
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ALBERTA POLZONETTI-MAGNI, ANNA GOBETTI,
VIRGILIO BOTTE

**Osservazioni sui rapporti tra caratteristiche
morfologiche del nucleo ed attività funzionale nelle
cellule ghiandolari dell'ovidutto di *Rana esculenta*,
durante la fase di recupero**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 65 (1978), n.3-4, p.
141-144.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1978_8_65_3-4_141_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. — *Osservazioni sui rapporti tra caratteristiche morfologiche del nucleo ed attività funzionale nelle cellule ghiandolari dell'ovidutto di Rana esculenta, durante la fase di recupero* (*). Nota (**)
di ALBERTA POLZONETTI-MAGNI, ANNA GOBETTI e VIRGILIO BOTTE,
presentata dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — In the green frog, *Rana esculenta*, the mucin synthesis in the oviducal gland cells during the recovery phase (July-November) is joined with some morphological transformations of nuclei which progressively acquire a picnotic appearance. This phenomenon does not seem to be the expression of mucin synthesis control, since both at the beginning and at the end of the recovery phase the glandular cells show the same activity *in vivo*, as can be evaluated following the incorporation of labelled uridine into RNA and of labelled amino acids into proteins. The meaning of nuclei transformations and their relationship to the functions of oviduct glandular cells are not at present known.

Nella femmina di *Rana esculenta* l'ovidutto va incontro, dopo la fine della stagione riproduttiva, ad alcune trasformazioni che comportano la ricomparsa nelle cellule ghiandolari del secreto mucinico rilasciato durante l'ovulazione (Chieffi *et al.*, 1966 a e b; Andreozzi *et al.*, 1971). La sintesi e l'accumulo di mucine che avviene in questo periodo, indicato come *fase di recupero*, sono sotto il controllo degli ormoni della gonade, soprattutto estrogeni (d'Istria e Botte, 1970; Polzonetti Magni *et al.*, 1973, 1976).

A mano a mano che il secreto si accumula nel citoplasma delle cellule ghiandolari, inoltre, i nuclei divengono ipercromatici sino a simulare una sorta di picnosi (Andreozzi *et al.*, 1971). Tali trasformazioni potrebbero essere espressione di un progressivo rallentamento dell'attività della cellula in rapporto al contenuto di secreto depositato nel citoplasma.

Nel tentativo di verificare tale ipotesi abbiamo saggiato l'attività *in vivo* delle cellule ghiandolari valutando l'andamento della sintesi di RNA e delle proteine in uno stadio iniziale (settembre) e finale (gennaio) della fase di recupero.

MATERIALI E METODI

Sono state utilizzate femmine adulte di *Rana esculenta*, raccolte nei dintorni di Napoli in settembre e gennaio. Per ciascun periodo gli animali erano divisi in due gruppi di trenta esemplari. Alle rane del primo gruppo

(*) Lavoro eseguito presso l'Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata dell'Università di Camerino e l'Istituto e Museo di Zoologia dell'Università di Napoli.

(**) Pervenuta all'Accademia il 26 settembre 1978.

erano inoculati, attraverso il sacco linfatico dorsale, 100 μ l di soluzione fisiologica per anfibio contenente 4 μ Ci di ^3H -uridina (a.s. 28 Ci/mM, Amersham) per gr di peso corporeo. Gli animali del secondo gruppo ricevevano, con modalità analoghe, 4 μ Ci per gr di peso corporeo di una miscela di aminoacidi marcati (^3H -arginina, ^3H -acido glutammico, ^3H -glicina, ^3H -acido aspartico; a.s. 23 Ci/mM).

TABELLA I

*RNA e proteine nell'ovidutto di Rana esculenta
in due periodi, iniziale e finale, della fase di recupero.*

	Settembre	Gennaio
Peso ovidutto (gr)	0.40 \pm 0.03	1.44 \pm 0.12 (*)
<i>RNA</i>		
Contenuto medio (mg/ovidutto)	0.75 \pm 0.13	1.25 \pm 0.18 (*)
Incorporazione uridina (dpm/mg RNA)		
Tempi dall'inoculazione (in minuti)		
20.	2.80 \pm 0.86	0.34 \pm 0.06
40.	15.40 \pm 4.95	13.58 \pm 4.15
60.	12.24 \pm 4.37	8.17 \pm 2.46
360.	13.38 \pm 4.58	14.90 \pm 5.48
1080.	36.57 \pm 5.88	20.37 \pm 4.55 (*)
<i>Proteine</i>		
Contenuto medio (mg precipitato acido insolubile/ ovidutto)	8.10 \pm 1.92	97.41 \pm 11.95 (**)
Incorporazione aminoacidi marcati (dpm/mg precipitato acido insolubile)		
Tempi dall'inoculazione (in minuti)		
30.	0.03 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02
60.	0.12 \pm 0.03	0.07 \pm 0.03
120.	0.30 \pm 0.05	0.10 \pm 0.01
720.	0.53 \pm 0.17	0.31 \pm 0.10
1080.	0.35 \pm 0.12	0.30 \pm 0.10

(*) P < 0.01.

(**) P < 0.01.

A vari intervalli dall'inoculazione (vedi Tabella I) erano sacrificati 4-5 animali da cui venivano prelevati gli ovidutti. Questi erano pesati ed utilizzati come segue.

Dei due ovidutti prelevati dalle rane trattate con uridina marcata, uno era fissato in formolo-calcio per l'esame istologico; l'altro era omogeneizzato a freddo in buffer acetato 10 mM, contenente 0.04 % di polivinilfosfato, pH 5.0 (50 mg di tessuto/ml di buffer). L'omogenato era filtrato e trattato con fenolo per estrarre l'RNA totale (d'Istria *et al.*, 1971; Polzonetti Magni *et al.*, 1976). Il contenuto di RNA era valutato mediante reazione all'orcino. Una parte della soluzione, previa aggiunta di 10 ml di Insta-Gel (Packard), era usata per la determinazione della radioattività in uno scintillatore in fase liquida Nuclear-Chicago. L'attività specifica dell'RNA era espressa in dpm/mg di RNA.

Dei due ovidutti prelevati dalle rane inoculate con miscela di amminoacidi marcati, il primo era fissato in formolo-calcio; l'altro omogeneizzato in una soluzione al 5 % di HClO_4 contenente 0.25 % di Na_2WO_4 e 0.1 % di leucina. Il precipitato acido insolubile era ripetutamente lavato con HClO_4 al 10 % e tenuto a 90° per 15 m. Si procedeva, quindi, ad alcuni lavaggi del precipitato con, nell'ordine, HClO_4 al 10 %, etanolo e miscela etanolo-etero (3 : 1, v/v). Il precipitato era poi seccato e pesato; una sua parte era utilizzata per la valutazione del contenuto in materiale radiattivo. A tale uopo prima di procedere come riportato in precedenza, si operava la sua digestione con Soluene 100 Packard. L'attività specifica del precipitato acido insolubile era espressa in dpm/mg (Ono e Terrayama, 1968).

I dati delle analisi biochimiche erano sottoposti all'analisi della varianza, utilizzando i consueti metodi statistici.

RISULTATI

La Tav. I mostra il differente aspetto morfologico dei nuclei delle cellule ghiandolari dell'ovidutto di esemplari di settembre (A) e gennaio (B). Risulta evidente che mentre in settembre le cellule ghiandolari, povere di secreto, hanno nuclei di aspetto normale, per lo più spostati verso il lume delle ghiandole, in gennaio questi appaiono disposti verso il polo basale della cellula e presentano forma irregolare risultando fortemente eterocromatici tanto da assumere un aspetto quasi picnotico. In questo periodo il secreto mucinico infarcisce completamente il citoplasma.

Nella Tabella I sono riassunti i dati delle determinazioni biochimiche. Gli ovidutti di gennaio contengono, rispetto a quelli di settembre, una maggior quota di RNA e proteine precipitabili, ma in entrambi i periodi l'andamento dell'incorporazione dell'uridina nell'RNA e degli amminoacidi nel precipitato proteico acido insolubile non mostra differenze significative.

In un caso, dopo 1080 min dall'inoculazione di uridina, l'incorporazione nell'RNA è risultata significativamente inferiore nelle rane di gennaio.

CONCLUSIONI

I nostri dati convalidano le precedenti osservazioni sul progressivo accumulo di RNA e proteine nell'ovidutto di *Rana esculenta* durante la fase di recupero (Chieffi *et al.*, 1966 a e b; d'Istria e Botte, 1970; Polzonetti Magni *et al.*, 1973, 1976); mostrano, altresì, che il fenomeno dell'acquisizione da parte dei nuclei delle cellule ghiandolari di un aspetto picnotico, in rapporto all'accumulo nel citoplasma del secreto mucinico, è tipico di questi elementi, come già indicato da Andreozzi *et al.* (1971).

Non sembra, però, che si possa sostenere che alle trasformazioni morfologiche dei nuclei corrisponda una minore attività degli elementi cellulari, quale può essere valutata dall'andamento della incorporazione di uridina nell'RNA e di amminoacidi nel precipitato acido insolubile. In due periodi della fase di recupero, iniziale e terminale, quando la maggioranza dei nuclei hanno rispettivamente aspetto normale o picnotico, la sintesi di RNA e di proteine non mostra differenze significative. Qualche diversità osservata, in un solo caso, nella incorporazione di uridina nell'RNA va, a nostro avviso, interpretata come episodica e non certo come un indice di aspetti significativamente differenti del fenomeno.

Resta, naturalmente, da individuare il significato delle trasformazioni morfologiche dei nuclei in relazione all'accumulo nelle cellule ghiandolari dell'ovidutto del secreto mucinico; è possibile che esse siano indotte dal secreto anche se, apparentemente, non intaccano la funzione delle cellule.

BIBLIOGRAFIA

- ANDREOZZI G., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1971) - « Boll. Zool. », 38, 261.
CHIEFFI G., BELLINI CARDELLINI L. e POLZONETTI MAGNI A. (1966a) - « Ric. Sci. », 37, 283.
CHIEFFI G., BELLINI CARDELLINI L. e POLZONETTI MAGNI A. (1966b) - « Riv. Biol. », 60, 153.
D'ISTRIA M. e BOTTE V. (1970) - « Atti Soc. Peloritana Sci. fis. mat. nat. », 16, 97.
D'ISTRIA M., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1971) - « Atti Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sc. fis. mat. nat. », 50, 205.
ONO H. e TERRAYAMA H. (1968) - « Biochim. Biophys. Acta », 23, 174.
POLZONETTI MAGNI A., BELLINI CARDELLINI L., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1973) - « Riv. Biol. », 26, 27.
POLZONETTI MAGNI A., BELLINI CARDELLINI L. e BOTTE V. (1976) - « Gen. Comp. Endocrinol. », 28, 96.
POLZONETTI MAGNI A., GOBETTI A. e BOTTE V. (1978) - « Riv. Biol. », In corso di stampa.

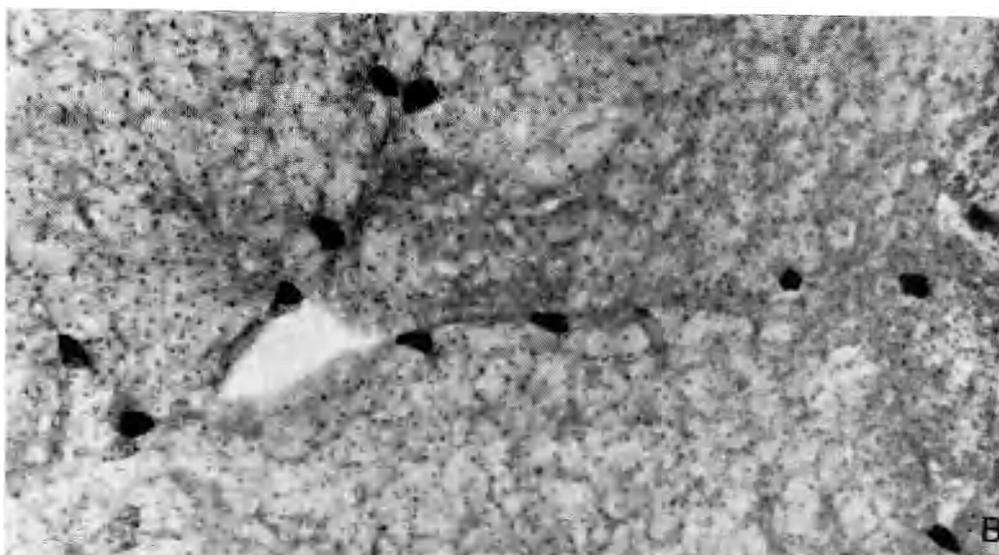
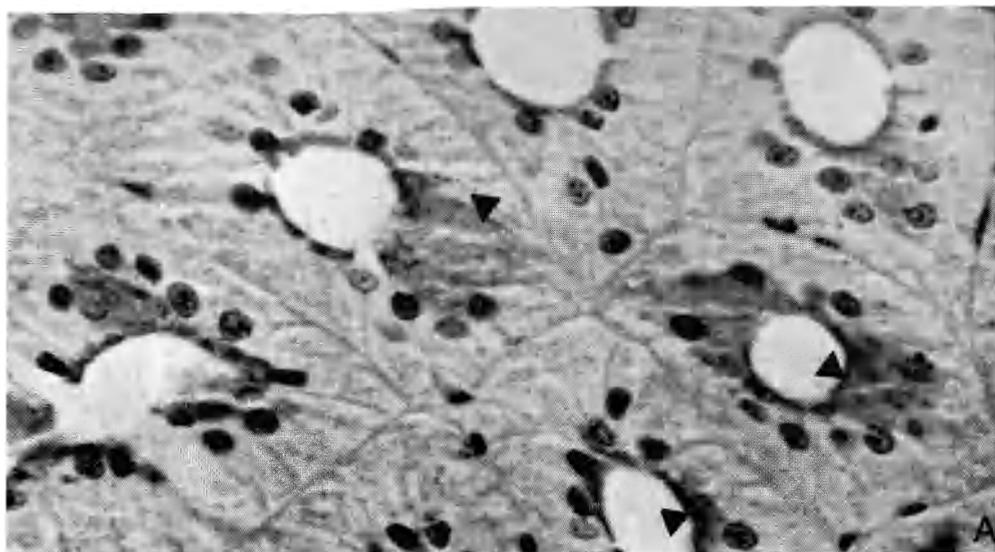


Fig. - Sezioni istologiche di ovidutto di *Rana esculenta* catturata in settembre (A) e in gennaio (B). Le frecce in (A) indicano il secreto: in (B) tutto il citoplasma è infarcito da mucine. Colorazione Alcian blu-emallume. 960 ×