
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

IVAN BENEDETTI, ADELE BOVOLI

**L'attività mitotica nel romboencefalo durante lo
sviluppo di un Teleosteo viviparo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 60 (1976), n.4, p. 518–522.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_60_4_518_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. — *L'attività mitotica nel romboencefalo durante lo sviluppo di un Teleosteo viviparo* (*). Nota di IVAN BENEDETTI e ADELE BOVOLI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — In the romboencephalon of a developing viviparous Teleost (*Gambusia affinis*), the mitotic activity slowly decreases and falls at hatching, but rises in young fish; therefore mitoses are present till the end of somatic growth.

The mitotic activity is higher in the alar plate than in the basal one: this is due to the late differentiation of the sensitive region.

During the growth of the romboencephalon, mitoses rarefy rostrally and, in the oldest embryos they are present only near the calamus owing to a number of undifferentiated elements in this area.

In the developing romboencephalon of *Gambusia* not many extraventricular mitoses are present, because of a wide ventricular surface allowing ventricular migration. This confirms that the high number of extraventricular mitoses found in the developing spinal cord of the same Teleost is a typical phenomenon due to the quick reduction of the central canal. Therefore ventricular migration may be hampered by physiological conditions during normal development.

In un precedente lavoro [1], sull'andamento dell'attività mitotica nel midollo spinale durante lo sviluppo del Teleosteo viviparo *Gambusia affinis*, è risultato che negli embrioni da 4,5 mm in poi, la maggior parte delle cellule in procinto di dividersi non raggiunge l'epitelio ventricolare, e le divisioni avvengono nello strato mantellare (mitosi extraventricolari). È stato supposto che l'ostacolo alla migrazione ventricolare sia dovuto al rapido restringimento del canale endomidollare.

Questo dato ha suggerito di estendere le ricerche ad altre zone del neurasse che durante lo sviluppo conservino un'ampia superficie ventricolare.

In questa Nota riferiamo i risultati relativi all'andamento dell'attività mitotica nella vescicola romboencefalica.

Sono stati impiegati embrioni e giovani di *Gambusia affinis* (Baird e Girard 1854). Gli embrioni sono stati prelevati da femmine gravide allevate in laboratorio e con i criteri utilizzati nella precedente Nota [1], è stata ottenuta la seguente seriazione: embrioni lunghi 2 mm, 3,5 mm, 4,5 mm, 5,5 mm, 6,5 mm, 7,5 mm, neonati (8 mm) e giovani di 3 settimane (9 mm), 6 settimane (10 mm), 8 settimane (12 mm). Di ogni stadio sono stati fissati almeno 7 individui, parte in liquido di Sanfelice (3 serie) e parte in liquido di Bouin (4 serie). Tutto il materiale, incluso in celloidina-paraffina è stato sezionato in serie trasversali di 7 μ di spessore. Le tre serie di animali fissati

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

(**) Nella seduta del 10 aprile 1976.

in liquido di Sanfelice sono state trattate con il metodo di Feulgen, standardizzata secondo Stowell (1954), e sono state impiegate per i computi mitotici; le quattro serie di animali fissate in liquido di Bouin sono state in parte (2 serie) colorate in Blu di toluidina e in parte (2 serie) impregnate secondo il metodo di Bodian per controllare il differenziamento delle cellule nervose.

Per il conteggio è stato tenuto conto solo delle mitosi grandi, quali si riscontrano nell'epitelio ventricolare degli embrioni più giovani e limitatamente agli stadi da prometafase ad anafase. I conteggi sono stati effettuati separatamente in base alla localizzazione delle mitosi: mitosi localizzate nella piastra alare e in quella basale; mitosi giacenti nell'epitelio ventricolare e quelle sparse nello strato mantellare (extraventricolari); sono state considerate come mitosi extraventricolari quelle separate dalla superficie ventricolare da almeno un nucleo intercinetico e che, all'osservazione a contrasto di fase, risultavano prive di connessione con la cavità del ventricolo.

Le densità mitotiche sono riferite alla superficie ventricolare calcolata in base alle misurazioni dei profili del ventricolo (disegnati alla camera lucida) ed allo spessore delle sezioni istologiche.

Nella Tabella sono riportate le medie dei valori ottenuti.

TABELLA

Stadio in mm	Mitosi Totali	Area ventri- colare	Densità per 0.01 mm ²	Localizzazione				
				Piastra alare	Piastra basale	Ventri- colari	Extra- ventri- colari	% Extra- ventri- colari
2	417	9 dmm ²	45	/	/	405	12	3
3,5	146	11,4	11	134	12	126	20	14
4,5	97	9,3	9,2	92	5	86	11	11
5,5	61	9,3	6,2	58	3	58	3	5
6,5	65	8,4	7,2	62	3	61	4	6
7,5	61	10,5	5,2	54	7	55	6	10
8 (nascita) .	9	7,9	1	9	0	8	1	11
9 (3 sett.) .	24	14,5	1,5	22	2	22	2	8
10 (6 sett.) .	24	12,8	1,7	22	2	22	2	8
12 (8 sett.) .	6	25,8	0,2	4	2	6	0	0

Negli embrioni di 2 mm il romboencefalo è costituito da uno strato mantellare compatto, rivestito ventralmente da un sottile strato di fibre. Nel ventricolo si osserva solo il solco longitudinale ventrale e non si distinguono i solchi limitanti; pertanto a questo stadio non è stata effettuata la separazione dei computi mitotici della piastra alare da quelli della piastra basale.

Negli embrioni di 3,5 mm le pareti romboencefaliche presentano il solco limitante; lo strato marginale è più spesso e vi si individuano netti fasci di fibre. A livello dell'uscita dell'ottavo paio di nervi cranici sono evidenti le due cellule di Mauthner con i loro prolungamenti dendritici. Negli stadi successivi, fino alla nascita, la sostanza bianca si ispessisce progressivamente mentre il grigio assume un aspetto sempre più simile a quello dell'adulto.

Nel romboencefalo il numero totale di mitosi è elevato (417) nel primo stadio esaminato; tale valore decresce (146) negli embrioni di 3,5 mm, diminuisce ulteriormente (97) in quelli di 4,5 mm e si stabilizza (61-65) negli ultimi tre stadi embrionali esaminati. Negli individui appena nati (8 mm) si verifica una caduta dell'attività mitotica (9 mitosi); nei giovani di 3 e 6 settimane (9 mm; 10 mm) si nota una ripresa (24 mitosi) seguita da una diminuzione (6 mitosi) nei giovani di 8 settimane (12 mm).

L'andamento dei valori assoluti è meglio precisato da quello dei valori delle densità mitotiche (in rapporto all'area del ventricolo): infatti le densità partono da valori elevati (45) che decrescono fino a poco prima della nascita; alla nascita presentano una caduta (da 5,2 a 1) seguita da una lieve ripresa (1,7 nei giovani di 10 mm).

L'analisi della distribuzione delle mitosi lungo il romboencefalo nei singoli individui di *Gambusia*, indica che l'attività mitotica è quasi uniforme nel primo stadio esaminato (2 mm), mentre negli stadi successivi si rarefa in senso rostro-caudale, scomparendo nella regione rostrale e rimanendo presso il calamo negli stadi più avanzati.

Confrontando il numero totale di mitosi computato nella piastra alare e in quella basale del romboencefalo, risulta che le mitosi presenti nella piastra alare sono costantemente più numerose di quelle della piastra basale (vedi Tabella); infatti le mitosi localizzate nella piastra basale sono già scarse (12) allo stadio di 3,5 mm, si rarefanno negli stadi successivi, si estinguono alla nascita, ma nei giovani di 3, 6 e 8 settimane ne ricompare qualcuna (2 per animale).

La maggior parte delle mitosi conteggiate sono comprese nell'epitelio ventricolare, mentre un certo numero è dislocato a vari livelli del grigio (mitosi extraventricolari). Analizzando l'andamento delle mitosi extraventricolari risulta che queste sono presenti già negli embrioni di 2 mm (12 mitosi pari al 3%) e aumentano leggermente (20) negli embrioni di 3,5 mm dove raggiungono la massima frequenza (14%). Negli embrioni di 4,5 mm sono presenti nel romboencefalo 11 mitosi extraventricolari (11%), quindi il loro numero si abbassa ed alla nascita (8 mm) se ne rinviene una sola (11%). Nei giovani di 3 e 6 settimane (9 e 10 mm) sono state conteggiate 2 mitosi extraventricolari (8%), mentre nei giovani di 8 settimane (12 mm) non ne è presente nessuna (vedi Tabella).

Dai dati esposti è emerso che nel romboencefalo di *Gambusia* come in quello degli Anfibii anuri [2], le mitosi sono costantemente più numerose nella piastra alare. Questo dato conferma quanto osservato nel midollo spi-

nale dello stesso Teleosteo [1] e va ritenuto effetto del più tardivo differenziamento dei centri sensitivi del romboencefalo.

Anche nel romboencefalo di *Gambusia*, si nota una caduta dell'attività mitotica, negli individui alla nascita, come è stato riscontrato nel midollo spinale dello stesso animale. Tale dato è in accordo con quanto osservato in tutti gli Anfibi all'inizio del periodo larvale [3, 4, 5, 6] ed è da attribuire al cambiamento del tipo di nutrizione che si verifica in questo momento dello sviluppo. Fa fede di ciò la ripresa, anche se modesta, dell'attività mitotica nei giovani nati da 3 e 6 settimane.

In *Gambusia*, come negli Anfibi, la ripresa dell'attività mitotica dopo la nascita fa supporre che l'attività proliferativa del tessuto nervoso si conservi fino al termine dell'accrescimento somatico, in accordo con i risultati autoradiografici di alcuni Autori [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

È interessante notare che nel romboencefalo di *Gambusia*, con il procedere dello sviluppo, le mitosi si rarefanno progressivamente in senso rostro-caudale e, negli stadi più avanzati, restano localizzate in prossimità del calamo. Le osservazioni citologiche indicano che ciò è in rapporto con una maggiore quantità di elementi indifferenziati in corrispondenza del calamo.

Durante lo sviluppo di *Gambusia*, nel romboencefalo è stata riscontrata la presenza di un numero limitato di mitosi extraventricolari; esse compaiono negli embrioni di 2 mm (3%), aumentano in quelli di 3,5 mm (14%) e oscillano attorno all'8% nei rimanenti stadi di sviluppo. Tale dato è in accordo con quanto osservato negli Anfibi durante lo sviluppo normale, dove le mitosi extraventricolari rappresentano un fenomeno poco frequente [15]. È noto che una più alta percentuale di mitosi extraventricolari è stata osservata nel sistema nervoso centrale di larve di Anfibi sottoposte a trattamenti sperimentali, quali colchicina, ormone tiroideo e basse temperature [16, 17]. Anche durante i processi rigenerativi del sistema nervoso centrale di Anfibi adulti è stato osservato un rilevante aumento di mitosi extraventricolari specialmente nelle zone vicine a quelle in rigenerazione [18].

Le presenti osservazioni sul romboencefalo dimostrano che l'aumento di mitosi extraventricolari, riscontrato nel midollo spinale di *Gambusia* in sviluppo, rappresenta un fenomeno peculiare dovuto al drastico restringimento del canale ependimale. Infatti nel romboencefalo dello stesso animale, dove un'ampia superficie consente la migrazione ventricolare, la frequenza delle mitosi extraventricolari oscilla attorno a valori modesti. Questo dato dimostra che la migrazione ventricolare può essere alterata, non solo da trattamenti sperimentali, ma anche da condizioni fisiologiche legate al naturale sviluppo del sistema nervoso centrale.

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

1) I valori assoluti e le densità mitotiche sono elevati negli embrioni più giovani (2 mm) e descregono fino a poco prima della nascita; alla nascita

vi è una caduta di valori che è stata messa in rapporto al cambiamento del tipo di nutrizione; dopo la nascita vi è una ripresa dell'attività mitotica che va quindi estinguendosi.

2) Le mitosi della piastra alare sono costantemente più numerose di quelle della piastra basale; ciò è dovuto al più precoce differenziamento di quest'ultima.

3) L'analisi delle mitosi lungo l'asse rostro-caudale dimostra che queste si rarefanno durante lo sviluppo nella regione rostrale, restando, negli stadi più avanzati, solo vicino al calamo; ciò va messo in rapporto con la maggiore quantità di elementi indifferenziati presenti in questa zona.

4) Nel romboencefalo di *Gambusia* in sviluppo si riscontra costantemente un numero esiguo di mitosi extraventricolari, in quanto l'ampia superficie del ventricolo consente la migrazione delle cellule in procinto di dividersi. Questo dato conferma che l'elevato numero di mitosi extraventricolari riscontrato nel midollo spinale dello stesso animale durante lo sviluppo, è un fenomeno peculiare dovuto al drastico restringimento del canale endodermale. Ne consegue che la migrazione ventricolare può essere alterata non solo da trattamenti sperimentali, ma anche da condizioni fisiologiche legate al normale sviluppo ⁽¹⁾.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. CARNEVALI e I. BENEDETTI (1974) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 56, 640-645.
- [2] R. PINACCI (1960) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 29, 150-153.
- [3] G.M. BAFFONI e R. PINACCI (1958) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 25, 128-134.
- [4] G.M. BAFFONI (1961) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 30, 802-808.
- [5] G.M. BAFFONI (1961) - « Boll. Zool. », 28, 661-680.
- [6] G.M. BAFFONI (1966) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 41, 412-418.
- [7] W. RICHTER (1966) - « J. Hirnforsch. », 8, 195-206.
- [8] W. KIRSCH (1967) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 77, 313-406.
- [9] W. RICHTER e D. HEINRICH (1969) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 80, 433-449.
- [10] F. SCHLECHET (1969) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 81, 221-232.
- [11] W. RICHTER e D. KRANZ (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 81, 530-554.
- [12] W. RICHTER e D. KRANZ (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 82, 76-92.
- [13] D. KRANZ e W. RICHTER (1970) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 82, 42-66.
- [14] H. DANNER (1972) - « Z. Mikr. Anat. Forsch. », 85, 293-308.
- [15] G.M. BAFFONI (1969) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 47, 405-410.
- [16] G.M. BAFFONI (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 48, 463-468.
- [17] G.M. BAFFONI (1972) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 52, 960-964.
- [18] G.M. BAFFONI (1970) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 48, 733-738.

(1) Ringraziamo il prof. Giorgio M. Baffoni per la revisione del manoscritto.