
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

SERGIO FILONI, VITO MARGOTTA, GIANCARLO
GIBERTINI

**Ulteriori osservazioni sulla rigenerazione del
mesencefalo in *Xenopus laevis* (Daudin). Istologia
del tetto ottico normale e rigenerato**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.6, p. 807-814.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_6_807_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. — *Ulteriori osservazioni sulla rigenerazione del mesencefalo in Xenopus laevis (Daudin). Istologia del tetto ottico normale e rigenerato* (*). Nota di SERGIO FILONI, VITO MARGOTTA e GIANCARLO GIBERTINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The histology of normal and regenerated optic lobes was examined in young specimens of *Xenopus laevis* by applying the Golgi-Cox method.

In the operated animals the unilateral ablation of the optic lobe has been performed at the early larval stages (48-51) and at the later larval stages (55-56), according to Nieuwkoop and Faber. From our observations we drew the following conclusions:

1) The histological features of the optic tectum of *Xenopus laevis* are essentially similar to those of other Anurans.

2) When the unilateral ablation of the optic lobe is performed at stage 48 the restitution is morphologically and histologically complete: all the different neuronal types found in the control side were present also in the operated side.

3) When the operation is done at stage 51, although all the tectal neurons regenerate, an abnormal layering is observed in the operated lobe.

4) In the later stages (55 and 56) the regenerated lobe has always an aberrant structure and results in a small mass of nerve cells and fibres. The neurons are almost exclusively of the multipolar type; the piriform neurons are quite few and abnormally distributed. The small piriform neurons, the spindle-like cells and the horizontal cells are lacking.

Da tempo stiamo svolgendo uno studio comparativo sulla capacità rigenerativa del sistema nervoso centrale degli Anfibi anuri durante la vita larvale e dopo la metamorfosi. Da tale studio è risultato finora che, almeno negli stadi larvali precoci, il potere rigenerativo di varie regioni encefaliche si mantiene molto elevato. Così in larve di *Xenopus laevis* operate di asportazione di $3/4$ del telencefalo uno di noi ha constatato che, nella maggior parte dei casi, si ripristinava l'organizzazione morfologica ed istologica normale (Filoni, 1964 a). Risultati analoghi si sono ottenuti in seguito ad asportazione unilaterale del mesencefalo o in seguito ad ablazione unilaterale e bilaterale del cervelletto in larve di *Xenopus laevis* negli stadi compresi tra 48 e 50 (Filoni, 1964 b e seguenti). Una notevole rigenerazione del mesencefalo, dopo asportazione unilaterale e bilaterale del lobo ottico, è stata osservata anche in *Discoglossus sardus* e *Bufo bufo* (Filoni e Margotta, 1970). Ulteriori studi hanno dimostrato che, almeno in *Xenopus laevis*, il potere rigenerativo del mesencefalo non rimane inalterato per tutto il periodo larvale, ma decresce negli stadi larvali successivi allo stadio 50 e diviene molto limitato dopo lo stadio 55 (Filoni e Gibertini, 1969 b).

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(**) Nella seduta del 18 giugno 1971.

Mentre infatti negli stadi larvali precoci il lobo ottico rigenerato ha un volume ed una struttura comparabili con quelli del lato intatto, negli stadi larvali tardivi il rigenerato presenta anomalie strutturali che divengono tanto più cospicue quanto più è avanzato lo stadio in cui è stata eseguita l'operazione. Dopo lo stadio 55, il tetto ottico rigenerato è sempre molto esiguo e non presenta alcuna organizzazione in strati.

A completamento del lavoro suddetto (Filoni e Gibertini, 1969 b) in cui, oltre ad un'indagine del processo rigenerativo del mesencefalo di *Xenopus laevis* in vari stadi larvali, è stato compiuto uno studio volumetrico e morfologico generale della parte neoformata, nella presente ricerca ci siamo proposti di eseguire un accurato esame citologico del rigenerato per stabilire quali tipi di neuroni tectali rigenerassero negli stadi larvali precoci e quali negli stadi larvali tardivi.

Nella presente ricerca vengono riportati i dati relativi all'esame dell'encefalo di individui di *Xenopus laevis* (Daudin), operati agli stadi larvali 48, 51, 55, 56 (sec. Nieuwkoop e Faber) di asportazione unilaterale del lobo ottico.

Tali larve sono state ottenute artificialmente, mediante deposizione indotta in seguito ad inoculazione di ormoni gonadotropi (« Pregnyl » della Organon), secondo la tecnica proposta da Nieuwkoop e Faber (1956). Per le operazioni e per l'allevamento degli animali operati è stata seguita la tecnica già adottata in precedenti ricerche da due di noi (Filoni e Gibertini, 1969 b).

Gli individui operati sono stati fissati nell'intervallo di tempo compreso tra 105 giorni e 20 mesi dopo la metamorfosi.

Nove encefali, di cui due operati allo stadio 48, quattro allo stadio 51, uno allo stadio 55 e due allo stadio 56, sono stati impregnati secondo il metodo di Golgi-Cox o di Golgi-Cox modificato Ramon-Moliner e tagliati, dopo inclusione rapida in celloidina, a 50-100 μ di spessore secondo il piano trasversale.

Inoltre sono stati usati come controlli 4 encefali di individui normali di *Xenopus laevis* sacrificati 10 mesi dopo la metamorfosi, impregnati anche essi con il metodo di Golgi-Cox e tagliati trasversalmente a 50-100 μ .

L'organizzazione morfologica generale del tetto ottico normale e di quello rigenerato è stata studiata su preparati di encefali di *Xenopus laevis* normali e rigenerati, fissati in Bouin ed impregnati con il metodo all'argento colloidale di Bodian.

Il tetto ottico di *Xenopus laevis* presenta, come quello degli altri Anuri (Pedro Ramon, 1896; Gaupp, 1899; Röthig, 1927; Ariëns Kappers, Huber e Crosby, 1936; Capanna, 1961; Leghissa, 1962), una organizzazione in strati grigi e fibrosi.

Nella descrizione degli strati tectali useremo la terminologia già adottata da Capanna (1961) che fondamentalmente si basa sulla classificazione di Huber e Crosby (1933) formulata per il tetto ottico dei Rettili. Pertanto nel tetto ottico di *Xenopus* distinguiamo, procedendo dall'esterno verso l'interno, sei strati principali: *stratum opticum*, *stratum fibrosum et griseum superficiale*, *stratum album centrale*, *stratum griseum centrale*, *stratum medullare profundum*,

stratum griseum periventriculare (suddiviso in due strati, il più interno dei quali si addossa all'ependima, dall'interposizione dello *stratum album periventriculare*).

Quando l'asportazione unilaterale del lobo ottico è eseguita in larve di *Xenopus laevis* allo stadio larvale 48, nel lato neoformato, sempre volumetricamente cospicuo, abbiamo osservato la ricostituzione di tutti gli strati tipici del tetto ottico, perfettamente comparabili, sia in estensione medio-laterale che in spessore, a quelli della regione tettale inoperata. Quando invece l'operazione è eseguita allo stadio larvale 51, la stratificazione del lato rigenerato non interessa l'intera superficie del tetto ottico neoformato, poiché nella porzione più laterale del lobo ottico i vari strati confluiscono tra loro in un ammasso grigio e fibroso.

Questo è quanto abbiamo osservato da un punto di vista morfologico generale. L'esame dei preparati allestiti con il metodo di Golgi-Cox ha dimostrato che, tanto allo stadio 48 che allo stadio 51, nel lobo ottico rigenerato si riscontra la presenza di tutti quei tipi di neuroni che si ritrovano sia nel lobo ottico controlaterale che nel mesencefalo di controlli normali di parità (Tavola I, fig. 1).

Lo *stratum opticum* (I) è costituito dalle fibre del nervo ottico, alcune delle quali rimangono in questo strato, mentre la maggior parte si arborizza a varie altezze dello *stratum fibrosum et griseum superficiale*. Nello *stratum opticum* abbiamo osservato piccoli neuroni orizzontali con pirenoforo allungato dal quale si dipartono alcuni prolungamenti, disposti parallelamente alle fibre ottiche, che si esauriscono nello strato (fig. 1 a; Tavola I, figg. 2-3).

Nello *stratum fibrosum et griseum superficiale* (II), composto di vari piani di cellule e di fibre afferenti, abbiamo osservato quattro tipi di neuroni. Il primo è rappresentato da piccoli elementi piriformi, particolarmente abbondanti nella parte più esterna di tale strato, dal cui polo superiore si diparte un prolungamento che spesso si ramifica in numerose arborizzazioni poco dopo l'emergenza dal corpo cellulare (fig. 1 b; Tavola I, fig. 10). Più profondamente si osserva un'altra categoria di neuroni piriformi, rappresentata da elementi più voluminosi, dal cui polo inferiore si dipartono corte propaggini, mentre dal polo superiore si origina un lungo dendrite che, dopo aver dato corte collaterali, si ramifica nelle regioni più superficiali dello *stratum fibrosum et griseum superficiale*, dove si mette in rapporto sinaptico con le arborizzazioni delle fibre retiniche (fig. 1 c; Tavola I, figg. 6-7). Sovente abbiamo osservato che dal dendrite principale dei neuroni di questo tipo nasce un collaterale, con valore di neurite, che, dopo essersi diretto per un tratto più o meno lungo verso la superficie tettale, piega ad ansa verso il basso e si impegna nello *stratum album centrale*. Un terzo tipo di neuroni di questo strato è costituito da neuroni multipolari con corpo voluminoso poligonale, dal cui pirenoforo si dipartono numerosi prolungamenti che in parte si esauriscono nello strato ed in parte si portano nello *stratum opticum*; il loro neurite si impegna nello *stratum album centrale* (fig. 1 d; Tavola I, figg. 4-5). Il quarto tipo di neuroni è rappresentato da neuroni fusiformi, disposti normalmente

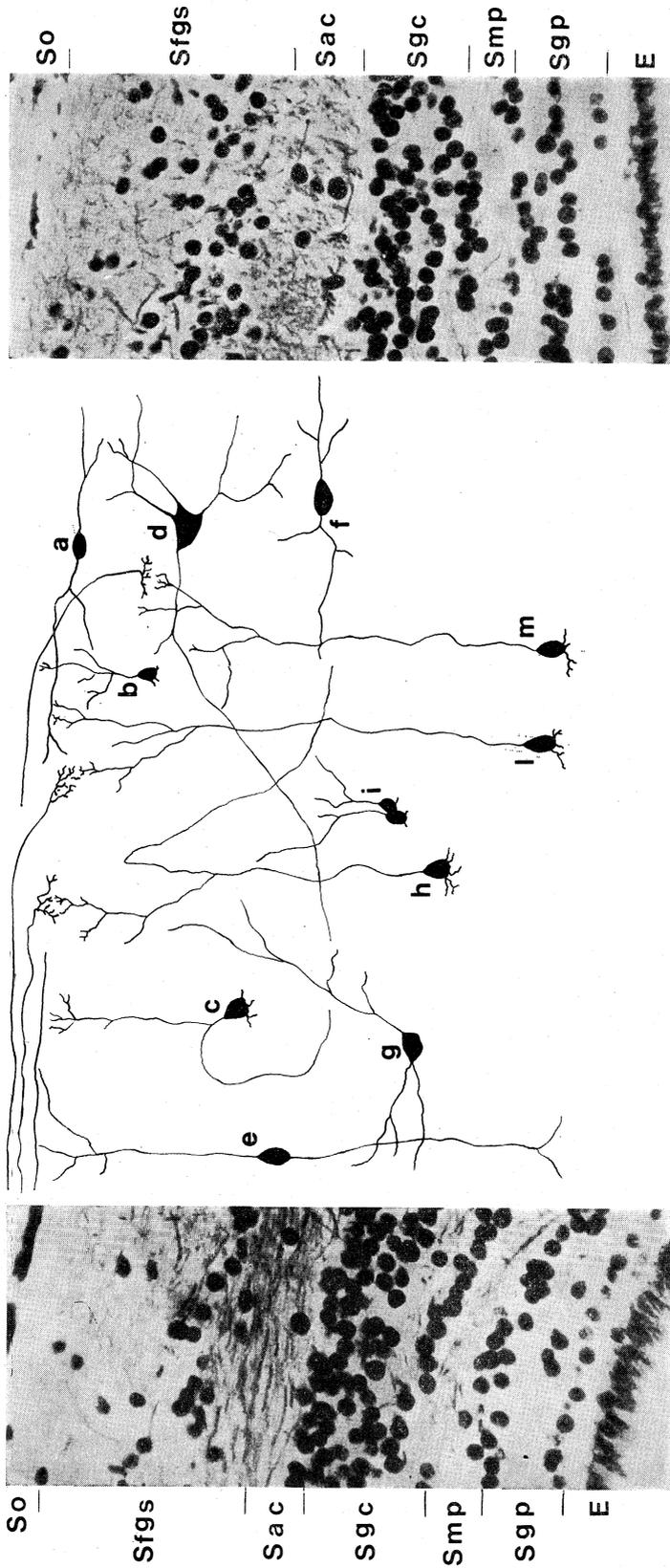


Fig. 1. - A sinistra: tetto ottico normale di un individuo di *Xenopus laevis* sacrificato 10 mesi dopo la metamorfosi (microfotografia, Bodian). A destra: tetto ottico rigenerato di un individuo di *Xenopus laevis* operato allo stadio 48 e sacrificato 10 mesi dopo la metamorfosi (microfotografia, Bodian). Al centro: tipi di neuroni presenti nel tetto ottico rigenerato dopo asportazione unilaterale del lobo ottico allo stadio larvale 48 (disegno alla camera lucida, Golgi-Cox). So = *Stratum opticum*; Sfgs = *Stratum fibrosum et griseum superficiale*; Sac = *Stratum album centrale*; Sgc = *Stratum griseum centrale*; Smp = *Stratum griseum profundum*; Sgp = *Stratum griseum profundum*; E = *Ependyma*.

alla superficie tettale. Essi occupano una posizione piuttosto profonda nello *stratum fibrosum et griseum superficiale*; il prolungamento superiore si porta verso lo *stratum opticum*, ove si ramifica, mentre quello inferiore si ramifica a livello dello *stratum griseum periventricolare* (fig. 1 e; Tavola II, figg. 18-19).

Nello *stratum album centrale* (III), da cui prendono origine le principali vie efferenti (Tavola II, fig. 15), abbiamo osservato neuroni multipolari, diposti orizzontalmente, con numerosi prolungamenti che si dipartono dai poli opposti del pirenoforo (fig. 1 f; Tavola II, figg. 16-17).

A livello dello *stratum griseum centrale* (IV) abbiamo riscontrato la presenza di neuroni di due tipi principali: multipolare e piriforme. I dendriti delle cellule multipolari in parte si arrestano in questo strato ed in parte si dirigono verso gli strati sovrastanti (fig. 1 g). Non ci è stato possibile seguire il percorso del neurite. I neuroni piriformi hanno corti prolungamenti basali che in parte si esauriscono nello strato ed in parte si portano nello strato sottostante ed un lungo dendrite principale che sale fino al II strato ove, dopo essersi riccamente arborizzato, si mette in rapporto sinaptico con le fibre ottiche; il loro neurite nasce di regola dal dendrite principale e si dirige verso gli strati superiori per poi ripiegarsi ad ansa ed impegnarsi nello *stratum album centrale* (fig. 1 h; Tavola I, figg. 8-9-11-12-13-14). Nella regione più periferica di questo strato abbiamo osservato inoltre piccoli elementi piriformi con arborizzazione dendritica in prossimità del corpo cellulare (fig. 1 i; Tavola I, fig. 14).

Allo *stratum medullare profundum* (V), segue lo *stratum griseum periventricolare* (VI) costituito da neuroni di tipo piriforme. La maggior parte di essi ha albero dendritico principale molto lungo che si ramifica negli strati più esterni del tetto, ove prende rapporti con le fibre ottiche; dal polo opposto sorgono brevi prolungamenti che si esauriscono nello *stratum album periventricolare* (fig. 1 l; Tavola II, fig. 20). L'alberatura dendritica di altri neuroni piriformi di questo strato non raggiunge lo *stratum opticum*, ma si arresta in corrispondenza dello *stratum fibrosum et griseum superficiale* (fig. 1 m; Tavola II, fig. 20).

Quando l'asportazione unilaterale del lobo ottico è eseguita negli stadi larvali avanzati (stadi 55 e 56), il tetto ottico rigenerato, oltre ad essere volumetricamente molto esiguo, ha sempre una struttura aberrante. Il metodo all'argento colloidale di Bodian rivela infatti che il tetto ottico neoformato è costituito da un ammasso di cellule e di fibre non organizzate in strati, ma caoticamente disposte (fig. 2). L'esame dei preparati impregnati con il metodo di Golgi-Cox ha rivelato che il tetto ottico rigenerato differisce da quello controlaterale non solo dal punto di vista morfologico generale, ma anche da quello istologico (Tavola III, figg. 21-22-23-24). I neuroni neoformati sono quasi esclusivamente grossi neuroni del tipo multipolare, i cui prolungamenti si dirigono nelle direzioni più svariate (fig. 2 n). Molto più rari sono gli elementi del tipo piriforme. Dalla base del corpo cellulare si dipartono corte propaggini, mentre dal polo opposto si origina un lungo prolungamento che si arborizza a notevole distanza dal pirenoforo (fig. 2 p).



Fig. 2. - Struttura del tetto ottico rigenerato di un individuo di *Xenopus laevis*, operato di asportazione unilaterale del lobo ottico allo stadio larvale 56. A sinistra: dopo impregnazione col metodo di Golgi-Cox (disegno alla camera lucida). A destra: dopo impregnazione argentea secondo Bodian (microfotografia).

Questi neuroni non sono disposti normalmente alla superficie tettale, come avviene nel tetto ottico normale e nel tetto ottico neoformato degli individui operati agli stadi larvali precoci (48 e 51), ma assumono i più diversi orientamenti. Sono assenti sia i piccoli neuroni piriformi che quelli di tipo orizzontale e fusiforme. Alla periferia di questi rigenerati aberranti si osserva la presenza di alcune fibre ottiche neoformate.

CONCLUSIONI

Lo studio istologico, da noi compiuto, del tetto ottico di individui normali di *Xenopus laevis* ha rivelato che esso non differisce sostanzialmente da quello già descritto da Autori precedenti in altre specie di Anfibii anuri.

Inoltre, dall'esame di preparati di encefali di *Xenopus laevis* operati di asportazione unilaterale del lobo ottico a vari stadi larvali (48-51-55-56) (sec. Nieuwkoop e Faber) ed impregnati con il metodo di Golgi-Cox o con il metodo all'argento colloidale di Bodian, si possono trarre le seguenti conclusioni:

1) quando l'operazione è eseguita allo stadio larvale 48, la rigenerazione della parte asportata è completa, non solo da un punto di vista morfologico generale (come risulta dalla presenza di tutti gli strati tipici tettali che hanno un'estensione ed uno spessore comparabile a quello del lato intatto), ma anche dal punto di vista istologico più fine. Infatti nel lato rigenerato si riscontrano, a livello dei singoli strati del tetto, tutti i tipi di neuroni che si trovano nel lato normale.

2) quando l'asportazione unilaterale del lobo ottico è eseguita allo stadio larvale 51, si osservano alcune anomalie riguardanti l'estensione dei singoli strati tettali. Tuttavia, anche a questo stadio, rigenerano tutti i neuroni tipici del tetto ottico di *Xenopus*.

3) negli stadi larvali tardivi (55 e 56), il rigenerato ha sempre un volume molto limitato, anche dopo 20 mesi dalla metamorfosi e la sua struttura è del tutto aberrante. Il tetto ottico neoformato non appare organizzato in strati, ma è costituito da un insieme disorganizzato di cellule nervose e di fibre. I pochi neuroni presenti sono quasi esclusivamente del tipo multipolare. Gli elementi piriformi si riscontrano molto di rado ed hanno sempre una disposizione anomala. Non si sono mai osservati invece neuroni di tipo orizzontale e fusiforme, né i piccoli neuroni piriformi.

BIBLIOGRAFIA

- ARIÈNS KAPPERS C. U., HUBER G. C. e CROSBY E. C., *The comparative anatomy of the nervous system of Vertebrates, including man*, New York, the MacMillan Company, II (1936).
- CAPANNA E., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 30, 292 (1961).
- FILONI S., « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 111 (1964 a).
- FILONI S., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 37, 521 (1964 b).
- FILONI S., « La Ricerca Scientifica », 6, 376 (1965 a).

- FILONI S., « Boll. Zool. », 32, 801 (1965 b).
 FILONI S., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 45, 90 (1968 a).
 FILONI S., « Boll. Zool. », « Atti XXXVII Convegno U.Z.I. », 35, 396 (1968 b).
 FILONI S., « Arch. Ital. Anat. e Embriol. », 74, 89 (1969).
 FILONI S. e DONATELLI M. V., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 46, 111 (1969).
 FILONI S. e GIBERTINI G., « Boll. Zool. », « Atti XXXVIII Convegno U.Z.I. », 36, 390 (1969 a).
 FILONI S. e GIBERTINI G., « Arch. Biol. », 80, 369 (1969 b).
 FILONI S. e MARGOTTA V., « Arch. Ital. Anat. e Embriol. », 75, 171 (1970).
 FILONI S. e MARGOTTA V., « Arch. Biol. » (in corso di stampa).
 FILONI S. e OBERTI C., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 45, 100 (1968).
 GAUPP E., « Anatomie des Frosches », II, 50 (1899).
 HUBER G. C. e CROSBY E. C., « Proc. Nat. Acad. Sci. », 19, 15 (1933).
 LEGHISSA S., « Arch. Ital. Anat. e Embriol. », 67, 343 (1962).
 NIEUWKOOP P. D. e FABER J., *Normal table of Xenopus laevis (Daudin)*, Amsterdam (1956).
 RAMON P., « Bibl. anat. », 4, 232 (1896).
 RÖTHIG P., « Z. Mikr. anat. Forsch. », 10, 381 (1927).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

Vari tipi di neuroni presenti nel tetto ottico rigenerato di *Xenopus laevis*, dopo asportazione unilaterale del lobo ottico allo stadio larvale 48:

Fig. 1. - Panoramica del tetto ottico rigenerato ($\times 250$).

Figg. 2, 3. - Neuroni orizzontali dello *stratum opticum* ($\times 450$).

Figg. 4, 5. - Neuroni multipolari dello *stratum fibrosum et griseum superficiale* ($\times 450$).

Figg. 6, 7. - Neuroni piriformi dello *stratum fibrosum et griseum superficiale* ($\times 500$).

Figg. 8, 9. - Anse di neuriti provenienti da neuroni piriformi dello *stratum griseum centrale* ($\times 1.100$).

Fig. 10. - Piccolo neurone piriforme dello *stratum fibrosum et griseum superficiale* ($\times 450$).

Figg. 11, 12, 13, 14. - Neuroni piriformi dello *stratum griseum centrale*; con la freccia (fig. 14) sono indicati piccoli neuroni piriformi dello stesso strato (figg. 11-12-14: $\times 450$; fig. 13: $\times 600$).

TAVOLA II

Vari tipi di neuroni presenti nel tetto ottico rigenerato di *Xenopus laevis*, dopo asportazione unilaterale del lobo ottico allo stadio larvale 48:

Fig. 15. - Fibre dello *stratum album centrale* ($\times 450$).

Figg. 16, 17. - Neuroni multipolari dello *stratum album centrale* (fig. 16: $\times 600$; fig. 17: $\times 750$).

Figg. 18, 19. - Neuroni fusiformi dello *stratum fibrosum et griseum superficiale* ($\times 450$).

Fig. 20. - Neuroni piriformi dello *stratum griseum periventriculare* ($\times 450$).

TAVOLA III

Vari tipi di neuroni presenti nel tetto ottico rigenerato di *Xenopus laevis*, dopo asportazione unilaterale del lobo ottico allo stadio larvale 56:

Figg. 21, 22, 23, 24. - Neuroni di tipo multipolare e piriforme (freccia) caoticamente disposti (fig. 21: $\times 280$; figg. 22-23-24: $\times 450$).

