
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

LUISA BRANDI, ELVEZIO GHIRARDELLI

L'azione del cervello sulla rigenerazione delle gonadi di *Dugesia lugubris*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 35 (1963), n.1-2, p.
120-125.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_35_1-2_120_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'azione del cervello sulla rigenerazione delle gonadi di Dugesia lugubris* (*). Nota (**) di LUISA BRANDI ed ELVEZIO GHIRARDELLI, presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

I fattori della rigenerazione degli organi genitali nelle planarie sono meno noti di quelli del differenziamento degli occhi e del faringe (Wolff e Lender ⁽¹⁾). Tentativi per studiare i fattori che inducono la rigenerazione delle gonadi sono stati fatti da Vandel ⁽²⁾, il quale aveva supposto che esistesse una relazione tra la rigenerazione delle gonadi, particolarmente dei testicoli, e quella dell'apparato copulatore. Questa ipotesi è stata ripresa da Fedeka-Bruner ⁽³⁾, la quale ha dimostrato recentemente che l'apparato copulatore di *Dugesia lugubris* può rigenerare nel moncone posteriore soltanto dopo che tutta la regione anteriore s'è riformata. L'apparecchio copulatore tuttavia non si rigenera nemmeno in presenza della regione anteriore quando questa sia stata precedentemente irradiata con raggi X e ciò si può spiegare sia con il fatto che la regione codale contiene troppo pochi neoblasti, sia ammettendo che per effetto della radiazione vengano a mancare i prodotti di secrezione delle gonadi.

Vi sono state notevoli difficoltà nel determinare il ruolo delle secrezioni testicolari sulla rigenerazione dell'apparecchio copulatore. Questa difficoltà poteva essere superata approfittando della presenza in alcune specie, di razze sessuate ed asessuate. Così Kenk ⁽⁴⁾ innestando la regione anteriore di una razza sessuata di *Dugesia tigrina* alla regione posteriore di una razza asessuata, ha potuto ottenere, dopo alcuni mesi dall'operazione, la comparsa nella regione posteriore dei testicoli e degli organi copulatori. Esperienze analoghe sono state fatte da Okugawa ⁽⁵⁾ su *Dugesia gonocephala*. Questo autore, ha potuto ottenere con il metodo di innesto la comparsa di testicoli e dell'apparato copulatore nel frammento posteriore asessuato, ma non è invece riuscito a

(*) Istituto di Zoologia della Università di Bologna diretto dal prof. E. Vannini ed Istituto di Zoologia della Università di Trieste diretto dal prof. E. Ghirardelli. Indagine eseguita con un contributo del C.N.R.

(**) Pervenuta all'Accademia il 17 luglio 1963.

(1) E. WOLFF e TH. LENDER, *Les néoblastes et les phénomènes d'induction et d'inhibition dans la régénération des Planaires*, « Ann. Biol. », t. 1 (9-10), pp. 499-529 (1962).

(2) A. VANDEL, *Recherches expérimentales sur les modes de reproduction des planaires Tricladés paludicoles*, « Bull. Biol. Fr. Belg. », vol. 55, pp. 343-518 (1922).

(3) B. FEDEKA-BRUNER, *La régénération de l'appareil copulateur chez la planaire Dugesia lugubris*, « Arch. Anat. micr. Morph. exp. », vol. 50, pp. 221-231 (1961).

(4) R. KENK, *Induction of sexuality in the asexual form of Dugesia tigrina*, « J. Exp. Zool. », vol. 87 (1), pp. 55-69 (1941).

(5) K. I. OKUGAWA, *An experimental study of sexual induction in the asexual form of Japanese fresh-water planarian, Dugesia gonocephala* (Dugès), « Bull. Kyoto Cakugei. Univ. », ser. B, vol. 11, pp. 8-27 (1957).

provocare la comparsa delle gonadi in individui asessuati allevati in acqua con l'aggiunta di un omogenato ottenuto tritando finemente esemplari della razza sessuata. Inoltre in alcuni casi di innesto il frammento sessuato non ha indotto la comparsa delle gonadi in quello posteriore asessuato; anzi nel primo si è avuta la degenerazione dell'apparato genitale.

Queste esperienze tendono a dimostrare che i testicoli hanno un'azione induttrice nella formazione dell'apparato copulatore. Riferendosi agli esperimenti di innesti ora citati, Wolff e Lender⁽¹⁾ non escludono però che gli apparati riproduttori che si formano nella parte asessuata possano essere originati da neoblasti migrati in tale regione dalla parte sessuata. In questi processi rigenerativi deve avere, comunque, una notevole importanza la regione anteriore con tutta una catena di induzioni e di differenziazioni che, secondo Lender⁽⁶⁾, avrebbero il loro punto di origine nel cervello.

Un gradiente antero-posteriore del potere rigeneratore della testa, che Brøndsted⁽⁷⁾ ha definito «time graded regeneration field», è stato messo in evidenza da questo ultimo in diverse specie e confermato anche da Pasquini, Ghirardelli e Rusticali⁽⁸⁾ e da Pasquini, Ghirardelli e Lesi-Massari⁽⁹⁾ con esperienze di rigenerazione su dischetti isolati dal corpo delle Planarie. La diversità delle azioni induttrici ai diversi livelli è stata anche dimostrata dalle brillanti esperienze di culture *in vitro* dei blastemi anteriori e posteriori fatte dalla Sengel⁽¹⁰⁾.

Oltre alle azioni induttrici, vi sono però anche azioni inibitrici dimostrate da varii Autori; tra cui Chevtchenko⁽¹¹⁾ e lo stesso Lender⁽¹²⁾. In sostanza si è visto che ciascuna regione del corpo di una planaria intera inibisce il differenziamento di una regione omologa, innestata nel territorio corrispondente. A questo proposito, uno di noi ha notato un'azione inibitrice nella rigenerazione degli occhi sopranumerari di *Dugesia lugubris* da parte degli occhi già presenti (Ghirardelli e Tasselli⁽¹³⁾).

(6) TH. LENDER, *Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une Planaire d'eau douce*, «Bull. Biol. Fr. Belg.», vol. 86, pp. 140-215 (1952).

(7) A. BRØNSTED e H. V. BRØNSTED, *The time-graded regeneration field in Planaria (Dugesia) lugubris*, «Vidensk. Medd. danske. Naturh. Foren.», vol. 114, pp. 443-447 (1952).

(8) P. PASQUINI, E. GHIRARDELLI e A. RUSTICALI, *Sulla rigenerazione di dischetti isolati dal corpo delle planarie* (Planaria torva), «Rend. Accad. Sc. Ist. Bologna», ser. IX, t. II, pp. 139-147 (1955).

(9) P. PASQUINI, E. GHIRARDELLI e A. LESI-MASSARI, *Sulla istogenesi rigenerativa in dischetti isolati dal corpo di Planaria torva*, «Rend. Accad. Sc. Ist. Bologna», ser. IX, t. II, pp. 131-138 (1955).

(10) C. SENDEL, *Culture in vitro des blastèmes de régénération de Planaires*, «J. Embr. exp. Morph.», vol. 8, pp. 468-476 (1960).

(11) N. N. CHEVTCHENKO, *Die Wechselwirkung von Teilen von verschiedener physiologischer activität bei Planarien*, «Biol. Zool.», vol. 6, pp. 581-587 (1937).

(12) TH. LENDER, *L'inhibition spécifique de la différenciation du cerveau des planaires d'eau douce en régénération*, «J. Embr. exp. Morph.», vol. 8, pp. 291-301 (1960).

(13) E. GHIRARDELLI ed E. TASSELLI, *Sul numero degli occhi rigenerati in Euplanaria lugubris*, «Rend. Accad. Sc. Ist. Bologna», ser. IX, t. III, pp. 99-106 (1956).

Azioni inibitrici nei processi rigenerativi si possono ottenere anche usando alcune sostanze chimiche.

Particolarmente significativi i risultati di Liotti ⁽¹⁴⁾. Egli, trattando con fenilisopropilamina (nota in commercio come « simpamina ») monconi posteriori di differente lunghezza di *Dugesia lugubris*, otteneva in un'alta percentuale di casi la mancata rigenerazione del capo. A proposito della rigenerazione di questa parte del corpo il primo segno del differenziamento del blastema anteriore è dato dalla comparsa delle due macchie oculari che può essere simultanea o non. Ciò dipende, secondo Bondi ⁽¹⁵⁾ e Lender e Gripou ⁽¹⁶⁾ da una diversa lunghezza dei tronchi nervosi rimasti *in situ* dopo il taglio. La comparsa degli occhi è anche il segno della avvenuta rigenerazione del cervello.

Solo nel caso che i monconi siano messi a rigenerare in presenza di omogenato di testa, si può avere la rigenerazione degli occhi senza che sia rigenerato il cervello, perché nell'omogenato sono simultaneamente presenti le sostanze induttrici degli occhi e quelle inibitrici del cervello (Wolff e Lender ⁽¹⁷⁾).

Una eccellente rassegna critica sui fenomeni di rigenerazione in Planaria si deve a Lender ⁽¹⁷⁾, al quale rimandiamo per ulteriori notizie sull'argomento.

Nel corso di ricerche sulla determinazione regionale delle gonadi in diversi animali ermafroditi, si stanno indagando presso gli Istituti di Zoologia di Bologna e di Trieste anche i fattori che inducono i neoblasti delle Planarie a differenziarsi in senso maschile o in senso femminile.

Nel corso di queste ricerche Grasso ⁽¹⁸⁾ aveva visto che dopo la decapitazione effettuata in modo da asportare anche gli ovari, nel moncone posteriore i testicoli regredivano rapidamente fino a scomparire. Quando, poi, nel giro di una quindicina di giorni, la regione cefalica con il cervello e gli occhi era rigenerata, si riformavano anche gli ovari e i testicoli. Nei monconi anteriori delle planarie, ottenuti con il taglio dietro agli ovari, gli organi genitali femminili e maschili non degenerano mai (Nobili ⁽¹⁹⁾). Tutto ciò ha fatto supporre al Grasso l'esistenza di un'azione induttrice della regione anteriore e del cervello sulla maturazione degli elementi germinali.

L'interesse del reperto ci ha indotto ad allestire una serie di esperienze dirette a precisare se effettivamente la regressione dei testicoli ottenuta da

(14) F. S. LIOTTI, *Studi e ricerche sulla rigenerazione in Planaria*, « Riv. Biol. », vol. LIV (4), pp. 415-455 (1961).

(15) C. BONDI, *Osservazioni sulla rigenerazione in Dugesia lugubris*, « Arch. Zool. », vol. 6, pp. 141-150 (1959).

(16) TH. LENDER e P. GRIPOU, *La régénération des yeux et du cerveau de Dugesia lugubris en présence de deux troncs nerveux ingeaux*, « Bull. Soc. Zool. France », vol. 77 (4), pp. 387-395 (1963).

(17) TH. LENDER, *Factors in morphogenesis of regenerating fresh-water Planaria*, « Advances in morphogenesis », vol. 2, pp. 305-331 (1962).

(18) M. GRASSO, *Fenomeni rigenerativi e apparato genitale in Dugesia lugubris*, « Boll. Zool. », vol. XXVI (2), pp. 523-526 (1959).

(19) R. NOBILI, *La durata della funzionalità degli spermatozoi nei ricettacoli seminali di Tricladidi paludicoli*, « Arch. Zool. It. », vol. XLIII, pp. 157-171 (1958).

Grasso fosse da imputare alla assenza della regione cefalica o se più semplicemente fosse legata a processi morfallattici e di migrazione di neoblasti che seguono al taglio. Il maggiore ostacolo era rappresentato dalla difficoltà di impedire nei monconi posteriori la rigenerazione della testa (Lender ⁽⁶⁾). Abbiamo pensato però che la tecnica escogitata da Liotti ⁽¹⁴⁾ potesse essere utilmente impiegata a questo scopo. Effettivamente, trattando con simpamina alcuni lotti di Planarie decapitate si è visto che in un'alta percentuale di casi si riusciva ad inibire la rigenerazione dei monconi posteriori, che pertanto non riformavano la testa: su 120 planarie operate, solo 30 l'hanno riformata. La rigenerazione manca sempre se il taglio è fatto posteriormente al faringe.

È stata impiegata la Simpamina Recordati in fiale da mg 10, diluita in 2000 cc di acqua di fonte in modo da ottenere una concentrazione di mg 0,5 in 100 cc di acqua. Il numero dei casi in cui si ha la rigenerazione secondo Liotti è tanto più elevato quanto meno estesa è la parte asportata anteriormente. Noi però abbiamo sempre operato separando la parte asportata anteriormente da quella posteriore con un taglio fatto davanti al faringe, che perciò non era leso. Questo per conservare il più possibile la regione genitale maschile e per vedere se pur in assenza del capo e del cervello fosse possibile la ricostituzione degli ovari in un territorio non troppo lontano dalla loro sede naturale ed abituale.

Le planarie operate hanno soggiornato in soluzione di simpamina per 3 giorni, avendo cura di rinnovarla ogni giorno, poi sono state passate in acqua presa dalle vasche del giardino dell'Istituto di Bologna. Alcuni esemplari, per controllo, sono stati tagliati in due monconi nell'identica maniera, senza però sottoporli all'azione della simpamina.

Abbiamo condotto tutto l'esperimento in ambiente a 18° C, avendo notato che temperature maggiori potevano favorire la necrosi delle planarie. Gli esemplari sono stati fissati in Lang ^(*) (modificato da Leghissa) e colorati con ematossilina-eosina.

L'esame istologico dei monconi posteriori trattati con simpamina ha messo in evidenza, a 5 giorni dall'intervento, che i testicoli mostrano evidenti segni degenerativi (Fig. 1), la ferita è perfettamente cicatrizzata, il blastema non è ancora evidente, mentre è già ben differenziato nei controlli non trattati con simpamina.

Dopo 8 giorni l'atrofia dei testicoli è completa e il blastema rigenerativo è presente ma non differenziato, mentre nei controlli il suo differenziamento è abbastanza progredito.

Al 12° giorno i processi rigenerativi negli esemplari in cui non si è riformato il capo si sono ormai arrestati. L'aspetto degli animali acefali rimane

(*) HOH	cc 100
NaCl	gr 5
HgCl ₂	gr 10
CH ₃ COOH	cc 3
Etile-uretano	gr 3

poi immodificato, ed anche ad oltre un mese dall'avvenuta cicatrizzazione della ferita anteriore non si riforma l'apparato genitale. Tutto al più in corrispondenza dei preesistenti testicoli si osservano talvolta piccoli noduli di elementi cellulari che presentano indubbi caratteri di spermatogoni, ma non riescono a maturare ulteriormente (Fig. 2). Non si nota mai la rigenerazione degli ovari.

Invece nei monconi posteriori non trattati con simpamina, dopo una ventina di giorni sono presenti tanto gli ovari ben sviluppati che testicoli maturi. Costantemente la rigenerazione degli ovari è preceduta dalla comparsa degli occhi, segno questo dell'avvenuta rigenerazione del cervello. Al fine di accertare se effettivamente la mancata rigenerazione delle gonadi sia dovuta all'assenza del capo o non piuttosto all'azione della simpamina, è stato studiato il comportamento dei monconi cefalici ottenuti con il taglio già sopra descritto, che pure erano stati fatti soggiornare per tre giorni in soluzione di simpamina.

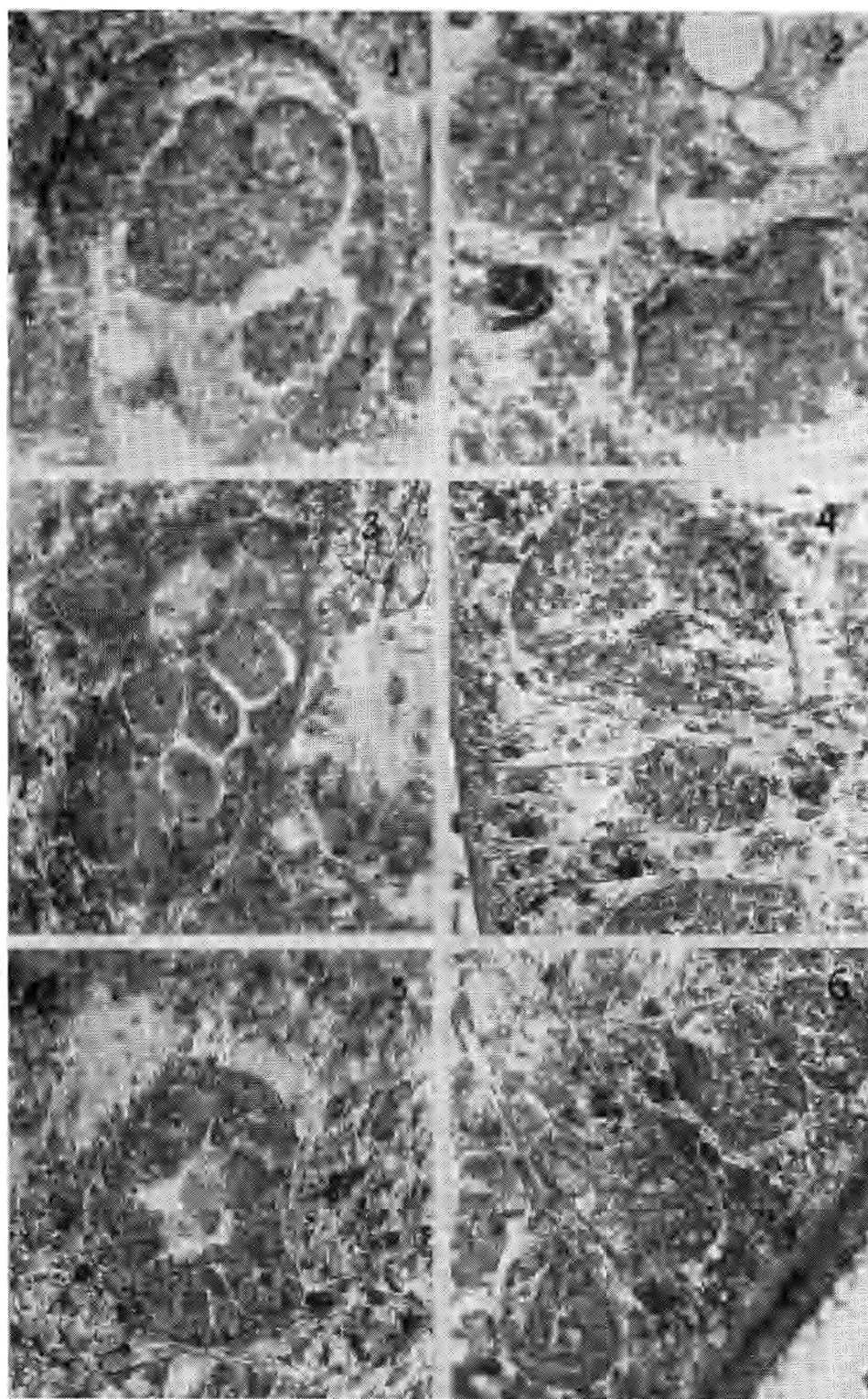
L'unica differenza riscontrata tra questi e i rispettivi controlli non trattati è data da una maggiore lentezza nella formazione del blastema posteriore nei monconi anteriori che hanno soggiornato in simpamina. Infatti nei primi il blastema si forma solo dopo 10 giorni, mentre nei secondi alla stessa epoca è già ben differenziato. In entrambi i casi però non si osserva né la regressione degli ovari né dei pochi testicoli che non erano stati asportati. Al termine dei processi rigenerativi, sia gli esemplari trattati che quelli non trattati presentano esattamente le stesse caratteristiche.

Resta ora da osservare il comportamento dei monconi posteriori, che pur avendo soggiornato in simpamina, riformarono il capo.

Negli esemplari che hanno rifatto gli occhi, attorno al ventesimo giorno, già si incominciano a differenziare sia gli ovari che i testicoli. Dopo circa un mese, tali gonadi non sono ancora completamente mature, ma negli ovari abbondano ovociti in secondo e terzo periodo di accrescimento (Fig. 3), mentre nei testicoli già esistono gli spermatociti (Fig. 4). Nei monconi rigenerati dei controlli che non avevano soggiornato in simpamina, alla stessa età le gonadi erano già perfettamente mature.

Sempre allo scopo di studiare la influenza del capo sui processi rigenerativi, è stata fatta un'ultima serie di esperienze, che qui descriveremo anche se il numero degli esemplari operati è per ora limitato, perché ci sembra che i risultati conseguiti siano già meritevoli di essere segnalati. In alcuni dei monconi posteriori che dopo il soggiorno in simpamina non avevano rigenerato la testa e che, pertanto, erano privi di testicoli ed ovari, abbiamo nuovamente asportato, con un taglio, un piccolo tratto anteriore del corpo. Era già noto, dalle ricerche di Liotti⁽¹⁴⁾, che in queste condizioni la regione cefalica, prima inibita, può rigenerare; anche in altri casi in cui i processi rigenerativi siano stati inibiti con metodi diversi, per esempio con raggi X, un secondo taglio può dare l'avvio ai processi rigenerativi (Dubois⁽²⁰⁾). Nei nostri esperimenti,

(20) F. DUBOIS, *Sur la migration des cellules de régénération chez les Planaires*, in « 13^e Congr. Int. Zool. Paris », pp. 275-277 (1949).



dei pochi esemplari operati due volte, non tutti hanno riformato il capo dopo la nuova mutilazione. In uno almeno di essi, tuttavia, dopo due settimane dal secondo intervento, il capo era presente, con un cervello ed occhi ben sviluppati e l'esame istologico, eseguito dopo un mese circa dal reintervento, ha permesso di dimostrare la presenza di ovari e testicoli maturi (Figg. 5 e 6).

Concludendo, crediamo di poter affermare che la presenza del capo eserciti un'azione induttiva sui processi di maturazione delle gonadi in *Dugesia lugubris*. I nostri esperimenti non ci permettono di precisare in modo assoluto quale possa essere la parte del capo responsabile di questa azione, però, tenuto conto dei risultati di Lender e del fatto che le gonadi cominciano a riformarsi subito dopo la comparsa degli occhi, la cui presenza è indotta dal cervello, riteniamo che sia proprio questo ultimo la sede dell'azione induttrice sullo sviluppo dell'apparato genitale. D'altra parte si è visto anche che gli ovari si sviluppano in prossimità del tratto iniziale dei cordoni nervosi subito dietro al ganglio cerebrale e che le loro dimensioni durante la rigenerazione dipendono in larga misura dal tempo trascorso dopo la ricomparsa del cervello. Ci confermano in questa opinione i già citati esperimenti di trapianto fatti da Okigawa⁽⁵⁾ e Kenk⁽⁴⁾ ed i dati di Grasso⁽¹⁸⁾.

La simpamina, il cui meccanismo di azione ancora attende di essere meglio precisato (Liotti⁽²¹⁾), ma che impedisce la rigenerazione cefalica in quanto ostacola la rigenerazione del cervello, non inibisce direttamente la maturazione delle gonadi, ma lo fa indirettamente proprio perché in assenza della testa e dei suoi gangli viene a mancare l'azione induttrice che questi esercitano sugli altri territori.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - *Dugesia lugubris*. Testicoli in degenerazione 5 giorni dopo la decapitazione in un esemplare trattato con simpamina ($\times 800$).
- Fig. 2. - Esemplare decapitato, trattato con simpamina che non ha rigenerato gli occhi. Fissato 27 giorni dopo l'intervento. Nei due noduli testicolari visibili nella fotografia vi sono soltanto spermatogoni ($\times 800$).
- Fig. 3. - Esemplare decapitato che pure essendo stato trattato con simpamina ha riformato gli occhi, fissato 48 giorni dopo l'operazione. L'ovario è normalmente sviluppato ($\times 400$).
- Fig. 4. - Stesso esemplare della fig. 3. I testicoli sono normalmente sviluppati ($\times 400$).
- Fig. 5. - Esemplare decapitato trattato con simpamina, e rioperato 12 giorni dopo il primo intervento. Fissato 35 giorni dopo il secondo taglio. È visibile un ovario normale anche se non ancora completamente sviluppato ($\times 400$).
- Fig. 6. - Stesso esemplare della fig. 5; noduli testicolari completamente sviluppati ($\times 400$).

(21) F. S. LIOTTI, *Sulla possibilità di inibire con l'uso dell'amfetamina lo sviluppo di forme a duplice testa indotte dalla n-desacetil-n-metilcolchicina in Dugesia lugubris*, « Boll. Soc. It. Biol. Sperim. », vol. XXXIX, (10), pp. 579-582 (1963).