
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ROLANDO BUDINI, MARIA LETIZIA VANNINI

**Influenza di alcune psicodroghe sulla rigenerazione di
planarie**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.6, p. 787-794.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_6_787_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. — *Influenza di alcune psicodroghe sulla rigenerazione di planarie* (*). Nota di ROLANDO BUDINI e MARIA LETIZIA VANNINI, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The activities of d-amphetamine sulphate, LSD-25, mescaline hydrochloride, indole, tryptophan and riboflavin have been tested on the regenerative powers of the planarian, *Dugesia lugubris*. Amphetamine completely inhibits regeneration in the posterior pieces and procrastinates regeneration in the anterior pieces of planarians. LSD procrastinates regeneration in both the pieces. Both the substances also manifest a toxic action. Mescaline, indole, tryptophan and riboflavin do not exert any detectable effect. A simultaneous administration of amphetamine and riboflavin attenuates or suppresses the activity of amphetamine; an alternate administration of amphetamine and riboflavin allows a discrimination between the inhibiting and the toxic action of amphetamine.

Da diversi anni è noto che alcuni farmaci simpaticolitici o simpaticomimetici influenzano i processi rigenerativi delle planarie. Liotti e collaboratori (1) hanno saggiato l'azione di un simpaticomimetico: l'anfetamina. Se planarie della specie *Dugesia lugubris* vengono decapitate con un taglio trasversale davanti al faringe e poste per tre giorni in una soluzione di anfetamina allo 0,5 % il moncone posteriore, allevato ulteriormente in acqua pura, non rigenera la parte cefalica, mentre quello anteriore rigenera la regione caudale.

Per una possibile interpretazione di questi reperti, è importante ricordare che gli estesissimi poteri rigenerativi delle planarie sono da attribuire, per la massima parte, all'intervento di una particolare categoria di elementi cellulari, indifferenziati e totipotenti, detti « neoblasti », che migrando attivamente verso le sedi di lesione costituiscono un blastema rigenerativo: substrato necessario per la ricostruzione delle regioni perdute (2). Le molteplici

(*) Istituto di Chimica « G. Ciamician » dell'Università di Bologna, diretto dal prof. G. Semerano e Istituto di Zoologia dell'Università di Bologna, diretto dal prof. E. Vannini. Ricerche eseguite con il contributo del C.N.R. — Ringraziamo il prof. M. Grasso per i consigli forniti.

(**) Nella seduta del 18 giugno 1971.

(1) F. S. LIOTTI, *Studi e ricerche sulla rigenerazione in Planaria. Azione inibente della amfetamina e di altre amine simpaticomimetiche sulla rigenerazione della testa in Dugesia lugubris*, « Riv. Biol. », 54, 415-455 (1961). F. S. LIOTTI e V. ANDREOLI, *Studi e ricerche sulla rigenerazione in Planaria. Ulteriori osservazioni sull'influenza dell'amfetamina nella rigenerazione della testa in Dugesia lugubris*, « Arch. Sci. Biol. », 48, 1-17 (1964). F. S. LIOTTI, G. BRUSCHELLI e G. ROSI, *Variazioni dell'attività neurosecretoria durante la rigenerazione in esemplari di Dugesia lugubris trattati o non con simpamina*, « Riv. Biol. », 59, 353-384 (1966).

(2) F. DUBOIS, *Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles*, « Bull. Biol. France Belg. », 83, 213-283 (1949). F. STÉPHAN-DUBOIS, *Les néoblastes dans la régénération chez les Planaires*, in: V. KIORTSIS & H.A.L. TRAMPUSCH edit., *Regeneration in animals and related problems*, North-Holland Publ. Comp., Amsterdam, 112-130 (1965). F. CECERE, M. GRASSO, E. URBANI e E. VANNINI, *Osservazioni autoradiografiche sulla rigenerazione di Dugesia lugubris*, « Rend. Ist. Sci. Camerino », 5, 193-198 (1964). T. LENDER et A. GABRIEL, *Les néoblastes marqués par l'uridine tritiée migrent et édi-*

potenzialità morfogenetiche dei neoblasti sono verosimilmente da mettere in rapporto con il loro elevato contenuto in RNA, prevalentemente ribosomico; sembra lecito supporre che si tratti di cellule già adeguatamente predisposte a mettere in funzione quei meccanismi di differenziamento organogenetico ed istogenetico, che si fondano su una ordinata « trascrizione » e « traduzione » dei « messaggi » codificati nel patrimonio ereditario (3).

In quale maniera l'anfetamina interferisce sui processi di rigenerazione cefalica delle planarie? Una interpretazione è stata prospettata dagli stessi ricercatori che per primi hanno descritto il fenomeno. Secondo Liotti e collaboratori (4) l'anfetamina, nei monconi posteriori di planaria totalmente privati di cervello, non ostacolerebbe primariamente un sia pure limitato richiamo di neoblasti verso la superficie lesa; infatti tale farmaco non si oppone alla formazione di un piccolo blastema cicatriziale teso fra i margini della ferita ripiegati all'interno. Risultano invece nettamente inibiti l'ulteriore accrescimento e la differenziazione di questo minuscolo blastema, che riesce solo a cicatrizzare la ferita, ma non a rigenerare la regione cefalica amputata. Ciò dipenderebbe da un'azione tossica dell'anfetamina sulle cellule dei cordoni nervosi recisi ed in particolare da un suo effetto su un'ipotetica sostanza da esse elaborata, che avrebbe la proprietà di controllare i fenomeni differenziativi del blastema.

Quasi contemporaneamente, altre ricerche di Grasso (4) hanno permesso di meglio precisare questo concetto, mettendo in evidenza l'importanza dei processi di neurosecrezione nelle planarie, sia per l'espletamento dei fenomeni rigenerativi in seguito a lesione, sia per i fenomeni di maturazione dei gameti. Pertanto il Grasso ha suggerito l'ipotesi che l'effetto dell'anfetamina consista nel blocco della neurosecrezione a carico dei monconi posteriori privati di cervello. La mancata elaborazione del neurosecreto ostacola, fra le altre cose, il differenziamento dei neoblasti in cellule nervose dei plessi cerebrali e le planarie decapitate, rimanendo definitivamente prive di cervello, non solo arrestano i fenomeni rigenerativi, ma subiscono anche una completa regressione delle parti residue dell'apparato genitale (5). Nei monconi anteriori di planaria l'anfetamina non riesce ad impedire i processi rigenerativi, ma solo a ritardarne l'inizio, poiché il cervello, non leso dalla operazione, rimane un attivo centro di neurosecrezione.

Nell'intento di portare qualche schiarimento in proposito, abbiamo anzitutto voluto confrontare l'azione dell'anfetamina con quella di altre psicodroghe a molecola simile (mescalina) o diversa (LSD), oppure con sostanze (indolo, triptofano) verosimilmente capaci, come l'anfetamina, di formare complessi con la riboflavina; notoriamente quest'ultima, quale componente delle molecole di FMN e di FAD, funziona da coenzima in diversi sistemi enzimatici ossido-riduttivi. Inoltre abbiamo anche voluto saggiare l'azione della

fient le blastème de régénération des Planaires d'eau douce, « C. R. Acad. Sci. Paris », 260, 4095-4097 (1965). A. GABRIEL, *Étude morphologique et évolution biochimique des néoblastes au cours des premières phases de la régénération des Planaires d'eau douce*, « Ann. Embryol. Morph. », 3, 49-69 (1970).

(3) E. VANNINI, *Alcuni aspetti attuali dei problemi della rigenerazione*, « Arch. Zool. Ital. », 51, 951-958 (1966). H. V. BRØNSTED, *Planarian regeneration*, Pergamon Press, Oxford (1969).

(4) M. GRASSO, *Prime indagini sul significato funzionale della neurosecrezione in Dugesia lugubris e Dugesia tigrina*, « Boll. Zool. », 32, 1037-1049 (1965). M. GRASSO & A. QUAGLIA, *Studies on neurosecretion in Planarians*. I. *Neurosecretory fibres near the testes of Dugesia lugubris*. II. *Observations on the ovaries of Dugesia lugubris*, « J. Submicr. Cytol. », 2, 119-125, 127-132 (1970).

(5) L. BRANDI e E. GHIRARDELLI, *L'azione del cervello sulla rigenerazione delle gonadi di Dugesia lugubris*, « Rend. Accad. Naz. Lincei », Ser. VIII, 35, 120-125 (1963).

riboflavina sia da sola che insieme con anfetamina, nell'intento di appurare se la riboflavina, formando un'associazione con l'anfetamina, possa eventualmente modificarne gli effetti. Precedenti ricerche avevano dimostrato la possibilità di una tale associazione, nella quale sembra coinvolto un trasferimento di carica fra riboflavina, FMN, FAD e anfetamina (6).

Le planarie su cui abbiamo effettuato le nostre osservazioni, appartengono alla specie *Dugesia lugubris* e provengono da un ceppo che da anni si alleva in Istituto. Gli animali, tutti della stessa età e delle stesse dimensioni, erano sottoposti ad un taglio trasversale davanti al faringe ed i monconi anteriori e posteriori così ottenuti venivano posti, subito dopo l'intervento, in cristallizzatori contenenti le soluzioni desiderate. Tali soluzioni erano rinnovate quotidianamente per un primo periodo di 3 o 6 giorni e quindi sostituite con pura acqua di fonte sino al termine della sperimentazione. Per tutta la durata delle osservazioni (21 giorni), gli esemplari operati erano mantenuti a temperatura costante di 20° C in cella termoregolata, in semioscurità ed a digiuno; quotidianamente venivano osservati con microscopio stereoscopico, onde poter seguire l'andamento dei processi rigenerativi. I reperti ottenuti sono riportati nelle Tabelle I-IV. A scopo di confronto, l'azione degli psicofarmaci è stata anche saggiata su gruppi di planarie intere.

* * *

Da un esame delle Tabelle I e II, riferite a trattamenti eseguiti nei primi tre giorni dell'esperimento, appare chiaro che l'anfetamina è l'unica sostanza, fra quelle esaminate, capace di inibire totalmente il processo rigenerativo nei monconi posteriori privati di cervello. Nei monconi anteriori, provvisti di cervello, la rigenerazione è soltanto ritardata rispetto agli animali di controllo. Sia nei monconi anteriori che in quelli posteriori l'anfetamina esplica pure un'azione tossica che, protraendosi per tutta la durata dell'esperimento anche dopo il trasferimento in acqua pura, ha condotto alla morte circa una metà degli esemplari. Tale effetto letale non sembra necessariamente collegato allo stato di acefalia persistente dei monconi posteriori: difatti è risultato più elevato nei monconi anteriori, e, d'altra parte, è stato pure riscontrato in planarie intere trattate con anfetamina.

L'LSD (dietilamide dell'acido lisergico), pur somministrato in dosi maggiori rispetto all'anfetamina, ritarda solo di alcuni giorni la rigenerazione sia nei monconi anteriori che in quelli posteriori. Esso esplica pure un'evidente azione tossica, crescente con la dose e, a quanto sembra, più marcata per i monconi posteriori che per gli anteriori. Anche questa azione tossica è stata riscontrata pure saggiando questo psicofarmaco su planarie intere. Si deve inoltre rilevare che l'effetto tossico, in questo caso, non è protratto nel tempo, ma si manifesta quasi esclusivamente durante i giorni di diretto trattamento, arrestandosi quando gli animali vengono trasferiti in acqua pura.

(6) R. BUDINI e A. M. MARINANGELI, *Interactions between some psychodrugs and flavins*, « Z. Naturforsch. », 25 b, 505-509 (1970).

La mescalina, per quanto strutturalmente simile all'anfetamina, e l'indolo ed il triptofano, benché possano essere considerati precursori strutturali dell'LSD, non esplicano alcun sensibile effetto sulla rigenerazione dei monconi anteriori o posteriori e non hanno neppure azione tossica.

TABELLA I.

*Rigenerazione nei monconi anteriori di Dugesia lugubris dopo un iniziale trattamento per tre giorni con le varie sostanze o miscele di sostanze.
Durata dell'esperimento, 21 giorni.*

TRATTAMENTO SPERIMENTALE	Numero dei monconi	Numero dei morti	Numero dei rigenerati	Comparsa del blastema rigenerativo
H ₂ O di fonte (controllo)	67	4 (6%)	63 (94%)	2°-3° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato, mg 1,4/200 ml	45	27 (60%)	18 (40%)	7°-12° giorno
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 4,2/100 ml	35	15 (43%)	20 (57%)	8° giorno
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 6/100 ml	30	20 (67%)	10 (33%)	9° giorno
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 8,4/100 ml	15	15 (100%)	—	—
mescalina idrocloruro, mg 25/100 ml	30	— (0%)	30 (100%)	3°-4° giorno
indolo, mg 1,4/200 ml	20	— (0%)	20 (100%)	3° giorno
triptofano, mg 1,4/200 ml	20	— (0%)	20 (100%)	3° giorno
riboflavina, mg 3,2/200 ml	23	1 (4%)	22 (96%)	2°-3° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato, mg 1,4 + riboflavina mg 1,1 in 200 ml	40	19 (47%)	21 (53%)	6°-8° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato, mg 1,4 + riboflavina mg 3,2 in 200 ml	50	21 (42%)	29 (58%)	6°-8° giorno

Dai reperti descritti si ricava l'impressione che l'azione tossica riscontrata per l'anfetamina e per l'LSD sia un effetto non connesso a quello inibitore dei processi rigenerativi, esclusivo dell'anfetamina; è verosimile che si tratti di fenomeni da porre in relazione con meccanismi biochimici diversi.

Un trattamento con riboflavina ha preceduto, a scopo di controllo, i trattamenti contemporanei con anfetamina e riboflavina che, come già si è detto, costituivano lo scopo principale dei nostri esperimenti. Somministrata da sola, la riboflavina non è tossica, né modifica le attitudini rigenerative dei monconi di planaria: anzi sembra accelerare lievemente la rigenerazione, per lo meno nei riguardi dei monconi anteriori. Somministrata assieme con anfetamina per tre giorni, riduce la mortalità sia dei monconi anteriori che

di quelli posteriori e, nei riguardi di questi ultimi, tende ad annullare l'inibizione dei processi rigenerativi abitualmente provocata dalla anfetamina. Questi effetti sembrano risultare più evidenti via via, che a parità di concentrazione anfetaminica, aumenti la concentrazione della riboflavina. *Ciò fa supporre che un'interazione fra le due molecole (forse vera associazione chimica?) porti ad una attenuazione od una soppressione dell'azione del farmaco.*

TABELLA II.

Rigenerazione nei monconi posteriori di Dugesia lugubris dopo un iniziale trattamento per tre giorni con le varie sostanze o miscele di sostanze.

Durata dell'esperimento, 21 giorni.

TRATTAMENTO SPERIMENTALE	Numero dei monconi	Numero dei morti	Numero dei rigenerati	Velocità di rigenerazione	
				Comparsa del blastema	Comparsa degli occhi
H ₂ O di fonte (controllo) . .	67	3 (4%)	64 (96%)	3° giorno	6° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato, mg 1,4/200 ml	45	20 (44%)	— (0%)	—	—
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 4,2/100 ml	35	— (0%)	35 (100%)	7°-8° giorno	9°-10° giorno
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 6/100 ml	30	13 (43%)	17 (57%)	7°-8° giorno	9°-12° giorno
dietilamide dell'acido lisergico tartrato (LSD-25) mg 8,4/100 ml	15	15 (100%)	—	—	—
mescalina, mg 25/100 ml . .	30	— (0%)	30 (100%)	3° giorno	6° giorno
indolo, mg 1,4/200 ml . . .	20	— (0%)	20 (100%)	3° giorno	6° giorno
triptofano, mg 1,4/200 ml .	20	— (0%)	20 (100%)	3° giorno	6° giorno
riboflavina, mg 3,2/200 ml .	23	— (0%)	23 (100%)	3° giorno	6° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato mg 1,4 + riboflavina mg 1,1 in 200 ml	40	10 (25%)	16 (40%)	10°-11° gior.	14° giorno
<i>d</i> -anfetamina solfato mg 1,4 + riboflavina mg 3,2 in 200 ml	50	— (0%)	33 (66%)	5° giorno	8°-10° giorno

Allo scopo di indagare ulteriormente su questa interazione, abbiamo eseguito esperimenti in cui monconi anteriori o posteriori di *Dugesia lugubris* sono stati sottoposti, nei primi 6 giorni iniziali, a diversi trattamenti con anfetamina variamente alternata ad acqua pura, oppure a riboflavina. I risultati ottenuti sono riportati nelle Tabelle III e IV.

TABELLA III.

Rigenerazione nei monconi anteriori di Dugesia lugubris dopo un iniziale trattamento per sei giorni con d-anfetamina solfato variamente alternato con acqua pura o con riboflavina. Durata dell'esperimento, 21 giorni.

TRATTAMENTO SPERIMENTALE	Numero dei monconi	Numero dei morti	Numero dei rigenerati	Comparsa del blastema rigenerativo
per 3 giorni H ₂ O di fonte e per 3 giorni d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	36	24 (67%)	12 (33%)	3° giorno
per 3 giorni riboflavina mg 1,1/200 ml e per 3 giorni d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	40	29 (72%)	10 (25%)	3°-5° giorno
per 3 giorni d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml e per 3 giorni riboflavina mg 1,1/200 ml	30	18 (60%)	12 (40%)	7°-11° giorno
a giorni alterni, H ₂ O di fonte e d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	36	9 (25%)	27 (75%)	4°-5° giorno
a giorni alterni, d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml e H ₂ O di fonte	46	30 (65%)	16 (35%)	4°-6° giorno
a giorni alterni, riboflavina mg 1,1/200 ml e d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	30	6 (20%)	24 (80%)	4°-5° giorno
a giorni alterni, d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml e riboflavina mg 1,1/200 ml	20	2 (10%)	18 (90%)	4°-6° giorno

Da esse risulta che se i monconi vengono allevati per i primi tre giorni dell'esperimento in acqua pura, e poi per tre giorni successivi in soluzione di anfetamina, l'effetto letale del farmaco rimane inalterato, ma manca praticamente del tutto l'effetto inibitore sui processi rigenerativi: già dalle indagini precedenti di Liotti e collaboratori ⁽¹⁾ era noto che l'anfetamina inibisce la rigenerazione solo a patto che essa agisca sui monconi di planaria subito dopo eseguito l'intervento operatorio, quando iniziano o sono in atto i primi e più delicati fenomeni legati alla ricostituzione delle parti amputate. Se, in luogo d'acqua pura, nei primi tre giorni viene somministrata riboflavina, il risultato è poco diverso: si ha ugualmente un'alta mortalità e quasi tutti i monconi riescono a rigenerare, sia pure con un lieve ritardo rispetto alla norma. Invece nel caso inverso, se il trattamento con anfetamina per tre giorni precede quello pure di tre giorni con riboflavina, quest'ultima sostanza non riduce che di poco la mortalità degli esemplari ma, al tempo stesso, non riesce ad impedire che l'anfetamina espliciti la sua consueta azione inibitrice sui fenomeni rigenerativi che, in pratica, mancano del tutto nei monconi posteriori (solo uno dei 19 sopravvissuti si è rigenerato, con notevolissimo ritardo).

TABELLA IV.

Rigenerazione nei monconi posteriori di Dugesia lugubris dopo un iniziale trattamento per sei giorni con d-anfetamina solfato variamente alternato con acqua pura o con riboflavina. Durata dell'esperimento, 21 giorni.

TRATTAMENTO SPERIMENTALE	Numero dei monconi	Numero dei morti	Numero dei rigenerati	Velocità di rigenerazione	
				Comparsa del blastema	Comparsa degli occhi
per 3 giorni H ₂ O di fonte e per 3 giorni d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	36	16 (44%)	20 (56%)	3° giorno	6°-10° giorno
per 3 giorni riboflavina mg 1,1/200 ml e per 3 giorni d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	40	17 (42%)	19 (47%)	3°-5° giorno	6°-12° giorno
per 3 giorni d-anfetamina solfato, mg 1,4/200 ml e per 3 giorni riboflavina mg 1,1/200 ml	30	11 (37%)	1 (3%)	11° giorno	14° giorno
a giorni alterni, H ₂ O di fonte e d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	36	7 (19%)	26 (72%)	4°-5° giorno	6° giorno
a giorni alterni, d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml e H ₂ O di fonte	46	11 (24%)	11 (24%)	6°-9° giorno	8°-13° giorno
a giorni alterni, riboflavina mg 1,1/200 ml e d-anfetamina solfato mg 1,4/200 ml	30	— (0%)	30 (100%)	4°-6° giorno	6°-9° giorno
a giorni alterni, d-anfetamina solfato 1,4/200 ml e riboflavina mg 1,1/200 ml	20	— (0%)	— (0%)	—	—

Se i monconi anteriori e posteriori vengono trattati a giorni alterni con semplice acqua di fonte e con anfetamina per i primi sei giorni dell'esperimento, si ottengono effetti un po' diversi a seconda che il trattamento inizi con il soggiorno in acqua oppure in anfetamina. Nel primo caso la mortalità è più ridotta che nel secondo, ma per quanto si riferisce ai monconi posteriori nel secondo caso appaiono più inibiti i fenomeni rigenerativi (solo 11 dei 35 monconi superstiti si sono rigenerati, con notevole ritardo).

Infine trattando i monconi, per i primi sei giorni dell'esperimento, a giorni alterni con riboflavina e con anfetamina, si ottiene anzitutto la più forte riduzione della mortalità, specialmente a carico dei monconi posteriori che sono tutti sopravvissuti al trattamento. Inoltre i monconi posteriori rigenerano tutti (con ritardo molto limitato) qualora il suddetto trattamento inizi con un giorno di permanenza in riboflavina, mentre non rigenerano affatto

quando esso inizi con un giorno di permanenza in anfetamina. *Quest'ultimo tipo di trattamento risulta il più adeguato per mantenere l'effetto inibitore sulla rigenerazione esplicito dall'anfetamina, abolendo la mortalità degli animali.*

Sembra dunque avvalorata l'ipotesi di un'associazione fra le molecole della riboflavina e dell'anfetamina, con conseguente soppressione dell'effetto del farmaco. La mancata soppressione, da parte della riboflavina, dell'effetto inibitore sulla rigenerazione esplicito dall'anfetamina, nel caso in cui il trattamento a giorni alterni inizi con quest'ultima sostanza, può essere interpretato ricordando che i più delicati processi legati alla rigenerazione si esplicano in prevalenza poco dopo l'amputazione della regione cefalica. Un troppo tardivo intervento della riboflavina non sembra potere riparare i danni già verificatisi durante la prima giornata dell'esperimento.