migrazione di molte cellule indifferenziate, le quali nel frattempo hanno aperto nuove vie entro il neuropilo.

4) nella zona di transizione tra midollo nuovo e vecchio le mitosi extrepindimali sono molto frequenti al 10° giorno, ma in seguito diminuiscono oscillando su valori intermedi tra quelli del midollo spinale rigenerato e dell'adulto (16-24 %); l'elaborazione statistica dei dati della zona lesa tra 10° e 20° giorno dimostra che la differenza è significativa ($X^2 = 60,4$; $P. > 0,01$); l'osservazione morfologica della zona rileva che l'alta frequenza delle mitosi extrepindimali è associata alla presenza di grumi di sangue e di connettivo nel tessuto nervoso e che l'abbassamento della frequenza al 20° giorno coincide con l'avvenuto riassorbimento di queste formazioni; se i dati morfologici non sono dovuti ad una fortuita coincidenza, se ne deve dedurre che l'ostacolo alla migrazione ventricolare nella zona lesa al 10° giorno è rappresentato dal sangue e dal connettivo che impregna il tessuto nervoso a quell'epoca; le irregolari oscillazioni delle frequenze nelle mitosi extraventricolari della zona lesa, che si manifestano tra il 20° e 40° giorno, si spiegano tenendo presente che col passar del tempo la distinzione morfologica tra midollo spinale nuovo e vecchio va attenuandosi e pertanto nei computi mitotici sono compresi tratti più o meno estesi di midollo nuovo.

Il risultato più saliente, emerso dall'esame della localizzazione delle mitosi nel tessuto nervoso in rigenerazione di Anfibi adulti, è l'aver precisato che nel tessuto nervoso adulto la migrazione ventricolare è intralciata da fattori meccanici: questi sono stati individuati nella transitoria presenza di tessuti estranei (zona lesa al 10° giorno), ma specialmente nel neuropilo del grigio subependimale. Si potrebbe in proposito obiettare che l'aumento di mitosi extrepindimali nell'adulto sia apparente, cioè dovuto ad un rallentamento della durata della mitosi, poiché è noto che questa può variare anche tra gli elementi di una stessa cultura *in vitro* [16, 17]; ma va notato che una durata

tale da giustificare le frequenze osservate avrebbe dovuto comportare l'osservazione di occasionali elementi picnotici, o binucleati o a nucleo tetraploide, come si verifica nei casi di grave disturbo della mitosi o della citodieresi [18]; l'attento esame dei preparati ha verificato solo uno dei fenomeni (picnosi) in zone ben localizzate (nei bordi lesi) ed in limitati periodi del processo rigenerativo [15]; pertanto ne consegue che nel tessuto nervoso adulto in rigenerazione le mitosi extrepindimali aumentano per effetto di un reale impedimento meccanico il quale disturba la migrazione ventricolare.

Prima di finire, ritengo opportuno esporre alcune considerazioni generali riguardanti il significato delle mitosi extraventricolari e la stessa migrazione ventricolare. Ricordo che Schaper [4] ha osservato che le mitosi extraventricolari compaiono nel sistema nervoso in sviluppo solo dopo la penetrazione dei vasi sanguigni; basandosi su questa affermazione, la maggior parte dei successivi Autori [6-10] ritengono che le mitosi extraventricolari appartengano ad elementi non nervosi (mesodermici o mesenchimatici).

Sono in grado di sostenere, però, che l'osservazione di Schaper sia dovuta ad una fortuita coincidenza perché l'esame dei preparati istologici di Anfibi dimostra che nel tubo neurale le mitosi extraventricolari sono già presenti a stadio 36 di *Triturus*, a st. 40 di *Xenopus* ed a st. 17 di *Bufo*, cioè prima che i vasi piali inizino a penetrare nel tubo neurale (rispettivamente a st. 40, 43 e 20) e ne raggiungano gli strati profondi (a st. 45, 46 e 25); questo fatto, e l'identità dimensionale e morfologica tra mitosi ependimali ed extrepindimali [11], dimostrano che queste devono esser considerate come cellule nervose indifferenziate che non sono riuscite ad effettuare la migrazione ventricolare. Schaper [4] sostiene inoltre che le mitosi si affollano sui bordi del lume ventricolare per due ragioni: avvicinarsi al nutrimento e trovare più spazio per la citodieresi. Sauer [1], avanzando l'ipotesi della migrazione ventricolare, fa notare che i fattori trofici non devono rappresentare uno stimolo importante, diversamente esse si sarebbero dovute trasferire attorno ai vasi non appena questi abbiano raggiunto il grigio mantellare; Sauer inoltre ritiene poco convincente che il compatto allineamento cellulare del neurepitelio permetta alle cellule in mitosi più spazio del grigio mantellare; a questo proposito, però, è opportuno sottolineare come non sia detto che *in vivo* il neurepitelio sia una struttura così rigida quale appare nei preparati, ma che esso, tenendo conto anche della vicinanza del liquido ventricolare, consenta effettivamente una maggior libertà di movimento per la citodieresi, favorendo altresì le rapide modificazioni di viscosità che si verificano dopo la metafase [17], di cui il « bubbling » nelle cellule in cultura è l'aspetto più vistoso. È inoltre da ricordare che nelle cellule *in vitro* i contatti reciproci, che sono numerosi tra gli elementi del grigio subependimale, inibisce i movimenti cellulari [19]. Infine va sottolineato che le mitosi negli strati germinativi secondari (extraventricolari o granulari) delle cortecce di Mammiferi, sono localizzate in vicinanza degli spazi miningei o dei plessi vasali [20]. Per tutte queste ragioni ritengo verosimile che la migrazione ventricolare delle cellule in procinto di dividersi nel sistema nervoso centrale, sia da mettere in rapporto con

la vicinanza del ventricolo il cui contenuto facilita gli scambi idrici e jonici della cellule in mitosi e consente una maggior libertà di movimento per effettuare la citodieresi. In condizioni sperimentali durante lo sviluppo degli Anfibii l'aumento di mitosi extraventricolari è risultato dovuto ad un rallentamento della migrazione ventricolare provocato da modificazioni della viscosità cellulare [12]; in condizioni sperimentali (rigenerazione) degli Anfibii adulti, invece, l'aumento di mitosi extrapendimali risulta dovuto all'ostacolo meccanico frapposto alla migrazione ventricolare da infiltrazioni di tessuti estranei, ma specialmente dall'intricato neuropilo del tessuto nervoso differenziato.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] F. C. SAUER, « J. Comp. Neuro. », 62, 377-405 (1935).
- [2] A. RAUBER, « Arch. f. mikr. Anat. », 26, 622-647; « Zool. Anzeiger », 9, 159-164 (1886).
- [3] A. SCHAPER, « Arch. f. Entw.-mech. Org. », 5, 81-132 (1897).
- [4] G. SCLAVUNOS, « Anat. Anzeiger », 16, 467-473 (1899).
- [5] S. PATON, *Contributionn by pupils of W. H. Wetch* (Baltimore, 1900).
- [6] A. HAMILTON, « J. Comp. Neurol. », 11, 297-320 (1901).
- [7] I. HARDESTY, « Amer. J. Anat. », 3, 229-268 (1904).
- [8] E. ALLEN, « J. Comp. Neurol. », 22, 547-568 (1912).
- [9] S. MILONE, « Arch. Ital. Anat. Embriol. », 20, 417-432 (1923).
- [10] V. HAMBURGER, « J. Comp. Neurol. », 88, 222-282 (1949).
- [11] G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. 8^a, 47, 405-410 (1969).
- [12] G. M. BAFFONI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. 8^a, 48, 463-468 (1970).
- [13] M. MARINI, « Riv. Neurobiol. » (Perugia), 14, 16-45 (1968).
- [14] B. SCHÖNHEIT, « Z. mikr. anat. Forsch. », 78, 557-596 (1968).
- [15] F. LOMBARDO e A. SPAGNA, « Riv. Neurobiol. » (Perugia), 16, 111-135 (1970).
- [16] Ved. A. F. W. HUGHES, *The mitotic cycle* (London, 1952).
- [17] Ved.: E. N. WILLMER Ed. *Cells and Tissue in Culture* (London-New York 1965).
- [18] Ved.: J. BRACHET e A. E. MIRSKY Edd., *The Cell* (New York-London, 1959-64).
- [19] Ved.: M. ABERCROMBIE, « Exptl. Cell Res. », *Suppl.* 8^o, 188-198 (1961).
- [20] J. ALTMAN, « J. Comp. Neurol. », 128, 431-473 (1966); 137, 433-457 (1968).