

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

GIOVANNI CHIEFFI, VIRGILIO BOTTE

## Il differenziamento istochimico dell'interrenale e dei tessuti somatici della gonade embrionale di *Lacerta sicula*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 39 (1965), n.6, p. 589–592.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1965\\_8\\_39\\_6\\_589\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_39_6_589_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/>



**Embriologia.** — *Il differenziamento istochimico dell'interrenale e dei tessuti somatici della gonade embrionale di Lacerta sicula* (\*). Nota di GIOVANNI CHIEFFI e VIRGILIO BOTTE, presentata (\*\*) dal Socio G. MONTALENTI.

È stato dimostrato in quasi tutti i vertebrati sinora esaminati che la capacità di sintetizzare gli ormoni steroidi compare precocemente nelle cellule corticosurrenali, mentre nelle gonadi essa inizia solo dopo lo stadio del differenziamento sessuale (cfr. Chieffi, 1965). Fa eccezione l'anfibio urodelo *Pleurodeles waltlii*, in cui la 3  $\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi compare nel tessuto midollare delle pieghe genitali ad uno stadio larvale precedente il differenziamento sessuale (Collenot, 1964).

La classe dei Rettili è l'unica in cui mancano ricerche in proposito. Abbiamo pertanto esaminato gli embrioni di *Lacerta sicula* in vario stadio di sviluppo, le cui uova sono state raccolte nei mesi di maggio-giugno nei dintorni di Napoli.

Per la seriazione degli stadi ci siamo riferiti alla lunghezza totale degli embrioni. Facciamo però presente che esiste una discreta variabilità di differenziamento tra gli embrioni della stessa lunghezza.

Sulle sezioni ottenute al congelatore o al criostato sono stati ricercati i lipidi (colorazione con il Sudan nero B), il colesterolo (reazione di Schultz) e la 3  $\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi (3  $\beta$ -HSDH), usando come substrato il deidroepiandrosterone (reazione di Watterberg, secondo la modifica di Levy et al., 1959). La presenza di queste sostanze, ma specialmente del colesterolo e della 3  $\beta$ -HSDH, rappresenta una buona indicazione di attiva biosintesi degli ormoni steroidi. Per l'esame istologico abbiamo utilizzato gli embrioni fissati in Bouin.

La ricerca è stata iniziata su embrioni di 10-11 mm di lunghezza totale. A tale stadio l'interrenale è costituito da due gruppi di cellule disposte ai lati delle vene sottocardinali. Queste cellule appaiono in rapporto di continuità con le cellule della parte midollare delle pieghe genitali, tuttora indifferenziate, cioè costituite di un tessuto corticale, contenente le cellule germinali, e di un tessuto midollare (Tav. I, fig. 1).

A questo stadio nelle cellule interrenali sono già presenti numerose goccioline lipidiche Schultz-positive, mentre è assente la 3  $\beta$ -HSDH. Nelle pieghe genitali la sudanofilia è intensa in corrispondenza dell'ilo, dove la medulla si continua con l'interrenale; rari granuli sudanofili sono presenti anche nelle

(\*) Ricerche eseguite presso l'Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata dell'Università di Camerino con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(\*\*) Nella seduta dell'11 dicembre 1965.

altre cellule midollari e in quelle corticali. Interessante è il facile riconoscimento delle cellule germinali, anche in sede extra-gonadica, per la forte sudanofilia del loro citoplasma, corrispondente ai numerosi vacuoli che si osservano nei preparati istologici (Tav. I, fig. 2).

Allo stadio successivo di 12-13 mm la topografia e la struttura dell'interrenale e delle pieghe genitali resta invariata. Alla presenza di numerose goccioline sudanofile e Schultz-positive nelle cellule interrenali si associa una debole attività 3  $\beta$ -HSDH asica, caratterizzata dalla precipitazione di rari e fini granuli di formazoni. Nelle pieghe genitali sono presenti rare goccioline sudanofile in qualche cellula midollare (Tav. I, figg. 3 e 4).

Allo stadio di 14-15 mm inizia il differenziamento sessuale delle gonadi, le cui modalità sono state già descritte da Marin e Sabbadin (1959). Esso è caratterizzato nelle femmine genetiche da un notevole ispessimento bilaterale della regione corticale, dovuto ad una intensa moltiplicazione di gonociti. Il tessuto midollare persiste abbondante. Il differenziamento in senso testicolare si manifesta con la migrazione dei gonociti nella medulla sotto forma di cordoni midollari.

L'interrenale intanto si è spostato dorsalmente, interrompendosi così i rapporti di continuità tra esso e la medulla della gonade. Nelle cellule interrenali la sudanofilia e la reazione di Schultz appaiono più intense rispetto allo stadio precedente, mentre nelle pieghe genitali sono sempre molto deboli. La 3  $\beta$ -HSDH è presente solo nelle cellule interrenali.

Solo allo stadio successivo di 16-17 mm l'enzima compare per la prima volta nelle pieghe genitali. Nell'ovario si nota una intensa sudanofilia esclusivamente nel tessuto midollare; la reazione per il colesterolo e per la 3  $\beta$ -HSDH risultano anche esse positive solo nella medulla (Tav. II, figg. 5 e 6).

Nel testicolo la sudanofilia ed il colesterolo sono presenti insieme ad una intensa attività 3  $\beta$ -HSDH asica nelle cellule somatiche dei tubuli seminiferi (cellule del Sertoli ?) dallo stadio di 16-17 mm (Tav. II, figg. 7 e 8). La distribuzione di queste sostanze si conserva tale sin dopo la schiusa.

Nell'adulto, invece, i lipidi, il colesterolo e l'attività 3  $\beta$ -HSDH asica sono presenti nel tessuto interstiziale; d'altra parte non abbiamo dati per stabilire lo stadio in cui avviene la loro distribuzione. Nell'ovario di femmine adulte, in cui non si osservano tracce di tessuto midollare, l'enzima è localizzato, secondo le osservazioni di Botte e Delrio (1965), nelle cellule della granulosa e della teca interna del follicolo ovarico e del corpo luteo.

Da quanto esposto risulta che anche nei Rettili, come nella maggioranza dei vertebrati, i primi segni di steroidogenesi appaiono nella gonade dopo l'inizio del differenziamento sessuale. Viene così ulteriormente avvalorata l'ipotesi della differenza di struttura tra « induttori embrionali del sesso » e ormoni steroidi.

Sia nell'ovario che nel testicolo embrionali di *Lacerta sicula*, i lipidi, il colesterolo e la 3  $\beta$ -HSDH sono presenti solo nella medulla, mentre il cortex ne è assolutamente privo. Interessante è l'identità della distribuzione della 3  $\beta$ -HSDH tra il testicolo di embrioni di pollo e quello di embrioni di *Lacerta*.

In entrambi i casi la  $3\beta$ -HSDH è presente solo nelle cellule somatiche dei tubuli seminiferi, a differenza di quanto osservato nel ratto (Niemi e Ikonen, 1961; Chieffi et al., 1964) e nel topo (Itzeman, 1962) in cui l'enzima è localizzato nelle cellule interstiziali sin dalla sua comparsa. La  $3\beta$ -HSDH però nell'adulto si trova localizzata nelle cellule interstiziali, mentre scompare istochimicamente dalle cellule del Sertoli.

La identità del comportamento della  $3\beta$ -HSDH negli Uccelli e nei Rettili è ulteriormente avvalorata dagli effetti conseguenti al trattamento con estrogeni di maschi adulti. Nel pollo Botte e Rosati (1964) hanno ottenuto l'atrofia del tessuto interstiziale in seguito a iniezioni di stilbestrolo e allo stesso tempo la scomparsa in questo della  $3\beta$ -HSDH; l'enzima però compare nei tubuli seminiferi atrofici. Lo stesso fenomeno è stato da noi osservato nel testicolo di *Lacerta sicula* dopo trattamento con estradiolo (Botte et al., in preparazione).

La somiglianza della distribuzione della  $3\beta$ -HSDH nel testicolo embrionale e in quello atrofico dell'animale trattato con estrogeni è molto suggestiva, ma non abbiamo dati sufficienti per interpretare il fenomeno.

Per quanto riguarda l'interrenale, è da rilevare che anche nei Rettili esso si differenzia molto precocemente come negli altri vertebrati (cfr. Chieffi, 1965).

#### BIBLIOGRAFIA.

- BOTTE V. e DELRIO G., in corso di stampa su: « Boll. Zool. » (1965).  
 BOTTE V. e ROSATI P., « Acta Med. Vet. », 10, 3 (1964).  
 CHIEFFI G., *Onset of steroidogenesis in the vertebrate embryonic gonads*. In *Organogenesis*, R. L. DE HAAN e H. URSPRUNG, ed.; Holt, Rinehart and Winston, New York (1965).  
 CHIEFFI G., MATERAZZI G. e BOTTE V., « Atti Soc. Peloritana, Sci. fis. mat. nat. », 10, 515 (1964).  
 COLLENOT A., « Comptes rendus », 259, 2535-2537 (1964).  
 HITZEMAN J. W., « Anat. Rec. », 143, 351 (1962).  
 LEVY H., DEANE H. W. e RUBIN B. L., « Endocrinology », 65, 932 (1959).  
 MARIN G. e SABBADIN A., « Atti Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sci. mat. e nat. », 26, 59 (1959).  
 NIEMI M. e IKONEN M., « Nature », 189, 592 (1961).

SUMMARY. — The authors have studied through histochemical methods the onset of lipids, cholesterol and  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $3\beta$ -HSDH) in the interrenal and the genital ridges of *Lacerta sicula* embryos.

Lipids and cholesterol are already recognizable in the interrenal cells at the stage of 10-11 mm of total length, whilst  $3\beta$ -HSDH appears at the stage of 12-13 mm.

In the genital ridges rare sudanophilic droplets are already present at the stage of 10-11 mm in the cortical and medullary cells. The Schultz test and the reaction for  $3\beta$ -HSDH are positive in the medullary cells of the ovary and the somatic cells of the seminiferous tubules of the testis (Sertoli's cells?) from the of 16-17 mm, after the onset of sex differentiation. In the adult testis the enzyme as well as lipids and cholesterol are located only in the interstitial cells.

The onset of steroid biosynthesis in the gonads after the stage of sex differentiation further confirms the hypothesis that the « embryonic sex inductors » are different from sex hormones of the adults.

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

## TAVOLA I.

Tutte le fotografie si riferiscono a sezioni trasversali di embrioni di *Lacerta sicula*. *a*, aorta; *c*, cortex; *cg*, cellule germinali; *g*, pieghe genitali; *i*, interrenale; *m*, mesentere; *me*, medulla; *ms*, midollo spinale; *n*, notocorda; *t*, testicolo; *tm*, tubuli mesonefrici; *s*, surrene.

- Fig. 1. - Sezione di un embrione di 10 mm di lunghezza totale, a livello delle pieghe genitali. Colorazione Mallory, 157×.
- Fig. 2. - Sezione al congelatore di un embrione di 11 mm: intensa sudanofilia nelle cellule interrenali e della medulla della gonade; notare la intensa sudanofilia dei tubuli mesonefrici e delle cellule germinali, alcune delle quali sono ancora in sede extragonadica (mesentere). Colorazione Sudan nero B. 640×.
- Fig. 3. - Sezione al congelatore di un embrione di 13 mm: intensa sudanofilia delle cellule interrenali e dei tubuli mesonefrici; nelle pieghe genitali la sudanofilia è presente solo nelle cellule germinali. Colorazione Sudan nero B. 400×.
- Fig. 4. - Sezione al criostato di un embrione di 13 mm: reazione positiva per la 3β-HSDH (precipitazione di fini granuli di diformazioni) nelle cellule interrenali; in seguito al rapido congelamento ed al successivo taglio al criostato, i vari organi dell'embrione hanno subito una lieve dislocazione. Colorazione di contrasto con carmallume. 157×.

## TAVOLA II.

- Fig. 5. - Sezione al congelatore dell'ovario di un embrione di 34 mm: numerose goccioline sudanofile nel tessuto midollare, mentre il cortex ne è privo. Colorazione Sudan nero B. 625×.
- Fig. 6. - Sezione al criostato di un embrione ♀♀ di 21 mm: reazione per la 3β-HSDH positiva nel tessuto midollare dell'ovario e negativa nel cortex; lateralmente alle gonadi, intensa positività aspecifica della reazione nei tubuli mesonefrici. Colorazione di contrasto con carmallume. 160×.
- Fig. 7. - Sezione al congelatore di testicolo di un embrione di 34 mm: numerose goccioline sudanofile nelle cellule somatiche dei tubuli seminiferi; nel tessuto interstiziale non si osserva sudanofilia. Colorazione Sudan nero B. 625×.
- Fig. 8. - Sezione al criostato di un embrione ♂♂ di 40 mm: reazione per la 3β-HSDH positiva nelle cellule somatiche dei tubuli seminiferi e negativa nel tessuto interstiziale. Colorazione di contrasto con carmallume. 160×.



