
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIOVANNI CHIEFFI, HARRY MANELLI, VIRGILIO BOTTE,
LUCIA MASTROLIA

Osservazioni sul precoce differenziamento funzionale dell'interrenale nell'embrione di pollo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.1-2, p. 82-85.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_1-2_82_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/>

Embriologia. — *Osservazioni sul precoce differenziamento funzionale dell'interrenale nell'embrione di pollo* (*). Nota (**) di GIOVANNI CHIEFFI, HARRY MANELLI, VIRGILIO BOTTE e LUCIA MASTROLIA, presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

Se l'organogenesi dell'interrenale dell'embrione di pollo è stata oggetto di numerose ricerche, non uguale attenzione è stata riservata alla determinazione del primo differenziamento di questo importante componente della ghiandola surrenale.

L'origine dell'interrenale da una proliferazione dell'epitelio celomatico, sostenuta dal Vannini (1943) e da altri Autori, tra cui Willier (1959), si discosta da quella del Witschi (1956), che considera il cortex surrenalico, insieme alla medulla della gonade, quali derivati del mesoderma intermedio.

I primi segni di attività funzionale delle cellule corticali del surrene sono stati osservati da Barnett e Bourne (1942) nell'embrione di pollo di 12 giorni in base alla comparsa istochimica dell'acido ascorbico, considerato un indice della attività funzionale del surrene. L'unica ricerca sistematica è stata eseguita da Dawson (1953) con l'applicazione di alcune reazioni istochimiche, tra le quali la sudanofilia, la reazione di Schultz per il colesterolo e la reazione di Ashbel e Seligman per i chetosteroidi, la cui aspecificità è stata ormai definitivamente dimostrata da Karnovsky e Deane (1955). Dawson osserva il primo evidente segno istochimico di differenziamento dell'interrenale al 7° giorno di incubazione.

La ricerca istochimica della $\Delta^5-3\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi, enzima che presiede a una delle prime tappe della biosintesi degli ormoni steroidi, ci ha permesso di dimostrare la comparsa del differenziamento dell'interrenale in stadi ancora più precoci di sviluppo.

MATERIALE E METODO.

La ricerca è stata eseguita su embrioni di pollo (Razza Livorno bianca) di 4, 4 1/2, 5, 5 1/2, 6, 6 1/2, 7, 8, 10, 12, 15, 17 e 21 giorni di incubazione e su pulcini di 4 giorni. La temperatura di incubazione è stata di $38,5 \pm 0,2$ °C.

Alcuni embrioni in vari stadi di sviluppo sono stati fissati in Bouin per le osservazioni morfologiche, altri sono stati congelati con ghiaccio secco e sezionati al criostato in fettine di $15\ \mu$ di spessore.

(*) Ricerche eseguite presso gli Istituti di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Camerino e di Zoologia dell'Università di Roma, con il contributo del CNR nell'ambito del « Gruppo di Ricerca per l'Embriologia per lo studio del differenziamento ».

(**) Pervenuta all'Accademia il 16 luglio 1964.

Fino a 7 giorni di incubazione è stato sezionato *in toto* il tronco dell'embrione, mentre dall'8° giorno sono state praticate sezioni della sola regione uro-genitale.

La reazione istochimica per la ricerca della $\Delta^5-3\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi ($\Delta^5-3\beta$ -HSDH) è stata eseguita secondo il metodo di Watterberg (1958) modificato da Levy e coll. (1959), usando come substrato il deidroepiandrosterone.

RISULTATI.

La reazione per la $\Delta^5-3\beta$ -HSDH è risultata per la prima volta nettamente positiva esclusivamente nell'interrenale dello embrione di 4 1/2 giorni di incubazione. Essa è caratterizzata dalla presenza di fini precipitati di formazani blu-scuri nel citoplasma delle cellule interrenali (Tav. II, fig. 3). A tale stadio l'interrenale è ancora in continuità, ventralmente, con le cellule che parteciperanno alla formazione della medulla della gonade (Tav. I, fig. 1). In queste ultime la reazione per l'enzima risulta negativa.

A 5 1/2 giorni, per l'interposizione delle vene subcardinali, che successivamente confluiranno a formare la vena cava posteriore, l'interrenale viene separata dalle cellule che ventralmente partecipano alla formazione della medulla della gonade (Tav. I, fig. 2). Queste ultime sono sempre negative alla reazione per l'enzima, che invece è presente nell'interrenale con una intensità leggermente più forte che nello stadio precedente (Tav. II, fig. 4). L'attività della $\Delta^5-3\beta$ -HSDH diviene sempre più intensa negli stadi successivi e compare oltre che nelle gonadi (Chieffi e coll., 1964) anche nel citoplasma delle cellule parenchimali del fegato e dei tubuli mesonefrici. Negli ultimi due organi la positività è però da ritenersi aspecifica, in quanto è presente contemporaneamente nelle sezioni di controllo, incubate in assenza di substrato.

Dopo la migrazione dei simpatoblasti (cellule cromaffini), la reazione risulta positiva solo nei cordoni di cellule interrenali (cellule corticali) e si conserva intensa anche dopo la schiusa (Tav. II, figg. 5 e 6) fino allo stadio adulto.

DISCUSSIONE.

La ricerca istochimica della $\Delta^5-3\beta$ -HSDH ci ha permesso di individuare il primo differenziamento funzionale dell'interrenale allo stadio di 4 1/2 giorni di incubazione. Questo stadio è di 2 1/2 giorni precedente a quello in cui Dawson (1953) ha osservato la comparsa dei lipidi e del colesterolo nelle cellule interrenali. La positività della reazione di Ashbel-Seligman per i chetosteroidi, osservata da Dawson dal 9° giorno di incubazione, ha perso ogni significato da quando Karnovski e Deane (1955) ne hanno dimostrata la completa aspecificità. Pertanto la dimostrazione con metodo istochimico specifico di un enzima fondamentale della biosintesi degli ormoni steroidi, non solo ha

confermato la presenza nell'interrenale embrionale di una attività funzionale, ma ha permesso per la prima volta di individuarla in stadi precocissimi di sviluppo. La comparsa della $\Delta^5-3\beta$ -HSDH nell'interrenale precede il differenziamento istochimico delle gonadi, in cui l'enzima è dimostrabile dall'80° giorno di incubazione (Chieffi e coll., 1964). Bisogna però precisare che la presenza di questo enzima è indice di una delle prime tappe della steroidogenesi, cioè della trasformazione del pregnenolone a progesterone. Quindi ci è impossibile per ora stabilire con metodo istochimico se la biosintesi proceda oltre nella formazione dei corticosteroidi sin dai primi stadi di sviluppo.

Il precoce differenziamento dell'interrenale non è quindi una caratteristica degli Anfibi, in cui è stata dimostrata la presenza dei lipidi nelle cellule interrenali sin dallo stadio 25 delle tavole del Witschi (1956) (metamorfosi incipiente) in *Rana sylvatica* (Segal, 1953) e dei lipidi, del colesterolo e della $\Delta^5-3\beta$ -HSDH dallo stadio 23-24 di *Rana esculenta* (Chieffi, 1955; Chieffi e Botte, 1963). Infatti l'embrione di pollo di 4 1/2 giorni d'incubazione corrisponde allo stadio 25 delle tavole di sviluppo standard del Witschi (1956).

BIBLIOGRAFIA

- [1] BARNETT S. A. e BOURNE G., « Quart. J. Micr. Sci. », 83, 259 (1942).
- [2] CHIEFFI G., « Riv. Biol. », 457, 439 (1955).
- [3] CHIEFFI G. e BOTTE V., « Riv. Istoch. norm. patol. », 9, 172 (1963).
- [4] CHIEFFI G., MANELLI H., BOTTE V. e MASTROLIA L., « Acta Embryol. Morph. Exp. », 7, 89, (1964). Gruppo Embriologico Italiano, XII Riunione, Padova 4-5 novembre 1963.
- [5] DAWSON A. B., « J. Morph. », 92, 579 (1963).
- [6] KARNOVSKI M. L. e DEANE H.L., « J. Histochem. Cytochem. », 3, 85 (1955).
- [7] LEVY H., DEANE H. W. e RUBIN B. L., « Endocrinology », 65, 932 (1959).
- [8] SEGAL S. J., « Anat. Rec. », 115, 205 (1953).
- [9] VANNINI E., « Atti Reale Acc. Italia », Mem. Cl. Sci. fis. mat. nat., 14, 493 (1943).
- [10] WATTENBERG L. W., « J. Histochem. Cytochem. », 6, 225 (1958).
- [11] WILLIER B. H., in: *Endocrines in development*, ed. da R. L. Watterson, The University of Chicago Press, 1959.
- [12] WITSCHI E., *Development of Vertebrates*, Saunders, Philadelphia 1956.



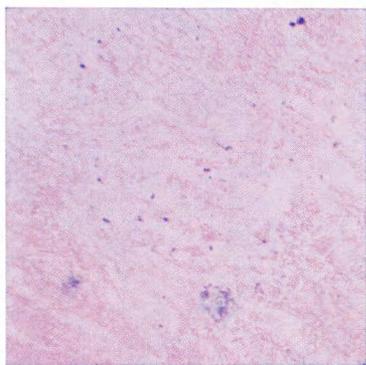


Fig. 3.

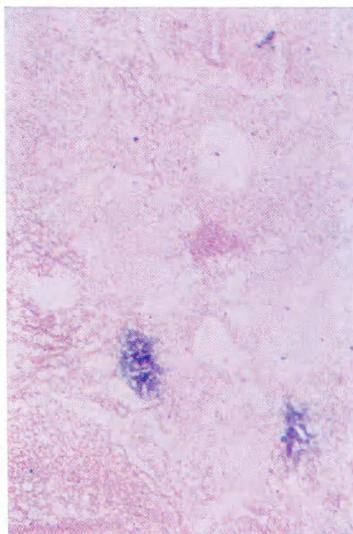


Fig. 4.

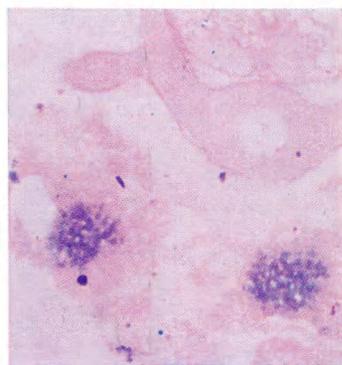


Fig. 5.

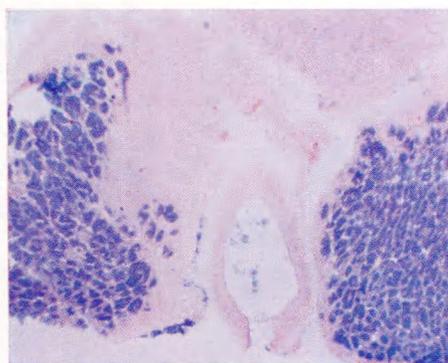


Fig. 6.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I E II

TAVOLA I.

- Fig. 1. — Sezione trasversale di un embrione di 4 giorni e mezzo: il blastema dell'interrenale (i) è già ben delimitato, anche se non completamente distinto, dall'abbozzo della gonade per mezzo della vena subcardinale (v); sul lato esterno dello stesso blastema sono chiaramente visibili i tubuli mesonefrici. (180 ×).
- Fig. 2. — Sezione trasversale di un embrione di 5 giorni e 17 ore: il blastema dell'interrenale (i) è nettamente separato dalle gonadi per mezzo della vena subcardinale (v); ad esso stanno arrivando le cellule simpatiche o cromaffini (s). (100 ×).

TAVOLA II.

- Fig. 3. — Sezione di un embrione di 4 giorni e mezzo: in corrispondenza delle due interrenali, si nota, se pur poco intensa, la reazione della $\Delta^5-3\beta$ -HSDH. (60 ×).
- Fig. 4. — Sezione di un embrione di 5 giorni e mezzo: la reazione per la $\Delta^5-3\beta$ -HSDH a livello delle interrenali è un poco più intensa che nello stadio di 4 giorni e mezzo. (80 ×).
- Fig. 5. — Sezione di un embrione di 10 giorni: la reazione per la $\Delta^5-3\beta$ -HSDH nelle surrenali è molto più intensa ed estesa che negli stadi precedenti. (60 ×).
- Fig. 6. — Sezione delle surrenali di un pulcino di 4 giorni: la reazione per la $\Delta^5-3\beta$ -HSDH è fortemente positiva. (60 ×).