



RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXV, serie 6^a, 2^o sem., fasc. 3-4. - Roma, agosto 1937-xv.

Biologia. — *La preipofisi di Rana non provoca l'estro nella femmina impubere di topo.*⁽¹⁾ Nota⁽³⁾ di M. BENAZZI presentata dal Socio E. GIACOMINI.

In un lavoro precedente⁽⁴⁾ ho riferito i risultati negativi da me ottenuti trattando topoline impuberi di 20-23 giorni con preipofisi di Uccelli (*Columba livia*) e di Anfibi (Axolotl): l'impianto di un numero anche notevole di ghiandole (fino ad 11) non manifesta effetto gonadotropo, mentre l'ipofisi dei Mammiferi determina, come è ben noto, fenomeni di pubertà precoce.

I miei risultati negativi non sembrano tuttavia in accordo con quelli di vari altri ricercatori⁽⁵⁾, i quali hanno invece dimostrato che anche nei Vertebrati inferiori lo sviluppo e l'attività delle gonadi sono sottoposti all'azione di ormoni preipofisari e che gli stessi estratti di preipofisi di Mammiferi possono agire (in molti casi almeno) sulle gonadi di Sauropsidi e di Ittiopsidi. Nel precedente lavoro io ho creduto di poter affacciare, per

(2) Lavoro eseguito nell'Istituto di Biologia e Zoologia generale della R. Università di Siena.

(3) Pervenuta all'Accademia il 28 luglio 1937.

(4) M. BENAZZI, *Contributo alla fisiologia comparata della preipofisi*. « Arch. Sc. Biol. », vol. 23, 1937.

(5) Per le indicazioni bibliografiche rimando al mio precedente lavoro.

N. 2
OB
55
/ 911

un tentativo di interpretazione dei miei reperti negativi, qualche ipotesi, invocando sia la specificità zoologica degli ormoni gonadotropi (che se appare insussistente in certi casi, non sembrerebbe tuttavia doversi escludere in alcuni altri), sia una alternanza di fasi di attività e di inattività della preipofisi nei riguardi del suo potere gonadotropo. Ed appunto in considerazione di quest'ultima ipotesi ho voluto compiere nuove indagini, usufruendo di ghiandole che potessero essere con certezza ritenute in piena attività. Ho scelto a tale scopo ipofisi di rane nel periodo degli amori, in quanto è ormai sicuramente dimostrato l'intervento di tale organo nei fenomeni della riproduzione. (Basterà ricordare l'ovulazione sperimentale indotta mediante estratti preipofisari).

Le ricerche sono state compiute nella decorsa primavera con ipofisi di *Rana esculenta*, usufruendo di animali in accoppiamento od all'inizio della emissione delle uova; ho saggiato inoltre ghiandole di animali non accoppiati, che avevano svernato in laboratorio. L'ipofisi veniva suddivisa in fettine od anche spappolata ed introdotta sottocute in topoline impuberi di età ben precisata. Faccio presente che insieme alla parte anteriore (lobo cromofio) veniva impiantata anche la parte intermedia (lobo cromofobo), la quale sulle sezioni appare ben differenziata per i caratteri istologici.

Noto subito che tutte le esperienze hanno avuto esito negativo: esse confermano quindi i miei precedenti risultati; mi limito a riportare i protocolli di quelle più dimostrative.

1. 12 maggio; una topolina di 28 giorni riceve 8 ipofisi di rana (4 coppie in amplesso) ed il giorno seguente quelle di altre 8 (che avevano in parte iniziata l'emissione delle uova). La topolina è sacrificata il 17 ancora perfettamente impubere, senza il minimo accenno di apertura dell'ostio vaginale. L'esame macroscopico dell'apparato genitale non rivela alcuna differenza rispetto ad una sorella sacrificata per controllo; il peso del tratto genitale (utero-vagina) è di mg. 12 (1) nella prima, e di mg. 15 nella seconda. Microscopicamente si osserva in entrambe una vagina con caratteri di impubert , l'epitelio presenta tuttavia una assisa superficiale mucosa, soprattutto sviluppata nella femmina di controllo.

2. 12 maggio; una topolina di 20 giorni riceve 8 ipofisi di rana (4 coppie) e dopo tre giorni altre nove ipofisi (appartenenti a 5 ♂ e 4 ♀, in parte accoppiate, in parte separate da poco). La topolina è sacrificata, insieme ad una sorella di controllo, il 19 maggio, senza aver manifestato alcun segno esteriore di estro. All'esame macroscopico l'apparato genitale dei due animali non mostra differenze; quello della topolina trattata pesa mg. 19, quello del controllo mg. 14. Istologicamente constatato assenza di caratteri estrali; nell'epitelio vaginale dell'animale trattato si nota uno strato superficiale di cellule cilindriche mucose, simile a quello dell'esemplare di controllo della esperienza precedente.

3. 30 aprile; una topolina di 23 giorni riceve 6 ipofisi di rane (2 ♂ e 4 ♀) che avevano svernato in laboratorio; il 2 maggio impianto altre 6 ghiandole (2 ♂ e 4 ♀) ed il 4 maggio altre 5 (4 ♂ ed 1 ♀); la reazione genitale è nulla e l'animale viene sacrificato il giorno 9. Come nelle precedenti esperienze, non trovo alcuna differenza rispetto alla sorella di controllo; il tratto genitale pesa mg. 6 nella topolina trattata e mg. 11,5 nel controllo; l'esame microscopico della vagina conferma i reperti macroscopici.

(1) Tutte le pesate sono state fatte su pezzi fissati in formalina 10%.

A titolo di confronto riferisco pure due esperienze compiute con ipofisi di Mammiferi (numerosi altri dati si trovano nel mio precedente lavoro); una dimostra che 3 sole ipofisi di topo adulto (*Mus musculus*) sono sufficienti a provocare l'estro nella topolina impubere, l'altra che i principi estrogeni sono contenuti anche nell'ipofisi di animali non ancora puberi.

4. 26 maggio; ad una topolina di 27 giorni impianto tre ipofisi di topo; il 29 mattina è in proestro e viene sacrificata il 30; il tratto genitale pesa mg. 17, quello della sorella di controllo mg. 7,5. L'epitelio vaginale della prima offre tipici caratteri di metestro (con intensa infiltrazione leucocitaria), mentre nell'altra trovo una vagina di femmina impubere.

5. 22 giugno; una topolina di 28 giorni riceve 8 ipofisi di topo (7 ♂ ed 1 ♀ di 39 giorni, non ancora sessualmente maturi); dopo tre giorni la topolina è in calore; sacrificata il 26 trovo il tratto genitale (che pesa mg. 25) molto sviluppato, con le corna uterine piene di liquido; quello della sorella di controllo è perfettamente infantile e pesa mg. 7,5. L'esame istologico dimostra nella vagina della femmina trattata un tipico epitelio estrale con spesso strato corneo.

Dalle mie esperienze risulta quindi che la preipofisi di *Rana esculenta* non è capace (neppure nei periodi in cui si può ritenere in fase di piena attività) di indurre manifestazioni sessuali nella topolina impubere. Se si tien presente che 17 ipofisi di rana mi sono risultate inefficienti, mentre 3 sole ipofisi di topo sono atte a determinare un ciclo estrale completo, credo non debbano sorgere dubbi al riguardo⁽¹⁾. Non può naturalmente essere invocata l'impossibilità di attecchimento della ipofisi di rana, poichè in queste esperienze il risultato è raggiunto mediante il riassorbimento dell'organo.

Se ne dovrebbe dedurre quindi, tenendo conto anche dei miei precedenti risultati, che l'ipofisi dei Vertebrati inferiori, pur essendo dotata di attività gonadotropica, non elabora (o solo in quantità insufficiente) i principi atti a stimolare la maturazione dei follicoli ovarici dei Mammiferi e le loro conseguenti trasformazioni. Se questo sia dipendente da una specificità zoologica degli ormoni gonadotropi, oppure da altri fattori (per es. da un eccesso di prolattina o di ormone della crescita, che sembrano avere azione antagonista su quello gonadotropo) è questione ardua e tuttora aperta. L'ipotesi della specificità zoologica sembrerebbe poggiare su alcune basi sperimentali, ma contrasta tuttavia (come ho ricordato nel precedente lavoro) con molteplici altre ricerche. E tale diversità di risultati appare evidente anche in recenti lavori. Ad es. Artemoff (1936) in *Rhodens sericeus* ha potuto verificare che iniezioni di emulsione di ipofisi di rana determinano, nell'inverno, uno sviluppo dell'ovopositore simile a quello che si ha nell'epoca della frega, mentre con prolan od ipofisi di buc (anche in estratti ad alta concentrazione ormonica) l'accrescimento è nullo o scarsissimo, per cui l'A. ritiene che

(1) La ipofisi di rana adulta pesa circa mg. 1 e quella di topo circa mg. 1,5.

si tratti di ormoni a specificità zoologica. Invece Morosowa (1936) sperimentando sul pesce persico ha ottenuto, con prolan od urina non sterilizzata di gravida, la maturazione e la deposizione dei prodotti sessuali molto prima dell'epoca normale della frega.

Nuove ed estese indagini comparative sono quindi necessarie per risolvere tale interessante problema. D'altra parte, nel caso specifico delle mie ricerche, è forse opportuno non dimenticare che la fisiologia ovarica dei Mammiferi presenta una complicazione molto maggiore di quella dei Vertebrati inferiori. L'accrescimento dei follicoli oofori dei Mammiferi, con la secrezione di quel prodotto ad alta attività endocrina che è il *liquor folliculi*, e, più ancora, le modificazioni che essi subiscono successivamente con la formazione dei corpi lutei, non trovano certo riscontro nella maggioranza almeno dei Vertebrati inferiori⁽¹⁾. È logico pensare quindi che in rapporto a questo anche l'attività gonadotropa della preipofisi assuma (qualitativamente e quantitativamente) una maggiore complessità; sappiamo infatti che nei Mammiferi sono ormai accertati due ormoni gonadotropi: quello dell'accrescimento follicolare e quello della luteinizzazione.

Mi pare pertanto che la questione da me posta non sia senza importanza e possa contribuire alla elaborazione di questo moderno capitolo della fisiologia comparata.

(1) Mi è ben noto come anche in questi sia stato dimostrato (soprattutto dalle ricerche di Mingazzini, Giacomini, Hett, ecc.) lo sviluppo, dopo la deiscenza del follicolo, di corpi lutei; ma si tratta in genere di formazioni di minore entità e di breve durata. Le conclusioni del Prof. Giacomini (1896) illustrano chiaramente, per gli Anfibi in particolare, la scarsa portata che vi riveste la formazione lutea. Invece in diversi Vertebrati inferiori vivipari (od ovovivipari) i corpi lutei si sviluppano maggiormente, assumendo caratteristiche molto simili a quelle dei corpi lutei dei Mammiferi, ciò risulta dalle ricerche del Mingazzini (1893) su *Seps* ed *Anguis*, del Giacomini (1896) su alcuni Selaci e di altri AA. posteriori. Interessanti a tal proposito sono anche le esperienze recenti di Cunningham e Smart (1935), i quali in un Anuro sud-africano (*Xenopus laevis*) hanno constatato come la riduzione e l'assorbimento del follicolo svuotato incominci subito dopo lo scoppio e proceda rapidamente e come neppure gli estratti di preipofisi di bue, che pur determinano l'ovulazione artificiale, ne possano influenzare l'evoluzione. Anche in *Lacerta viridis* osservano, subito dopo la deiscenza, la riduzione e l'assorbimento delle cellule follicolari. Invece in due Rettili vivipari (*Anguis fragilis* e *Zootoca vivipara*) i follicoli persistono durante lo sviluppo degli embrioni nell'ovidutto ed a spese dell'epitelio della granulosa, che si ipertrofizza, danno luogo alla formazione di corpi lutei essenzialmente simili a quelli dei Mammiferi. Da ciò gli AA. deducono che un vero corpo luteo si formi solo nelle specie vivipare, in conseguenza dello sviluppo dell'uovo fecondato entro le vie genitali femminili. Sarà certamente interessante, ai fini delle mie ricerche, saggiare il potere gonadotropo della preipofisi di Vertebrati inferiori vivipari, tanto più che Ranzi e collaboratori hanno illustrato notevoli modificazioni della ipofisi di Selaci durante la gestazione.

220236

55728