
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ANNA STAGNI, MARIA LUISA RUBATTA SINI, ANGELA
FANTINELLI

**Effetti della dopamina e della reserpina sulla
rigenerazione di *Chlorohydra viridissima***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 69 (1980), n.3-4, p.
217-221.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1980_8_69_3-4_217_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/>

Zoologia. — *Effetti della dopamina e della reserpina sulla rigenerazione di Chlorohydra viridissima* (*). Nota (**) di ANNA STAGNI, MARIA LUISA RUBATTA SINI e ANGELA FANTINELLI, presentata dal Corrisp. E. VANNINI.

SUMMARY. — Regenerating specimens of *Chlorohydra viridissima* (80 animals) were treated with dopamine or with his antagonist reserpine. Dopamine treatment resulted in accelerating regeneration and differentiation, in increasing the number of tentacles and cnidocytes, in inducing sexuality (22%), but above all in disturbing morphogenetic gradient (appearance of ectopic tentacles, cnidocytes and ovariotestes). Reserpine treatment resulted at least in dissociating tissues although some sign of regeneration is detected (f.i. tentacles and penducle pieces); never the hypostomal glands are regenerated.

I principali neuromediatori (di cui oggi si pensa ne esistano circa una trentina) sono presenti anche nel sistema nervoso relativamente semplice (filogeneticamente il più antico) dei Celenterati. Nelle idre d'acqua dolce con metodi di riconoscimento diretti (fisici e chimici) o indiretti (ricerche di enzimi specifici, blocco di attività tramite farmaci antagonisti) è stata già da tempo accertata la presenza di adrenalina, noradrenalina, serotonina, acetilcolina ⁽¹⁾.

Benchè negli invertebrati le conoscenze siano meno numerose e precise che nei Vertebrati, la presenza di catecolamine e di serotonina è un dato costante accertato in tutti i *phylum* ⁽²⁾.

Fino dal 1963 Lentz e Barrnett ⁽¹⁾ avevano sottoposto all'azione di antagonisti di neurotrasmettitori esemplari di *Hydra littoralis* in rigenerazione. Nei riguardi degli antagonisti della dopamina, gli Autori avevano osservato,

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e presso la Cattedra di Biologia generale della Facoltà di Scienze dell'Università di Bologna, usufruendo di contributi del C.N.R.

(**) Pervenuta all'Accademia il 31 ottobre 1980.

(1) R. L. MITROPOLITANSKAYA, *On the presence of acetylcholin and cholinesterase in the protozoa, spongia and coelenterata*, «C. R. (Doklady) Acad. Sci. URSS», 31, 717-718 (1941).

J. H. WELSH, *5-Hydroxytryptamine in Coelenterates*, «Nature», 86, 811-812 (1960).

T. L. LENTZ e R. J. BARNETT, *Enzyme histochemistry of hydra*, «J. exp. Zool.», 147, 125-149 (1961).

T. L. LENTZ e R. J. BARNETT, *Changes in the distribution of enzyme activity in the regenerating hydra*, «J. exp. Zool.», 150, 103-118 (1962).

T. L. LENTZ e R. J. BARNETT, *The role of the nervous system in regenerating hydra: the effect of neuropharmacological agents*, «J. exp. Zool.», 154, 305-328 (1963).

J. G. WOOD e T. L. LENTZ, *Histochemical localization of amines in Hydra and in the sea anemone*, «Nature», 201, 88-90 (1964).

(2) M. GERSCH, *Biochemistry including mode of cellular action of neurohormones in arthropodes*, «Colloques intern. C.N.R.S.: Actualités sur les hormones d'invertébrés», 251, 281-305 (1976).

prendendo a parametro di valutazione le cellule nervose e i cnidoblasti, che la reserpina abbassava il numero delle cellule nervose sulla superficie di ferita (addirittura a 2 h di distanza dall'operazione), sia nei frammenti prossimali che in quelli distali. Per i cnidociti non si avevano invece dati significativi.

Un notevole numero di dati a proposito della azione dei neuromediatori e di loro antagonisti sulla rigenerazione sono rilevabili da osservazioni in planarie. Questi dati sono stati validamente riconsiderati e puntualizzati in una recente rassegna di Franquinet e Coulon ⁽³⁾ che esaminano in particolare il meccanismo d'azione (tramite il sistema ciclasico e non).

Dal complesso dei dati Franquinet conclude: 1) che la dopamina (e la serotonina) agiscono probabilmente con l'intervento dell'adenilato-ciclastasi, 2) che la sintesi di ADN e l'attività mitotica sono in rapporto con variazioni del tasso di AMPc, 3) che c'è una probabile alternanza fra produzione di ormoni aminergici o neuromediatori e ormoni peptidici o neurosecreti, nel senso che quando nel sistema nervoso di planarie c'è abbondanza di neuromediatori scarseggiano i neurosecreti, mentre quando cala la produzione dei primi aumenta la produzione dei secondi. Il processo sembra essere assai simile a quello riscontrato in certi Policheti Erranti ⁽⁴⁾. Nelle idre Vannini e Stagni ⁽⁵⁾ hanno proposto ipotesi di correlazione fra i due sistemi sulla base di osservazioni personali e di puntualizzazione dei dati precedenti.

Nell'ambito di questa ipotesi si è configurato opportuno precisare quale particolare processo sia influenzato dalla somministrazione esogena di certi neuromediatori o di loro antagonisti che molto probabilmente su questo stesso processo agiscono tramite neurosecreti, informando cellule bersaglio e sollecitandole ad intraprendere un certo differenziamento piuttosto che un altro.

Per questo scopo 40 esemplari di *Chlorohydra viridissima* sono stati trattati con dopamina (dopamin-hydrochlorid FLUKA) ed altri 40 individui con reserpina (SIGMA), durante le fasi della rigenerazione.

Gli animali, tagliati trasversalmente in modo da individuare un frammento prossimale (suola pedale, peduncolo, breve tratto di colonna gastrica) ed uno distale (colonna gastrica, ipostoma, tentacoli) sono stati posti, subito dopo il taglio, in soluzione di 0,05 mM di dopamina o in soluzione satura di re-

(3) R. FRANQUINET e J. COULON, *Régénération et nucléotides cycliques*, « Ann. Biol. », 19, 90-116 (1980).

(4) D. K. HOFMANN, *Regeneration and endocrinology in the polychaete Platynereis dumerilii. An experimental and structural study*, « Wilhelm Roux's Arch. », 180, 47-71 (1976).

(5) E. VANNINI, M. SARA', A. STAGNI, V. GREMIGNI e M. GRASSO, *Some aspects of sex differentiation in pluricellular animals at a lower order of organization: Porifera, fresh-water hydras and planarians*, « Boll. Zool. », 41, 289-393 (1974).

A. STAGNI e E. VANNINI, *Neurosecrezione, « informazione di posizione » e gradiente morfogenetico in idre e planarie. I. Dati sperimentali*, « R. C. Accad. Naz. Lincei », 62, 839-846 (1977).

A. STAGNI e E. VANNINI, *Idem. II. Considerazioni critiche*, « R. C. Accad. Naz. Lincei », 63, 79-85 (1978).

serpina rinnovate giornalmente. Gli animali furono tenuti a temperatura costante di 15 °C e non nutriti durante l'esperimento (infatti i frammenti prossimali privi di tentacoli non avrebbero potuto alimentarsi come quelli distali).

Le osservazioni ripetute ogni 12 h hanno coinciso con la fissazione di alcuni esemplari per il controllo istologico. Sono stati considerati parametri di avvenuta rigenerazione per i frammenti prossimali la ricostituzione dell'ipostoma e dei tentacoli, per i frammenti distali la rigenerazione della suola pedale e quindi l'adesione al substrato dell'animale.

Trattamento con dopamina. Questo farmaco alle dosi suddette (dosi maggiori per esempio di 0,12 mM si dimostrano tossiche, anche se prima della morte intervengono fenomeni rigenerativi turbati da anomalie, quali bicefalie) provoca accelerazione dei tempi di rigenerazione che viene completata in tutti i frammenti prossimali a 48 h dal taglio. Già a 18 h però il 17 % degli esemplari hanno abbozzi di tentacoli. I controlli completano la rigenerazione a 72 h. Alcuni individui trattati presentano anomalie quali abbozzi di tentacoli ectopici (Tav. I, fig. 1). Inoltre il numero di tentacoli ricostituiti è sempre piuttosto alto (11-13) (Tav. I, fig. 2). I frammenti orali o distali rigenerano essi pure la suola pedale entro le 48 h (in molti casi la suola pedale è già atta a fissarsi al substrato a 30 h). Si osserva comunque che questa suola si è riformata a sbarramento della colonna gastrica tagliata, cioè senza che fra la colonna stessa e la suola si sia interposto un tratto rilevante di peduncolo (Tav. I, fig. 3).

In un 22 % di esemplari il trattamento con dopamina ha indotto sessualità provocando anche uno scompenso del gradiente morfogenetico. In questa specie ermafrodita vi è una regionalità del differenziamento sessuale, trovandosi gli spermari o testicoli, in attività, subito al di sotto dei tentacoli e gli ovari ad un livello più basso della colonna gastrica, subito al di sopra della zona blastogenetica (quest'ultima localizzata al confine col peduncolo). La dopamina ha indotto l'abbozzo di spermari anche a livelli solitamente non spermatogenetici (Tav. I, fig. 4) ed ha provocato in essi anomalie di foggia e di « contenuto ». Infatti l'abbozzo testicolare tende ad acquistare negli animali trattati una larga base d'impianto estendentesi ad anello sulla colonna gastrica (Tav. II, fig. 5), invece di conservare l'aspetto mammellonato circoscritto, solito; inoltre in questi spermari vengono talvolta a formarsi degli ovociti, lo spermario può cioè trasformarsi in *ovariotestis* (Tav. II, fig. 6). Un altro effetto della dopamina sembra essere un incremento del differenziamento cnidocitico, infatti si possono rinvenire cnidociti entro gli spermari e, ciò che è più singolare, anche a livello della gastrodermide, in numero notevole (Tav. II, fig. 7).

Trattati con reserpina. I trattati con reserpina (come è noto questa sostanza, antagonista della dopamina, è pochissimo solubile in acqua, ciò che impone di utilizzare quella soluzione dei cristalli che, lasciando tracce della sostanza sul fondo, deve essere considerata satura) hanno mostrato sempre una notevole mortalità, anche se procrastinata nel tempo (ad esempio a 4

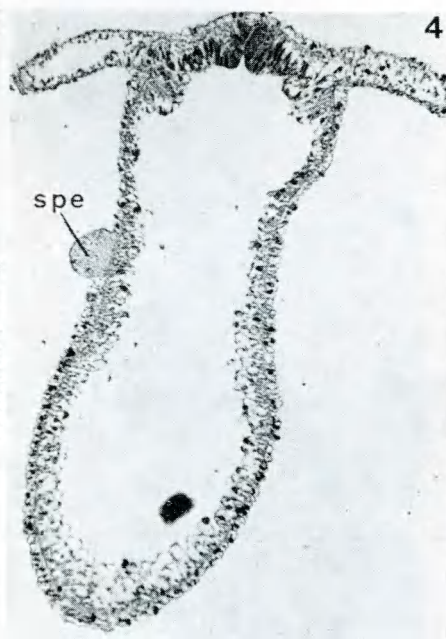
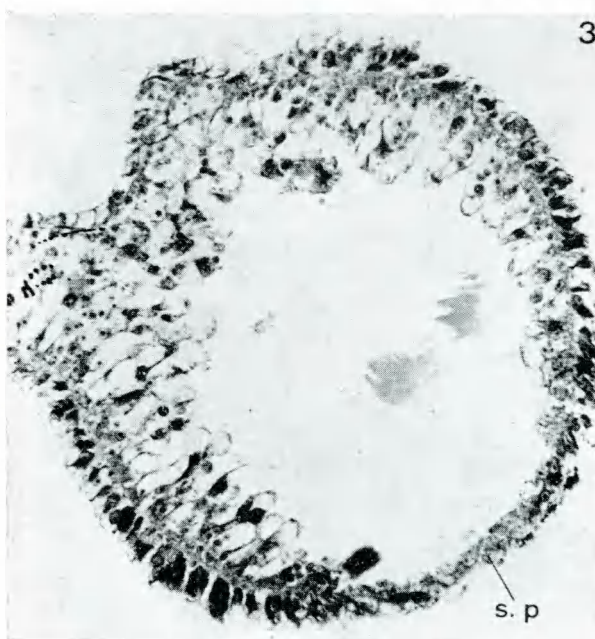
giorni di distanza dall'operazione). La mortalità fu sempre preceduta da «disgregazione» tessutale, anche quando si avevano tentativi di rigenerazione come ad esempio abbozzi di tentacoli. Un fatto rilevato a proposito dei frammenti orali è stata la ricostituzione di tratti di peduncolo, cioè di allungamenti della colonna gastrica in assenza invece di differenziamento di suola pedale.

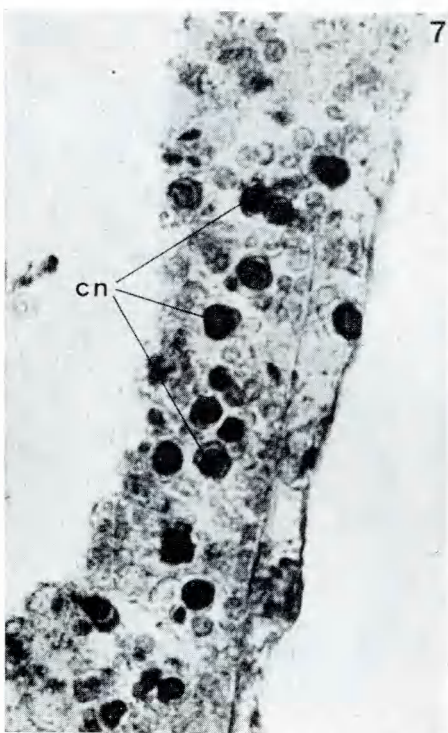
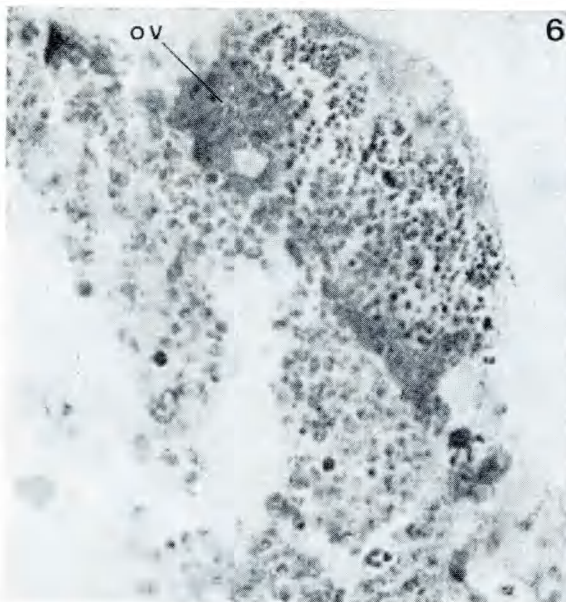
I frammenti prossimali o aborali possono accennare ad una rigenerazione tentacolare, ma non riescono a differenziare le ghiandole ipostomali. È caratteristico a questo proposito l'infossamento che si verifica a livello della bocca per la totale mancanza di ipostoma (Tav. II, fig. 8).

I dati della rigenerazione con i trattamenti con reserpina vengono semplicemente descritti e non confrontati quantitativamente con i controlli data la forte mortalità che ha ridotto la verifica morfologica e istologica a pochi esemplari.

In conclusione i trattamenti con dopamina e con un suo antagonista, la reserpina, durante la rigenerazione di *Chlorohydra viridissima* hanno dimostrato che la dopamina ha un effetto accelerante la rigenerazione nel senso di provocare un più veloce differenziamento. Questo stanno a dimostrare non soltanto la precoce formazione di soles pedali (senza interposizioni di tessuti peduncolari) o di regioni ipostomali e tentacolari, ma anche la comparsa di cnidociti ectopici (all'interno degli spermari e nella gastrodermide). Questo sta pure a dimostrare la comparsa di sessualità che è uno dei pochi «differenziamenti» di un organismo elementare a costituzione tissulare quale è il polipo di un Celenterato. I trattamenti con reserpina anche se per il momento interpretabili con cautela data l'esiguità dei dati sembrano dimostrare una azione antitetica al differenziamento, almeno per quanto riguarda la costituzione dell'*organo boccale* o *centro induttore* dell'idra, cioè dell'ipostoma (e probabilmente sotto questa luce può essere considerato l'*allungamento* peduncolare senza differenziamento pedale). Comunque da questi dati sembra emergere una dualità nella ricostituzione di quella zona che viene solitamente compresa, data la vicinanza delle strutture, in un unico complesso definibile come ipostoma-tentacoli. In realtà può essere rigenerata la porzione tentacolare in assenza di rigenerazione ipostomale (questo fatto è stato riscontrato anche con altri neuromediatori, dati non pubblicati).

La dopamina, neuromediatore filogeneticamente antico sembra inoltre influire in modo significativo sul gradiente morfogenetico settoriale di *Chlorohydra*.





SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II.

TAVOLA I.

- Fig. 1. — Abbozzo di tentacolo ectopico (*t.ec*) in un frammento aborale rigenerante di *Chlorohydra* trattato con dopamina e sezionato longitudinalmente. 300×.
- Fig. 2. — Sezione trasversale di un frammento aborale trattato con dopamina che ha rigenerato 13 tentacoli; (*ip*, ipostoma). 200×.
- Fig. 3. — Sezione longitudinale di frammento orale trattato con dopamina che ha ricostituito la suola pedale (*s.p.*) a sbarramento della colonna gastrica, senza interposizione del peduncolo. 260×.
- Fig. 4. — Sezione longitudinale di un frammento orale rigenerato, trattato con dopamina, che ha prodotto uno spermario (*spe*) ad un livello più basso del normale. 100×.

TAVOLA II.

- Fig. 5. — Sezione trasversale di frammento orale trattato con dopamina mostrante un amplissimo abbozzo spermatogenetico, avvolgente a manicotto la colonna gastrica (*spe*). 230×.
- Fig. 6. — *Ovotestis* con un grosso ovocita (*ov*) di un frammento orale trattato con dopamina. 500×.
- Fig. 7. — Particolare di colonna gastrica di un frammento aborale trattato con dopamina mostrante molti cnidociti stenoteli nella gastrodermide (*cn*). 770×.
- Fig. 8. — Sezione longitudinale di frammento aborale trattato con reserpina che non ha rigenerato l'ipostoma al di sotto della bocca (*b*), a 4 giorni dall'operazione. 290×.