
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MILENA MARINI

**Effetti della disidratazione, del buio e dell'ormone
tiroideo sull'organo sottocommissurale di Anfi
adulti**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.6, p. 626–630.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_6_626_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 disidratazione, del buio e dell'ormone tiroideo sull'organo sottocommissurale di Anfibi adulti* (*). Nota di MILENA MARINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — A study of the effects of dehydration, darkness and thyroid hormone on the subcommissural organ of Urodelan (*Triturus cristatus* Laur.) and Anuran Amphibians (*Rana esculenta* L., *Hyla arborea* L.) gave the following results: 1) in the Urodelan the subcommissural cells do not react in any of the experimental treatments, 2) in the Anurans these cells react showing modifications of the basal secretion. Thus it is inferred that morphological differences in the subcommissural organ between Anurans and Urodelans are related to different functional behaviours.

Dalle osservazioni morfologiche ed embriologiche condotte sull'organo sottocommissurale degli Anfibi è risultato che nelle cellule sottocommissurali degli Urodeli vi è solo secrezione sopranucleare verso il III ventricolo, mentre in quelle degli Anuri vi è anche una secrezione sottonucleare diretta ai vasi [1]. Nel tentativo di verificare se le differenze morfologiche fossero espressione di una differente attività funzionale, ho iniziato una ricerca intesa a saggiare comparativamente l'effetto di alcuni fattori ambientali ed umorali sull'organo sottocommissurale di Anfibi anuri e urodeli adulti.

Ricordo che il significato fisiologico dell'organo sottocommissurale è discusso; le ipotesi avanzate si basano essenzialmente sui risultati di esperienze condotte in Mammiferi. A parte alcuni dati relativi agli effetti delle variazioni di luce [2, 3] e alle possibili relazioni tra organo sottocommissurale e sistema endocrino [4], la maggior parte delle ricerche indicano che quest'organo è implicato nel metabolismo idrico ed elettrolitico [5-10], sebbene non sia chiaro il ruolo che esso svolge.

Relazioni tra organo sottocommissurale e bilancio idrico sono state verificate anche negli Anfibi. Oksche [11] osserva infatti che il carico osmotico (provocato da soggiorno dell'animale in ambiente secco o in soluzione di NaCl all'1 %) determina accumulo di secreto nelle cellule sottocommissurali di *Rana temporaria*. Scheer, Matsumoto e Shane [12], facendo soggiornare degli esemplari di *Rana pipiens* in soluzione di NaCl 150 mM, precisano che il secreto sottocommissurale si rarefa all'inizio dell'esperienza (dopo 2-4 ore), quindi aumenta fino alla 6^a-8^a ora di trattamento per rarefarsi nuovamente nei tre giorni successivi. Ridley [13], invece, nelle stesse condizioni non osserva alcun effetto sull'organo sottocommissurale di *Rana catesbeiana*. Altner [14] riscontra che il carico osmotico (iniezioni o soggiorno in soluzione di NaCl all'1 %) non provoca alcuna reazione da parte dell'organo sottocommissurale

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata dell'Università di Modena.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

di *Bombina*, mentre determina accumulo di secreto nelle cellule sottocommessurali di *Hydromantes*. Ferreri, Peyrot, Mazzi e Socino [15], infine, segnalano che in *Triturus* l'asportazione dell'epifisi e dell'organo sottocommessurale non influenza il metabolismo del sodio e del potassio.

Un altro gruppo di ricerche riguarda le relazioni tra organo sottocommessurale e pigmentazione. Già Legait [16], in base all'esame dell'organo sottocommessurale di *Rana* durante il ciclo annuale ed in alcune condizioni sperimentali, aveva segnalato che la colloide sottocommessurale si rarefa durante la contrazione dei melanofori, mentre si accumula durante la loro espansione. Oksche [11], impiegando metodi di colorazione selettivi, ha verificato che nell'organo sottocommessurale di *Rana* e *Hyla* il secreto aumenta direttamente con il grado di espansione dei melanofori (provocato da soggiorno dell'animale al buio, oppure alla luce su fondo nero); l'A. precisa però che la risposta dell'organo sottocommessurale è marcata solo nei mesi autunnali. Un aumento del secreto sottocommessurale è stato segnalato da Altner [14] anche in Anfibi urodeli dopo soggiorno al buio o dopo estirpazione degli occhi. Infine Karmanova e Shapiro [2] riscontrano, in seguito a catalessi fotogena, un aumento di attività nell'organo sottocommessurale di *Rana*.

Esperimenti analoghi, ma condotti durante il periodo larvale, hanno dato risultati contraddittori. Oksche [11] osserva che, dopo l'estirpazione degli occhi, le larve di *Xenopus* presentano massima espansione dei melanofori e rarefazione del secreto sottocommessurale. Guardabassi, Lattes e Notaro [17], ripetendo l'esperienza sullo stesso materiale, riscontrano che l'espansione dei melanofori è solo temporanea e il secreto sottocommessurale è più abbondante rispetto ai controlli. Eakin, Quay e Westfall [18] infine, non rilevano variazioni quantitative del materiale PAS-positivo nell'organo sottocommessurale di larve di *Hyla* poste in diverse condizioni di illuminazione.

Gli esperimenti di cui riferisco nella presente Nota riguardano gli effetti dell'oscurità, della disidratazione e di un ormone tiroideo sull'organo sottocommessurale di *Triturus cristatus* Laur., *Rana esculenta* L. e *Hyla arborea* L. adulti; questi Anfibi sono stati scelti, oltre che per la diversa morfologia dell'organo sottocommessurale, anche per la differente ecologia.

a) Le esperienze relative all'effetto delle variazioni di luce sono state condotte facendo soggiornare gli animali (6 esemplari di *Triturus*, 14 di *Rana* e 3 di *Hyla*) al buio completo per 6-20 giorni. Durante l'esperienza i lotti al buio e quelli di controllo sono stati tenuti alle medesime condizioni di allevamento. Il soggiorno al buio determina sia negli Anuri che nell'Urodelo un progressivo iscurimento del tegumento; in *Triturus* e *Hyla* l'iscurimento è più rapido (raggiunge il massimo tra il 6° e il 10° giorno) che in *Rana* (inizia al 6° giorno e raggiunge il massimo dopo 16-18 giorni).

b) Gli esperimenti di disidratazione sono stati effettuati facendo soggiornare gli animali (22 esemplari di *Triturus*, 10 di *Rana* e 10 di *Hyla*) in vasi singoli foderati di carta bibula asciutta e chiusi superiormente con garza; gli animali sono stati tenuti per tutta la durata dell'esperienza (4-5 giorni gli Anuri, fino a 20 giorni l'Urodelo) in una stanza ad umidità costante (50-60%) ed a digiuno, come i controlli rimasti in acqua su fondo di carta bibula. Gli animali tenuti all'asciutto sono stati sacrificati quando presentavano segni di sofferenza ed una perdita media di peso del 43% nell'Urodelo e del 18% negli Anuri. Onde controllare l'efficacia del trattamento ho eseguito l'esame istologico della neuroipofisi ed ho verificato iperemia e rarefazione di neurosecreto (Figg. 2 a, 5 a).

c) Il trattamento con ormone è stato sperimentato su 6 esemplari di *Triturus* e 18 di *Rana*, mediante iniezioni di « Thyroxin » (Roche). All'Urodelo sono stati iniettati sottocute 0,2 cc di ormone a giorni alterni (5 iniezioni in tutto); all'Anuro sono stati iniettati, sempre a giorni alterni, 0,4 cc di ormone nei sacchi linfatici dorsali (6-7 iniezioni in totale). Durante l'esperienza gli animali sono stati tenuti in acqua alla stessa temperatura (18° C) e con lo stesso regime alimentare dei lotti di controllo. Il trattamento con l'ormone tiroideo ha determinato nei due Anfibi una diversa reazione. L'Urodelo già dopo la 3° iniezione presenta, oltre ad iscurimento del tegumento e fenomeni di muta, evidenti segni di sofferenza ed una elevata mortalità. L'Anuro invece, presenta solo una maggiore vivacità.

Gli animali in esperimento e i relativi controlli sono stati sacrificati contemporaneamente; i cervelli sono stati fissati in Bouin o Sanfelice, inclusi in celloidina-paraffina e sezionati trasversalmente in serie dello spessore di 5 μ . Tutti i preparati istologici sono stati colorati con il metodo dell'ematosilina cromica-floxina di Gomori-Bargmann.

I risultati più salienti emersi dall'esame istologico dell'organo sottocommessurale si possono così riassumere:

1) Nell'Anfibio urodelo le cellule sottocommessurali presentano una notevole variabilità individuale del quadro secretorio; questa negli animali trattati (figg. 2 e 3) è della stessa entità che nei controlli (fig. 1); pertanto ne deduco che oscurità, disidratazione, e ormone tiroideo, sono senza effetto sull'organo sottocommessurale degli Urodeli, nonostante gli animali abbiano reagito positivamente ai trattamenti. Questi risultati non mi permettono di confermare i dati di Altner [14].

2) Nei due Anuri, a differenza dell'Urodelo, le cellule sottocommessurali reagiscono ai vari trattamenti; tale reazione si manifesta con modificazioni di secreto nella regione sottonucleare. Il secreto della regione soprannucleare, invece, presenta la stessa variabilità dei controlli. Ciò premesso, ritengo opportuno riferire analiticamente i risultati ottenuti sugli Anuri.

a) *Soggiorno al buio.*

In *Hyla* il soggiorno al buio protratto per 10 giorni non determina modificazioni significative del quadro secretorio sottocommessurale (fig. 11), nonostante gli animali fossero diventati molto scuri. Il medesimo trattamento è risultato senza effetto anche sull'organo sottocommessurale di *Rana*. Solo in alcuni esemplari di *Rana* tenuti al buio per 20 giorni in periodo autunnale, le cellule sottocommessurali presentano un aumento di granuli secretori lungo il prolungamento sottonucleare, specie a livello della dilatazione terminale (fig. 6).

Questi risultati indicano che il soggiorno al buio, in certe condizioni, influenza la secrezione sottocommessurale; non ritengo però che essi siano sufficienti a dimostrare una diretta correlazione tra attività dell'organo sottocommessurale e dei melanofori, sia per la lentezza e la modesta entità della reazione, sia perché essa, a pari grado di iscurimento, ha un comportamento diverso nei due Anuri.

b) *Soggiorno all'asciutto.*

Nelle cellule sottocommessurali dei due Anuri si verifica una marcata diminuzione di secreto in prossimità del nucleo (scomparsa degli addensamenti perinucleari) e lungo il prolungamento sottonucleare (figg. 5 e 10).

In *Hyla* risulta con particolare evidenza che il secreto sottonucleare si rarefa a tutti i livelli, ma specialmente nelle dilatazioni terminali, comportando una evidente riduzione dei depositi contigui alla membrana limitante esterna; inoltre il secreto ancora presente in questa sede diventa pulverulento (fig. 10), mentre nei controlli ha l'aspetto di granuli molto scuri e marcati (figg. 8 e 9).

Ricordo in proposito che Oksche [11], in seguito ad esperimenti analoghi, ha riscontrato accumulo di secreto nelle cellule sottocommessurali di *Rana temporaria*. Poiché *Rana* e *Hyla* presentano una reazione simile, la differenza tra i miei reperti e quelli di Oksche non può essere imputata al materiale impiegato; essa può essere però spiegata con la successione di quadri di deplezione e di accumulo vista da Scheer, Matsumoto e Shane [12] nell'organo sottocommessurale di *Rana pipiens* trattata con soluzione di NaCl. Questi risultati, comunque, concorrono ad indicare che l'organo sottocommessurale degli Anfibi anuri reagisce alle variazioni osmotiche.

c) *Trattamento con Tiroxina.*

Le cellule sottocommessurali di *Rana* trattate in estate presentano, rispetto ai controlli (fig. 4), un aumento di granulazioni cromoematossinofile nel prolungamento sottonucleare (fig. 7); nelle cellule sottocommessurali di *Rana* trattate in autunno, il quantitativo del secreto è invece pari o inferiore rispetto a quello dei relativi controlli.

Il fatto che l'organo sottocommessurale di *Rana* reagisca alla somministrazione dell'ormone tiroideo e che la sua reazione sia diversa a seconda del periodo in cui viene effettuata l'esperienza, depongono per una relazione tra attività sottocommessurale e tiroidea. Esperimenti in corso sono intesi a precisare le cause della diversa reazione stagionale.

I risultati di questa ricerca dimostrano che negli Anfibi urodeli le cellule sottocommessurali non reagiscono a nessuno dei trattamenti sperimentati; negli Anuri, invece, esse presentano una reattività che si manifesta con modificazioni del quadro secretorio sottonucleare. Questo reperto sperimentale trova riscontro nelle differenze morfologiche già note [1] e conferma che l'organo sottocommessurale degli Anuri ha una funzione che è assente negli Urodeli. I dati morfologici e sperimentali concorrono ad indicare che tale funzione sia di tipo endocrino.

Ringrazio vivamente la dott. G. Galdi per la collaborazione tecnica.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] M. MARINI, « Riv. Neurobiol. », 12, 458-509 (1966).
- [2] I. G. KARMANOVA e B. I. SHAPIRO, « Arkh. Anat. Gistol. Embriol. », 6, 42-49 (1964).
- [3] R. MILINE, in *Structure and function of the epiphysis cerebri*. (Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1965); 612-625.
- [4] T. YAMADA, « Endocrinology », 69, 705-711 (1961).
- [5] G. J. GILBERT, « Anat. Rec. », 126, 253-265 (1956); « Amer. J. Physiol. », 191, 243-247 (1957); « Anat. Rec. », 132, 563-567 (1958); in « *Thirst* » (Pergamon Press, Oxford 1964): 457-471.

- [6] M. PALKOVITS, ved. in: *Structure and function of the epiphysis cerebri*. (Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1965): 627–634; *Morphology and function of the subcommissural organ*. (Akad. Kiadó Budapest 1965); «Z. Zellforsch.», 84, 59–71 (1968).
- [7] D. D. BROWN e A. K. AFIFI, «Anat. Rec.», 153, 255–264 (1965).
- [8] R. LENYS, *Contribution a l'étude de la structure et du rôle de l'organe sous-commissural*. (Thèse Med. Nancy 1965).
- [9] C. BUGNON e ALL., «Bull. Assoc. Anat.», 50^o Réun. (Lausanne): 219–234 (1965); «Ann. Sci. Univ. Besançon», III^o Sér.: 43–60 (1965); «Bull. Assoc. Anat.», 51^o Réun. (Marseille): 199–212 (1966).
- [10] B. VAN DER WAL, J. MOLL e D. DE WIED, *Structure and function of the epiphysis cerebri*. (Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1965), 635–643.
- [11] A. OKSCHE, «Z. Zellforsch.», 57, 240–326 (1962).
- [12] B. T. SCHEER, K. MATSUMOTO e G. SHANE, «Amer. Zool.», 2, 444 (1962).
- [13] A. RIDLEY, «Gen. Comp. Endocrinol.», 4, 486–491 (1964).
- [14] H. ALTNER, «Z. Zellforsch.», 84, 102–140 (1968).
- [15] E. FERRERI, A. PEYROT, V. MAZZI e M. SOCINO, «Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.», 40, 222–225 (1963).
- [16] E. LEGAIT, *Les organes épendymaires du Troisième Ventricule*. (Thèse Med. Nancy 1942).
- [17] A. GUARDABASSI, M. G. LATTES e A. NOTARO, «Arch. Ital. Anat. Embriol.», 69, 61–86 (1964).
- [18] R. M. EAKIN, W. B. QUAY e J. A. WESTFALL, «Z. Zellforsch.», 59, 663–683 (1963).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Organo sottocommissurale di *Triturus cristatus*: controllo (1), soggiorno all'asciutto (2) ed al buio (3); neuroipofisi del controllo (1 a) e dopo soggiorno all'asciutto (2 a).

Organo sottocommissurale di *Rana esculenta*: controllo (4), soggiorno all'asciutto (5), al buio (6) e trattamento con tiroxina (7); neuroipofisi (4 a e 5 a).

Organo sottocommissurale di *Hyla arborea*: variazioni di secreto nei controlli (8 massimo, 9 minimo), soggiorno all'asciutto (10) ed al buio (11).

(Ogni intervallo della scala in calce = 10 μ)

