

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

PIERGIOVANNI GRIGOLATO

**Sintesi critica di risultati ottenuti con nuove tecniche  
istochimiche ed istofrsiche nello studio delle  
membrane cellulari normali e neoplastiche nell'uomo.**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 67 (1979), n.5, p. 347-350.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1979\\_8\\_67\\_5\\_347\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1979_8_67_5_347_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/>



## SEZIONE II

(Fisica, chimica, geologia, paleontologia e mineralogia)

**Fisica.** — *Sintesi critica di risultati ottenuti con nuove tecniche istochimiche ed istofisiche nello studio delle membrane cellulari normali e neoplastiche nell'uomo.* Nota di PIERGIOVANNI GRIGOLATO, presentata (\*) dal Socio A. GIORDANO.

SUMMARY. — The  $x$ -ray microanalysis in the transmission electron microscope of different types of tumours (epithelial or not) confirms the increase of the sulphuric moiety: with the histochemical techniques of tannin-hiron chloride and lanthanum nitrate as ultrastructural tracers we can better attribute this result to proteic or glycoproteic substrata.

In the uveal melanoma, in fact, the microanalytic result seems to be independent of the amount of pigment but is rather related to the proteic structure of the premelanosomes. In the lymphoplasmacytoid lymphoma, on the contrary, the same increased sulphuric moiety is referred to some glycoproteic substrata of the membrane.

Il riscontro microanalitico di una quota solforata che si ripeteva con una certa costanza in neoplasie epiteliali maligne del polmone, dello stomaco e dell'intestino, con modalità apparentemente indipendenti dal tipo istologico, ci ha indotto ad estendere questo genere di studio anche a tumori di natura non epiteliale.

### MATERIALE E METODI

Sono stati presi in considerazione alcuni esempi di melanomi uveali (n. 12 casi), di linfomi linfoplasmocitoidi (n. 2 casi), di carcinomi renali (n. 3 casi) e vescicali (n. 6 casi).

Le tecniche istochimiche ultrastrutturali usate sono quelle dei traccianti, già descritte in precedenti esperienze, e che si rifanno ai metodi del lantanio/nitrato e del tannino/ferro cloruro; il primo è stato utilizzato per la visualizzazione dei glicosoaminoglicani di superficie, il secondo per lo studio della integrità complessiva di membrana e degli eventuali gradienti di permeabilità ad essa correlati.

La microanalisi- $x$  è stata compiuta con spettrometro di massa Kevex ed amplificatore multicanale applicati ad un microscopio elettronico Siemens Elmiscop 1 A.

### RISULTATI

Neoplasie delle vie urinarie (carcinomi renali e vescicali): si riscontra una buona integrità complessiva della membrana cellulare valutabile con la tecnica del tannino/ferro cloruro: la « impermeabilità » iniziale si riduce pro-

(\*) Nella seduta del 27 novembre 1979.

gressivamente con la differenziazione e la infiltrazione verso le strutture circostanti. Il segnale dello zolfo è apprezzabile, relativamente più intenso nelle neoplasie della vescica cui si associa una positività più forte, e sovente distribuita molto più irregolarmente, del metodo al lantanio/nitrato che tende a precipitare in ammassi grossolani. Il reperto si modifica in ambedue i tipi di tumori con apprezzabile riduzione della positività dopo predigestione in acetilcisteina che attacca selettivamente i ponti disolfuro.

Linfomi linfoplasmocitoidi: con il metodo al lantanio/nitrato si osserva una intensa positività, certamente superiore a quella che si riscontra nei tessuti linforeticolari di controllo: il reperto si riduce sensibilmente con predigestione in acetilcisteina. La quota solforata è sempre ben determinabile e in ogni caso nettamente superiore ai controlli.

Melanomi della coroide: progressivo incremento della permeabilità di membrana, con il crescere della sdifferenziazione, cui si associa una scarsa positività al lantanio. La quota solforata è sempre alta e ben valutabile in aree pigmentate ed acromiche.

#### DISCUSSIONE

Le variazioni della integrità complessiva della membrana cellulare con possibili incrementi della permeabilità cui sarebbero da attribuire i gradienti di perossidazione della reazione tannino/ferro cloruro, sembrano essere abbastanza costanti: si tratta di fenomeni che ricorrono con particolare frequenza negli stadi più avanzati di sdifferenziazione o nelle versioni più infiltranti con caratteristiche morfologiche sostanzialmente identiche nei differenti tipi di neoplasie esaminate.

La presenza di una intensa positività di membrana al lantanio/nitrato nei linfomi e nei carcinomi delle vie urinarie può giustificare l'ipotesi secondo cui in queste neoplasie si verificherebbe un incremento dei glicosioaminoglicani di superficie dotati di gruppi solforati, evento per altro ben documentato soprattutto dal punto di vista biochimico.

Nei melanomi uveali in cui la quota solforata non sembra associata ad un accumulo di glicosioaminoglicani di membrana, è giustificato l'orientamento secondo cui il reperto potrebbe essere riferito alla struttura proteica paracrystallina dei premelanosomi poiché, da una serie di analisi comparative, sembra di dedurre che la concentrazione di zolfo sia sostanzialmente identica in aree pigmentate e in zone acromiche, purché provviste di premelanosomi: si riscontrano tutt'al più variazioni nelle concentrazioni del calcio e del ferro che seguono abbastanza fedelmente le modificazioni quantitative del pigmento melanico.

Da queste osservazioni istochimiche ed istofisiche sembra di poter confermare l'importanza della quota solforata che si documenta in neoplasie

anche non epiteliali: l'uso combinato della microanalisi e dei traccianti ultrastrutturali ci è d'aiuto per la localizzazione dei substrati eventualmente responsabili del riscontro microanalitico. È infatti possibile dedurre che tracce solforate importanti, a seconda dei casi, potrebbero concentrarsi o sulla superficie cellulare in prossimità della membrana o in aree citoplasmatiche ben circoscritte, in funzione anche della natura dei campioni.

L'importanza di alcuni substrati di membrana è ribadita da queste ricerche comparative su neoplasie a diversa istogenesi in quanto è stato possibile documentare che anche nei linfomi si possono verificare incrementi anomali, talora anche cospicui, dei GAG o glicosioaminoglicani associati a quote solforate.

#### BIBLIOGRAFIA

- BEN-BASSAT H., POLLIACK A., MITRANI-ROSENBAUM S. e ALTRI (1977) - *A comparative study of human cell lines derived from patients with lymphoma, leukemia and infectious mononucleosis. Membrane properties, ultrastructure and surface morphology.* «Cancer», 40 (4), 1481-1491.
- BLODI F. C. (1977) - *Pathology of choroidal melanomas. Unusual aspects confusing the clinical diagnosis.* «Transophthalmol. Soc. U. K.», 97 (3), 362-367.
- CASTOLDI G., GRUSOVIN G. D., SCAPOLI G. e ALTRI (1977) - *Acute myelomonocytic leukemia terminating in histiocytic reticulosis. Cytochemical, cytogenetic and electron microscopic studies.* «Cancer» 40 (4), 1735-1747.
- DESAIVE C., ZIET S. and NICOLINI C. (1978) - *Size dependence of cell cycle parameters for lung metastases from B 16 melanoma.* «Cancer Lett.», 4 (5), 285-292.
- FILIPPA D. A., LIEBERMAN P. H. and ERLANDSON E. (1978) - *A study of malignant lymphomas using light and ultramicroscopic, cytochemical and immunologic technics. Correlation with clinical features.* «Am. J. Med.», 64 (2) 259-268.
- GAMEL J. W. and MC LEAN L. W. (1977) - *Quantitative analysis of the Callender classification of uveal melanoma cells.* «Arch. Ophthalmol.», 95 (4), 686-691.
- HUNT N. H., SHORTLAND J. R., MICHELANGELI V. P. e ALTRI (1978) - *Adenylate cyclase activity of renal cortical carcinoma and its relation to histology and ultrastructure.* «Cancer Res.», 38 (1) 23-31.
- KIM J. K., FROHNERT P. P., BUI Y. S. D. e ALTRI (1977) - *Enzymes of cyclic 3', 5' nucleotide metabolism in human renal cortex and renal adenocarcinoma.* «Kidney Int.», 12 (3), 172-183.
- LERCHE W. and MASLO K. H. (1977) - *On the structure of the pigment epithelium proliferation over malignant melanoma of the choroid.* «Monatsbl. Augenheilkd», 171 (3), 450-458.
- SCHIELDS J. A. (1977) - *Modern methods in the diagnosis of uveal melanomas.* «Trans. Ophthalmol. Soc. U. K.», 97 (3), 407-411.
- SHIGEMATSU T., NAGASAKI T., KIKUCHI M. e ALTRI (1978) - *Scanning and transmission electron microscopy of leukemic lymphoma cells without T and B cell surface markers.* «Virchows Arch. Abt. B cell. pathol.», 26 (3), 225-232.
- SURJANEN K. and HJELT L. (1978) - *Ultrastructural characteristics of human renal cell carcinoma in relation to the light microscopic grading.* «Nephrol.», 12 (1), 57-65.

## SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

Fig. 1. - Linfoma linfoplasmocitoide (sezione non colorata), positività intensa delle superfici cellulari al Lantanio/nitrato. Nel tracciato microanalitico si riscontrano, rispetto al controllo, un relativo incremento dello zolfo ed un segnale apprezzabile del lantanio.

Fig. 2. - Carcinoma renale « a cellule chiare » (sezione non colorata), buona positività della superficie cellulare al Tannino/ferro-cloruro (→). Netto incremento della quota solforata mentre rimane sempre ben riconoscibile il picco del calcio (neoplasia non infiltrante).

Fig. 3. - Melanoma della coroide « a cellule fusate tipo B » (sezione non colorata), con il metodo al Tannino/ferro-cloruro si osserva un prolungamento cellulare (→) con positività intensa presumibilmente riferibile ad un relativo incremento della permeabilità di membrana. I rilievi microanalitici dimostrano sempre un buon segnale dello zolfo indipendente dalla quantità di pigmento melanico maturo.

Fig. 4. - Carcinoma vescicale infiltrante (sezione non colorata), positività di membrana irregolarmente distribuita con il metodo al Lantanio/nitrato (→). L'incremento della quota solforata, rispetto alla mucosa-controllo, è significativo.

