

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

MARIO MILONE, CATERINA MARINELLI, MARIA  
FILOMENA CALIENDO

**Azione degli ormoni sessuali sulla attività della  
 $\beta$ -glucuronidasi nel sistema ipotalamo—ipofisario di  
Rana esculenta**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 65 (1978), n.6, p. 380–383.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1978\\_8\\_65\\_6\\_380\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1978_8_65_6_380_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/>

**Neurobiologia.** — *Azione degli ormoni sessuali sulla attività della  $\beta$ -glucuronidasi nel sistema ipotalamo-ipofisario di Rana esculenta* (\*). Nota di MARIO MILONE, CATERINA MARINELLI e MARIA FILOMENA CALIENDO, presentata (\*\*) dal Corrisp. G. CHIEFFI.

**SUMMARY.** — The influence *in vitro* of testosterone, oestradiol, cyproterone acetate and tamoxifen compound on the  $\beta$ -glucuronidase activity in the hypothalamus and pituitary of adult males and females of *Rana esculenta* was studied. As far as the effects of testosterone are concerned important sex differences were recorded only in the hypothalamic tissue. In fact this androgen stimulates hypothalamic  $\beta$ -glucuronidase in the male, whereas in the female the opposite effect was found. On the other hand oestradiol inhibits pituitary enzyme activity in the female and remains without any effect in the male. At the same time oestradiol inhibits hypothalamic enzyme activity in both sexes. These data support the hypothesis that testosterone is aromatized only in the female hypothalamus.

#### INTRODUZIONE

La  $\beta$ -glucuronidasi ( $\beta$ -GLR) è una idrolasi localizzata principalmente nei lisosomi (De Duve, 1963). Questi organelli si ritrovano in notevole quantità nel sistema ipotalamo-ipofisario (SII) (Novikoff, 1967) e svolgono un ruolo molto importante nel regolare il meccanismo d'azione degli ormoni steroidei (Levy, 1956; Szego, 1972; Weissmann, 1973; Milone e Rastogi, 1976). Spesso l'azione degli ormoni steroidei non si attua allo stesso modo sui vari organi bersaglio: essa infatti può esplicarsi sia agendo sulle membrane lisosomiali, modificando la latenza dell'enzima (Szego, 1972; Weissmann, 1969), sia attraverso il controllo genico della biosintesi della  $\beta$ -GLR (Ohno *et al.*, 1971). Questi autori, inoltre, ipotizzano che l'androgeno-dipendenza della  $\beta$ -GLR sia importante nei meccanismi del differenziamento sessuale.

Pertanto, tenendo presenti le modificazioni del tasso plasmatico degli ormoni sessuali e quelle dell'enzima nel ciclo annuale del maschio e della femmina di *Rana esculenta* (d'Istria *et al.*, 1974), abbiamo studiato l'azione *in vitro* di questi ormoni sull'attività della  $\beta$ -GLR sul SII di rane adulte, sia maschi che femmine.

#### MATERIALI E METODI

Sono stati usati maschi e femmine adulti di *Rana esculenta*, raccolti nei dintorni di Napoli nei mesi di dicembre e gennaio, periodi in cui i livelli della  $\beta$ -GLR sono piuttosto costanti (Milone *et al.*, 1975). Gli animali sono stati

(\*) Lavoro eseguito con un contributo del Population Council N.Y.

(\*\*) Nella seduta del 16 dicembre 1978.

sacrificati per decapitazione ed è stata prelevata la *pars distalis* e l'ipotalamo (dall'area preottica all'eminenza mediana). Il materiale veniva pesato e utilizzato in pool, omogeneizzandolo in H<sub>2</sub>O deionizzata a 4 °C con Politron PT 10-35. La  $\beta$ -GLR era determinata secondo il metodo di Lin e Fishman (1972), utilizzando 25  $\mu$ l di omogenato. Alla miscela d'incubazione veniva aggiunta la concentrazione desiderata dell'ormone (vedi fig. 1) e susseguentemente incubata per 30' a 37 °C. La reazione veniva bloccata con buffer glicina-NaOH 0,5 M a pH 10.5. Le letture erano eseguite con uno spettrofotometro Beckman DB-G a 500 nm. Venivano eseguite anche incubazioni di controllo in assenza dell'ormone o di substrato. L'attività dell'enzima era espressa in nmoli di fenoltaleina liberata/ $\mu$ g proteine/min. Sono stati utilizzati testosterone (T) e 17  $\beta$ -estradiolo (E) come ormoni e i rispettivi antiormoni, quali l'acetato di ciproterone (CPA) (per gentile concessione della Schering, Berlino) e il Tamoxifen Compound (ICI 46474) (per gentile concessione dell'ICI, Inghilterra).

Le proteine erano determinate secondo il metodo di Lowry *et al.* (1951).

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella fig. 1 si può osservare come il T e l'E abbiano un'azione diversa sui tessuti ipotalamici ed ipofisari del maschio e della femmina di *Rana esculenta*.

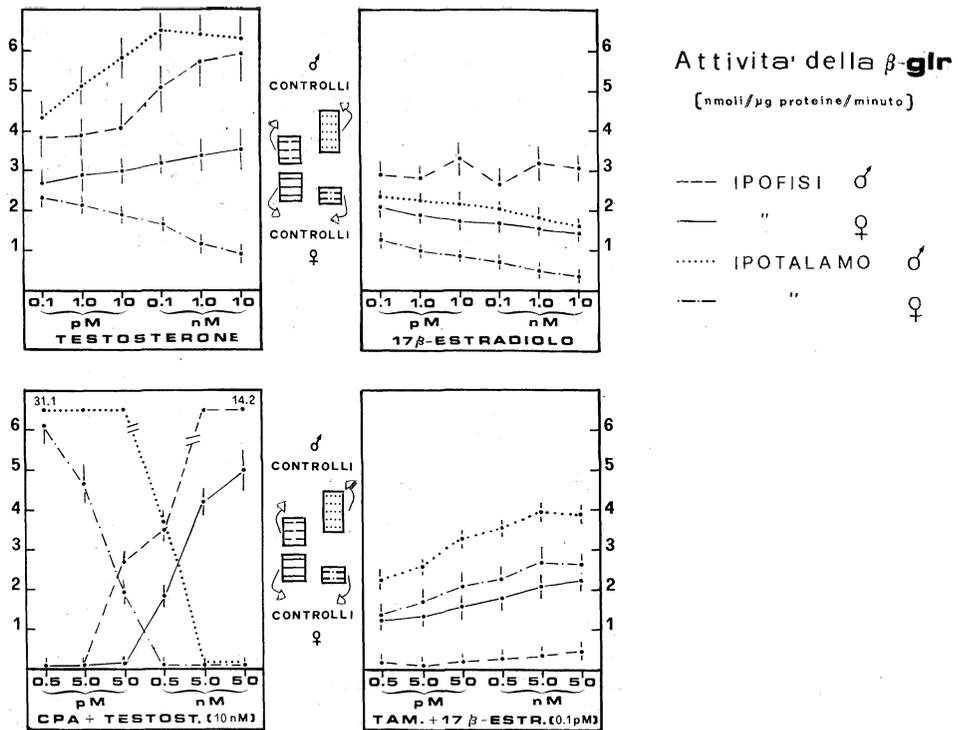
Il T stimola l'attività della  $\beta$ -GLR nell'ipofisi del maschio solo alle dosi più alte. Nelle femmine la stimolazione è meno marcata. Nei maschi l'E non manifesta alcun effetto, mentre nelle femmine provoca un'inibizione dell'attività enzimatica ipofisaria.

Per quanto concerne l'ipotalamo, nel maschio si osserva una stimolazione della attività enzimatica da parte del T e un'inibizione da parte dell'E. Nell'ipotalamo della femmina, sia il T sia l'E, esplicano un'azione inibente sulla  $\beta$ -GLR.

L'uso di una sostanza antiestrogenica come l'ICI 46474, conferma l'effetto inibente dell'E sull'attività dell'enzima nel SII della femmina e nell'ipotalamo del maschio. Nell'ipofisi del maschio si potrebbe supporre che l'E possa avere un'azione di sostegno dell'attività della  $\beta$ -GLR, dato che essa viene a mancare con la somministrazione dell'antiormone.

Il CPA non si comporta solo da antiandrogeno, in quanto nel SII della femmina si osserva un'azione sinandrogenica (Mowszowicz *et al.*, 1974) alle alte concentrazioni e antiandrogenica alle basse. Lo stesso capita per l'attività della  $\beta$ -GLR nell'ipofisi del maschio. A livello ipotalamico, invece, notiamo il fenomeno inverso, poiché c'è una elevata attività sinandrogenica alle concentrazioni più basse e una altrettanto forte attività antiandrogenica alle alte.

Tali risultati avvalorano l'ipotesi fatta anche da altri ricercatori (Ide e Fishman, 1969; Iela *et al.*, 1974; Milone e Rastogi, 1976) sull'androgeno-dipendenza della  $\beta$ -GLR nel SII. Nel topo e nel ratto (Levy, 1956; Szego, 1976) è stato osservato che l'attività dell'enzima negli organi sessuali secondari è sotto controllo estrogenico nella femmina e androgenico nel maschio. In



*Rana esculenta* nel SII, osserviamo un'azione antagonista dei due ormoni, indipendentemente dal sesso.

Interessanti differenze invece esistono tra i due sessi a livello ipotalamico. Infatti la  $\beta$ -GLR viene stimolata dal T nel maschio e inibita nella femmina, mentre l'E manifesta un'azione inibente in ambedue i sessi. L'effetto simile del T e dell'E nell'ipotalamo della femmina può farci supporre, tra l'altro, un'eventuale aromatizzazione del T in quest'organo.

Infine, sembra interessante notare che in *Rana*, a differenza del topo e del ratto, anche l'ormone eterosessuale esplica un'azione sul SII almeno per quanto riguarda la  $\beta$ -GLR.

#### BIBLIOGRAFIA

- DE DUVE C. (1963) - « Scient. Amer. », 208, 64.  
 D'ISTRIA M., DELRIO G., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1974) - « Ster. Lip. Res. », 5, 42.  
 IDE H. e FISHMANN W. H. (1969) - « Histochemie », 20, 300.  
 IELA L., MILONE M. e RASTOGI R. K. (1974) - « Experientia », 30, 868.  
 LEVY C. A. (1965) - « Vitamins and hormones », 14, 267.  
 LIN C. W. e FISHMANN W. H. (1972) - « J. Histochem. Cytochem. », 20/7, 487, 498.  
 LOWRY O. H., ROSEBROUGH J. N. e RANDALL J. R. (1951) - « J. Biol. Chem. », 193, 256.  
 MILONE M. e RASTOGI R. K. (1976) - « Gen. Comp. End. », 29, 275.

- MILONE M., RASTOGI R. K. e IELA L. (1975) - « Gen. Comp. End. », 26, 107.
- MOWSZOWICZ J., BIBIER E. D., CHUNG K. W. e BULLOCK D. P. (1974) - « Endocrinology », 95, 1598.
- NOVIKOFF A. B. (1967) - « The neuron », 255, H. Hyden (Ed.) N.Y. Elsevier Publ. Co..
- OHNO S., TETTENBORN U. e DOFUKU R. (1971) - « Hereditas », 69, 107.
- SZEGO C. M. (1972) - « Gyn. Inv. », 63, 95.
- WEISSMANN G. (1969) - « Lysosomes in biology and pathology », 1, 267, N. Holland Publ., Amsterdam.