
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIUSEPPE REVERBERI

**Osservazioni sulle cellule "a perossidasi" di alcune
larve di Ascidie col microscopio elettronico**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.6, p. 795–798.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_6_795_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/>

Microscopia elettronica. — *Osservazioni sulle cellule « a perossidasi » di alcune larve di Ascidie col microscopio elettronico* (*). Nota di GIUSEPPE REVERBERI, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The peculiar cells which are present under the intestine in the tadpoles of some ascidians and which are particularly rich in peroxidases, have been studied by the electron microscope.

The cells which are filled with vesicles of different sizes show imposing Golgian formations: it is held that they are concerned in synthesizing mucopolisaccharids and lipids.

INTRODUZIONE

1. In una precedente Nota [1] è stato riferito che nelle larve natanti di alcune specie di Ascidie (*Ascidia malaca*, *Phallusia mamillata* e *Ascidiella aspersa*) si riscontrano, nella regione ventrale del cefalotorace, delle grosse cellule che sono disposte a bottoniera doppia e che, al trattamento con la benzidina acetica e l'acqua ossigenata, prendono, immediatamente e intensamente, una colorazione blu. La rapidità con cui avviene la colorazione, e i risultati che si ottengono a seguito del trattamento con alcuni inibitori enzimatici specifici, portano a ritenere che tale colorazione è operata da enzimi e precisamente da perossidasi.

2. La presenza di queste cellule, nelle Ascidie (*Ascidia mentula*), fu significata per la prima volta da Ries [2]; questo Autore considerò tali cellule come delle comuni cellule mesenchimatiche in via di migrazione dalla porzione basale della coda alla regione più anteriore della larva. Questa interpretazione non fu condivisa nella Nota sopra citata, nella quale, invece, venne sostenuto che queste cellule, sia per le dimensioni che presentano, sia per la costanza del loro numero (circa 14 o poco più per singola bottoniera) e sia, infine, per il disegno fisso che formano, sono da considerarsi come entodermiche. Le cellule mesodermiche, d'altra parte, almeno in tutto il periodo che precede il loro differenziamento (e cioè in tutto lo sviluppo embrionale) non prendono mai, dopo trattamento con la benzidina acetica e acqua ossigenata la colorazione indicativa della presenza di perossidasi.

L'origine entodermica di tali cellule, del resto, è dimostrata dal fatto che se allo stadio 8 dell'uovo si asportano i blastomeri vegetativi anteriori esse nella larva che si sviluppa non compaiono [3].

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia della Università di Palermo.

(**) Nella seduta del 18 giugno 1971.

3. Il problema del significato fisiologico di tali cellule è, ovviamente, quello di maggiore interesse; il fatto che esse siano ricche in perossidasi porta a ritenere che intervengano in alcune specifiche sintesi biochimiche.

La natura di queste sintesi biochimiche è illustrata dai seguenti fatti: le cellule *a*) prendono una intensa colorazione col blu di indofenolo: ciò è indicazione che esse contengono lipidi [4, 5]; *b*) prendono, anche, una intensa colorazione col blu toluidina: ciò indica che contengono mucopolisaccaridi acidi [6]; *c*) finalmente, in sezioni istologiche, prendono colorazione con l'Alcian blu [7]: ciò, ulteriormente, indica che esse posseggono mucopolisaccaridi acidi.

Questi fatti portano a ritenere che il significato fisiologico di queste cellule è correlato alla sintesi dei mucopolisaccaridi acidi e di alcune sorta di lipidi e lipoproteine.

4. Il meccanismo della biosintesi dei mucopolisaccaridi è stato molto chiarificato recentemente con gli studi col microscopio elettronico. Secondo queste ricerche la saldatura tra la catena proteica e il polisaccaride si compirebbe nell'apparato di Golgi [8, 9]. È da presumere, dunque, che le cellule « a perossidasi » qui considerate, posseggano vistose strutture golgiane.

È a seguito di tale supposizione che tali cellule sono state analizzate col microscopio elettronico.

MATERIALE E TECNICA

La ricerca è stata condotta su larve natanti di *Ascidia malaca*. Le larve vennero fissate per 2 ore con acido osmico 2% in acqua di mare e successivamente sottoposte alle manipolazioni ordinariamente in uso nella microscopia elettronica. Le sezioni vennero contrastate con acetato di uranile e studiate al Siemens Elmiskope. Ringrazio il sig. Giovanni Randazzo per il suo prezioso aiuto tecnico.

RISULTATI

Le cellule ricercate, conoscendosene già in partenza la ubicazione, non sono difficili a rintracciare. Sono situate sotto l'intestino in posizione ventrolaterale, nello spazio interposto tra esso e l'epidermide (fig. 1); in questo spazio si rinvengono anche le comuni cellule mesodermiche.

Dalla figura riportata si rileva assai chiaramente anche la morfologia. Sono più grandi delle comuni cellule mesodermiche e hanno una forma irregolare, quasi ameboidica. Sono ripiene di vacuoli di diverse grandezze; nei vacuoli si ravvisano resti di un contenuto che probabilmente fu estratto a seguito delle manipolazioni tecniche. Tra i vacuoli, e soprattutto in periferia, si riscontrano delle formazioni di grande interesse: si tratta di serie di cisterne discoidali o di sacculi disposti gli uni sugli altri che richiamano vivamente, per tutti i caratteri, il tipico aspetto delle formazioni golgiane (figg. 2-4): le

pareti dei sacculi sono lisce. L'aspetto generale delle formazioni è a cupola, conseguentemente vi è una faccia concava e una faccia convessa; gli elementi sacciformi che costituiscono i complessi sono 6-10 (figg. 5-7). Le estremità dei sacculi sono dilatate a formare vescicole delle più diverse grandezze: ciò conferisce spesso ai sacculi un aspetto fenestrato (figg. 7 e 8): in rapporto alla faccia concava le vescicole sono più frequenti (fig. 7). Oltre le formazioni « a cupola » si notano, spesso, anche formazioni a cisterne rettilinee (figg. 9 e 10) dalle quali, anche, si staccano vescicole.

Le vescicole che si distaccano da questi complessi probabilmente versano il loro elaborato all'esterno, a momento opportuno. La natura di questo elaborato verrà precisata con ulteriori ricerche facendo soprattutto uso di precursori marcati; probabilmente, come suggerito dalla reazioni citochimiche, è di natura mucopolisaccaridica o lipidica. La localizzazione delle perossidasi (messe in evidenza dalle reazioni citochimiche), se sulle pareti o nel lume delle cisterne, non è stata determinata; la presenza di perossidasi nell'apparato di Golgi è stata segnalata [10]; si ritiene che con tecniche citochimiche applicate alla microscopia elettronica tale localizzazione possa essere precisata.

CONCLUSIONI

1. In conclusione la previsione di inizio che nelle cellule della doppia bottoniera possano essere presenti imponenti formazioni golgiane è, da queste ricerche al M.E., confermata. I mucopolisaccaridi e i lipidi sintetizzati in queste formazioni golgiane, probabilmente vengono impiegati per la costruzione della tunica [cfr. 11]: tale supposizione è avvalorata dalla osservazione che le cellule in questione, quando la larva entra in metamorfosi, migrano attraverso l'epidermide e si portano nell'inviluppo testale.

2. Fu detto altrove [1] che la doppia bottoniera non si mette in evidenza, citochimicamente, nelle larve di Ciona. Questo fatto può essere spiegato in diversi modi: tra l'altro o perché la quantità di secreto è molto scarsa e non raggiunge la soglia di sensibilità delle reazioni citochimiche, o perché in Ciona le cellule a bottoniera non sono presenti; al riguardo va rilevato che la tunica di Ciona, a differenza di quella di *Ascidia malaca* e di *Phallusia mamillata* e di altre Ascidi, è di natura ben diversa e, in ogni caso, poco consistente. Ma anche questo problema potrà essere risolto con l'osservazione al microscopio elettronico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. REVERBERI, G. ORTOLANI e M. FERNANDEZ, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 47, ser. VIII, 375 (1969).
- [2] E. RIES, « Arch. exper. Zellforsch. », 23, 95 (1939).
- [3] G. MATERAZZI e G. ORTOLANI, « Devel. Biol. », 20, 378 (1969).
- [4] H. J. CONN, *Biological Stains*, Geneva N. Y. (1953).
- [5] L. LISON, *Histochimie et Cytochimie animales*. Gauthier-Villars Ed., Paris (1953).

- [6] E. GURR, *Methods of analytical Histology and Histo-Chemistry*. L. Hill, London (1958).
 [7] G. MATERAZZI e L. VITAIOLI, « *Experientia* », 22, 436 (1966).
 [8] P. FAVARD, « *Handb. Molec. Cytol.* » Lima De Faria Ed., North Holland, Amsterdam (1969).
 [9] J. P. THIÉRY, « *J. Microscopie* », 8, 689 (1969).
 [10] BAINTON D. F. e M. G. FORQUHAR, « *J. Cell Biol.* », 35, 6A (1967).
 [11] J. STIÉVENART, « *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.* », 100, 139 (1970).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-V

TAVOLA I

- Fig. 1. – Sezione trasversale di larva di *A. malaca* all'altezza della vescicola cerebrale: nello spazio interposto tra la porzione ventrale dell'intestino (*i*) e l'epidermide (*e*) sono presenti alcune cellule « a perossidasi » (c.p.) oltre che cellule mesodermiche (c.m.); ($\times 5.000$).
 Fig. 2. – Cellula « a perossidasi » della figura precedente a più forte ingrandimento: notare le numerose vescicole (*v*), nelle più grandi delle quali si ravvisano resti di un contenuto; e il complesso golgiano (*g*) ($\times 25.000$).

TAVOLA II

- Fig. 3. – Altra cellula « a perossidasi » dalla fig. 1. Da notare la forma piuttosto irregolare della cellula, le numerose vescicole che riempiono quasi tutto il citoplasma, alcuni mitocondri (*m*) e il complesso golgiano (*g*) ($\times 25.000$).
 Fig. 4. – Cellule « a perossidasi ». Il corpo cellulare è quasi completamente occupato da vescicole, nell'interno delle quali si riscontrano residui di contenuto; tra le vescicole e alla periferia della cellula si riscontra un sistema di cisterne a pila (*g*) ($\times 25.000$).

TAVOLA III

- Fig. 5. – Cellula « a perossidasi ». La forma della cellula è molto irregolare: il suo citoplasma è quasi totalmente occupato da vescicole e da sistemi golgiani, alcuni dei quali di forma « a cupola » ($\times 20.000$).
 Fig. 6. – Figura precedente a maggior ingrandimento: il sistema golgiano « a cupola » è costituito da diversi elementi sacciformi sovrapposti: le pareti dei sacculi sono lisce. Il complesso periferico ha aspetto fenestrato ($\times 10.000$).

TAVOLA IV

- Fig. 7. – Cellula « a perossidasi ». Notare il vistosissimo complesso golgiano « a cupola », al centro. Alcuni elementi sacciformi si allargano all'estremità costituendo vescicole: queste sono abbondanti soprattutto in rapporto con la porzione basale (concava) del complesso golgiano. Alla periferia imponenti complessi sacciformi a tipo fenestrato ($\times 25.000$).
 Fig. 8. – Cellula « a perossidasi ». Notare le numerose vescicole e gli imponenti sistemi saccolari (fenestrati) respinti alla periferia ($\times 20.000$).

TAVOLA V

- Fig. 9-10. – Cellula « a perossidasi » con sistema sacciforme fenestrato in periferia e sistema non fenestrato centralmente: fig. 9 ($\times 20.000$) fig. 10 ($\times 50.000$).









