

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

GIORDANO CARNEVALI, IVAN BENEDETTI

## Attività mitotica e morfologia del midollo spinale durante lo sviluppo di un Teleosteo viviparo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 56 (1974), n.4, p. 640–645.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1974\\_8\\_56\\_4\\_640\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_4_640_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.** — *Attività mitotica e morfologia del midollo spinale durante lo sviluppo di un Teleosteo viviparo* (\*). Nota di GIORDANO CARNEVALI e IVAN BENEDETTI, presentata (\*\*) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — During the growth of the spinal cord in a viviparous Teleost (*Gambusia affinis*) the mitotic ratio slowly decreases and falls after birth, but it rises in young fishes. Therefore mitoses are present till the end of the somatic growth.

The mitotic activity is higher in the sensitive than in the motor region of the spinal cord: this is due to the slow differentiation of the alar plate. Starting from 3,5 mm embryos most of the mitoses are extraventricular owing to quick reduction of the central canal.

La nostra ricerca ha lo scopo di esaminare l'andamento e la localizzazione dell'attività mitotica nel midollo spinale di Teleostei durante lo sviluppo, tenendo presente, in particolare, le condizioni di viviparità e di oviparità, poiché è stato dimostrato che queste sono responsabili di alcune differenze morfologiche del midollo spinale in sviluppo [1, 2, 3].

Ricordiamo che l'attività proliferativa nel sistema nervoso centrale dei Teleostei è stata analizzata nelle varie regioni dell'encefalo a qualche stadio di sviluppo, nell'intento di mettere in evidenza le « matrix zonen », con metodi prevalentemente autoradiografici [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Nel nostro Istituto, l'attività proliferativa del midollo spinale è stata studiata con computi mitotici durante lo sviluppo di altri Anamni (Anfibi anuri e urodeli) ed i risultati hanno messo in evidenza una comune caduta di attività all'inizio del periodo larvale, seguita da una ripresa e quindi da un lento abbassamento che continua dopo la metamorfosi; negli Anuri però, si riscontra una accentuazione alla metamorfosi; inoltre è stato visto che durante lo sviluppo larvale l'attività mitotica prevale nella regione dorsale (piastra alare) [13, 14, 15, 16] e le mitosi extraventricolari hanno una bassa frequenza, costante per ogni specie [17].

In questa Nota riferiamo i primi risultati relativi ad un Teleosteo viviparo d'acqua dolce.

Sono stati impiegati embrioni e giovani di *Gambusia affinis* (Baird e Girard, 1854). Gli embrioni sono stati prelevati da femmine gravide allevate in laboratorio; tutto il materiale è stato fissato parte in liquido di Sanfelice e parte in liquido di Bouin. Tenendo conto che a parità di lunghezza corporea gli embrioni presentano talora aspetto diverso, abbiamo correlato le dimensioni con la morfologia esterna (della testa, delle pinne e pigmentazione) ed

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

(\*\*) Nella seduta del 20 aprile 1974.

il differenziamento di alcuni organi (rene, muscolatura e intestino). Con tali criteri abbiamo ottenuto la seguente seriazione: 1,5 mm; 2 mm; 3,5 mm; 4 mm; 4,5 mm; 5,5 mm; 6,5 mm; 7,5 mm; 8 mm (nascita); 8,5 mm (1 settimana); 9 mm (3 settimane); 10 mm (6 settimane). Di ogni stadio sono stati fissati almeno 6 individui, inclusi in celloidina-paraffina e sezionati in serie trasversali di 5–10  $\mu$ . Due serie di animali fissate in liquido di Sanfelice e trattate con il metodo di Feulgen, sono state impiegate per i computi mitotici; quattro serie di animali, fissati in liquido di Bouin, sono state colorate parte (2 serie) in blu di toluidina e parte (2 serie) impregnate secondo il metodo di Bodian per l'esame del differenziamento.

Il conteggio delle mitosi presenti nel midollo spinale è stato effettuato dal calamo all'apice caudale; abbiamo tenuto conto solo degli stadi tra prometafase ed anafase e delle mitosi grandi come quelle che si riscontrano nell'epitelio ventricolare degli embrioni più giovani. Sono stati effettuati computi separati in base alla localizzazione delle mitosi: mitosi localizzate nella regione sensitiva (dorsale) e nella regione motoria (ventrale), mitosi giacenti nell'epitelio ventricolare e quelle giacenti fuori (extraventricolari); queste ultime dovevano essere separate dal lume endimale da almeno un nucleo intercinetico e all'osservazione in contrasto di fase risultare prive di connessioni con la cavità ventricolare. I valori medi riferiti nella tabella sono arrotondati all'unità. La densità mitotiche sono riferite a segmenti di midollo lunghi 0,1 mm.

Negli embrioni di 1,5–2 mm il midollo spinale presenta canale endimale allungato dorso-ventralmente e dilatato in corrispondenza delle placche dorsale e ventrale; lo strato mantellare spesso e compatto è costituito da cellule allungate e da alcuni elementi voluminosi e rotondeggianti disposti alla periferia. Il sottile strato marginale è evidente solo nella regione centrale.

Negli embrioni di 3,5 mm i neuroni motori e alcuni elementi del grigio dorso-laterale mostrano sostanza basofila organizzata in zolle di Nissl; lo strato marginale è presente ovunque ed è ispessito; sono evidenti le radici ventrali.

Negli embrioni di 4–4,5 mm divengono numerosi gli elementi con sostanza basofila organizzata e a livello della sostanza bianca si individuano i fasci principali; sono ora evidenti anche le radici dorsali.

Nei successivi stadi embrionali, fino alla nascita, la regione ventrale del midollo spinale non mostra sostanziali modificazioni, mentre la regione dorsale presenta molte cellule indifferenziate o in differenziamento.

Nei giovani dopo la nascita la sostanza grigia presenta in sezione la forma di Y rovesciata tipica dei Teleostei; le cellule appaiono diradate a causa dello sviluppo del neuropilo e la sostanza bianca è ulteriormente ispessita.

Durante il differenziamento del midollo spinale il canale endimale, inizialmente a fessura, va restringendosi in direzione dorso-ventrale e quando diviene rotondeggiante è compreso nella metà ventrale del midollo. Durante questo processo le cellule endimali della placca dorsale si allungano e si assottigliano formando un cuneo che divarica il grigio dorsale.

Nel midollo spinale il numero totale di mitosi è già elevato (150) nel primo stadio esaminato; tale valore aumenta (233) negli embrioni di 2 mm per poi decrescere fino allo stadio di 4 mm (163). Dopo un lieve aumento (191) negli embrioni di 4,5 mm, la diminuzione graduale dell'attività mitotica prosegue fino a poco prima della nascita (130 mitosi negli embrioni di 7,5 mm); quindi si verifica una caduta del numero di mitosi che scende ai valori più bassi (16) nei giovani di una settimana. Due settimane dopo, però, si nota una ripresa dell'attività mitotica (53) che continua ancora dopo un mese (68). L'andamento dei valori assoluti è confermato da quelli di densità (numero di mitosi per 0,1 mm) i quali decrescono durante il periodo embrionale, specie nei primi stadi (2 e 3,5 mm) e presentano una caduta alla nascita seguita da una ripresa, su valori modesti, due settimane dopo (ved. tabella).

TABELLA

| STADIO<br>in mm | MITOSI | DENSITÀ<br>× 0,1 mm | LOCALIZZAZIONE |          |          |            |              |
|-----------------|--------|---------------------|----------------|----------|----------|------------|--------------|
|                 |        |                     | Dorsali        | Ventrali | Ventric. | Extravent. | % Extravent. |
| 1,5             | 150    | 21,4                | 95             | 55       | 150      | 0          | 0            |
| 2               | 233    | 27,5                | 130            | 103      | 230      | 3          | 1            |
| 3,5             | 194    | 7,9                 | 155            | 39       | 140      | 54         | 28           |
| 4               | 163    | 6,2                 | 147            | 16       | 90       | 73         | 45           |
| 4,5             | 191    | 6,7                 | 160            | 31       | 35       | 156        | 81           |
| 5,5             | 158    | 6,8                 | 130            | 28       | 23       | 135        | 85           |
| 6,5             | 149    | 4                   | 134            | 15       | 15       | 134        | 89           |
| 7,5             | 130    | 3,5                 | 112            | 18       | 29       | 101        | 78           |
| 8               | 49     | 0,7                 | 46             | 3        | 3        | 46         | 94           |
| 8,5             | 16     | 0,4                 | 15             | 1        | 2        | 41         | 88           |
| 9               | 53     | 1,4                 | 42             | 11       | 12       | 41         | 77           |
| 10              | 69     | 1,3                 | 47             | 22       | 31       | 38         | 55           |

Confrontando il numero totale delle figure mitotiche computate nelle due metà dorsale (piastra alare) e ventrale (piastra basale) del midollo spinale risulta che le mitosi della regione sensitiva sono costantemente più numerose di quelle della regione motoria; l'attività mitotica nelle due regioni presenta lo stesso andamento solo nei primi stadi esaminati (1,5-2 mm). A partire dallo stadio di 3,5 mm infatti, le mitosi della regione sensitiva presentano oscillazioni modeste e conservano valori elevati fino a poco prima della nascita; quindi decrescono raggiungendo il valore minimo nei giovani nati da una set-

timana per poi aumentare nuovamente tre settimane dopo. Le mitosi della regione motoria invece, a partire dallo stadio di 3,5 mm si rarefanno drasticamente (16 mitosi in embrioni di 4,5 mm); quindi l'attività mitotica della regione ventrale, pur presentando lievi oscillazioni, rimane esigua. Anche la ripresa dell'attività mitotica che si verifica dopo la nascita è più modesta nella regione motoria del midollo che in quella sensitiva (fig. 1).

Analizzando l'andamento delle mitosi extraventricolari risulta che queste sono assenti negli embrioni più giovani (1,5 mm), compaiono poco dopo (2 mm) ed aumentano di frequenza fino allo stadio di 4,5 mm. A partire da questo stadio fino alla nascita, la frequenza delle mitosi extraventricolari si mantiene su valori elevati (81-94 %), ma dopo la nascita diminuisce.

Dai risultati esposti è emerso:

A) L'attività mitotica nel midollo spinale in sviluppo di un Teleosteo viviparo (*Gambusia*), parte da valori elevati che vanno riducendosi fino alla nascita; alla nascita si nota una caduta di valori che va attribuita al cambiamento del tipo di nutrizione, come negli Anfibi [13, 14, 15, 16]; fa fede di ciò la ripresa dell'attività mitotica riscontrata dopo la nascita. Tale ripresa conferma che negli Anamni l'attività proliferativa del tessuto nervoso si conserva fino al termine dell'accrescimento somatico [15], in accordo con i risultati autoradiografici di alcuni Autori [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

B) Nel midollo spinale di *Gambusia* in sviluppo, come negli Anfibi [13, 14, 15, 16], l'attività mitotica è più elevata nella regione dorsale del midollo e presenta un andamento diverso da quello della regione ventrale; ciò va messo in relazione con il più tardivo e lento differenziamento della regione sensitiva del midollo spinale, come è evidente dall'esame morfologico.

C) Durante lo sviluppo del midollo spinale di *Gambusia* le mitosi extraventricolari dallo stadio di 4,5 mm in poi sono così numerose rispetto alle mitosi ventricolari, che queste divengono pressoché insignificanti. Questo fenomeno non trova riscontro nelle osservazioni condotte sull'attività mitotica del midollo spinale in Anfibi durante lo sviluppo normale, dove la frequenza delle mitosi extraventricolari si conserva bassa e costante [17]; variazioni di frequenza delle mitosi extraventricolari sono state osservate nelle larve sottoposte a trattamenti sperimentali (colchicina, ormone tiroideo e basse temperature [18, 19]) e negli adulti in rigenerazione [20]. Le alterazioni della migrazione ventricolare nelle larve di Anfibi trattate sono state attribuite a modificazioni di viscosità e quelle osservate negli adulti in rigenerazione ad ostacoli meccanici.

Riteniamo che nello sviluppo di *Gambusia* l'elevata frequenza di mitosi extraventricolari sia dovuta principalmente alla rapida e drastica riduzione della superficie ependimale; infatti negli embrioni di 4-4,5 mm, quando le mitosi extraventricolari divengono preponderanti, il canale ependimale è ridotto ad uno stretto tubicino tappezzato da ependimociti con sviluppato bordo ciliato. Questa ipotesi è avvalorata dalla concomitanza della dila-

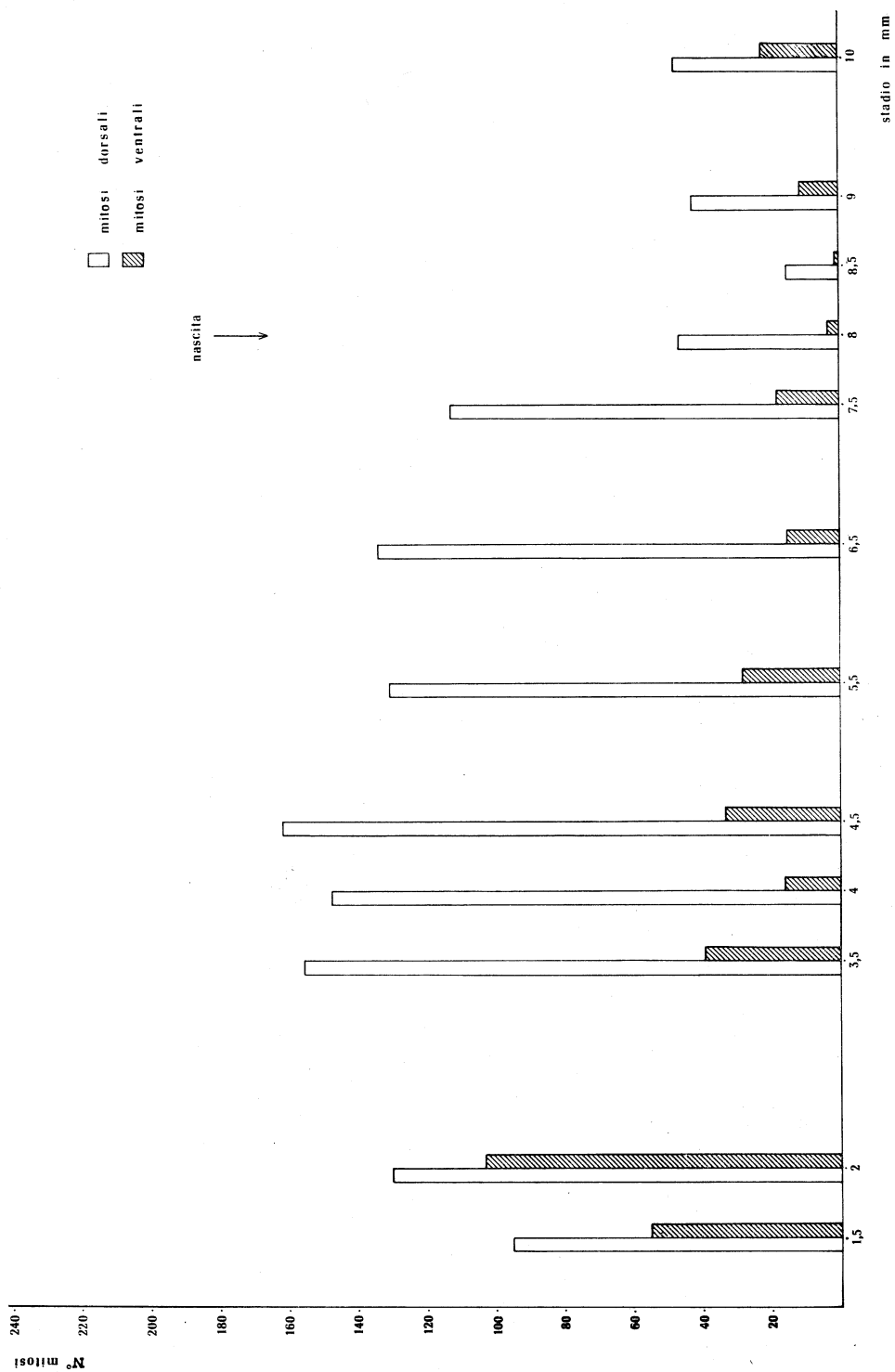


Fig. 1. - Andamento dell'attività mitotica nella piastra alare (dorsale) e nella piastra basale (ventrale).

tazione del canale endimale con l'aumento di frequenza delle mitosi ventricolari dopo la nascita; misurazioni eseguite hanno infatti verificato che il diametro medio del canale endimale nei giovani di 10 mm, aumenta del 15 % rispetto a quello dei giovani di 9 mm; ciò comporta un aumento della superficie ventricolare che permette di accogliere un maggior numero di cellule in procinto di dividersi.

Concludendo, dall'esame dell'attività mitotica del midollo spinale di *Gambusia affinis* durante lo sviluppo è emerso che:

1) L'attività mitotica parte da valori relativamente elevati e decresce lentamente fino a poco prima della nascita; dopo la nascita vi è una caduta dei valori seguita da una ripresa; questa caduta è stata messa in rapporto con il cambiamento del tipo di nutrizione.

3) Le mitosi della regione sensitiva sono costantemente più numerose di quelle della regione motoria; inoltre nelle due aree del midollo l'attività mitotica presenta lo stesso andamento solo nei primi stadi di sviluppo; ciò è dovuto al tardivo differenziamento della regione sensitiva (piastra alare).

3) Da stadio 4,5 mm in poi le mitosi sono localizzate prevalentemente entro lo strato mantellare (mitosi extraventricolari): si ritiene che la migrazione ventricolare sia impedita dal rapido restringimento e differenziamento del canale endimale.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] BENEDETTI I. e MARINI M. (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 49, 223-228.
- [2] MARINI M. e BENEDETTI I. (1971) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 51, 260-263.
- [3] MARINI M. e BENEDETTI I. (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 579-582.
- [4] RICHTER W. (1966) - « J. Hirnforsch. », 8, 195-206.
- [5] KIRSCH W. (1967) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 77, 313-406.
- [6] RICHTER W. e HEINRICH D. (1969) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 80, 433-449.
- [7] SCHLECHT F. (1969) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 81, 221-232.
- [8] RICHTER W. e KRANZ D. (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 81, 530-554.
- [9] RICHTER W. e KRANZ D. (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 82, 76-92.
- [10] KRANZ D. e RICHTER W. (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 82, 42-66.
- [11] DANNER H. (1972) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 85, 293-308.
- [12] DANNER H. (1972) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 85, 533-546.
- [13] BAFFONI G.M. e PINACCI R. (1958) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 25, 128-134.
- [14] BAFFONI G.M. (1961) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 30, 802-808.
- [15] BAFFONI G.M. (1961) - « Boll. Zool. », 28, 661-680.
- [16] BAFFONI G.M. (1966) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 41, 412-418.
- [17] BAFFONI G.M. (1969) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 47, 405-410.
- [18] BAFFONI G.M. (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 48, 463-468.
- [19] BAFFONI G.M. (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 960-964.
- [20] BAFFONI G.M. (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 48, 733-738.