

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXV, serie 6^a, 1^o sem., fasc. 7. - Roma, aprile 1937-xv

Contributo allo studio della pelle degli Anuri
durante la metamorfosi

NOTA

DI

MARIA ROMANO



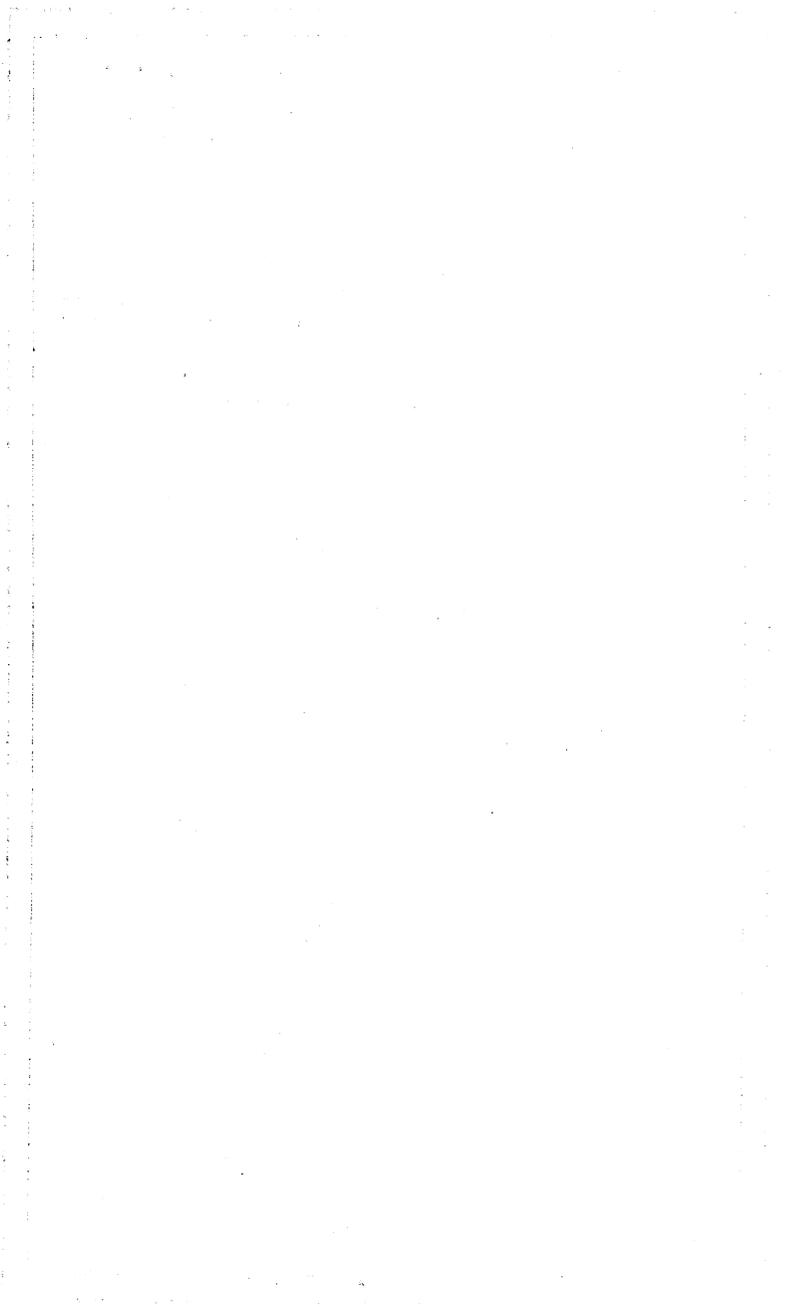
lib.
B
57
—
70

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1937-xv



Biologia. — *Contributo allo studio della pelle degli Anuri durante la metamorfosi* ⁽¹⁾. Nota di MARIA ROMANO, presentata ⁽²⁾ dal Socio A. GHIGLI.

Nel corso di mie precedenti ricerche sulla metamorfosi degli Anuri, ebbi occasione di seguire il comportamento della pelle in seguito all'azione della tiroide, comportamento che mi sembrò discordante in alcuni punti con le osservazioni di precedenti AA.

Per questo, e per mettere in evidenza fatti che non erano stati presi in considerazione nelle ricerche dei precedenti AA., ho intrapreso uno studio più accurato del tegumento degli Anuri in metamorfosi, limitandomi per ora al solo *Bufo vulgaris*.

Riassumo qui brevemente lo stato attuale delle conoscenze sul tegumento degli Anfibi e la struttura normale della pelle di girino.

La pelle degli Anuri allo stato larvale (intendo con questo termine, come la maggior parte degli altri AA., la condizione dell'individuo dalla schiusa dell'uovo fino all'inizio della metamorfosi) è costituita dall'*epidermide* e del *derma*. Nell'*epidermide* si possono distinguere due strati di cellule epiteliali prismatiche o cubiche: allo strato superiore si dà generalmente il nome di strato corneo e all'inferiore di strato germinativo, sebbene lo strato superiore non sia ancora qui corneificato e presenti un'attività mitotica assai maggiore di quella dello strato più profondo « germinativo ».

Le cellule dello strato corneo derivano dalle cellule ciliate che ricoprono parte della superficie del corpo nelle larve giovanissime, e sono sempre appiattite, con una lamina di ricoprimento chiamata anche « strato cuticolare ». Oltre a queste cellule epiteliali comuni si trovano anche cellule speciali (*Stiftzellen*) che furono variamente interpretate come organi di senso o come organi di secrezione, paragonabili forse alle cellule di Leydig degli Urodeli (Leydig, Mitrophanov) ⁽³⁾. La comparsa di altri strati nell'*epidermide*, comincia nella Rana (Bolk) ⁽⁴⁾ nello stadio in cui le estremità posteriori sono visibili come piccole protuberanze.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia, Anatomia e Fisiologia comparate della R. Università di Padova.

(2) Nella seduta del 4 aprile 1937.

(3) LEYDIG, MITROPHANOV, citati da Bolk ecc.

(4) BOLK, GÖPPERT, KALLIUS, LUBOSCH, *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere*. I. Band, 1931.

Il derma appare sotto l'epidermide come uno strato di tessuto connettivale denso non vascolarizzato, composto, nelle giovani larve, di due strati. In seguito, nel derma si differenzia anche lo strato intermedio (Bolk).

Negli Urodeli la pelle larvale differisce da quella degli Anuri per la presenza delle cellule di Leydig nello strato germinativo. Sono queste, cellule rotondeggianti allungate, con granulazioni e strutture diverse nelle singole specie, che si trovano in grande abbondanza in alcune regioni del corpo. La loro funzione non è ancora perfettamente nota, ma l'opinione più diffusa è che abbiano funzione escretoria e contribuiscano forse alla permeabilità dell'epidermide (Whipple) ⁽¹⁾.

STRUTTURA NORMALE DELLA PELLE DOPO LA METAMORFOSI. — Verso la fine del periodo larvale l'epidermide assume la caratteristica struttura di un epitelio piatto e lo spessore di tutta la pelle dipende più dalla grandezza delle cellule che dal numero degli strati.

Lo strato corneo ha scarso spessore e si distingue dalle zone più profonde per il diverso potere di rifrazione; i nuclei appiattiti sono a forma di disco e vi è un addensamento di cromatofori. Lo strato germinativo, costituito di un numero variabile di strati, consta di cellule a citoplasma con struttura finemente fibrillare. Nel derma ai due primi strati si viene ad interporre un terzo strato o strato intermedio, cosicchè in esso si possono distinguere, a partire dall'alto: 1° uno strato molto sottile di tessuto connettivale a lamelle, detto « lamella limitante » (*Grenzlamelle*); 2° uno strato sottostante lasso nel quale sono situate ghiandole pluricellulari, capillari, e che ha spessore variabile a seconda della grandezza delle ghiandole; 3° uno strato compatto formato di lamelle connettivali riunite in fasci con funzione meccanica di sostegno. Le ghiandole pluricellulari (ghiandole acinose) si originano verso la fine del periodo premetamorfico come abbozzi presso a poco sferici formati da sei o sette nuclei strettamente ravvicinati nella parte più profonda dell'epidermide. In seguito s'ingrandiscono e s'approfondano subito nel derma oltrepassando la lamina limitante e portandosi nello strato intermedio spingendo in giù il corio compatto (Bolk, Göppert).

In conclusione l'inizio della metamorfosi può essere indicato per gli Anuri dal sorgere dello strato corneo nell'epidermide, dalla formazione dello strato intermedio del derma ed infine dalla comparsa delle ghiandole pluricellulari nello strato lasso del derma.

Negli Urodeli la pelle di adulto si distingue facilmente dal tegumento larvale per l'assenza assoluta delle cellule di Leydig e la formazione di ghiandole pluricellulari acinose paragonabili a quelle degli Anuri (Whipple, Noble) ⁽²⁾.

(1) J. H. WHIPPLE WILDER, *The Morphology of Amphibian metamorphosis*. Smith College Northampton Mass., 1925.

(2) G. NOBLE KINGSLEY, *The Biology of Amphibia*. Mc Graw, New-York, 1931.

DESCRIZIONE DEGLI STADI. — Nel corso del mio lavoro ho voluto stabilire il momento in cui la pelle larvale si trasforma in pelle definitiva di adulto, ho cercato cioè di determinare il momento della metamorfosi della pelle nella cronologia del più vasto fenomeno della metamorfosi dell'individuo, anche perchè non mi risulta che tale cronologia sia stata con precisione stabilita da altri AA.

A tale scopo ho fissato e preparato una serie completa di girini di *Bufo vulgaris*, provenienti tutti da un'unica deposizione, ed ho studiato l'istologia della pelle nei vari individui riferendomi, per la cronologia, agli stadi adottati da Schreiber ⁽¹⁾ per questa specie ⁽²⁾.

L'altro carattere che definisce la metamorfosi della pelle, cioè lo strato corneo, appare fra il sesto ed il settimo stadio e la corneificazione risulta completa ed ultimata (nuclei tangenziali, lieve addensamento uniforme nello strato esterno e desquamazione a lamelle) alla fine del settimo (fig. 3 e 4). Trovo conferma di questa mia osservazione nel lavoro di Etkin ⁽³⁾ in cui è dimostrato che proprio la muta della pelle caratterizza l'ottavo stadio della metamorfosi nella serie cronologica stabilita per la *Rana Catesbeiana*.

Valendomi dei risultati delle mie precedenti ricerche sulle metamorfosi dell'occhio, nel *Bufo*, ho ritenuto interessante confrontare la metamorfosi delle singole parti dell'occhio con quella dei diversi strati della pelle. Ho osservato che il cristallino inizia la metamorfosi entro lo stadio 1 quando la pelle mantiene ancora tutti i caratteri larvali, mentre la cornea si metamorfosa nello stadio 2 quando nel derma appaiono le ghiandole pluricellulari. Inoltre ho notato che le ghiandole lacrimali compaiono nello stesso tempo delle ghiandole pluricellulari della pelle, cioè anch'esse nello stadio 2, confermando con ciò la tesi di Sardemann ⁽⁴⁾ sull'origine comune delle ghiandole lacrimali e delle ghiandole cutanee dall'ectoderma.

METAMORFOSI ACCELERATA. — Sul comportamento della pelle all'azione della tiroide nella metamorfosi accelerata artificialmente, Giacomini (1916) ⁽⁵⁾

(1) G. SCHREIBER, « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », 1937.

(2) G. SCHREIBER, ha fissato per la metamorfosi di *Bufo* otto stadi basati sulle modificazioni morfologiche esterne. Lo stadio 2 è definito « stadio della scomparsa del tubo anale » ed ha inizio al momento in cui si nota il riassorbimento del tubo anale, con cui coincide la formazione della regione anale definitiva, con la delimitazione della regione perineale e la formazione della coscia di tipo adulto. Durante questo stadio si hanno altre manifestazioni metamorfiche di grande importanza morfogenetica come per esempio modificazioni boccali nonché l'inizio delle modificazioni del tubo digerente che danno al girino la caratteristica riduzione dell'addome. Lo stadio 2 termina con l'apparizione del primo arto anteriore. I primi segni della metamorfosi della pelle compaiono verso la fine dello stadio 1 con l'inizio della formazione delle ghiandole pluricellulari che nello stadio 2 appaiono perfettamente formate. (Vedi figg. 1 e 2).

(3) W. ETKIN, « Physiological Zoology », 1932.

(4) SARDEMANN, « Zool. Anzeig. », VII, 1884, p. 569.

(5) E. GIACOMINI, « R. Accad. Scienze Ist. Bologna », XX, pp. 25, Bologna, 1925

ha osservato che l'epidermide nei piccoli girini metamorfosati diviene costituita di più strati di cellule e mostra già lo strato corneo. Inoltre cominciano a svilupparsi le ghiandole cutanee le quali si mostrano, sebbene piccole, già formate e provviste di lume, in corrispondenza della testa.

Champy (1922) ⁽¹⁾ ha notato un'attiva moltiplicazione in certe determinate zone della pelle ed ha stabilito un rapporto fra il numero delle cellule in mitosi e il numero delle cellule in riposo, che ha chiamato « coefficiente mitotico ».

Drzewichi (1924) ⁽²⁾ tiroidizzando girini di 60 mm. con zampe posteriori di 5 mm., ha ottenuto la metamorfosi completa della pelle, mentre altri organi non avevano reagito ed ha concluso che la metamorfosi della pelle è indipendente da quella degli altri organi e la precede perchè essa diviene più presto sensibile all'azione dell'ormone della ghiandola tiroide.

Schulze (1924) ⁽³⁾ ha notato negli animali ipertiroidici o tiroidizzati una moltiplicazione degli strati dell'epidermide con grande ricchezza di ghiandole, ed invece scarso accrescimento degli strati del derma, mettendo questo fatto in relazione con la diversa origine di queste parti del tegumento: nell'ipertiroidici continuano a svilupparsi i derivati dell'ectoderma (epidermide e ghiandole pluricellulari) mentre si arresta lo sviluppo dei derivati del mesoderma (corio).

Alphonse e Baumann (1934) ⁽⁴⁾ tiroidizzando giovani girini di *Bufo vulgaris* non riscontrarono, invece, nessuna reazione nella pelle che si sarebbe mantenuta allo stato larvale, in contraddizione con le osservazioni di Drzewichi il quale però ha sperimentato su *Pelobates*.

La mancata reattività della pelle alla tiroidizzazione, viene considerata da questi AA. in relazione alla dose dell'ormone e all'età dei girini su cui le esperienze vennero compiute (appena riassorbite le branchie esterne).

* * *

Per lo studio della metamorfosi accelerata ho usato il metodo di tiroidizzare con iniezioni di tiroxina (per la tecnica v. Schreiber ⁽⁵⁾ 1933) individui prelevati ad intervalli regolari, che venivano dopo una decina di giorni sacrificati e studiati istologicamente con i controlli.

Le osservazioni sul tegumento (anche per la metamorfosi normale) furono fatte sempre su una medesima regione, la regione fra gli occhi,

(1) CH. CHAMPY, *L'Action de l'extrait thyroïdien sur la multiplication cellulaire*. Doin, Paris, 1922.

(2) DRZEWICHI, « C. R. Soc. Biol. », to. I, p. 1364, 1924.

(3) W. SCHULZE, « Roux Arch. », B. 101, 1924.

(4) P. ALPHONSE et G. BAUMANN, « C. R. S. de Biol. », CXVII, 1934; *Id.*, « C. R. S. de Biol. », CXIII, 1933.

(5) G. SCHREIBER, « Boll. Soc. It. Biol. Sperim. », vol. VIII, 1933.

tenendo conto del fatto già ricordato da Drzewichi, che la pelle non reagisce in tutte le zone egualmente all'ormone tiroideo e che la regione suddetta è la prima a modificarsi.

I girini tiroidizzati [a 13 giorni dalla nascita (29 *b*, fig. 6 e 7) privo di arti] e fissati dopo 14 giorni dal trattamento, mostrano la pelle completamente metamorfosata, con il derma abbastanza spesso, contenente numerose ghiandole acinose pluricellulari ed epidermide a pochi strati ma con lo strato corneo. — Il controllo presenta la pelle allo stato perfettamente larvale. — Ho notato che lo strato corneo di questo individuo tiroidizzato ha un aspetto nettamente diverso dallo strato corneo di individui in metamorfosi naturale; in questi, infatti, la pelle si desquama a lembi che comprendono più cellule in lunghezza e che si staccano quando lo strato sottostante (strato di sostituzione) ha già iniziato la corneificazione; nell'individuo tiroidizzato, invece, ogni scaglietta che si distacca comprende una singola cellula di cui forma una specie di cappuccio e lo strato di sostituzione non sembra corneificato.

Si ha l'impressione che, per la tiroidizzazione manchi il tempo ad una lenta corneificazione e che le lamelle si distacchino sulle singole cellule, appena avvenuta la degenerazione cornea.

Le ghiandole pluricellulari, al contrario, risultano conformate nello stesso modo e composte di un egual numero di cellule sia negli individui metamorfosati normalmente che in quelli tiroidizzati (1).

CONCLUSIONE. — Ho tentato in questa mia Nota di stabilire una cronologia di fenomeni nella metamorfosi della pelle ed ho visto che l'inizio di questo episodio si può fissare nel 2° stadio o alla fine del 1°.

Nella metamorfosi della pelle le prime ad apparire in ordine di tempo, sono le ghiandole pluricellulari e solo in stato molto più avanzato (stadio 7) appare lo strato corneo. È interessante notare che questo fatto ci permette di interpretare la struttura della pelle negli Anfibi neotenici. Infatti nella pelle di Proteo si trovano ghiandole pluricellulari contemporaneamente alle cellule di Leydig ma non lo strato corneo.

Nella metamorfosi normale dell'occhio, la metamorfosi del cristallino precede quella della cornea; nella metamorfosi accelerata queste parti si metamorfosano contemporaneamente. Però il cristallino non ha il tempo per compiere il suo completo differenziamento, per cui appare, relativamente alla cornea, ancora larvale.

(1) In altre regioni del corpo, p. es. negli abbozzi degli arti, del girino tiroidizzato si ha invece la formazione dello strato corneo normale con la presenza anche dello strato di sostituzione, mentre l'epidermide non è ancora così differenziata come nella regione fra gli occhi sopra descritta.

Lo studio del comportamento di queste varie regioni sarà oggetto di una Nota successiva.

Nella pelle vediamo accadere un fenomeno analogo, la formazione delle ghiandole precede nella metamorfosi normale, quella dello strato corneo; invece nella metamorfosi accelerata tutti e due i fenomeni morfogenetici compaiono contemporaneamente. Inoltre lo strato corneo non ha il tempo di costituirsi normalmente e la desquamazione avviene disordinatamente senza costituire un lembo corneo continuo (desquamazione cellulare).

54670





Fig. 1



Fig. 2

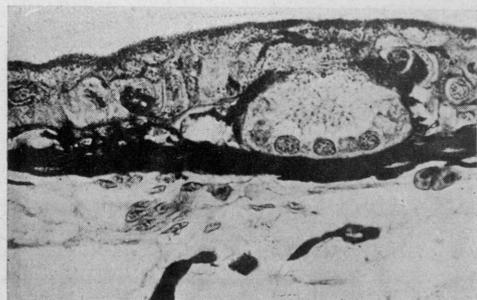


Fig 3

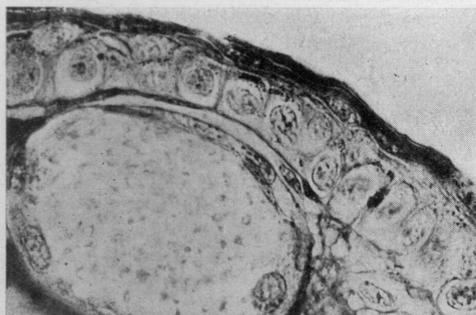


Fig. 4

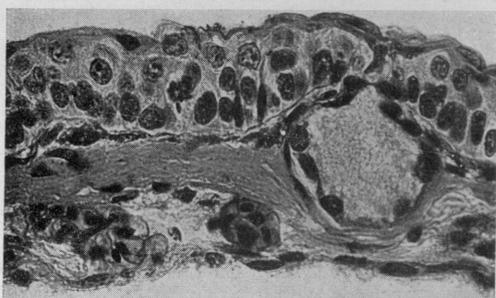


Fig. 5

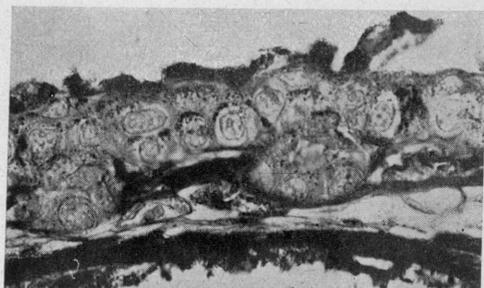


Fig 6

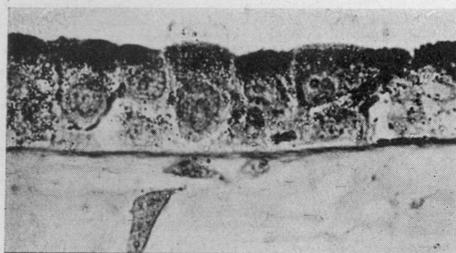


Fig. 7

Fig. 1: Pelle di girino (28 b). Si nota l'epidermide bistratificata ed il derma rappresentato da una sottile lamella. Addensamento di pigmento verso il bordo esterno. - Fig. 2: Stadio 2 (45 a). È visibile una ghiandola pluricellulare già approfondita nel derma. - Fig. 3: Stadio 3 (5 c). Epidermide pluristratificata, derma molto più spesso con una grossa ghiandola. Inizio della corneificazione. - Fig. 4: Stadio 7 (VIII). Si nota lo strato corneo perfettamente formato (strato di sostituzione sottostante) con lamelle che sono in via di desquamazione. Nel derma la "Grenzlamelle" che limita superiormente la ghiandola. - Fig. 5: Pelle di Anuro adulto. - Fig. 6: Individuo firoidizzato (29). Pelle con strato corneo a desquamazione cellulare; ghiandole pluricellulari. - Fig. 7: Controllo della Fig. 6; Pelle perfettamente larvale (vedi Fig. 1).

Tutti i preparati sono colorati con la Mallory.

~~318176~~

