

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

ALBERTO STEFANELLI, SILVIA CARAVITA

## La evoluzione del proacrosoma di *Cavia* studiata con il microscopio elettronico

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.5, p.  
614–618.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1962\\_8\\_32\\_5\\_614\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_5_614_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.** — *La evoluzione del proacrosoma di Cavia studiata con il microscopio elettronico* (\*). Nota di ALBERTO STEFANELLI e SILVIA CARAVITA, presentata(\*\*) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

In un lavoro pubblicato in questi « Rendiconti » nel 1954<sup>(1)</sup> in collaborazione con Urbani sono stati illustrati alcuni aspetti istochimici della spermioistogenesi di cavia, con particolare riferimento all'acrosoma. È questo un organello citoplasmatico che si pone a cappuccio sul nucleo costituendo gran parte della testa dello spermatozoo.

Molto discussa è stata l'origine di questo organello e soprattutto la relazione tra il corpo proacrosomico con l'idiosoma e il reticolo di Golgi. Dalle ricerche dei citologi che si sono occupati di queste strutture con il microscopio ottico si è supposta la natura dell'idiosoma corrispondente a quella di un centrosoma circondato da corpi peridiosomici, corpi identificati da alcuni autori come elementi del reticolo di Golgi.

Nel lavoro già pubblicato (Stefanelli e Urbani) è stato dimostrato come sia il proacrosoma che l'acrosoma siano privi di acido ribonucleico e come, in base all'assorbimento ai raggi U. V. di 2750 Å, non alterato con trattamento con ribonucleasi, e dall'applicazione della reazione di Millon, esso debba essere considerato composto da proteine ricche di aminoacidi aromatici. La variazione di colorabilità riscontrata nell'acrosoma con la colorazione tricromica di Mallory ha fatto pensare agli autori a un differente comportamento nella sintesi di carboidrati e di lipidi. Le ricerche di Karpova (1935)<sup>(2)</sup> e di Adamstone e Cord (1934)<sup>(3)</sup> sul contenuto lipidico dell'acrosoma e quelle successive di De Girolamo sulla presenza di carboidrati e di Wislocki (1949)<sup>(4)</sup> e di Leblond (1950)<sup>(5)</sup>, che hanno messo in evidenza la positività della PAS reazione, confortavano questa veduta.

In un recentissimo lavoro (Guraya, 1962)<sup>(6)</sup> è illustrata la resistenza dell'idiosoma ai solventi dei grassi, la reattività positiva alla fucsina acida, ma negativa alla PAS reazione. La conclusione di questo autore è corrispondente a quella di Stefanelli e Urbani (1955), che l'idiosoma sia cioè essenzialmente fatto di proteine con qualche componente lipoproteico.

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata « G. B. Grassi » dell'Università di Roma con il contributo del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta del 12 maggio 1952.

(1) A. STEFANELLI e E. URBANI, « Rend. Acc. Naz. Lincei », XVI, 282-287 (1954).

(2) L. KARPOVA, « Z. f. Zellf. Mikr. Anat. », 2 (1925).

(3) T. B. ADAMSTONE e C. E. CORD, « J. Morph. », 56 (1934).

(4) G. B. WISLOCKI, « Endocrinology », 44, 167 (1949).

(5) C. P. LEBLONDE, « Am. J. Anat. », 86, 1 (1950).

(6) S. S. GURAYA, « Experientia », 18, 167-168 (1962).

L'origine dell'acrosoma da un granulo della zona di Golgi ha fatto ritenere a Bowen (1924)<sup>(7)</sup>, per la sua natura secretoria, che contenga con probabilità degli enzimi. Più recentemente Leuchtenberger e Schrader (1950)<sup>(8)</sup> lo hanno considerato portatore della ialuronidasi, enzima fondamentale per la lisi della membrana ovulare da parte dello spermatozoo nella fecondazione.

Lo studio da me ora ripreso, con la collaborazione della dott. Caravita, sulla evoluzione dell'acrosoma della cavia con il microscopio elettronico, mi ha permesso di precisare la natura dei suoi componenti dato che con questo mezzo si identificano chiaramente, per la loro struttura, i centrioli e le citomembrane di Golgi.

*Preparazione.* — Frammenti testicolari di circa 3 mm. cubici di Cavia adulta sono stati fissati in tetrossido d'osmio al 2% tamponato a pH 7,5 con Veronal acetato a cui è stato aggiunto saccarosio secondo la tecnica di Caulfield (1957)<sup>(9)</sup> per regolarne la tonicità, preraffreddato in bagno di ghiaccio. Dopo una ulteriore suddivisione i frammenti sono stati trasferiti in altro fissativo fresco. La fissazione è durata un'ora di cui 15' a 0-4°C e 45' a temperatura ambiente. Disidratazione con alcool (50-75-95-100%) per complessivi 40'. Inclusionione in miscela Butil-metile-metacrilato (in proporzione 80-20%) prepolymerizzata con aggiunta di perossido di benzoile all'1% come catalizzatore. Dopo 12 ore la polimerizzazione è stata continuata in stufa a 70°C per altre 12 ore. Le sezioni ottenute con microtomo LKB Ultratome sono state montate su formvar e quindi colorate con acetato di uranile al 2% a 37°C per 1-2 ore.

La spermiostogenesi è stata studiata col microscopio elettronico in modo approfondito soprattutto nel topo da Burgos e Fawcett (1955-56)<sup>(10)</sup> e nell'uomo da Horstmann (1961)<sup>(11)</sup>. Nella cavia sono note alcune immagini dai lavori Fawcett (1959)<sup>(12)</sup> ma non è stata seguita l'intera evoluzione. Dalle nostre presenti ricerche risulta che nella cavia, pur essendo il processo simile nelle linee generali a quelli già descritti, appaiono tuttavia dei particolari differenziali che ci sembrano meritevoli di attenzione. In questa nota ci riferiamo essenzialmente alle immagini della prima delle 4 fasi della spermiostogenesi proposte da Bishop e Walton (1960)<sup>(13)</sup> in riferimento alle ricerche di Clermont e Leblond (1952)<sup>(14)</sup>. Ricordiamo come tali fasi siano

(7) R. H. BOWEN, « *Anat. Rec.* », 28, 1 (1924).

(8) C. LEUCHTENBERGER e F. SCHRADER, « *Proc. Nat. Ac. Sc. U. S.* », 36, 677 (1950).

(9) J. B. CAULFIELD, « *J. Bioph. Bioch. Cytol.* », 3, 827 (1957).

(10) M. H. BURGOS e D. FAWCETT, « *J. Bioph. Bioch. Cytol.* », 1, 287 (1955); « *J. Bioph. Bioch. Cytol.* », 2, 223 (1956).

(11) E. HORSTMANN, « *Z. f. Zellf.* », 54, 68-89 (1961).

(12) D. W. FAWCETT, « *Int. Rev. Cytol.* », VII, 195-235 (1958); D. W. FAWCETT, I. SUSUMO e D. SLAUTTERBOCH, « *J. Bioph. Bioch. Cytol.* », 3, 453-460 (1959).

(13) M. H. W. BISHOP e A. WALTON, *Marshall Physiology of reproduction*, vol. I, London 1960.

(14) C. P. LEBLOND e Y. CLERMONT, « *Am. J. Anat.* », 90, 167 (1952).

le seguenti: I: fase Golgiana (stadi 1-3); II: fase a cappuccio (stadi 4-7); III: fase acrosomica (stadi 8-14) IV: fase maturativa (stadi 15-19).

La figura 1 ci mostra superiormente l'area proacrosomica ( $\phi$ ) di uno spermatoide immaturo; si notano al centro due centrioli ( $c$ ) costituiti da un gruppo di 9 coppie di elementi disposti come le doghe di una botte. Nella fig. 2, maggiormente ingrandita, si vede come un centriolo sia sezionato di traverso e uno longitudinalmente. Attorno ai centrioli vi è una zona citoplasmatica più chiara cosparsa di vescicolette e da qualche sistema di citomembrane di natura Golgiana. Una evidente strutturazione a citomembrane dell'apparato di Golgi si trova alla periferia dell'organello ( $g$ ), cioè nella regione periidiosomica.

Questa immagine chiarisce in modo incontrovertibile il tanto discusso argomento sulla corrispondenza o meno dell'idiosoma col centrosoma; il proacrosoma risulta in questa immagine costituito dall'idiosoma, omologo al centrosoma e munito di 2 centrioli tipici, e dai corpi periidiosomici costituiti da sistemi di citomembrane di Golgi.

Nella stessa fotografia (fig. 1) si nota nella cellula inferiore uno spermatoide in fase più avanzata di maturazione in cui l'apparato proacrosomico si è portato a contatto con il nucleo ( $n$ ) e da cui si è formata una vescicola acrosomica che si è sovrapposta a forma di calotta a doppia parete al nucleo. A differenza di quanto è stato descritto da Horstmann nell'uomo, non vi è una ampia cavità nella vescicola, ma essa risulta completamente occupata da materiale acrosomico; invece, similmente a quanto è stato descritto nell'uomo, la membrana nucleare a contatto con l'acrosoma (vedi specialmente la fig. 4) appare ispessita con struttura orientata radialmente.

A questo stadio i centrioli dell'area centrosomica sono evasi dal sistema laminare golgiano e sono migrati al polo del nucleo opposto a quello acrosomico per divenire la base strutturale di edificazione del flagello.

È interessante notare come anche nel topo (Fawcett) la vescicola acrosomica sia molto ampia e come la sintesi della sostanza acrosomica inizi nel suo interno con la formazione di un granulo acrosomico. Nella cavia la sostanza acrosomica, come si è detto occupa tutto lo spazio della vescicola che assume la forma di una emicalotta sferica che si accresce sempre più ampia sul nucleo. Appaiono nella cavia, in modo caratteristico, alla superficie esterna dell'acrosoma delle protuberanze; alcune di queste in contatto con la regione proacrosomica (o meglio golgiana, poiché a questo stadio la porzione idiosomica non è più presente) si staccano e vengono a costituire dei frammenti e sferule acrosomiche al centro dell'area golgiana stessa. Questi frammenti hanno prima l'aspetto di sferule piene ( $s$ ) e poi di vescicole ( $v$ ) che possiamo definire vescicole acrosomiche secondarie, spesso concentriche (fig. 8) o contenenti sistemi di vescicole più piccole (fig. 9).

È come se materiale acrosomico sintetizzato in eccesso venisse eliminato e versato nell'area golgiana dove subisce una profonda trasformazione.

In questo stadio della spermioistogenesi, alla fine della prima fase e all'inizio della seconda secondo Leblond, il proacrosoma si trova sempre su un lato dell'acrosoma come nella fig. 6.

Nella fig. 5 è ben visibile il « fusoma » (*f*), ovvero il ponte citoplasmatico che unisce gli spermatidi tra loro, così denominato da Hirschler (1935-1953)<sup>(15)</sup> e a cui è stato attribuito (Fawcett, 1958-1959)<sup>(12)</sup> importanza per il sincronismo maturativo di questi elementi (vedi anche Meyer, 1961<sup>(16)</sup>).

È da notarsi come a contatto del fusoma lo spazio tra le membrane cellulari sia maggiore e come la membrana stessa presenti un ispessimento osmiofilo (*materiale di chiusura* di Meyer).

Successivamente, finita questa eliminazione di sferule, rimane per un certo tempo (fig. 7) la presenza di protuberanze sulla superficie acrosomica, mentre il sistema di sferule e vescicole, man mano che le citomembrane di Golgi si dissolvono risolvendosi in vescichette, migrano di lato per portarsi verso la zona citoplasmatica al lato del flagello, come è visibile nella fig. 9 in relazione alla posizione del flagello (*f*), zona citoplasmatica che verrà successivamente eliminata con la maturazione dello spermatozoo a costituire quelle gocce citoplasmatiche già descritte (Stefanelli e Urbani, 1954) che vengono eliminate nel lume dei tubuli seminiferi e che risultano dalle ricerche istochimiche ricche di RNA. La illustrazione della evoluzione di questo materiale sarà oggetto di una prossima Nota.

In conclusione, da queste ricerche di microscopia elettronica risulta essere la vescicola proacrosomica di cavia costituita dal centrosoma munito di due centrioli o idiosoma e da un involucro di citomembrane di Golgi (corpi periidiosomici). Nella cavia è particolare la sintesi di una vescicola acrosomica piena (e non cava come in altre specie) e la eliminazione mediante la separazione di protuberanze superficiali di materiale acrosomico che viene rielaborato nella area di Golgi. Il residuo acrosomico e le citomembrane golgiane, ultimata la formazione dell'acrosoma, e private dell'apparato centrosomico migrato al polo opposto del nucleo, si dirigono nella zona citoplasmatica che verrà successivamente eliminata con le gocce citoplasmatiche ricche di RNA.

(15) J. HIRSCHLER, « Zool. Jb. », 64, 514-537 (1953); « Ergebn. Zool. », 8, 329-344 (1935).

(16) G. F. MEYER, « Z. f. Zellf. », 54, 238-251 (1961).

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAV. I. - Tutte le fotografie sono state eseguite con microscopio elettronico Hitachi H 11. Il segmento alla base delle fotografie indica  $1\ \mu$ . - Fig. 1: In alto spermatide in fase iniziale con proacrosoma costituito dall'idiosoma con centrioli (*c*) circondato da citomembrane di Golgi (corpi periidiosomici). In basso in stadio più avanzato: il proacrosoma (*p*) si è portato contro il nucleo (*n*) e si è accollata ad esso la vescicola acrosomica (*va*). In *l* i limiti tra le due cellule. - Fig. 2: L'idiosoma a più forte ingrandimento: notare i due centrioli costituiti dai nove caratteristici elementi. - Fig. 3: Stadio più avanzato; dall'acrosoma in formazione si producono delle digitazioni e si staccano sferule di materiale acrosomico (*s*) che poi si svuotano o si modificano trasformandosi in vescicole (*v*). Con *g* sono indicate le citomembrane di Golgi. - Fig. 4: Stadio successivo; notare la caratteristica eliminazione di materiale acrosomico sotto forma di sferule nell'area di Golgi.

TAV. II. - Figg. 5, 6 e 7: Stadi successivi dello stesso processo. - Figg. 8 e 9: Stadi più avanzati quando l'acrosoma è già notevolmente ingrandito. Notare la trasformazione del materiale acrosomico e delle citomembrane di Golgi in vescicole. Questo residuo del proacrosoma migra lontano dal nucleo verso il flagello la cui posizione è visibile nella fig. 9 (*f*).



