
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

VINCENZO G. LEONE, LUCIANA RINALDI

Effetti della talidomide sull'ossificazione endomidollare del piccione (*Columba livia* Gm.) adulto

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.4, p. 578–581.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_4_578_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. — *Effetti della talidomide sull'ossificazione endomidollare del piccione* (*Columba livia* Gm.) adulto. Nota (*) di VINCENZO G. LEONE e LUCIANA RINALDI, presentata (**) dal Corrisp. S. RANZI.

Allo scopo di estendere lo studio dell'azione teratogena della talidomide, sulla quale uno di noi (Leone, 1963) ha già portato un contributo sperimentale con ricerche sull'embrione di pollo, e in vista del fatto che sia nelle citate esperienze che in quelle di altri Autori che si sono occupati dello stesso argomento, le lesioni riscontrate in seguito a trattamento con talidomide interessavano organi e sistemi vari, di origine embriologica e a determinazione differente, abbiamo voluto trasferire il campo dell'analisi dell'azione di tale farmaco dallo sviluppo embrionale ad un processo di differenziamento tissutale che avesse luogo nell'adulto. In siffatta categoria rientra la ossificazione che ha sede nella cavità midollare delle diafisi delle ossa degli uccelli in coincidenza con la fase follicolinica del ciclo ovarico. Tale ossificazione, che è ciclica, avrebbe il significato di realizzare un ampio deposito di calcio da mobilitare al momento della formazione del guscio calcareo dell'uovo; essa pertanto si riscontra, normalmente, soltanto nelle femmine. Il fenomeno, descritto sin dal 1934 da Kyes e Potter, è stato confermato da Bloom, Bloom e McLean (1941) e dalle numerose ricerche di Clavert e coll. (1941-1950) nel piccione, da Benoit, Grangaud e Sarfati (1941) nell'anatra, da Bloom e Domm (1941) e da Landauer e Zondek (1944) nel pollo e da Kirschbaum, Pfeiffer, Van Henwerswyn e Gardner (1939) nel passero. Ci è sembrato che l'ossificazione endomidollare follicolinica del piccione rappresentasse un test ideale per il nostro scopo ed abbiamo intrapreso gli esperimenti seguenti.

14 femmine adulte di *Columba livia* Gm., in riposo ovulare essendo state separate dai maschi da 11 giorni, e tre maschi della stessa specie, vennero ripartiti nei seguenti quattro lotti di trattamento:

I lotto — (3 ♀ e 1 ♂): nessun trattamento per servire da controlli;

II lotto — (4 ♀): ciascun animale, all'inizio del trattamento riceve per iniezione intramuscolare 50 mg di talidomide (1) in soluzione (pH 7,2 — preparata secondo Frank e coll., 1963) e poi sei dosi da 25 mg della sostanza cristallina, per via orale (in capsule di gelatina, una dose ogni tre giorni per venti giorni); in totale 225 mg di farmaco;

III lotto — (3 ♀ e 1 ♂): ciascun animale ricevette per iniezione intramuscolare 0,25 mg di propionato di estradiolo in soluzione oleosa (Ovociclina Ciba), per venti giorni consecutivi; in totale 5 mg di ormone follicolare;

(*) Ricerca eseguita presso l'Istituto di Zoologia dell'Università di Parma e presso il Laboratorio di Embriologia e Morfologia sperimentale dell'Università di Milano; Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

(**) Nella seduta del 13 marzo 1965.

(1) Ringraziamo sentitamente la Soc. Mugolio — Milano, che ci ha fornito generosamente il prolotto impiegato nel corso di questa ricerca.

IV lotto - (4 ♀ e 1 ♂): ciascun animale ricevette contemporaneamente il trattamento del lotto II e quello del III, cioè in 20 giorni 225 mg di talidomide e 5 mg di ormone follicolare (Ovociclina).

Tutti gli animali sopportarono bene i trattamenti cui erano stati sottoposti; solo in un piccione del IV lotto, all'esame radiografico venne riscontrata una frattura recente alla diafisi del femore sinistro; tutti gli animali verso il 15° giorno di trattamento furono infatti sottoposti a un esame roentgenografico degli arti inferiori.

Dopo 20 giorni dall'inizio degli esperimenti gli animali vennero uccisi per decapitazione; il femore e la tibia di ciascuna zampa e alcuni visceri, quali l'ovaio, rispettivamente i testicoli, il fegato e la tiroide vennero fissati in liquido di Bouin, o in formalina al 10% o in liquido di Susa. Le ossa vennero decalcificate col metodo di Bianchi o in liquido di Jenkin. I preparati istologici vennero colorati con ematossilina-eosina o con la colorazione di Mallory-Azan.

RISULTATI.

L'esame radiografico ha mostrato che femore e tibia dei piccioni trattati con talidomide (II lotto) non presentano alcuna differenza rispetto ai controlli (I lotto), il canale midollare in entrambi i casi appare come vuoto, essendo occupato dal midollo osseo che non è opaco ai raggi X (figg. 1-2, Tav. I). Nelle stesse ossa dei piccioni trattati con ovociclina (III lotto) si intravede una densa trabecolatura diafisaria che appare come un oscuramento del fondo all'interno del canale midollare - nei positivi fotografici (figg. 3-4, Tav. I). Nelle radiografie delle zampe degli animali del IV lotto, cioè di quelli trattati con ovociclina e talidomide insieme, l'opacizzazione trabecolare appare rarefatta, a zone, e si nota un aspetto mazzato, cioè aree più scure frammezzate ad aree chiare, nell'interno del canale diafisario (figg. 5-8, Tav. I).

I risultati dell'esame dei preparati istologici concordano con quelli radiografici ora descritti: negli animali di controllo e in quelli trattati con talidomide (I e II lotto) il canale midollare è occupato da midollo osseo normale, in massima parte adiposo, con elementi della serie ematica sparsi o raggruppati alla periferia del midollo. La superficie endosteale è liscia ed uniforme (figg. 9-10, Tav. II).

Nei preparati degli animali trattati con ovociclina (III lotto), la cavità midollare, a diversi livelli dell'osso appare occupata quasi interamente da trabecole ossee piuttosto spesse che si anastomizzano. Tali trabecole, edificate a spese della parete endosteale, si allungano radialmente verso il centro, invadendo la cavità midollare. In taluni casi essi la occupano completamente, in altri lasciano libera la zona centrale; sostituiscono sempre il midollo osseo che nelle sezioni appare suddiviso in isolotti circondati dall'osso neoformato (fig. 11, Tav. II).

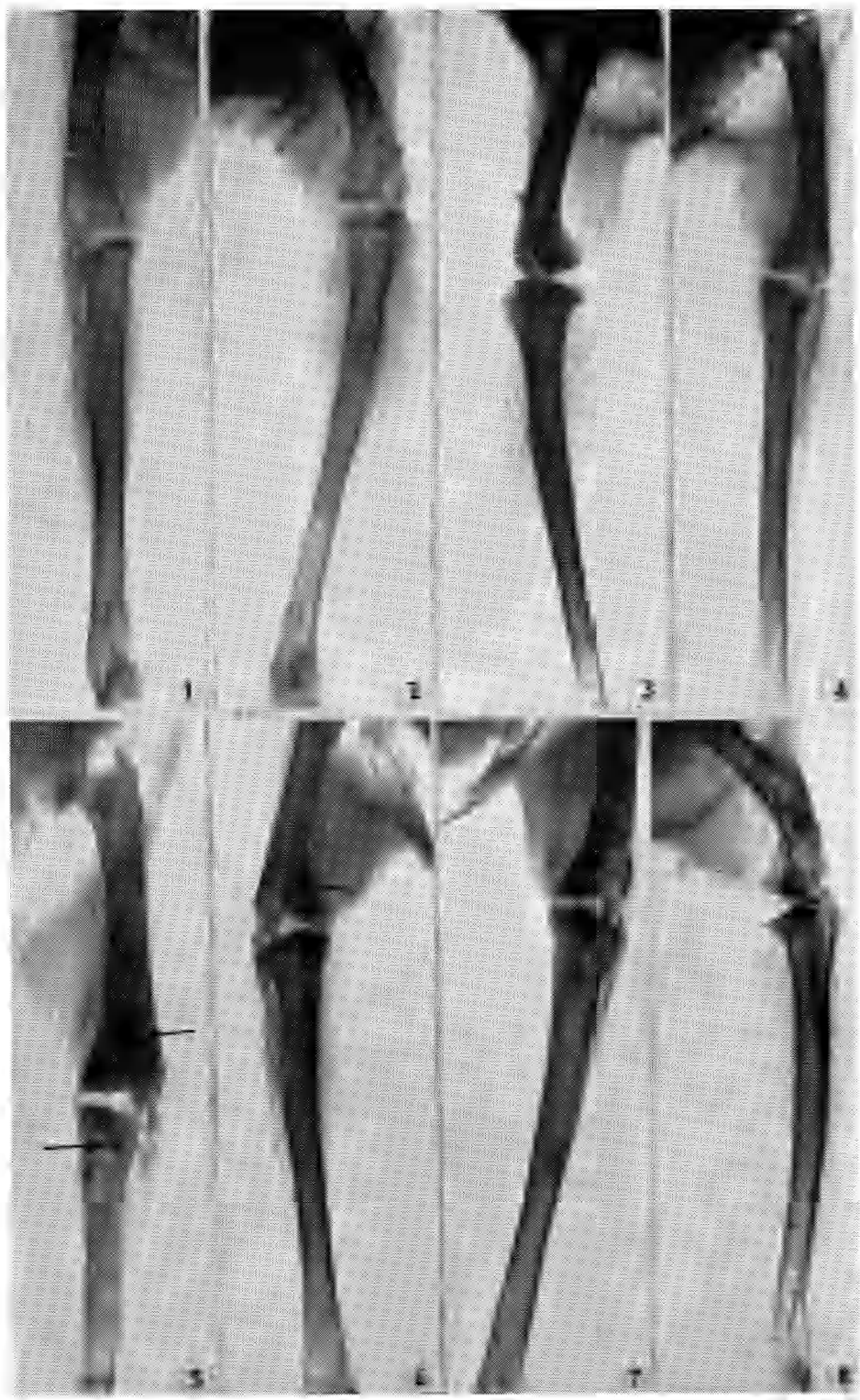
Nelle sezioni di ossa degli animali trattati contemporaneamente con l'ormone follicolare e con la talidomide il processo di osteogenesi endosteale è molto ridotto rispetto a quello osservato negli animali del III lotto: si notano scarse trabecole di osso neoformato, sottili, spezzettate o come peduncolate, cioè unite per un tenue tramite alla superficie endosteale della diafisi dell'osso ovvero come brevi spine ossee sporgenti verso la cavità midollare.

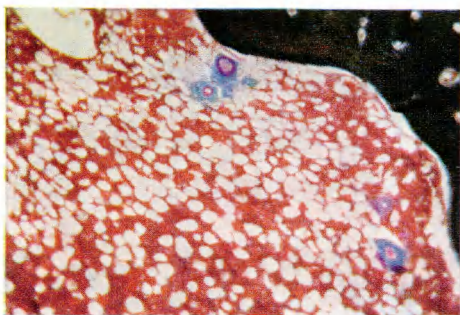
L'osservazione della fig. 12 (Tav. II) e in particolare il confronto con la vicina fig. 11 mostrano eloquentemente la differenza dei risultati nei due lotti di trattamento.

In altra sede verranno riferiti i reperti dei preparati dei visceri di cui sopra, e maggiori dettagli sul processo di ossificazione endomidollare osservati nella nostra casistica, dettagli che peraltro non si discostano nelle linee essenziali da quelli forniti dagli Autori che ci hanno preceduto nella descrizione di questo processo di ossificazione. Lasciando inoltre da parte ogni discussione sul meccanismo di azione della talidomide, vogliamo qui sottolineare soltanto che nei nostri esperimenti la somministrazione di tale sostanza in associazione con il trattamento con l'ormone estrogeno ha fortemente inibito, pur senza annullarla del tutto, la formazione di osso midollare stimolata dall'estrogeno. La talidomide cioè anche nel piccione adulto ha interferito con un processo istogenetico, l'osteogenesi follicolinica, al pari di quanto è capace di fare, su vari processi istogenetici nel corso dello sviluppo embrionale, sia degli uccelli che dei mammiferi, come è registrato nella ormai vasta letteratura sia clinica che sperimentale accumulatasi da quando nel 1959 Weidenbach riportò il primo caso di focomelia umana imputabile all'uso della talidomide.

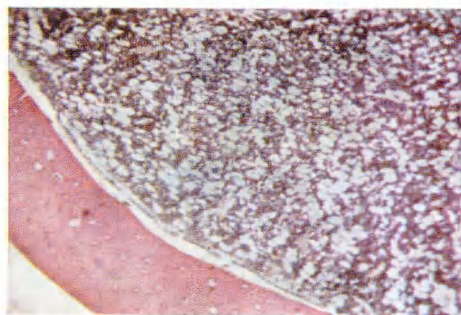
BIBLIOGRAFIA.

- BENOIT J., GRANGAUD R e SARFATI S., *Modifications osseuses entraînées chez la Cane domestique par l'activation ovarienne, elle-même déclanchée par l'eclaircissement artificiel*, « Bull. Biol. appl. », 18, 173-184 (1941).
- BLOOM W., BLOOM M. e MCLEAN F., *Calcification and ossification. Medullary bone changes in the reproductive cycle of female Pigeon*, « Anat. Rec. », 81, 443-475 (1941).
- BLOOM W e DOMM L. V., *Cyclic changes in the medullary bone of laying hens*, « Anat. Rec. », 81, 91 (1941).
- CLAVERT J., *Action ostéogénétique de la folliculine chez le Pigeon*, « C.R. Soc. Biol. », 136, 512 (1941).
- CLAVERT J., *Contribution a l'étude de la formation des oeufs télolécithiques des Oiseaux. Mécanismes de l'édification de la coquille*, « Bull. Biol. Fr. et Belg. », 82, 289-330 (1948).
- FRANK O., BAKER H., ZIFFER H., AARONSON S., HUNTER S. H. e LEEVY C. M., *Metabolic deficiencies in Protozoa induced by thalidomide*, « Science », 139, 110-111, (1963).
- KIRSCHBAUM A., PFEIFFER C. A., VAN HENVERSWYN J. e GARDNER W. U., *Studies on gonad hypophyseal relationship and cyclic osseus changes in the English sparrow (Passer domesticus L.)*, « Anat. Rec. », V, 75, 249-263 (1939).
- KYES P. e POTTER, *Physiological marrow ossification in female Pigeon*, « Anat. Rec. », 60, 377-391 (1934).
- LANDAUER W. P. e ZONDEK B., *Observations on the structure of bone in oestrogen treated cogs and drakes*, « Am. J. Path. », 20, 179-209 (1944).
- LEONE V. G., *Contributo allo studio degli effetti della talidomide sullo sviluppo embrionale del pollo*, « Ist. Lomb. Sci. Lett. (Rend. Sci.) », B, 97, 366-372 (1963).
- WEIDENBACH A., *Totale Phokomelie*, « Zentrbl. f. Gynäk. », 81, 2048-2052 (1959).

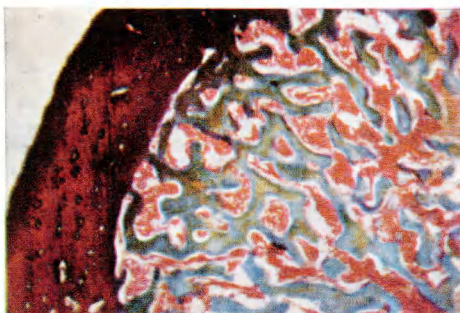




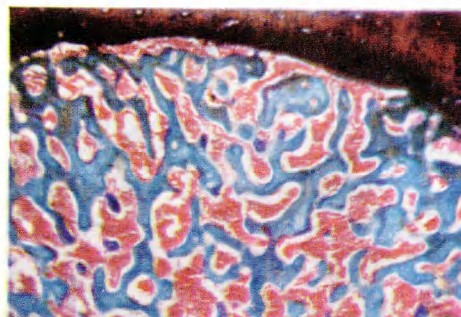
9



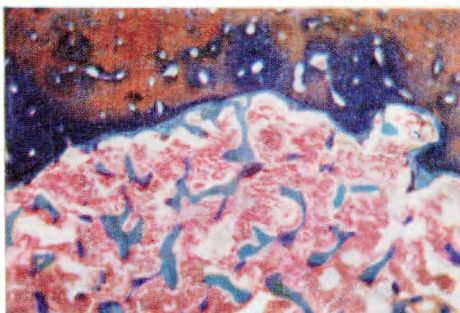
10



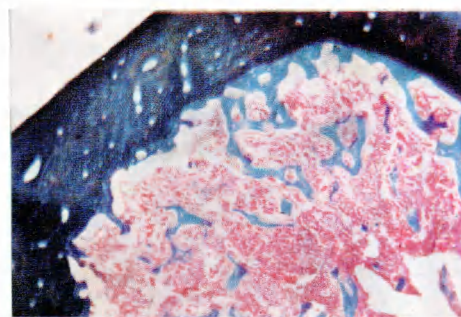
11



12



13



14

SUMMARY. — The Authors have tested the effects of a treatment with thalidomide on adult female pigeons (*Columba livia* Gm.) in which, in the same time, a follicular hormone (Ovociclina, Ciba) was injected in order to promote the osteogenesis in the marrow of the bone cavities, typical for the female birds and accompanying the egg shell formation. The histological preparations of the bones of the pigeons treated with both the « ovociclina » and the thalidomide reveal a marked inhibition of the endomedullary osteogenesis when compared with those of the pigeons receiving only follicular hormone.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I E II

TAVOLA I.

- Figg. 1 e 2. — Radiografie di femore e tibia di piccioni non trattati; mostrano l'aspetto normale delle ossa.
- Figg. 3 e 4. — Radiografie di femore e tibia di piccioni trattati con *ovociclina*; si noti l'opacamento uniforme nell'interno del canale midollare a causa dell'ossificazione endomidollare.
- Figg. 5, 6, 7, 8. — Radiografie di femore e tibia di piccioni trattati con *ovociclina* e *talidomide*. Nelle figg. 5, 6 e 7 è evidente l'aspetto non uniforme (chiazze scure e chiare, indicate dalle frecce) dell'ossificazione endomidollare, inibita in parte dalla talidomide. La fig. 8 è la radiografia dell'arto sinistro del piccione maschio in cui si è verificata la frattura del femore. Sia le diafisi che le epifisi nelle due ossa appaiono assottigliate, più trasparenti.

TAVOLA II.

- Fig. 9. — Sezione di tibia di piccione non trattato (Lotto I); si notano le caratteristiche cellule adipose del midollo giallo. Colorazione Mallory-Azan.
- Fig. 10. — Sezione di tibia di piccione trattato con *talidomide* (Lotto II). L'aspetto del midollo è simile a quello del controllo, nessuna ossificazione endomidollare. Colorazione Ematosilina-eosina.
- Figg. 11 e 12. — Sezioni di tibie di piccioni trattati con *ovociclina* (Lotto III). Intensa ossificazione endomidollare. Colorazione Mallory-Azan.
- Figg. 13 e 14. — Sezioni di tibie di piccioni trattati con *ovociclina* e *talidomide* (Lotto IV). Le trabecole dell'ossificazione endomidollare sono scarse, sottili e brevi. Colorazione Mallory-Azan.