
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

BRUNO VARRIALE, MARIO MILONE, GIOVANNI CHIEFFI

**Effetto della castrazione e dell'ipofisectomia sul
quadro elettroforetico delle proteine dei corpi gialli
del maschio di *Rana esculenta***

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 68 (1980), n.3, p. 217-222.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1980_8_68_3_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Fisiologia. — *Effetto della castrazione e dell'ipofisectomia sul quadro elettroforetico delle proteine dei corpi gialli del maschio di Rana esculenta* (*). Nota di BRUNO VARRIALE, MARIO MILONE e GIOVANNI CHIEFFI, presentata (**) dal Corrisp. G. CHIEFFI.

SUMMARY. — Electrophoretic patterns of proteins of the fat bodies of normal, castrated and hypophysectomized males of *Rana esculenta* were studied. Castration and hypophysectomy differently influence bands "2", "3", "4", "5". Bands "4" and "5" are androgen-dependent. These variations have been discussed in relation to the reproductive phenomena.

INTRODUZIONE

I corpi gialli (CG) sono degli organi adiposi situati, negli Anfibi, cefalicamente alle gonadi. La loro asportazione causa l'atrofia del testicolo e il blocco della spermatogenesi (Adams e Rae, 1929; Chieffi *et al.*, 1975). Chieffi *et al.*, (1975) hanno inoltre dimostrato che i CG, almeno nel maschio di *Rana esculenta*, si inseriscono nell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi.

Le modificazioni annuali delle proteine (Iela *et al.*, 1979) e del loro profilo elettroforetico nei CG del maschio di *Rana esculenta* (Milone *et al.*, 1978) seguono le variazioni del tasso plasmatico degli ormoni sessuali durante il ciclo riproduttivo (d'Istria *et al.*, 1974).

Pertanto abbiamo studiato il quadro elettroforetico delle proteine dei CG di animali castrati e ipofisectomizzati al fine di approfondire le modalità del meccanismo di controllo della frazione proteica ad opera dell'ipofisi e del testicolo.

MATERIALI E METODI

I CG sono stati prelevati da maschi adulti di *Rana esculenta*, catturati nei dintorni di Napoli nei mesi di settembre e marzo.

Gli animali (circa 1000) sono stati divisi in 12 gruppi

- gruppo 1* catturati e sacrificati a settembre (fig. 1);
- gruppo 2* catturati a settembre e sacrificati a marzo (fig. 2);
- gruppo 3* catturati e sacrificati a marzo (fig. 3);
- gruppo 4* catturati a marzo e sacrificati ad aprile (fig. 4);

(*) Lavoro eseguito nell'ambito del Progetto finalizzato del C.N.R. «Biologia della Riproduzione».

(**) Nella seduta dell'8 marzo 1980.

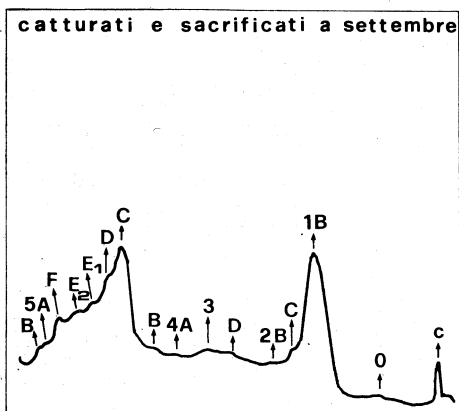


fig.1

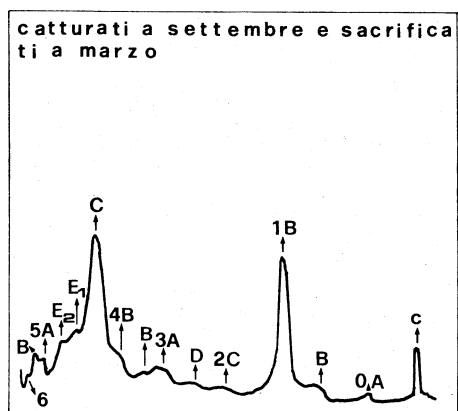


fig.2

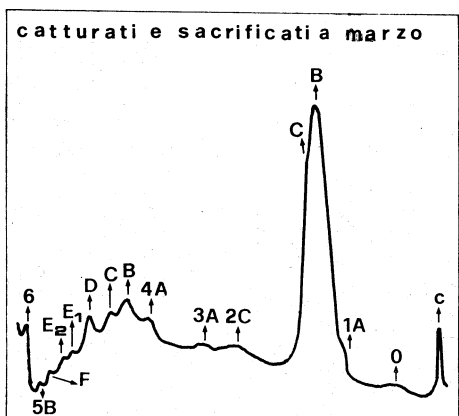


fig.3

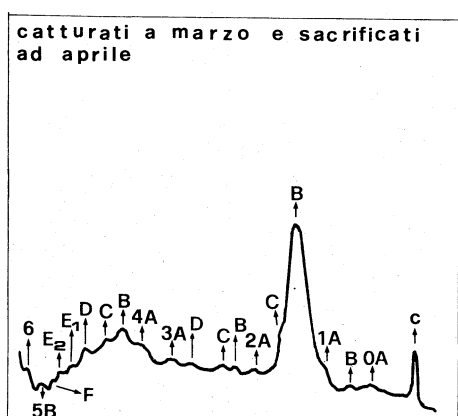


fig.4

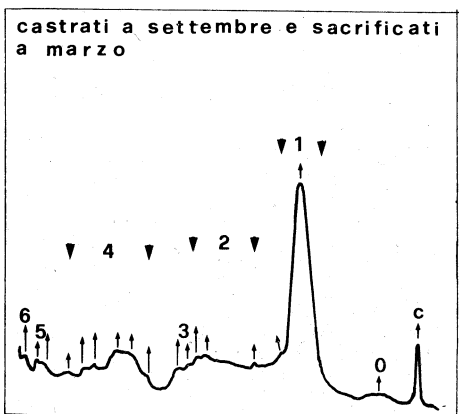


fig.5

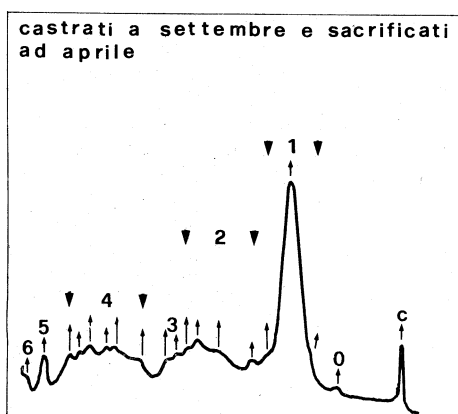


fig.6

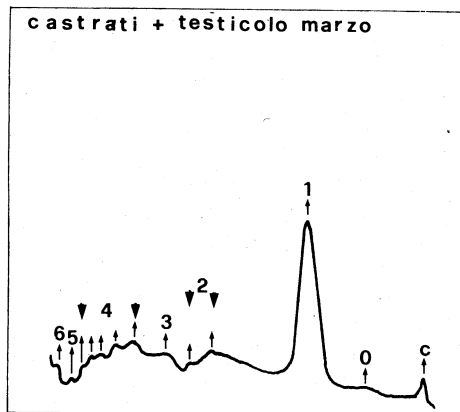


fig.7

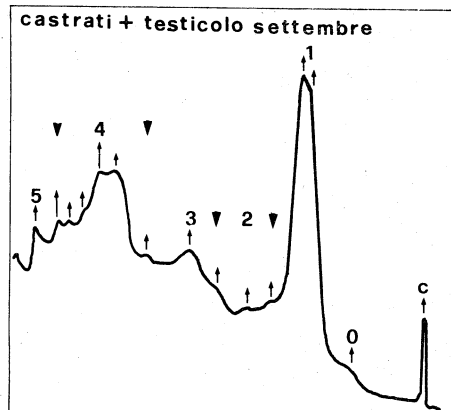


fig.8

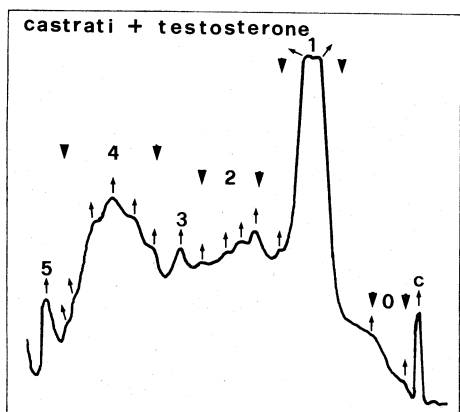


fig.9

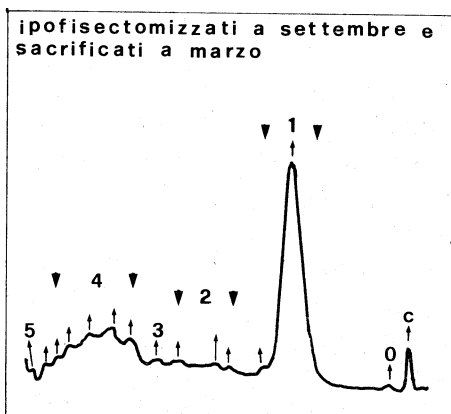


fig.10

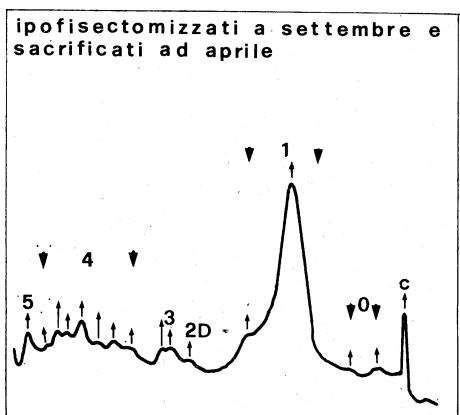


fig.11

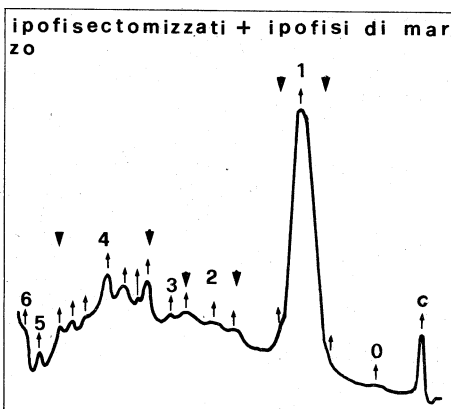


fig.12

- gruppo* 5 castrati a settembre e sacrificati a marzo (fig. 5);
gruppo 6 castrati a settembre e sacrificati ad aprile (fig. 6);
gruppo 7 castrati a settembre, trattati con omogenato di testicolo di marzo (4×1 testicolo/rana/settimana) e sacrificati ad aprile (fig. 7);
gruppo 8 castrati a settembre, trattati con omogenato di testicolo di settembre (4×1 testicolo/rana/settimana) e sacrificati a marzo (fig. 8);
gruppo 9 castrati a settembre, trattati con testosterone (4×25 mg/rana/settimana) e sacrificati a marzo (fig. 9);
gruppo 10 ipofisectomizzati a settembre e sacrificati a marzo (fig. 10);
gruppo 11 ipofisectomizzati a settembre e sacrificati ad aprile (fig. 11);
gruppo 12 ipofisectomizzati a settembre, trattati con omogenato di ipofisi di marzo (4×1/2 ipofisi/rana/settimana) e sacrificati ad aprile (fig. 12).

Gli omogenati di testicolo, di ipofisi e il testosterone sono stati somministrati per via intraperitoneale.

Una volta sacrificati gli animali, le proteine totali dei CG sono state determinate col metodo di Lowry *et al.*, (1951) usando il supernatante di un omogenato centrifugato a 3.000 rpm per 20'.

Il frazionamento delle proteine è stato ottenuto mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide (PAGE) secondo il procedimento di Davis (1964). La quantità di proteine totali seminate sul gel di corsa (7,5 %) preparato in tubo di vetro di cm 10×0,7 Ø era di circa 300 µg. È stato usato blu di bromofenolo quale indicatore di corsa. È stata fatta una precorsa di 15' fornendo all'alimentatore (Pharmacia EPS 500/400) una corrente di intensità pari a 1 mA per tubo. La corsa è stata effettuata a 4 °C. A corsa completa (circa 2 h) i gels venivano colorati con Amido-Schwarz (500 mg in 7 % di acido acetico con 2% di TCA) per 15', quindi decolorati in acido acetico al 7 %. Una volta decolorati, i tubi venivano letti al densitometro (CGA-Cellomatic) per misurare l'intensità delle varie bande.

L'Rf è stato calcolato secondo la formula:

$$\frac{\text{lunghezza del gel prima della colorazione}}{\text{lunghezza del gel dopo la colorazione}} \times \frac{\text{distanza banda proteica}}{\text{distanza del colorante}}$$

RISULTATI E DISCUSSIONE

In una nostra precedente nota (Milone *et al.*, 1978) avevamo osservato una serie di variazioni del profilo elettroforetico dei CG del maschio di *Rana esculenta* in differenti mesi dell'anno. Era stata anche ipotizzata la possibilità che esperimenti di ipofisectomia e castrazione potevano essere in grado di chiarire il significato delle modificazioni osservate.

Gli esperimenti condotti secondo questa ipotesi di lavoro ci hanno portato a riconoscere non solo le 5 serie di bande precedentemente individuate ma, con un miglioramento delle tecniche elettroforetiche, è stato possibile individuare altre due serie, "0" e "6", oltre a ottenere una migliore risoluzione degli altri gruppi. Pertanto nel migliore dei casi è stato possibile individuare le seguenti bande: "0A", "0B", "1A", "1B", "1C", "2A", "2B", "2C", "2D", "3A", "3B", "4A", "4B", "4C", "4D", "4E₁", "4E₂", "4F", "5A", "5B", "6".

La castrazione esercita un effetto inibitorio prevalentemente sulle serie di bande "4" e "5", mentre si ha una stimolazione quantitativa e qualitativa a carico delle serie di bande "2" e "3". Il trattamento con testosterone (gruppo 9, fig. 9) ripristina, sebbene in modo anormale, il quadro normale di settembre (gruppo 1, fig. 1) e probabilmente ciò è dovuto alla dose farmacologica utilizzata. È in questo gruppo che osserviamo la presenza di quasi tutte le serie di bande; mancano solo le bande "3B", "5A", e "6". Invece, il trattamento con omogenato di testicolo porta a dei risultati differenti a seconda se si utilizzano omogenati di testicoli di settembre (gruppo 8, fig. 8) o di marzo (gruppo 7, fig. 7). Infatti, nel primo caso il profilo diviene praticamente indistinguibile da quello dei controlli catturati e sacrificati a settembre, se si eccettuano degli aumenti a carico delle bande "3A", "4A" e "5B". Nel secondo caso la somministrazione dell'omogenato del testicolo di marzo non sembra modificare il profilo del castrato (gruppo 5, fig. 5). Sembrerebbe, quindi, che il testicolo di marzo sia già privo di quei fattori capaci di modificare il profilo proteico dei CG.

La cattività non sembra esercitare modificazioni rilevanti.

L'ipofisectomia provoca una variazione quantitativa e qualitativa a carico delle serie di bande "2", "4" e "5" come è facilmente riscontrabile osservando il profilo elettroforetico dei CG di animali trattati con omogenato di ipofisi (gruppo 12, fig. 12). Tale profilo è quasi uguale a quello delle rane catturate a marzo (gruppo 3, fig. 3). Probabilmente non abbiamo un ripristino del quadro tipico di settembre in quanto abbiamo utilizzato omogenato di ipofisi di marzo. Osserviamo tuttavia una discriminazione di bande molto elevata, il che potrebbe attribuirsi anche all'eterogeneità dei fattori ipofisari iniettati. Comunque, dai risultati ottenuti, possiamo supporre che l'azione ipofisaria venga mediata almeno dal testicolo. Una migliore risoluzione delle bande "0" e "6" si attua di solito in quei gruppi dove presupponiamo una carenza di androgeni.

Non abbiamo riscontrato modificazioni a carico della serie "2" come avevamo ipotizzato nel nostro precedente lavoro (Milone *et al.*, 1978) e che ora osserviamo solo nelle serie "4" e "5". Quindi la castrazione e l'ipofisectomia ci permettono effettivamente di correlare le variazioni annuali del tasso plasmatico degli androgeni (d'Istria *et al.*, 1974) con alcune modificazioni (serie "2", "3", "4" e "5") del profilo elettroforetico delle proteine dei CG di *Rana esculenta*.

Pertanto è da ritenersi che le serie di bande "2", "3", "4" e "5" interessate dalle predette variazioni siano androgeno-dipendenti. Alcune differenze di interpretazione con i dati del nostro precedente lavoro (Milone *et al.*, 1978) possono essere dovute allo sfasamento, di anno in anno, del ciclo riproduttivo.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS A. E. e RAE E. E. (1929) - «Anat. Rec.», 41, 181.
CHIEFFI G., RASTOGI R. K., IELA L. e MILONE M. (1975) - «Cell Tiss. Res.», 161, 157.
DAVIS B. J. (1964) - «Ann. N. Y. Acad. Sci.», 121, 404.
D'ISTRIA M., DELRIO G., BOTTE V. e CHIEFFI G. (1974) - «Steroids Lipids Res.», 5, 42.
IELA L., MILONE M., CALIENDO M. E., RASTOGI R. K. e CHIEFFI G. (1979) - «Boll. Zool.», 41, 11.
LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L. e RANDALL R. J. (1951) - «J. Biol. Chem.», 195, 265.
MILONE M., IELA L., ESPOSITO V., RASTOGI R. K. e CHIEFFI G. (1978) - «J. Endocrinology», 78, 165.
MILONE M., GRECO M., CRIMI A. e CHIEFFI G. (1978) - «Atti Acc. Naz. Lincei Rend. Sc. Fis. Mat. Nat.», 64, 322.