Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Pietro Ghiani, Biancamaria Uva

Possibilità della metacromasia a livello dell'organo sottocommissurale

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **32** (1962), n.5, p. 752–755.

Accademia Nazionale dei Lincei

¡http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_5_752_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. — *Possibilità della metacromasia a livello dell'organo sottocommissurale* (*). Nota di PIETRO GHIANI e BIANCAMARIA UVA, presentata (**) dal Corrisp. E. REMOTTI.

Un profilo filogenetico ed ontogenetico delle formazioni comprese sotto la denominazione di organo infundibolare dell'anfiosso, organo flessurale di embrioni di vertebrati e organo sottocommissurale è stato anche recentemente proposto da Olsson (1958) [1]. Tali osservazioni, nel segnalare la relativa costanza a questo livello di aspetti secretori, pur in espressioni morfologiche tra loro alquanto differenti, tendono certamente a rafforzare la impressione ormai diffusa tra i ricercatori che alle formazioni stesse sia da assegnare una dignità fisiomorfologica elevata, se pure ben difficile appaia un loro preciso inquadramento.

Un quesito importante è certamente quello relativo alla individualità di tali aspetti secretori rispetto alla neurosecrezione in generale ed alla neurosecrezione ipotalamo–neuroipofisaria in particolare. I possibili legami più recentemente prospettati sulla base di ricerche funzionali, tra organo sottocommissurale (s. c.) e attività glomerulotropica nei mammiferi, sono sotto questo profilo importanti come contributo alla ipotesi di un nesso tra organo s. c. ed entità endocrine (e surrene in particolare) con una relativa indipendenza dalla attività neuroipofisaria.

Questi temi di lavoro qui appena accennati, saranno più dettagliatamente ripresi nell'ambito di un piano sperimentale avviato sull'argomento. Per tali fini ci siamo occupati ora di test istochimici sulla secrezione di tipo sottocommissurale e riferiamo qui limitatamente alle possibilità offerte da reazioni di tipo metacromatico.

Le osservazioni sono state eseguite su forme di *Triturus alpestris* e di *Hyla arborea* – adulte ed a stadi terminali di metamorfosi – e su embrioni di pollo tra il 12° ed il 16° g. di incubazione [2].

I metodi istochimici impiegati, su materiale incluso in paraffina ed esaminato in sezioni seriate, sono stati i seguenti:

1° colorazione con blu di toluidina al 0,016 % a pH scalari tra 2,8 e 5 tampone secondo McIlvaine,

2° preventiva ossidazione delle sezioni:

a) ossidazione performica: reattivo secondo Pearse mod. Lillie (ved. Lison) [6]: 8 ml di ac. formico al 90 % aggiunti a 31 ml di H_2O_2 al 30 %, ed a 0,22 ml di H_2SO_4 conc., tempo di ossidaz. 2h temperatura ambiente;

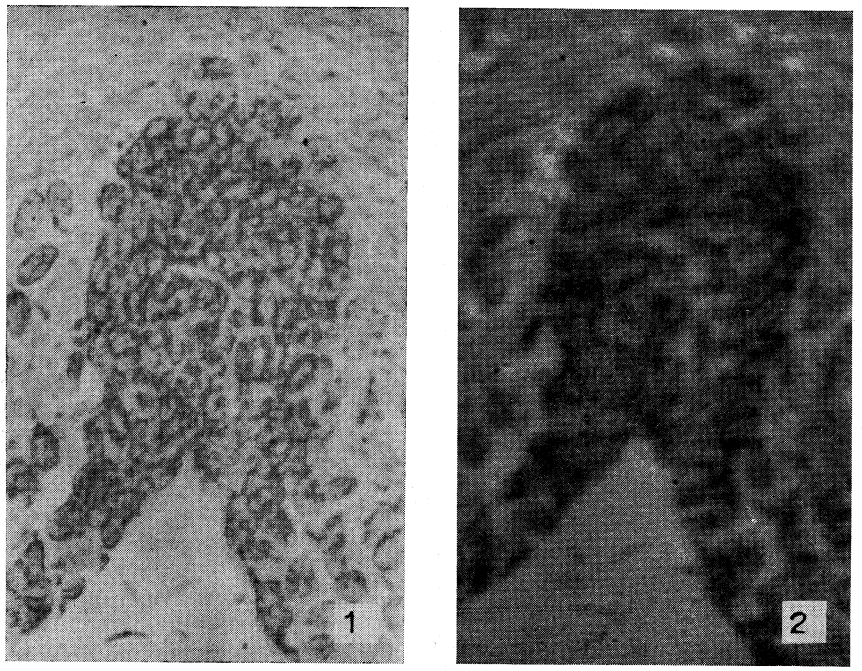
(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia e Fisiologia Comparate della Università di Genova.

(**) Nella seduta del 12 maggio 1962.

b) ossidazione cromica secondo Bignardi (1939) [7], ac. cromico 10 %, temp. ambiente, tempo di ossidaz. 1 h;

c) ossidazione peracetica: reattivo secondo Pearse mod. Lillie (ved. Lison) [6]: a 95,6 ml di acido acetico glaciale vengono aggiunti 259 ml di H_2O_2 al 30 % e 2,2 ml di ac. solforico concentrato, tempo di ossidaz. 2 h, temperatura ambiente;

d) ossidazione periodica breve: acido periodico 0,5 %, tempo di ossidazione 5', temperatura ambiente;



Sezioni a livello dell'organo s. c. da larve di *Hyla arborea* a termine di metamorfosi.

In 1) sezione sottoposta a ossidazione cromica e metilazione: al blu di toluidina assenza di basofilia (sia orto che metacromatica) per cui la sezione è praticamente incolore. In 2) la medesima sezione dopo successiva saponificazione: al blu di toluidina compare intensa metacromasia a livello dell'organo s.c. (colore rosso violetto nel preparato corrispondente alla zona più scura della riproduzione in bianco-nero).

e) ossidazione periodica lunga: ac. periodico 1 %, tempo di ossidaz. 1 h, temperatura 37° C.

3° blocco da metilazione dopo ossidazione secondo Fischer e Lillie (1954) [8]; HCl 0,05 N in 100 ml di metanolo tempo 1 h, a 58° C;

4° sblocco per saponificazione (dopo ossidazione e metilazione): secondo Lillie (1958) (ved. Lison) [6]: KOH all'1 % in alcool a 80 % tempo 20', temperatura ambiente.

I risultati ottenuti sono stati i seguenti:

1° la semplice colorazione con blu di toluidina ai pH considerati dà una manifestazione ortocromatica sia a livello dell'organo s.c. sia a quello ipotalamo-ipofisario;

2° facendo precedere una ossidazione performica o peracetica o cromica la colorazione con blu di toluidina dà evidente metacromasia a pH 3 a livello dell'organo s.c. non a livello ipotalamo–ipofisario. La ossidazione periodica solo se molto prolungata porta pure un effetto metacromatico, sempre solo a livello dell'organo s. c., ma meno costante e chiaro e comunque a livelli di pH più elevati (almeno pH 4);

3° procedendo alla analisi della metacromasia ottenuta a livello dell'organo s. c. con le tre modalità di ossidazione preferenziali (performica, peracetica, cromica) si realizza da pH 2,8 a pH 5 un aumento della intensità della metacromasia parallelo all'aumento del pH.

L'aumento della metacromasia si rivela, oltre che sotto l'aspetto della intensità cromatica, anche per quanto riguarda la localizzazione. Ai pH inferiori la metacromasia è di norma limitata al margine ventricolare, in posizione sopra nucleare, in Hyla elementi metacromatici sono anche in cavità ventricolare in tutta vicinanza dell'organo s. c. (elementi tipo fibra di Reissner ?). Ai pH più elevati la metacromasia compare più diffusa alle posizioni sottonucleari;

4° la metilazione operata dopo i vari tipi di ossidazione fa scomparire non solo ogni aspetto metacromatico (anche nelle cartilagini eventualmente presenti nelle sezioni), ma come ovvio anche la basofilia ortocromatica. In particolare tale risultato è completo per 1 h di metilazione, mentre per 30′ qualche residuo metacromatico è presente nelle strutture cartilaginee e talora anche in o. s. c. Nelle repliche sperimentali ci si è attenuti al tempo di 1 h;

5° la successiva saponificazione restituisce a livello dell'organo s. c. la metacromasia (come pure a livello della cartilagine). Nessun aspetto metacromatico compare ancora a livello ipotalamo–ipofisario.

Il comportamento della metacromasia provocata per ossidazione a livello dell'organo s. c., rispetto al pH e rispetto alla metilazione e successiva saponificazione, fanno convergere l'attenzione sul possibile meccanismo della reazione metacromatica stessa nel senso della comparsa dopo ossidazione di gruppi eteropolari di tipo carbossilico. Evidentemente tali gruppi sono provocabili a livello dell'organo s. c. e non a livello ipotalamo–ipofisario, nelle condizioni di esperienza o, più limitatamente, nelle condizioni stesse solo a livello dell'organo s. c. raggiungono nella loro comparsa la soglia di sensibilità per la rivelazione di un fenomeno metacromatico.

Ci riserviamo di discutere ulteriormente questo reperto unitamente ad una più ampia elaborazione attualmente in corso su altri momenti istochimici in tema neurosecretorio, ed in particolare per quanto riguarda il possibile confronto tra tale reazione di metacromasia provocata ed altre reazioni del tipo Alcian blu dopo ossidazione performica proposta da Adams e Sloper (1936) [9].

Sin d'ora ci pare però da segnalare che la metacromasia provocata può costituire un carattere differenziale per la secrezione sottocommissurale nei confronti di quella neuroipofisaria, da porre accanto agli elementi segnalati da Mazzi (1954) [10] sul diverso comportamento rispetto alla cromoematos-

silina ed alla P.A.F. a seconda della fissazione formolica od alcoolica, alle differenze di comportamento che per P.A.F. e P.A.S. Wislocki e Leduc (1954) [11] segnalano esprimendosi sul piano quantitativo in unità fittizie.

È presumibile che la reazione intanto proposta come un fattore discriminante abbastanza preciso possa più oltre anche fornire qualche elemento orientativo nell'oscuro problema della identificazione dei principi secretori di tipo epitalamo–mesencefalico.

BIBLIOGRAFIA.

[1] R. OLSSON, *Studies on the subcommissural organ*, « Acta Zool. », Bd. XXXIX, *71*, 102 (1958).

[2] La scelta di questi stadi viene suggerita dai momenti di più evidente secrezione dimostrabili alla cromoematossilina secondo quanto osservato da WINGSTRAND (1953) [3] e da GHIANI (1957) [4]. L'esistenza di questi particolari periodi potrebbe essere un altro elemento discriminativo nel problema della indipendenza dell'organo s. c. rispetto alla neuroipofisi.
Anche MAZZI (1954) [5] sottolinea la precoce comparsa dei granuli di secrezione sottocommissurale rispetto alla secrezione ipotalamica.

[3] K. G. WINGSTRAND, *Neurosecretion and antidiuretic activity in chik embryo with remarks in the subcommissural organ*, « Archiv. for Zoology », *6*, 41 (1953).

[4] P. GHIANI, *Sulla evoluzione fisiomorfologica dell'organo sottocommissurale. Ricerche sperimentali in embrione di pollo*, « Atti dell'Acc. Ligure di Scienze e Lettere », vol. XIV.

[5] V. MAZZI, *Alcune osservazioni intorno al sistema neurosecretorio ipotalamo–ipofisario e dell'organo sottocommissurale nell'ontogenesi di* Rana agilis, « Monit. Zool. Ital. », *62*, *68* (1954).

[6] L. LISON, *Histochimie et Cytochimie Animales*, vol. I, II, 218 e 751 (1960).

[7] C. BIGNARDI, *Cellule mucose e cellule mucoidi. Primi risultati nella applicazione delle tecniche istochimiche per i polisaccaridi*, « Boll. Zool. », X, n. 5–6, 213 (1939).

[8] E. R. FISHER e R. D. LILLIE, *The effect of methylation on basophilia*, « J. Histochem. and Cytochem. », *2*, 81 (1954).

[9] C. W. ADAMS e J. C. SLOPER, *The hypotalamic elaboration of posterior pituitary principles in man, the rat and dog. Histochemical evidence derived from a performic acid–Alcian blue reaction for cystine*, « J. Endocrin. », *13*, 221 (1936).

[10] V. MAZZI, *Caratteri tintoriali della fucsina paraldeide in alcune strutture nell'encefalo di Tritone crestato*, « Rend. Accad. Naz. Lincei », 5, VIII, *16*, 266 (1954).

[11] G. B. WISLOCKI e E. H. LEDUC, *The cytology of subcommissural organ, Reissner fibre, periventricular glial cells and posterior collicular recess of the rat's brain*, « J. Comp. Neur. », *101*, 283 (1954).