
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ZBIGNIEW SREBRO

L'effetto della prefissazione con glutaraldeide sull'ultrastruttura del sistema nervoso

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.3-4, p.
213-214.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_3-4_213_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. — *L'effetto della prefissazione con glutaraldeide sull'ultrastruttura del sistema nervoso* (*). Nota (**) di ZBIGNIEW SREBRO (***), presentata dal Corrisp. A. STEFANELLI.

La prefissazione con aldeidi per gli studi enzimatici nella microscopia elettronica è stata recentemente introdotta da Sabatini, Bensch e Barnett [1]. Secondo questi Autori la glutaraldeide (GA) 4-6,5% dà buoni risultati in quanto viene conservata l'attività enzimatica e rimane intatta l'ultrastruttura del tessuto.

La GA è stata adoperata per la prefissazione del sistema nervoso centrale (tetto ottico) di un Anfibio anuro (*Xenopus laevis* Daud.) in un lavoro attualmente in corso sulla sua ultrastruttura. La testa degli esemplari adulti con ampia apertura della scatola cranica, o gli encefali isolati, sono stati fissati in GA 3,25% o 6,5%, sciolta in tampone fosfato [2] 0,13 M o 0,2 M, per 24 h a 0-4°C. Dopo la prefissazione i pezzi sono stati lavati con tampone fosfato per 24 h o periodi più lunghi (fino ad 1 mese) a 0°C. Piccoli frammenti dei tessuti prefissati sono stati rifissati successivamente in osmio ed inclusi in Vestopal con lo stesso procedimento usato per i tessuti non prefissati (OsO₄ 2% sciolto in tampone fosfato [2] 0,13 M con 2% saccarosio per 1,30 h a 0°C, disidratazione in alcool etilico, stirene, Vestopal/stirene, Vestopal W) [3]. I pezzi inclusi sono stati tagliati con il microtomo Ultratome LKB e le sezioni colorate con piombo secondo il metodo A di Karnovsky [4]. Le fotografie sono state fatte con il microscopio elettronico Hitachi HU 11, a 75 kV di accelerazione, con un diaframma dell'obiettivo di 50 μ e ad ingrandimenti diretti di 10.000 o 20.000 volte.

L'ultrastruttura del tessuto prefissato in GA differisce da quella dei tessuti controlli, fissati immediatamente in osmio; infatti, le fibre dell'encefalo prefissato contengono peculiari invaginazioni contenenti un materiale vescicolare (figg. 1-3). Il materiale vescicolare deriva dal contenuto di una fibra adiacente ed è costituito di vescicole di forma e grandezza variabile (300-4000 Å). La connessione con la fibra d'origine può essere molto stretta dando all'insieme un aspetto di una ernia di una fibra nell'altra (figg. 1-3). Oltre alle « ernie » le fibre del tessuto prefissato contengono grandi vacuoli chiari e lo spazio extracellulare è aumentato, specialmente nel tessuto fissato in GA 3,25%. Le particolarità sopra descritte dei tessuti prefissati in GA sono più

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata della Università di Roma con il contributo di fondi del Centro di Neuroembriologia del C.N.R. e del gruppo di ricerche di Embriologia del C.N.R.

(**) Pervenuta all'Accademia il 15 ottobre 1964.

(***) L'indirizzo dell'Autore è: Istituto di Biologia ed Embriologia, Accademia Medica di Cracovia, ul. Kopernika 7.

accentuate nelle parti superficiali del pezzo e ugualmente presenti dopo fissazione sia in GA 3,25% che in GA 6,5%.

I dati ottenuti dimostrano che la GA non è un fissativo adatto in generale per il sistema nervoso, per lo meno per il tessuto nervoso centrale degli Anfibi. I presenti risultati dimostrano anche la necessità di un atteggiamento molto cauto verso i fissativi nuovi nella microscopia elettronica dato che alcuni di essi possono essere la causa di false strutture artefatte. Le strutture sopra descritte non sono mai presenti nel tessuto fissato immediatamente in osmio (figg. 4 e 5) e vanno considerate come artefatti; infatti, la loro distribuzione è molto maggiore verso la superficie del pezzo fissato. Inoltre, la loro eccessiva variabilità è in favore della loro natura artificiale; a volte le « ernie » sembrano trasformarsi addirittura in figure mieliniche.

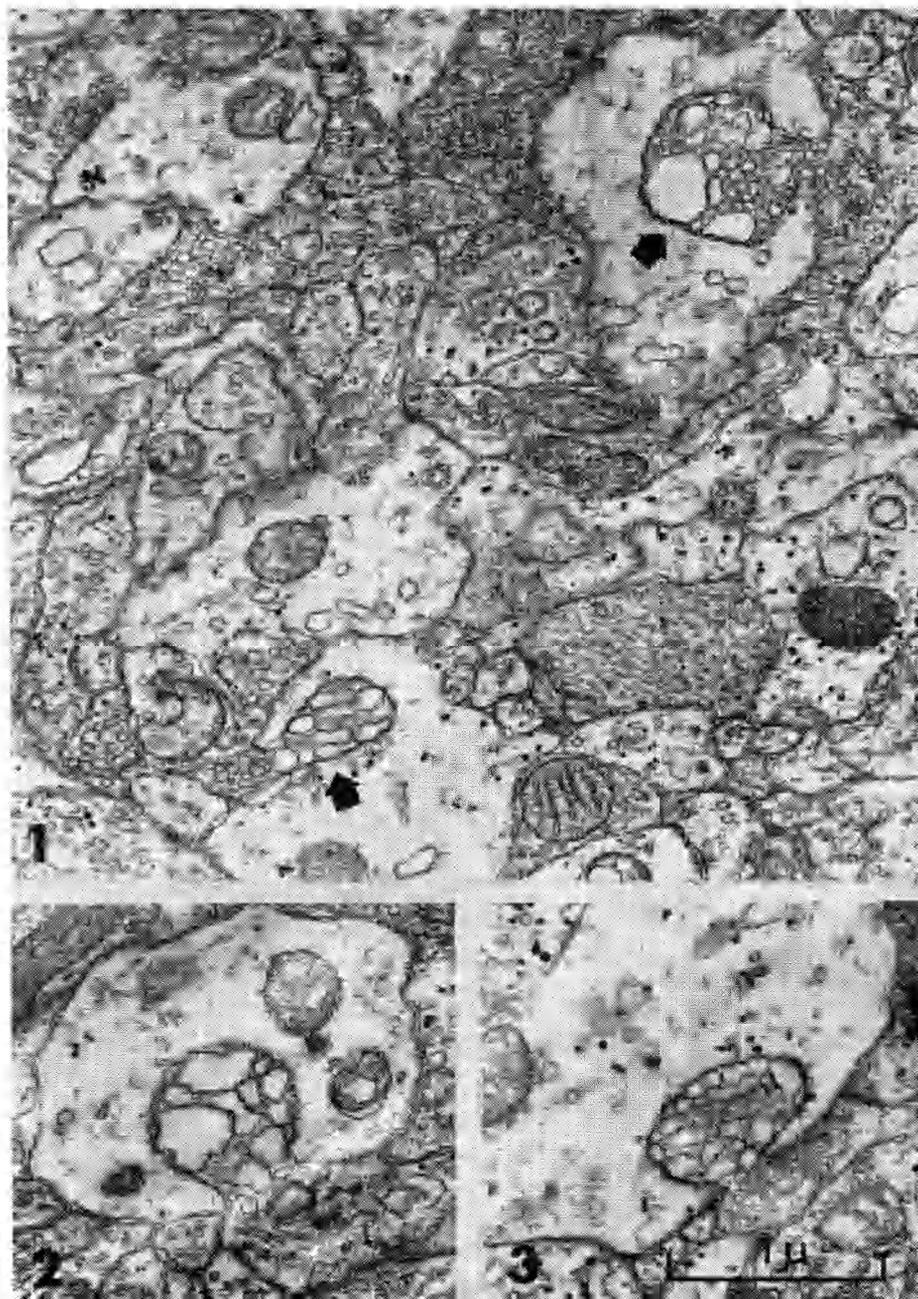
Nel valutare le immagini al microscopio elettronico si deve sempre tener presente la possibilità di produrre artefatti nell'ultrastruttura dovuti alla fissazione. Infatti, recentemente Rosenbluth [5] ha messo in evidenza che alcuni particolari ultrastrutturali della cellula nervosa si presentano in modi diversi secondo il tipo di fissazione. Alcune vescicole che si osservano sotto la membrana cellulare nei tessuti fissati in osmio sono assenti nel tessuto fissato in permanganato. In quest'ultimo caso si vedono soltanto invaginazioni della membrana cellulare. Così, le vescicole presenti nel tessuto fissato in osmio vanno considerati da Rosenbluth come artefatti (1).

BIBLIOGRAFIA.

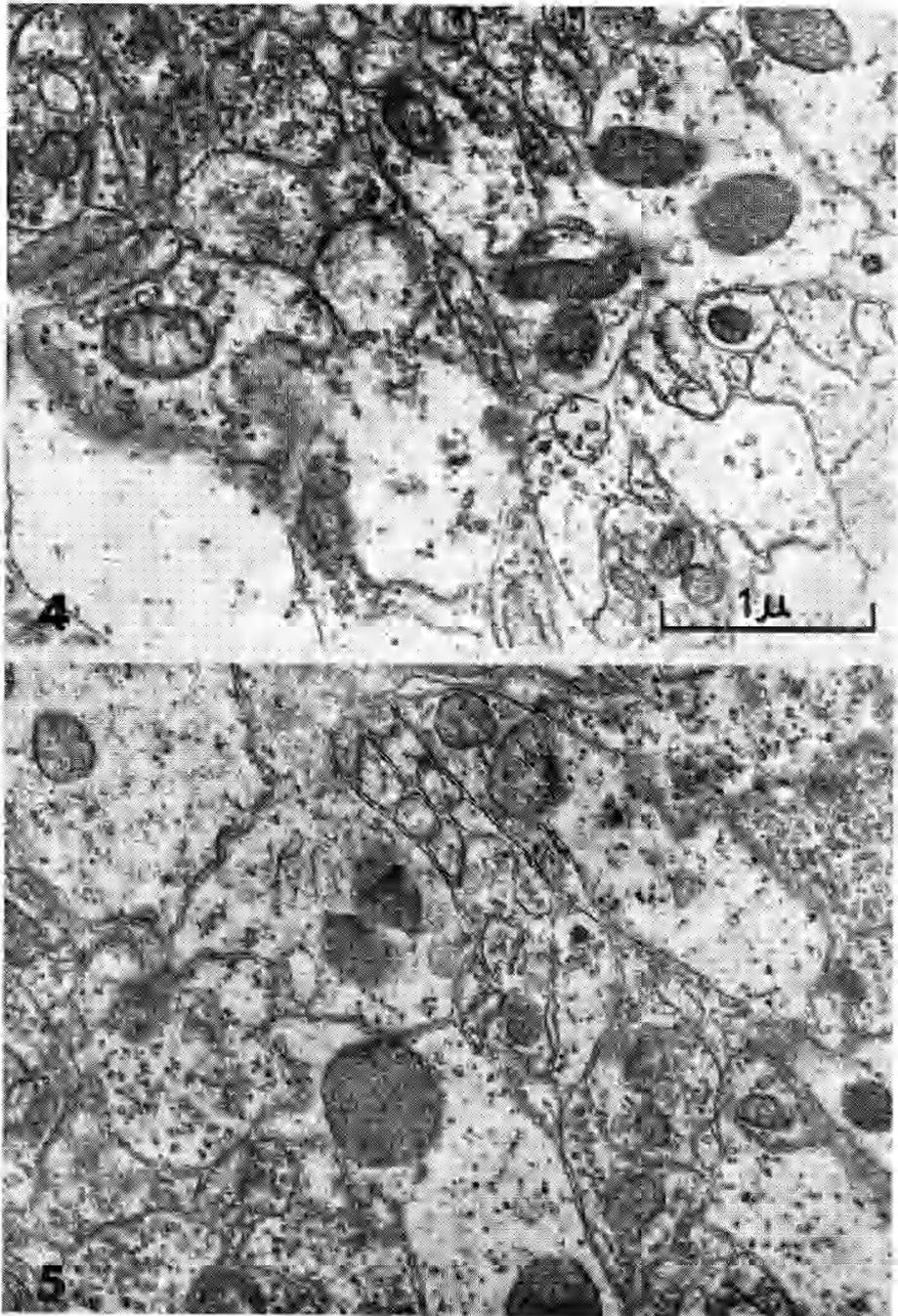
- [1] D. D. SABATINI, K. BENSCH e R. J. BARNETT, « J. Cell. Biol. », 17, 19 (1963).
- [2] G. MILLONIG, « Riv. Istochim. », 9, 229 (1963).
- [3] S. M. KURTZ, « J. Ultrastruc. Res. », 5, 468 (1961).
- [4] M. J. KARNOVSKY, « J. Biophysic. Biochem. Cytol. », 11, 729 (1961).
- [5] J. ROSENBLUTH, « J. Cell. Biol. », 16, 143 (1963).

(1) Ringrazio vivamente il prof. Alberto Stefanelli per i consigli e l'ospitalità offertami nell'Istituto di Anatomia Comparata da Lui diretto. Sono riconoscente e ringrazio il dott. Bruno Bertolini per l'aiuto datomi nelle ricerche fatte con il microscopio elettronico.

A. ROSSI-FANELLI e B. SEGRE



Figg. 1-3. - Neuropilo sottomeningeale del tetto ottico di *Xenopus*. Prefissazione in GA. Si notino le « ernie », ma d'altra parte il tessuto ha un aspetto normale.



Figg. 4 e 5. – Neuropilo sottomeningeale del tetto ottico di *Xenopus*
non prefissato in GA.