
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

SERGIO FILONI, VITO MARGOTTA

**Ulteriori osservazioni sulla rigenerazione del
mesencefalo in adulti di *Xenopus laevis***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 53 (1972), n.6, p. 637–641.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_53_6_637_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_53_6_637_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 adulti di Xenopus laevis* (*). Nota di SERGIO FILONI e VITO MARGOTTA, presentata (**). dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In a previous paper by one of us (Filoni and Oberti, 1968), the poor regenerative capacity of the optic tectum in adult specimens of *Xenopus laevis* was reported. The right optic lobe had been removed by suction; since this technique causes connectival proliferation at the healing site, it was decided to repeat the experiment by operating the animals in two different ways to ascertain the effective regenerative power of the midbrain. The right optic lobe of adult *Xenopus laevis* was removed either with surgical instrument, or by cauterization, and the animals were sacrificed 150-210 days after the operation.

The results were the following:

- 1) The cauterization produces a great amount of connective tissue, which certainly interferes with the regenerative process;
- 2) After surgical ablation, the connectival proliferation is irrelevant; in spite of this, the regeneration which follows presents the same characters as that which follows cauterization. Both result in the formation of a reduced optic lobe.

Thus, the previously obtained results are fully confirmed: the regenerative capacity of the midbrain of adult *Xenopus laevis* is low and it never ends in a complete restitution of the ablated side. Only a small number of nerve cells and fibers are newly-formed.

Le conoscenze sulla capacità rigenerativa dell'encefalo degli Anfibi anuri allo stato adulto sono piuttosto scarse, sia perché le ricerche riguardanti questo problema sono in numero limitato, sia perché i dati ottenuti dai diversi Autori variano notevolmente secondo la specie studiata (per la bibliografia si rimanda al lavoro di Filoni e Gibertini, 1969).

Così, mentre in *Xenopus laevis* adulti Srebro (1965) ha constatato una rigenerazione estremamente limitata del telencefalo, Spagna e Lombardo (1969) hanno osservato che il telencefalo della *Rana esculenta* adulta è capace di rigenerare il pallio unitamente al primordio di ippocampo ed allo striato. Tuttavia, secondo Spagna e Lombardo (1969) la differenza riscontrata tra *Rana* e *Xenopus* non significa necessariamente che gli adulti di *Rana* abbiano una potenzialità rigenerativa maggiore di quella di *Xenopus*, poiché ritengono che la diversità dei risultati possa essere attribuibile alla diversa tecnica operatoria. Secondo questi Autori, la tecnica operatoria (asportazione per aspirazione) usata da Srebro (1965), contrariamente a quella da loro impiegata (asportazione mediante l'ausilio di strumenti chirurgici), arrecando gravi danni ai tessuti circostanti e determinando la formazione di ammassi connettivali, potrebbe ostacolare i processi rigenerativi.

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

(**) Nella seduta del 9 dicembre 1972.

Da vari anni stiamo compiendo un'analisi della capacità rigenerativa dell'encefalo degli Anfibi anuri, sia durante lo sviluppo larvale che dopo la metamorfosi ed in particolare abbiamo compiuto uno esteso studio sulla rigenerazione del tetto ottico, poiché in questa regione mesencefalica, proprio a causa della sua complessa citoarchitettura, di tipo corticale, è più agevole rilevare anche le più piccole anomalie di struttura.

Limitandoci ad esporre, per brevità, i risultati relativi alla rigenerazione nell'adulto (Filoni e Oberti, 1968), abbiamo constatato che in *Xenopus laevis* il potere rigenerativo è molto esiguo, contrariamente a quanto avviene negli stadi larvali, specie in quelli precoci. Infatti, dopo asportazione del lobo ottico destro nell'adulto, pur avendo osservato la neoformazione di neuroni e fibre nervose, non si è mai ottenuta la rigenerazione della parte asportata. Tuttavia la tecnica operatoria usata in quella ricerca (Filoni e Oberti, 1968) era la stessa adottata da Srebro (1965) (asportazione mediante aspirazione con una micropipetta) e provocava, in corrispondenza della zona operata, la formazione, invero non molto notevole, di tessuto connettivale.

Nel presente lavoro abbiamo voluto vedere se la scarsa rigenerazione del tetto ottico, precedentemente osservata (Filoni e Oberti, 1968), fosse in qualche modo imputabile alla tecnica operatoria usata. In particolare, abbiamo studiato la relazione intercorrente tra quantità di tessuto connettivo cicatriziale ed entità della rigenerazione del tetto ottico. A tale scopo abbiamo allestito due Lotti di esperienze:

Lotto I: costituito da 5 individui adulti di *Xenopus laevis*, sottoposti all'asportazione parziale (3 casi) o totale (2 casi) del lobo ottico destro per mezzo di finissimi aghi di tungsteno e di un bisturi da oculista.

Lotto II: costituito da 5 individui adulti di *Xenopus laevis*, sottoposti alla cauterizzazione del lobo ottico destro (la punta del termocauterio aveva un calibro pari a circa la metà del lobo ottico).

Tutte le operazioni sono state eseguite su animali anestetizzati con MS 222 alla concentrazione 1 : 1000.

Dopo l'apertura del cranio, mediante delicata trapanazione, si procedeva, al binoculare da dissezione, all'intervento sul lobo ottico destro e si suturava la ferita.

Gli animali sperimentali erano quindi posti in recipienti di vetro, contenenti acqua corrente mantenuta ad un livello molto basso (in modo che non raggiungesse la regione operata), dove rimanevano fino alla rimarginazione della pelle. Successivamente gli animali operati erano trasferiti in due capaci vasche alla temperatura di 20-22°C. L'alimento era costituito da carne tritata e da Tubifex.

Gli encefali degli individui operati, sacrificati dopo 150-210 giorni dall'operazione, sono stati fissati in Bouin. Le sezioni istologiche seriate trasversali, di 10 µ di spessore, sono state colorate con emallume-eosina, con il Mallory-Azan o impregnate con il metodo di Bodian.

Dall'esame degli encefali del Lotto I, è risultato che la rimozione parziale o totale del lobo ottico destro con strumenti chirurgici determina, in genere (in 4 dei 5 casi esaminati), la formazione di una quantità di connettivo inferiore a quella che si osserva in seguito ad asportazione con aspirazione. Solo in un caso, sottoposto all'asportazione totale del lobo ottico destro e sacrificato 210 giorni dopo l'operazione, abbiamo constatato la presenza di una quantità piuttosto notevole di tessuto connettivo cicatriziale (Tav. I, fig. 3).

Circa l'entità della rigenerazione del lobo ottico, non abbiamo riscontrato alcuna differenza fra gli individui del Lotto I e quelli operati mediante aspirazione (Filoni e Oberti, 1968). Infatti, analogamente a quanto precedentemente osservato (Filoni e Oberti, 1968), anche dopo un periodo di tempo notevolmente lungo (da 150 a 210 giorni dall'operazione), la porzione rigenerata è sempre molto esigua e, pur essendo costituita, oltre che dallo strato endimale, anche da neuroni neoformati e da fibre nervose rigenerate, non presenta la tipica organizzazione del tetto ottico (Tav. I, figg. 1-3; Tav. II, figg. 6-7-8).

Nei 2 casi sottoposti all'asportazione totale del lobo ottico destro, il ventricolo mesencefalico rimane, in più punti, limitato dorsalmente dalla sola pia madre primitiva rigenerata, poiché lo strato endimale neoformato, derivato dall'attività mitotica (non ancora completamente esaurita dopo 210 giorni dall'intervento) dello strato endimale del lobo ottico intatto e perciò continuo con quest'ultimo, anziché raggiungere il toro semicircolare del lato operato si è ripiegato più volte su se stesso, determinando la formazione di numerosi ventricoli soprannumerari (Tav. II, fig. 5).

Quando l'operazione è meno drastica e più precisamente è limitata all'asportazione di circa $1/3$ del lobo ottico destro (come si verifica in 2 dei 3 casi sottoposti ad asportazione parziale del lobo ottico destro), la minore estensione della ferita consente che si realizzi completamente la chiusura del ventricolo mesencefalico (Tav. I, fig. 1). Tuttavia, il rigenerato è sempre volumetricamente molto modesto e, anche dopo 210 giorni dall'intervento, presenta una struttura aberrante (Tav. II, fig. 8).

Anche quando l'asportazione è estremamente limitata ed interessa solo gli strati tettali superficiali, lasciando intatto il grigio periventricolare (un caso), la produzione di nuovi neuroni è sempre modesta. È interessante notare che in questo caso l'ependima, pur non essendo stato lesa, forma varie evaginazioni che aumentano notevolmente la superficie ventricolare e determinano lo spostamento meccanico degli strati tettali preesistenti (Tav. I, fig. 2; Tav. II, fig. 9). La sostanza bianca dell'area rigenerata è costituita principalmente da fibre nervose che si continuano nello *stratum album centrale* della regione rimasta intatta (Tav. II, fig. 10).

L'esame degli encefali degli individui del Lotto II, sottoposti a cauterizzazione del lobo ottico destro, ha dimostrato che questo tipo di intervento determina la formazione di notevoli quantità di tessuto connettivo cicatriziale (Tav. I, fig. 4). In tutti i 5 casi esaminati la rigenerazione è molto limitata. In 3 casi si è osservata la rigenerazione di un numero estremamente ridotto

di neuroni, nettamente inferiore a quello che si riscontra dopo asportazione per aspirazione o con strumenti chirurgici. Negli altri 2 casi, l'entità della rigenerazione non differisce, in modo apprezzabile, da quella che si riscontra nei mesencefali operati con le altre due tecniche.

I dati della presente ricerca, pur avendo messo in evidenza che il tessuto connettivo cicatriziale può ostacolare, se diviene massivo (come accade dopo cauterizzazione), la rigenerazione del lobo ottico, hanno altresì dimostrato che la modesta quantità di connettivo che si forma, in seguito ad asportazione mediante aspirazione non è tale da limitare il processo rigenerativo. Infatti gli encefali operati con questa tecnica manifestano lo stesso grado di rigenerazione riscontrabile in quelli che, essendo stati operati di asportazione del lobo ottico destro con una tecnica meno traumatizzante (facendo uso di strumenti chirurgici), presentano una quantità di connettivo veramente trascurabile. Pertanto i risultati di questa breve Nota, unitamente a quelli precedentemente ottenuti (Filoni e Oberti, 1968), ci consentono di dare una risposta definitiva circa le capacità rigenerative del tetto ottico in *Xenopus laevis* allo stato adulto. Da essi emerge che, quando l'asportazione parziale o totale di un lobo ottico è eseguita nell'adulto, non si ha mai la rigenerazione della parte asportata, ma si ha la formazione di un rigenerato che è sempre estremamente esiguo e presenta una struttura aberrante. Ciò ci permette di concludere che nell'adulto di *Xenopus laevis* si ha una effettiva, considerevole caduta del potere rigenerativo del mesencefalo.

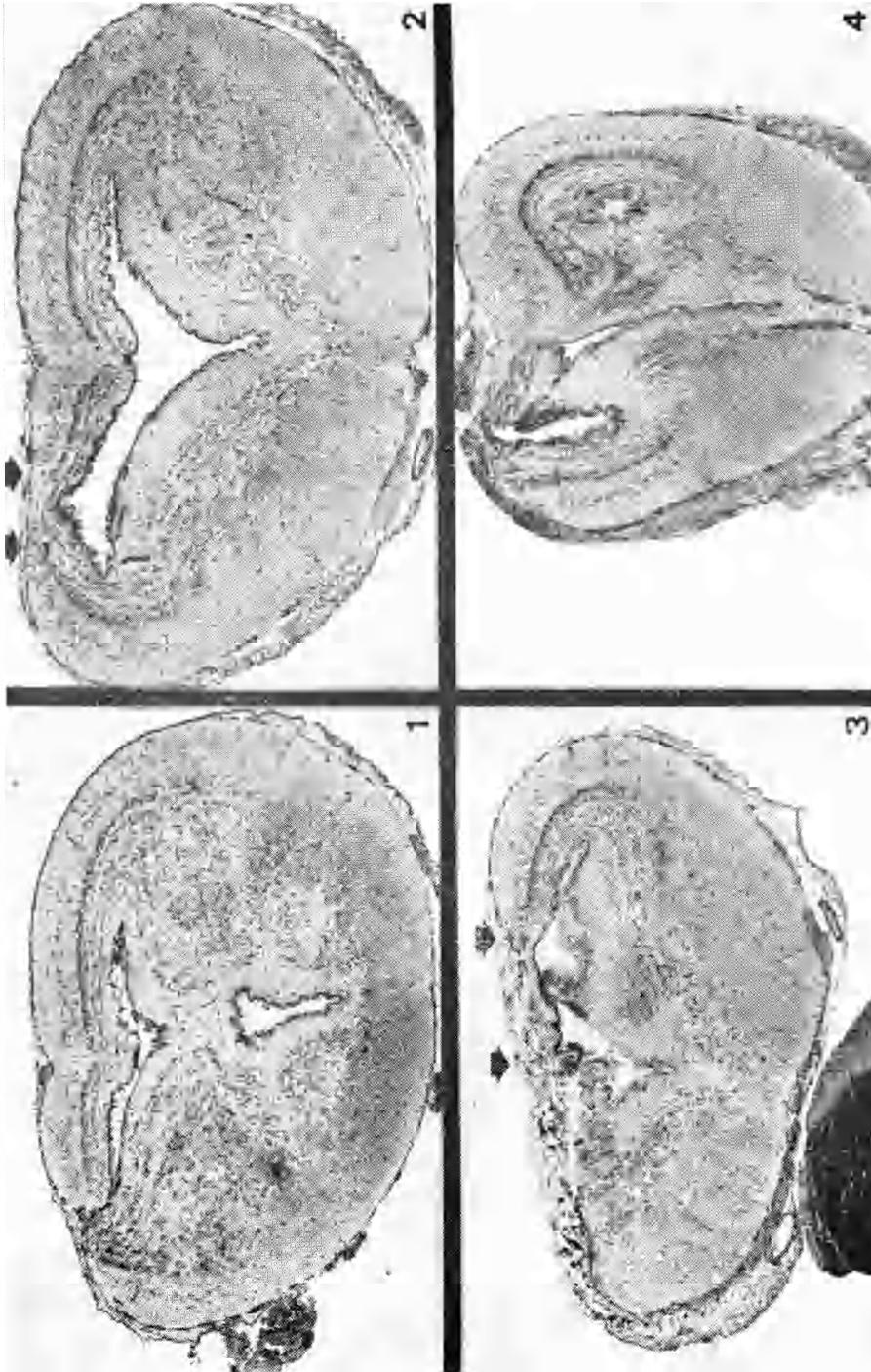
BIBLIOGRAFIA

- FILONI S. e GIBERTINI G., « Arch. Biol. », 80, 369 (1969).
 FILONI S. e OBERTI C., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 45, 100 (1968).
 SPAGNA A. e LOMBARDO F., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 46, 302 (1969).
 SREBRO Z., « Fol. Biol. », 13, 269 (1965).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I

- Fig. 1. - Mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, operato di asportazione parziale del lobo ottico destro mediante strumenti chirurgici (Lotto I) e sacrificato 210 giorni dopo l'intervento. $\times 35$.
- Fig. 2. - Mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, operato di asportazione molto limitata degli strati superficiali del tetto ottico destro (l'area operata è delimitata dalle frecce) mediante strumenti chirurgici (Lotto I) e sacrificato 210 giorni dopo l'intervento. $\times 35$.
- Fig. 3. - Mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, operato di asportazione totale del lobo ottico destro mediante strumenti chirurgici (Lotto I) e sacrificato 210 giorni dopo l'intervento. In questo caso, contrariamente a quelli illustrati nelle figg. 1 e 2, il tessuto connettivo cicatriziale è piuttosto notevole. La parte rigenerata è indicata dalle frecce. $\times 35$.
- Fig. 4. - Mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, sottoposto alla cauterizzazione di parte del lobo ottico destro (Lotto II). Massiva formazione di tessuto connettivo cicatriziale. $\times 35$.



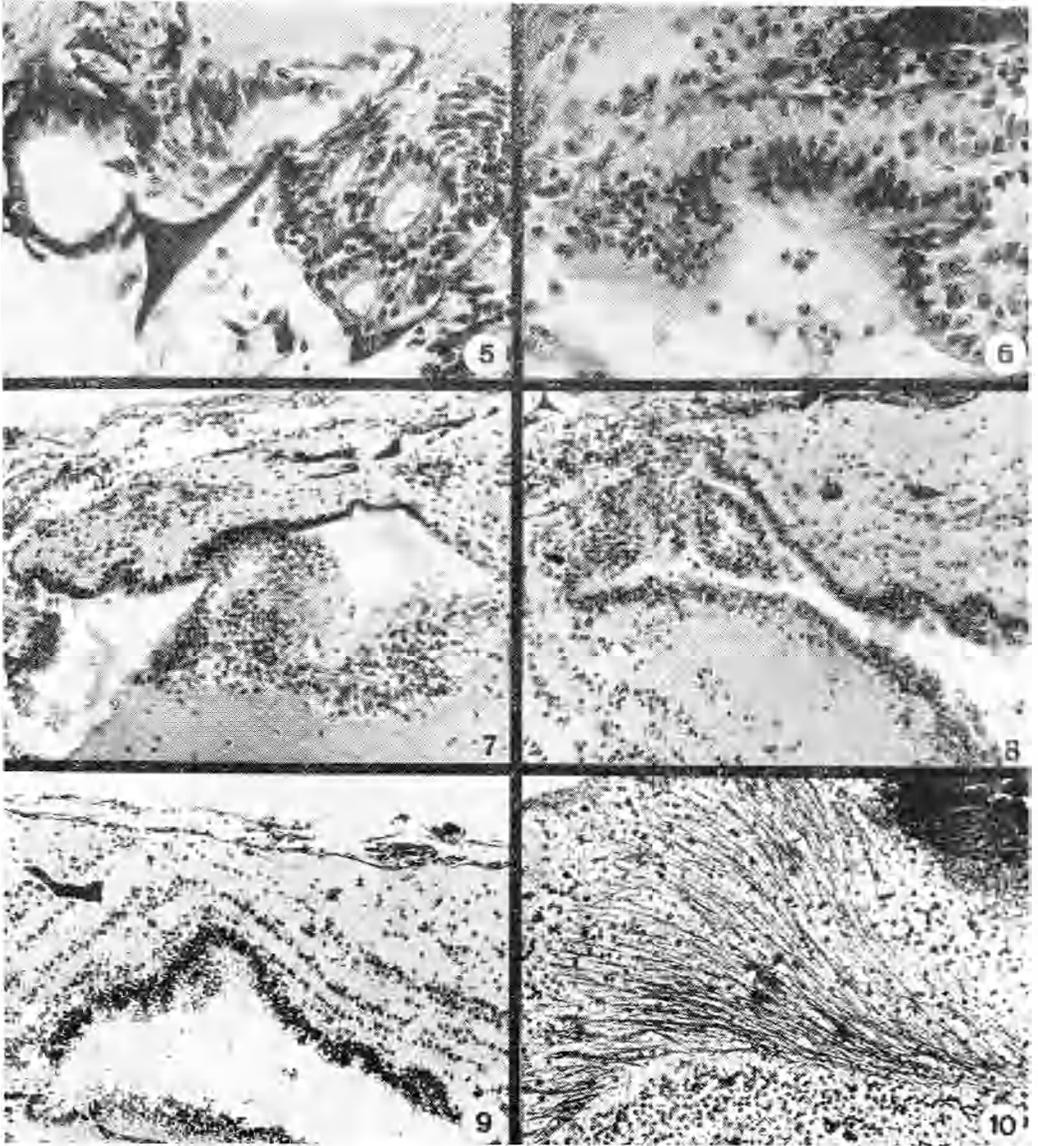


TAVOLA II

- Figg. 5 e 6. — Particolari della regione rigenerata del mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, operato di asportazione totale del lobo ottico destro mediante strumenti chirurgici (Lotto I) e sacrificato 150 giorni dopo l'intervento. Nella fig. 5 si osservano numerosi ventricoli soprannumerari. $\times 400$.
- Fig. 7. — Particolare della fig. 3: l'area rigenerata ha una struttura aberrante. $\times 150$.
- Fig. 8. — Particolare dell'area rigenerata di un mesencefalo di un individuo adulto di *Xenopus laevis*, operato di asportazione parziale del lobo ottico destro mediante strumenti chirurgici (Lotto I) e sacrificato 210 giorni dopo l'intervento. La struttura è profondamente anomala. $\times 160$.
- Fig. 9. — Particolare della fig. 2. $\times 160$.
- Fig. 10. — Regione anteriore dello stesso mesencefalo delle figg. 2 e 9. Le fibre nervose dell'area rigenerata si continuano nello *stratum album centrale*. $\times 150$.