
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

MARIO DE VINCENTIIS, ALBERTA MAGNI, GIOVANNI
MATERAZZI

Attività dipeptidasica delle metà dorsale e ventrale dell'iride nel corso della rigenerazione del cristallino in Triton cristatus

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.2, p. 259–263.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_2_259_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. — *Attività dipeptidasica delle metà dorsale e ventrale dell'iride nel corso della rigenerazione del cristallino in Triton cristatus*^(*). Nota di MARIO DE VINCENTIIS, ALBERTA MAGNI e GIOVANNI MATERAZZI, presentata ^(**) dal Corrisp. A. STEFANELLI.

È noto che la rigenerazione Wolffiana del cristallino negli urodéli rientra nei quadri di rigenerazione per morfallassi, vale a dire quel particolare tipo di rigenerazione per cui determinate cellule, già differenziate, hanno la capacità di andare prima incontro ad uno sdifferenziamento e quindi differenziarsi verso altre strutture. In particolare per il cristallino ciò è molto evidente poiché questo organo, che nel normale sviluppo embrionale deriva dall'ectoderma, una volta asportato nell'adulto, si rigenera dalle cellule pigmentate dello strato irideo retinico dell'iride dorsale, cellule che depigmentandosi danno luogo al nuovo cristallino.

Dai classici lavori di Colucci [1], Wolff [2], Wachs [3] numerose sono le ricerche sperimentali che hanno cercato di indagare sui fattori che presiedono alla rigenerazione del cristallino negli urodéli (su tale argomento, al quale fondamentali contributi hanno portato la Scuola giapponese di Sato e quella americana di Stone, estese citazioni bibliografiche sono riportate nei lavori di Reyer [4, 5]). I risultati hanno tutti concordemente dimostrato come, responsabile di tale rigenerazione, sia il territorio corrispondente alla regione dorsale dell'iride. Tale peculiare proprietà della porzione dorsale dell'iride è stata di recente studiata da un punto di vista biochimico, immunologico ed ultrastrutturale. Si è dimostrato così a carico della metà dorsale iridea rispetto alla metà ventrale un aumento di RNA (Takata, [6]; Yamada e Karasaki, [7]); un aumento notevole di incorporazione di P³² (Eguchi e Ishikawa [8]); di H³-leucina (Yamada e Takata [9]); della fosfatasi alcalina (Eguchi e Ishikawa [10]); la comparsa precoce di antigeni specifici lenticolari (Vyazov e Sazhina [11]; Ogawa [12], [13]; Takata, Albright e Yamada [14]); alterazioni a carico delle cellule pigmentate e del cristallino rigenerato adoperando antisieri lenticolari (Ogawa [15]). Studi al microscopio elettronico hanno mostrato nella porzione dorsale dell'iride caratteristici cambiamenti polimorfici dei mitocondri, ed aumento di ribosomi per unità di area della matrice citoplasmatica (Eguchi [16], [17]; Karasaki [18]).

L'insieme dei dati raccolti sarebbero favorevoli secondo Yamada e Takata [9] all'ipotesi che in tale sistema il progredire della rigenerazione del cristallino sia controllato da RNA sintetizzato nel nucleo delle cellule dell'iride

(*) Cattedra di Istologia ed Embriologia ed Istituto di Anatomia ed Istologia dell'Università di Camerino.

(**) Nella seduta del 12 dicembre 1964.

dorsale. Mediante l'actinomicina D si è riusciti, infatti, a bloccare la rigenerazione del cristallino senza produrre lesioni dei tessuti normali dell'occhio inclusi l'iride ed il cristallino (Yamada e Roesel, cit. da Yamada e Takata [9]).

Ci è sembrato non privo di interesse di intraprendere alcune indagini enzimologiche con particolare riguardo ad enzimi connessi con il metabolismo proteico sulle metà dorsale e ventrale dell'iride di individui adulti di *Triton cristatus*, durante il processo di rigenerazione del cristallino. Nella presente Nota riportiamo i risultati di indagini condotte sull'attività delle dipeptidasi.

MATERIALE E METODO.

Gli esperimenti sono stati condotti su individui adulti di *Triton cristatus*. Gli animali venivano anestesizzati immergendoli in una soluzione di cloretone al 0,04 %. Le operazioni di rimozione del cristallino sono state effettuate tutte sull'occhio destro. Le operazioni sono consistite nell'effettuare con un coltellino di Graefe per cataratta un'incisione a livello della porzione superiore del *limbus* e quindi attraverso tale ferita veniva estratto il cristallino con una leggera pressione. Mediante poi una spatola si rimetteva a posto l'iride, avendo estrema cura di non ledere la parte dorsale. Dopo l'operazione gli animali venivano posti in ambiente umido fino al loro risveglio e quindi messi in acqua di fonte circolante. Giornalmente essi venivano alimentati con pezzetti di fegato crudo di bovino.

Quindi a giorni alterni, iniziando dal 5° fino al 40° giorno dall'operazione, un gruppo di tre tritoni è stato sacrificato per decapitazione e da ogni animale è stata prelevata per il dosaggio enzimatico la porzione dorsale e ventrale dell'iride dell'occhio destro e sinistro. Abbiamo così dosato *contemporaneamente* l'attività dipeptidasica dell'iride ventrale e dorsale sia dell'occhio operato che di quello normale. I tre frammenti di iride sono stati poi posti in micropotter con 225 μ l di H₂O bidistillata ⁽¹⁾ ed omogenati a freddo. Su tali omogenati sono state eseguite le determinazioni di attività dipeptidasica e di azoto totale. L'attività dipeptidasica è stata determinata con il micrometodo di Linderström-Lang e Holter [19]. L'azoto totale è stato determinato per nesslerizzazione diretta di 25 μ l di omogenato; colorimetria allo Spettronic a 400 m μ .

RISULTATI E CONCLUSIONI.

I risultati ottenuti possono così riassumersi:

A) a carico dell'iride dorsale l'attività dipeptidasica rimane pressoché invariata sino al 7° giorno dopo l'operazione per aumentare quindi sensibilmente in maniera statisticamente significativa, raggiungendo il massimo

(1) Tale concentrazione si è rivelata ottimale, per lo studio dell'attività dipeptidasica, nel corso di una serie di esperienze preliminari, durante le quali si è anche stabilito il tempo di incubazione = 45'.

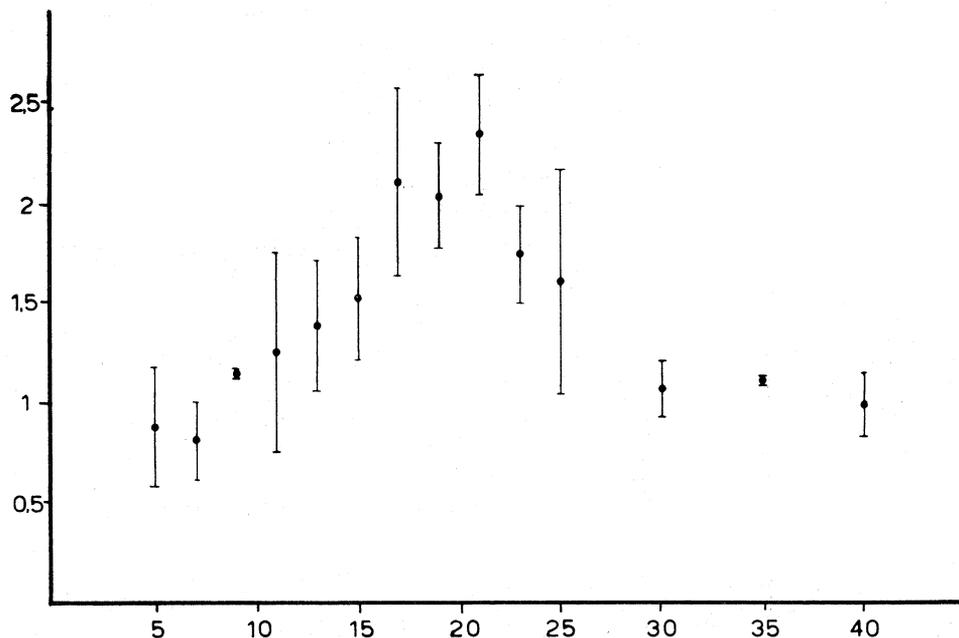


Fig. 1. - Iride dorsale.

Sull'asse delle ordinate viene riportata l'attività enzimatica/azoto totale espressa in rapporto all'iride normale dell'occhio non operato. Sull'asse delle ascisse i giorni dall'operazione di rimozione del cristallino. Nella figura sono riportati i valori medi con ± 2 volte l'errore standard.

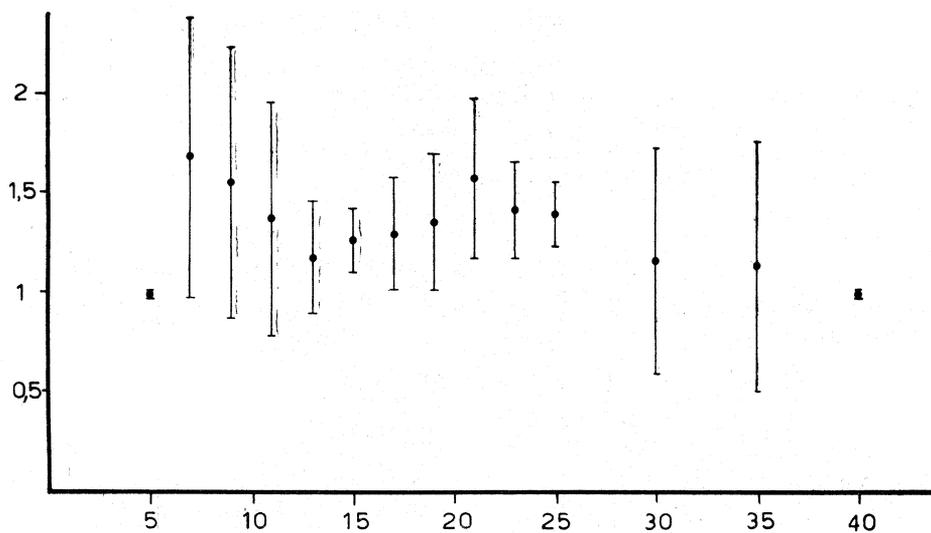


Fig. 2. - Iride ventrale.

Sull'asse delle ordinate viene riportata l'attività enzimatica/azoto totale espressa in rapporto all'iride normale dell'occhio non operato. Sull'asse delle ascisse i giorni dall'operazione di rimozione del cristallino. Nella figura sono riportati i valori medi con ± 2 volte l'errore standard.

intorno al 21° giorno ($P < 0,001$). Inizia quindi a discendere sino a raggiungere al 30° giorno il valore normale (fig. 1, 3);

B) a carico dell'iride ventrale l'attività dipeptidasi si mantiene in linea di massima costante durante tutto il periodo (figg. 2 e 3).

I dati sopra esposti mostrano un'attiva partecipazione delle dipeptidasi al processo di rigenerazione del cristallino. L'aumento dell'attività enzimatica esclusivamente a carico dell'iride dorsale coincide con l'evento morfologico più caratteristico della rigenerazione, vale a dire la metaplasia delle cellule

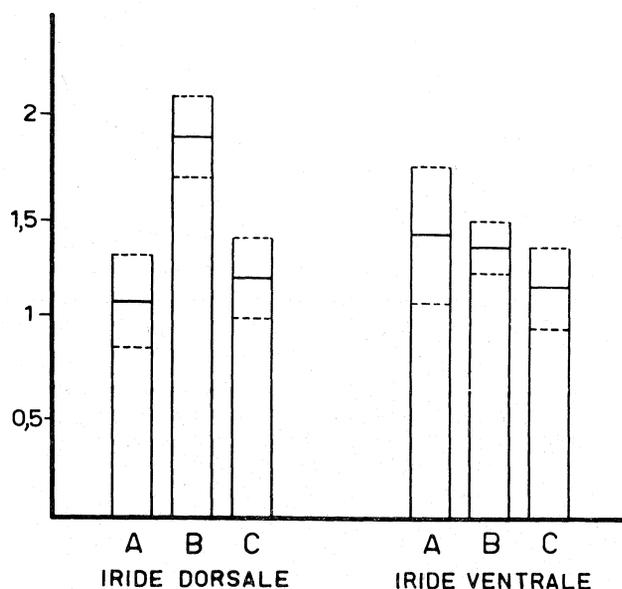


Fig. 3. - Nell'istogramma sono riportati i valori medi dell'attività enzimatica/azoto totale espressa in rapporto all'iride normale dell'occhio non operato ± 2 volte l'errore standard.

A = periodo di rigenerazione 0-13 giorni;
 B = periodo di rigenerazione 13-26 giorni;
 C = periodo di rigenerazione 26-40 giorni.

pigmentate dello strato irideo retinico con produzione di elementi lentogeni, L'aumento osservato coincide, inoltre, sia con l'aumento riscontrato a carico del RNA (Yamada e Karasaki [17]), sia con la maggiore incorporazione di H_3 -leucina (Yamada e Takata [9]) e sia con la produzione di nuove popolazioni ribosomiali (Eguchi [17]; Karasaki [18]).

Tale coincidenza fa supporre che l'enzima da noi studiato, analogamente a quanto osservato in altri tipi di rigenerazione (Urbani [20]; Urbani e Bellini [21]; Bellini e Magni-Polzonetti [22]; Autuori e Bucelli [23]; Urbani-Mistruzzi e Vitali [24]; Hassan, Buongiorno-Nardelli e Autuori [25]; Cecere e Venuti [26]; Autuori [27]; Buongiorno-Nardelli e Hassan [28]), abbia strette connessioni con il processo di differenziamento e con la sintesi di proteine specifiche che ad esso si accompagna.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] V. COLUCCI, «Mem. R. Acad. Sci. Ist. Bologna», 1, 593 (1891).
- [2] G. WOLFF, «Arch. f. Entwmechan. d. Organ.», 1, 380 (1895).
- [3] H. WACHS, «Arch. f. Entwmechan. d. Organ.», 39, 384 (1914).
- [4] R. W. REYER, «Quart. Rev. Biol.», 29, 1 (1954).
- [5] R. W. REYER, *Regeneration* (ed. D. Rudnik), 211 (1962), Ronald Press, New York.
- [6] K. TAKATA, «Experientia», 8, 217 (1952).
- [7] T. YAMADA e S. KARASAKI, «Develop. Biol.», 7, 295 (1963).
- [8] G. EGUCHI e M. ISHIKAWA, «Embryologia», 5, 219 (1960).
- [9] T. YAMADA e C. TAKATA, «Develop. Biol.», 8, 358 (1963).
- [10] G. EGUCHI e M. ISHIKAWA, «Embryologia», 7, 295 (1963).
- [11] O. E. VYAZOV e M. V. SAZHINA, «Zhuer. Obshei. Biol.», 22, 30 (1951).
- [12] T. OGAWA, «Embryologia», 7, 201 (1962).
- [13] T. OGAWA, *ibidem*, 7, 279 (1963).
- [14] C. TAKATA, J. F. ALBRIGHT e T. YAMADA, «Develop. Biol.», 9, 385 (1964).
- [15] T. OGAWA, «Embryologia», 8, 146 (1964).
- [16] G. EGUCHI, «Embryologia», 8, 45 (1963).
- [17] G. EGUCHI, «Embryologia», 8, 247 (1964).
- [18] S. KARASAKI, «J. Ultrastr. Res.», 11, 246 (1964).
- [19] K. U. LINDESTRÖM-LANG e H. HOLTER, «C.R. Lab. Carsberg Sér. Chim.», 19, 1 (1931).
- [20] E. URBANI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 3, 96 (1962).
- [21] E. URBANI e L. BELLINI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 2, 297 (1961).
- [22] L. BELLINI e A. MAGNI-POLZONETTI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 3, 211 (1962).
- [23] F. AUTUORI e E. BUCELLI, «Rend. Ist. Sci. Camerino», 3, 176 (1962).
- [24] L. URBANI-MISTRUZZI e A. VITALI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 3, 219 (1962).
- [25] G. HASSAN, M. BUONGIORNO-NARDELLI e F. AUTUORI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 3, 224 (1962).
- [26] F. CECERE e A. VENUTI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 4, 135 (1963).
- [27] F. AUTUORI, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 4, 135 (1963).
- [28] M. BUONGIORNO-NARDELLI e G. HASSAN, «Rend. Ist. Sci., Camerino», 4, 156 (1963).