

8. Carla CARTONI. — La cromatina del sesso nelle cellule di alcuni tessuti di piccione.

Riassunto. — E' stata studiata la distribuzione della cromatina del sesso nei nuclei delle cellule dell'epitelio renale, delle fibre muscolari striate e delle cellule del parenchima epatico di piccione.

E' risultato che tale massa cromatinica è presente nel 48% in media nelle cellule di piccione di sesso femminile e nel 14% di quelle di piccione di sesso maschile.

Summary. — The distribution of sex chromatin in the nuclei of cells of renal epithelium, striated muscle fibre and liver parenchima was studied.

It was found that the chromatin mass is present as an average of 48% in the cells of female pigeons and in 14% in those of male pigeons.

Differenze morfologiche nucleari tra i due sessi furono osservate per la prima volta, nel 1949 da BARR e BERTRAM ⁽¹⁾ nelle cellule nervose del nucleo dell'ipoglosso di gatto. Gli AA. notarono che i nuclei delle cellule di gatto di sesso femminile, colorate con il metodo di Nissl, mostravano in una percentuale del 30-40% una massa cromatinica, di forma rotondeggiante, adiacente al nucleolo, a volte più colorata del nucleolo stesso. Nelle cellule di sesso maschile tale massa era visibile molto raramente e nel caso che si vedeva era molto più piccola di quella che si osservava nei nuclei delle cellule femminili.

Successivamente GRAHAM e BARR ⁽²⁾ estesero le ricerche a cellule di numerosi altri tessuti, sempre di gatto. Tranne che per il fegato e per gli acini pancreatici, gli AA. trovarono differenze morfologiche tra i due sessi in tutti i tessuti esaminati. Infatti i nuclei delle cellule di sesso femminile presentavano in una percentuale che va da metà a due terzi una grossa massa di cromatina con contorni ben netti e addossata alla membrana nucleare.

Le caratteristiche di tale massa cromatinica, denominata cromatina del sesso, variano leggermente a seconda del tipo di cellule: essa è infatti particolarmente evidente nelle cellule nervose, nel surrene appare più piccola nelle cellule della parte corticale che della midollare, nel pancreas non è visibile perchè questo tessuto possiede nuclei molto piccoli o picnotici. La cromatina del sesso ha un diametro che varia da

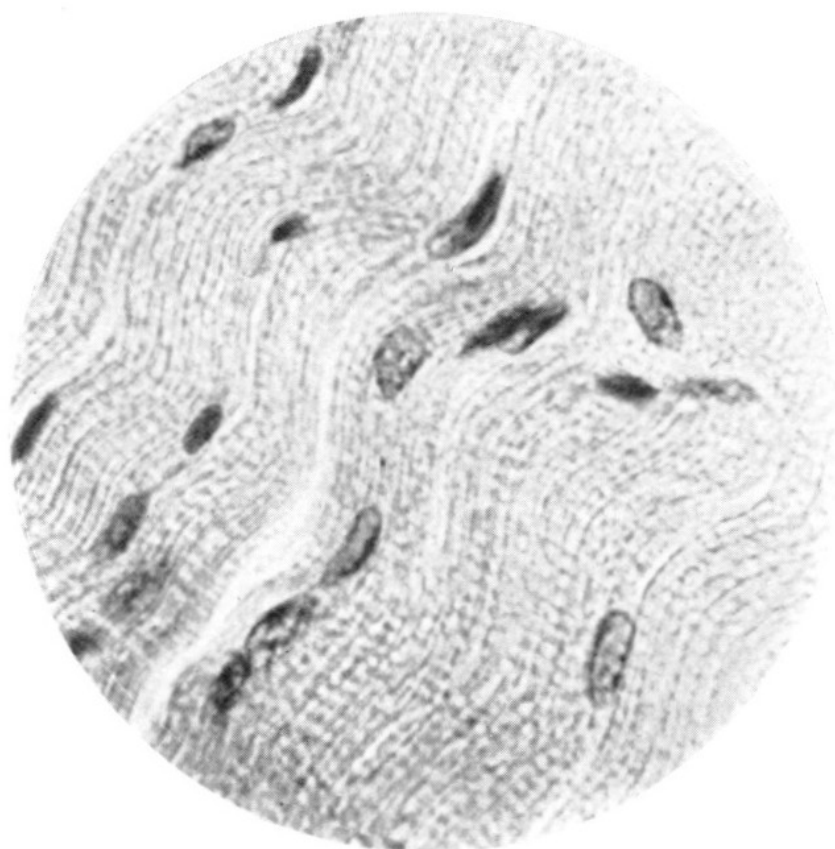


Fig. 1 - Nuclei di fibre muscolari striate di piccione femmina ($\times 1.200$)



Fig. 2 - Nucleo di fibra muscolare striata, di piccione femmina, che presenta la cromatina del sesso. Particolare della Fig. 1 ($\times 6.000$)

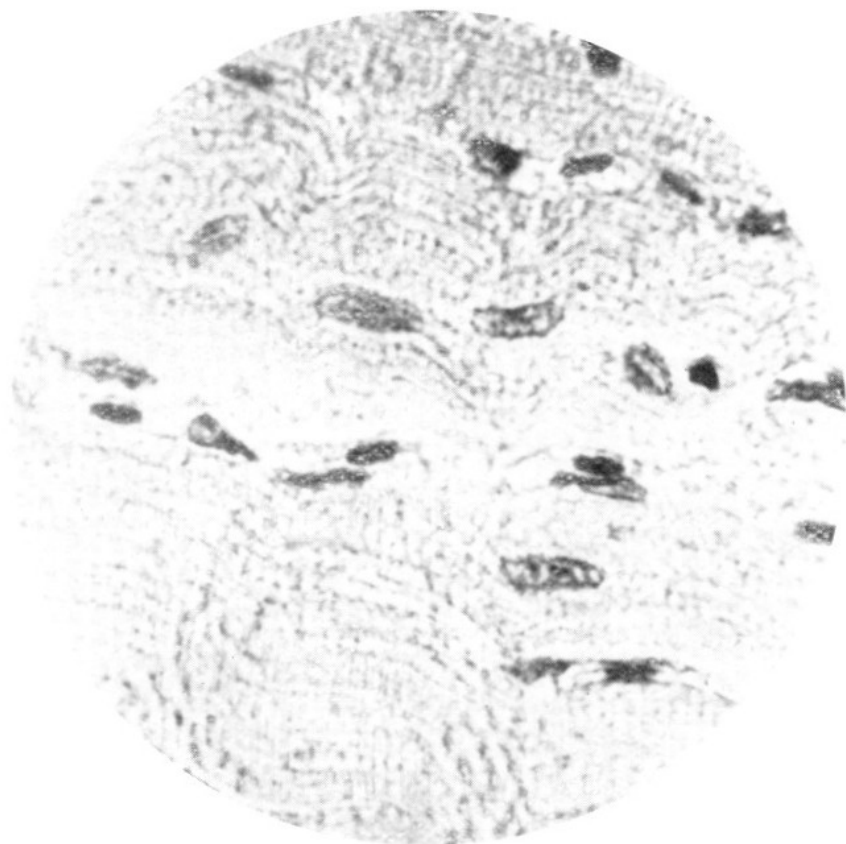


Fig. 3 - Nuclei di fibre muscolari striate di piccione maschio ($\times 1200$)

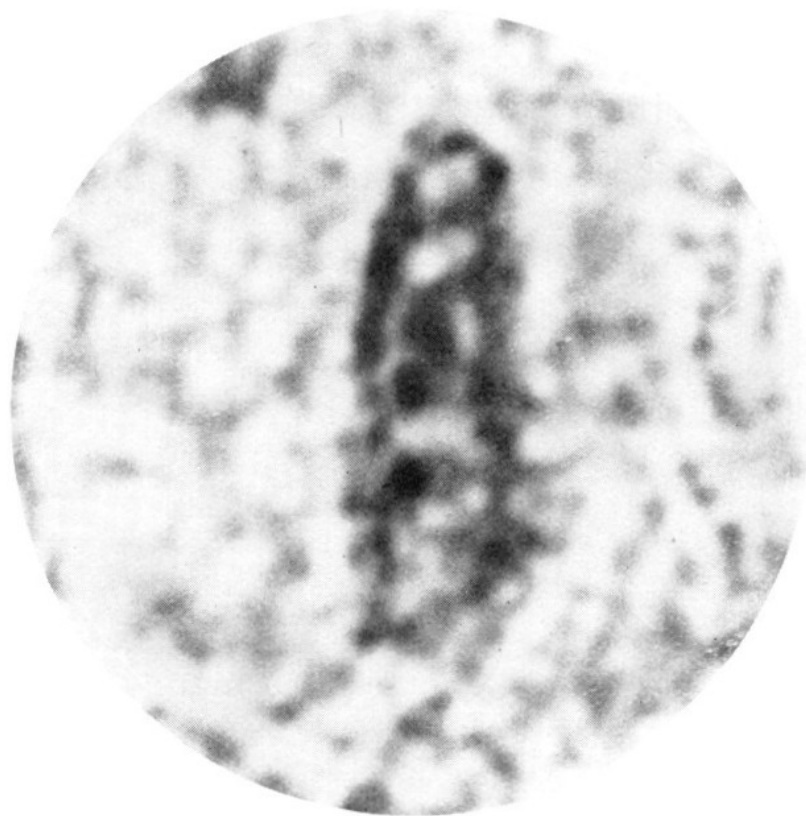


Fig. 4 - Nucleo di fibra muscolare striata, di piccione maschio, che non presenta la cromatina del sesso. Particolare della fig. 3 ($\times 6.000$)

0,5 - 1 μ e contiene un acido desossiribonucleico: infatti ha un'alta affinità per il verde di metile ed è Feulgen positiva.

Tali ricerche sulla cromatina del sesso furono estese in un secondo tempo a molti tessuti di animali di varie specie (³⁻⁹).

Tranne che per i Lagomorfi e i Roditori (^{3, 5, 6}) si osservò che la maggior parte dei nuclei delle cellule di tutti gli altri animali di sesso femminile presentavano la cromatina del sesso situata vicino al nucleolo, a volte libera nel nucleo-plasma o addossata alla parete interna della membrana nucleare.

Nell'uomo la cromatina del sesso fu osservata per la prima volta nelle cellule della pelle di soggetti di sesso femminile (^{10, 11, 12}). Successivamente furono studiati oltre i tessuti e gli organi nei quali la cromatina del sesso era già stata osservata negli animali (¹³) altri come la mucosa buccale (^{14, 15}), le cellule della corteccia frontale e dei gangli simpatici (¹⁶), le cellule del liquido e dell'epitelio amniotico (¹⁷⁻¹⁹), le cellule tumorali (²⁰), le cellule della placenta umana (²¹) l'epitelio vaginale ed uretrale (²²) i linfociti (^{23, 24}) i neutrofili polimorfonucleati. (²⁵⁻³¹).

Nei neutrofili polimorfonucleati la cromatina del sesso si presenta in un aspetto del tutto peculiare a forma di bacchetta di tamburo: essa è infatti una protuberanza nucleare formata da una testa di cromatina compatta dal diametro di 1,5 - 2 μ unita ad un segmento nucleare da un sottilissimo filamento.

La scoperta della cromatina del sesso nelle cellule dell'uomo ha avuto riflessi anche nel campo della medicina: in base allo studio della cromatina del sesso dei soggetti è possibile eseguire la diagnosi di sesso in casi dubbi come l'ermafroditismo vero, lo pseudo ermafroditismo, l'endocrinopatie e anomalie congenite (^{26, 31, 32}).

La notevole importanza della cromatina del sesso deriva dal fatto che essa non è influenzata in alcun modo da fattori ormonali nè dalle ghiandole endocrine del sesso opposto sia nell'animale adulto sia nel periodo dello sviluppo. Infatti neuroni di gatti, castrati o non castrati, di sesso femminile (⁶) non presentano differenze morfologiche nucleari e gli embrioni di gatti non ancora sessualmente differenziati ma che già presentano nei vari tessuti la cromatina del sesso si differenziano successivamente in femmine (⁹). MOORE, GRAHAM e BARR (¹⁰) hanno riscontrato la cromatina del sesso nel 78% dei nuclei delle cellule di varie sezioni del sistema nervoso di « freemartins » bovini; ciò è in accordo con le ricerche di Tandler, Keller e Lillie che il freemartin è geneticamente una femmina che si sviluppa in un intersesso sotto l'influenza degli ormoni provenienti dal maschio e che passano attraverso le anastomosi che si formano tra i vasi fetali dei due gemelli bovini.

Recentemente le ricerche sulla cromatina del sesso sono state estese anche agli uccelli; Kosin e Ishizaki hanno messo in evidenza la presenza della cromatina del sesso, simile a quella dei mammiferi e addossata alla membrana nucleare, nei nuclei delle cellule femminili di vari tessuti di pollo domestico, sia nell'adulto ⁽³³⁾ che nell'embrione ⁽³⁴⁾. Essi hanno inoltre escluso, in accordo agli altri AA., che la formazione di tale massa cromatinica sia influenzata dagli ormoni sessuali ⁽³⁴⁾.

Secondo la teoria di BARR ⁽¹⁾ la cromatina del sesso rappresenterebbe la parte eterocromatica della coppia cromosomica sessuale XX, resa evidente nel nucleo intercinetico per un fenomeno di coalescenza. Nel maschio, dove esiste un solo cromosoma X, mentre il cromosoma Y è molto piccolo o assente, l'eterocromatina sarebbe troppo scarsa per poter costituire una massa visibile al microscopio. In appoggio a tale teoria è il fatto che una differenza morfologica tra i nuclei dei due sessi non è stata dimostrata nelle cellule di tessuti di Roditori e Lagomorfi ^(6, 7): infatti questi animali o hanno il cromosoma Y relativamente grande o presentano una scarsa quantità di eterocromatina nei cromosoma XX. Inoltre GRAHAM ⁽⁸⁾ ha trovato che nell'opossum la cromatina del sesso è presente sia nei nuclei di cellule di sesso femminile che maschile benchè nel maschio sia ridotta a dimensioni metà rispetto a quella della femmina: ciò si spiega con il fatto che le cellule maschili di tale mammifero possiedono un cromosoma Y abbastanza grande da poter formare con il cromosoma X una massa cromatinica ben distinta.

Alla luce delle recenti osservazioni sugli uccelli ⁽³³⁾ la teoria di Barr è apparsa però criticabile. Negli uccelli dove il sesso eterogametico è quello femminile, poichè secondo Barr la cromatina del sesso sarebbe data dalla parte eteropicnotica dei due cromosomi X X, ci si dovrebbe aspettare di trovare la cromatina del sesso nel maschio. Ciò non si osserva in quanto è eteropicnotico solo l'unico cromosoma X della femmina mentre non lo sono affatto i due cromosomi XX del maschio. Tale differenza di comportamento dei cromosomi sessuali nei due sessi fanno sorgere l'ipotesi che vi sia piuttosto un dimorfismo sessuale dovuto alla differente attività metabolica dei cromosomi sessuali in relazione ad un ambiente chimico e fisiologico geneticamente maschile e femminile.

Come parte delle ricerche sulla cromatina del sesso il presente lavoro è stato fatto per esaminare se anche nelle cellule di tessuti di piccione si potessero riscontrare differenze morfologiche tra i due sessi.

Nel presente lavoro sono state eseguite le osservazioni su sei piccioni adulti, tre di sesso maschile e tre di sesso femminile. Sono stati presi in considerazione i nuclei delle cellule dell'epitelio renale, delle fibre muscolari striate e delle cellule del parenchima epatico.

I tessuti sono stati fissati in una soluzione di formaldeide — acido acetico glaciale — alcool etilico al 95%. Le sezioni di 6 μ di spessore sono state colorate con l'ematossilina.

Per ciascun animale sono stati esaminati 200 nuclei di ogni tessuto.

All'esame dei preparati di rene è risultato che la cromatina del sesso è presente nel 44-50% delle cellule delle femmine e nell'8-13% di quelle dei maschi.

Nelle fibre muscolari striate dei piccioni femmina il 48-52% dei nuclei presentano la cromatina del sesso; nei maschi la percentuale dei nuclei che presentano la massa cromatinica varia invece tra 18 e 21.

Infine la percentuale della cromatina del sesso nei nuclei delle cellule del fegato varia fra il 47-50 nei piccioni di sesso femminile e tra 13-16 in quelli di sesso maschile.

Quindi la cromatina del sesso è presente nel 48% in media nelle cellule delle femmine e nel 14% di quelle dei maschi.

E' stato osservato inoltre che sia nelle cellule epatiche che in quelle dell'epitelio renale, che nelle fibre muscolari striate la cromatina del sesso si presenta di forma rotondeggiante e addossata alla membrana nucleare.

CONCLUSIONI

La presente ricerca, che vuol essere un contributo alla conoscenza del problema sulla cromatina del sesso, ha messo in evidenza la presenza della massa cromatinica sia nei nuclei di tessuti di piccione femmina che maschio, ma nelle femmine la percentuale è di circa 3 volte e mezzo più alta di quella dei maschi.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Biologia.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BARR M. L. e BERTRAM E. G. - *Nature*, 163: 676 (1949).
- (2) GRAHAM M. A. e BARR M. L. - *Anat. Rec.*, 112: 709 (1952).
- (3) BARR M. L., BERTRAM L. F. e LINDSAY H. A. - *Anat. Rec.*, 107: 283 (1950).
- (4) BAFFONI G. M. - *Rend. Acc. Naz. Lincei*, 22: 533 (1954).
- (5) BARR M. L. - *Exp. Cell Res.*, 2: 288 (1951).
- (6) COIDAN R. S. - *J. comp. Neurol.*, 97: 61 (1952).
- (7) MOORE K. L. e BARR M. L. - *J. comp. Neurol.*, 98: 243 (1953).
- (8) GRAHAM M. A. - *Anat. Rec.*, 124: 403 (1956).
- (9) GRAHAM M. A. - *Nature*, 173: 310 (1954).

- (10) MOORE K. L. e coll. - J. exp. Zool., 135: 101 (1957).
 - (11) MARBERGER E. e NELSON W. A. - J. clin. Endocrin. Metab., 14: 768 (1954).
 - (12) EMERY J. L. e Mc MILLAN M. - J. Path. Bact., 68: 17 (1954).
 - (13) MOORE K. L. e BARR M. L. - Acta anat., 21: 197 (1954).
 - (14) MARBERGER E. e coll. - Proc. Soc. exp. Biol. (NY), 89: 488 (1955).
 - (15) MOORE K. L. e BARR M. L. - Lancet, 2: 57 (1955).
 - (16) ORSI E. V. e RITTER H. B. - Exp. Cell Res., 15: 244 (1958).
 - (17) FUCHS F. e RIIS P. - Nature, 177: 330 (1956).
 - (18) GLENISTER T. W. - Nature, 177: 1135 (1956).
 - (19) KLINGER H. P. - Nature, 181: 1150 (1958).
 - (20) MOORE K. L. - Anat. Rec., 121: 409 (1953).
 - (21) KLINGER H. P. - Acta anat., 30: 371 (1957).
 - (22) KLINGER H. P. - Exp. Cell Res., 14: 207 (1958).
 - (23) RIIS P. - Acta haemat., 18: 168 (1957).
 - (24) SANTILLI E. - Ospedale Maggiore, 46: 1 (1958).
 - (25) DAVIDSON W. M. e SMITH R. D. - Brit. Med. J., 2: 6 (1954).
 - (26) WILKINS L. e coll. - J. clin. Endocrin. Metab., 14: 1270 (1955).
 - (27) DI FERRANTE N. - Rass. Clin., Terapia Scienze, 57: 118 (1958).
 - (28) SANTILLI E. - Haemat. Arch., 44: 143 (1959).
 - (29) SUN L. C. e RAKOFF A. E. - J. clin. Endocrin. Metab., 16: 55 (1956).
 - (30) TEODORI U. - Rass. med., 34: 339 (1957).
 - (31) BRIGGS D. e KUPPERMAN H. S. - J. clin. Endocrin. Metab., 16: 1163 (1956).
 - (32) LENTINI T. e CARLIZZA L. - Policlinico, 63: 1 (1958).
 - (33) KOSIN I. L. e ISHIZAKI H. - Science, 130: 43 (1959).
 - (34) ISHIZAKI H. e KOSIN I. L. - Exp. Cell Res., 21: 197 (1960).
-