

Pubblicazione Quindicinale dal Vol. LI, N. 18 bis
Spedizione e abbonamento postale, Gruppo 2
30 Ottobre 1975

BOLLETTINO DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA SPERIMENTALE

*SOTTO L'AUSPICIO
DEL
CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE*

*Redazione: Segreteria Generale Soc. It. Biologia Sperimentale -
S. Andrea delle Dame, 5 - 50135 Napoli*

*Amministrazione: Casa Editrice Libreria V. Idelson
Via Alcide De Gasperi, 55 - 50135 Napoli*

R. CORONATI, L. DI BELLA, G. SCALERA, M.T. ROSSI e G. TAROZZI (*Istituto di Fisiologia Umana, Cattedra di Fisiologia Generale dell'Università di Modena*)

Contributo alla natura delle interazioni tra nucleotidi e aril-amine nella fisiologia delle piastrine.

La serotonina del sangue è contenuta tutta nelle piastrine (BRACCO e CURTI, *Experientia*, 1954, **10**, 71), soprattutto nei corpi densi (DA PADRA e Coll., *Nature*, 1967, **216**, 1325), che si dissolvono dopo trattamento con reserpina o tiramina, e si riformano dopo incubazione con 5-HT (WHITE; in SHIRLEY A. JOHNSON: *The circulating platelets*, 1971, Ac. Press, N.Y.; SOLATUNTURI e PAASANEN: *Am. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 1966 Suppl. 14, 427; BAK e Coll., *Life Sci.*, 1967, **6**, 1133). Oltre alla 5-HT i corpi densi contengono adenina, guanina, uridina, i corrispondenti nucleotidi e ATP (GOEZ e Coll.: *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1971, **178**, 210). Dopo la dimostrazione dell'effetto trombocitosico della stimolazione delle adenule (DI BELLA e Coll., *Boll. SIBS*, 1969, **45**, 171), degli effetti della melatonina (MLT) in soggetti umani sani e malati (DI BELLA e ROSSI, *Proc. XXVI Internat. Congress Physiol. Sci.*, 1974, 11) e della presenza di MLT nelle piastrine circolanti (DI BELLA e ROSSI L.C.) il problema si spostava dalla 5-HT alla MLT. Secondo DA PRADA e Coll. (CAEN: *Platelets aggregation*, 1971, Masson Paris) la 5-HT forma complessi coi nucleotidi. Noi abbiamo visto: 1) che l'adenosina accresce molto la solubilità in acqua della MLT; 2) che né l'adenina, né l'adenosina, né l'AMP modificano il massimo di assorbimento nell'UV (278 nm) della MLT in etanolo assoluto; 3) che una miscela isomolecolare di MLT e adenosina in alcool, presenta uno spettro i.r. allo stato solido in pastiglie di KBr che riproduce quello della MLT, mentre scompare quasi quello dell'adenosina. Le interazioni fra MLT e adenosina si svolgono forse tramite legami di H con l'NH₂ dell'adenina e con un OH del riboso (PRIMENTAL e McCALLAN: *The hydrogen bond*, 1960, S. Francisco, Freeman & Co.). Perché si svolgano nei corpi densi legami dello stesso tipo l'acqua dovrebbe essere sostituita da mezzi disperdenti meno polari, come fosfolipidi, che darebbero appunto le strutture lamellari constatate da BULL (*Blood*, 1966, **28**, 901) nei corpi densi.

Numero di elementi e di megacariociti del midollo osseo di ratto.

Alla questione se nell'organismo vi è "il midollo osseo" FLIEDNER and CALVO (in BÜCHNER: Handb. d. allg. Pathol., 1969, 2, 381) si limitano a rilevare che il midollo è "verteilt" in tutte le ossa, che sembra funzionare come organo omogeneo, che la ripartizione è diversa nei soggetti giovani o attempati nelle epifisi distali e in quelle prossimali. Noi abbiamo contato il n° totale di elementi e quello dei megacariociti nel midollo di omeri, femori, tibie di ratti normali da gr. 320 a 467 trovando i seguenti valori:

		OMERO		FEMORE		TIBIA	
		n° elemen.x10 ⁶	Meg.	n° elemen.x10 ⁶	Meg.	n° elemen.x10 ⁶	Meg.
320-360	prossim.	2534±521	2133±1493	2481± 775	3225± 895	2766±555	2626± 795
	distale	1918±912	1673±1837	3110±1575	3544±2260	1396±698	1757±1927
360-460		2317±597	5102±3116	2752± 235	2712± 129	2803±936	2653± 952

Le differenze nel numero di elementi sono significative solo fra le diafisi e l'epifisi distale di tibia (0.001 P 0.01), e fra le estremità prossimale e distale (P 0.001); le differenze nel numero di megacariociti sono significative solo fra l'estremità prossimale e la diafisi (0.01 p 0.05) e fra la diafisi e l'epifisi distale dell'omero (0.01 P 0.05).

Il peso medio del midollo del femore in 31 ratti è stato trovato in media di mg. 102.13; 3.6 e 1.5 volte più grande di quello medio dell'omero e della tibia (mg. 27.92 e 65.62). Sembra cioè che tanto più è cospicuo il volume del midollo nella cavità di un osso tanto meno specializzata è la funzione delle sue parti costitutive.

Il midollo delle vertebre, ottenuto per spremitura, ha dato risultati molto discordi: da 257000 a 5008000/mm³ per gli elementi; da 0 a 18000/mm³ per i megacariociti. Le cifre più basse quasi certamente dipendono dalle troppo piccole quantità di midollo prelevato.

Senza smentire la veduta che il midollo sia un tessuto sistemico omogeneo, isoreattivo, queste ricerche suggeriscono tuttavia una relativa tendenza ad una subspecializzazione.

Volume e impacchettamento cellulare del midollo osseo.

È materialmente impossibile estrarre quantitativamente il midollo dalle ossa piatte, per tale ragione soprattutto ci siamo rivolti al midollo contenuto in quantità misurabile nelle cavità dell'omero, femore e tibia. Il peso di tutto il midollo estratto è stato determinato su 36 ratti di una popolazione omogenea; esso è oscillato da 82 a 385 mg., e in media è stato di mg. 195.09 ± 51.39 . Esso tende ad aumentare col progredire del peso corporeo.

I pesi medi del midollo degli omeri, dei femori e delle tibie sono stati di mg. 27.66 ± 9.40 ; mg. 102.3 ± 29.33 ; 65.73 ± 20.46 rispettivamente. Se la correlazione fra il peso del midollo e quello corporeo è di natura rettilinea, le rette relative hanno coefficienti di correlazione decrescenti da $r=0.51$ (midollo totale), a $r=0.47$ (femore), $r=0.38$ (tibia), $r=0.09$ (omero). Gli elevati valori della s.d. e i bassi valori del coefficiente di correlazione per l'omero dipendono indubbiamente soprattutto dalle più vaste ripercussioni sui piccoli pesi, dei minimi difetti di estrazione del midollo di quest'osso.

Non può tuttavia con certezza escludersi che si possa anche trattare di un diverso grado di impacchettamento degli elementi cellulari. In preparati di midollo di ratto, fissati in Zenker-formolo, inclusi in celloidina e paraffina e colorati col liquido di Giemsa, abbiamo misurato col planimetro lo spazio intercellulare; esso poteva raggiungere il 67%.

Se il midollo veniva centrifugato a 20000 rpm (=48200 g) per 40 min., a 0° C, il sopranatante, che avrebbe dovuto verisimilmente corrispondere allo spazio intercellulare, misurava un volume compreso fra 4.64 e 12.10% ed in media di $9.51 \pm 2.42\%$.

La sensibile differenza con i due metodi deve probabilmente ricondursi alla retrazione delle cellule per la fissazione e successiva inclusione. La diversità dei coefficienti di correlazione non depono decisamente a favore di una diversità dei 3 midolli a meno che gli aspetti funzionali non prescindano, come probabile, dal peso del midollo; assume invece un carattere di relativa costanza l'alto grado di impacchettamento del midollo.

Influenza della componente cellulare di midollo sopra la pressione osmotica del liquido intercellulare.

La più alta pressione osmotica (p.o.) del liquido intercellulare di midollo avrebbe potuto dipendere o dagli scambi emotissutali, o dagli elementi del midollo, o da entrambi. Per stabilirne la causa abbiamo anzitutto seguito l'andamento nel tempo della p.o. del sopranatante del centrifugato del midollo di omero, femore e tibia: essa non muta neanche dopo 12 h di permanenza a temperatura ordinaria.

La p.o. del *midollo intero* (non centrifugato) di omero e di tibia invece cresce secondo una funzione rettilinea del tempo a temperatura ordinaria, per cui ogni 10 min. la p.o. cresce di circa 7milliosmoli (m.o.). Questi dati dimostrano che l'alta p.o. del midollo esprime più una attività propria degli elementi cellulari, che un particolare aspetto degli scambi emotissutali.

È probabile che alla temp. propria del "core" di un mammifero, la p.o. del liquido interstiziale di midollo sia costantemente più alta di quella del sangue, di circa 400 m.o. e che se, per ragioni molteplici, la p.o. venisse alterata, essa ritornerebbe tanto più tardi ai valori di partenza quanto più bassa sarebbe frattanto la temp. del midollo, e viceversa.

Se sono gli elementi cellulari a dominare la p.o. del liquido interstiziale del midollo, dovrebbe allora esservi una correlazione tra la cellularità del midollo e la sua p.o. Detta correlazione esiste, ad es., per il midollo di omero, la cui retta di regressione fa prevedere un aumento di 1×10^6 elementi cellulari per ogni 64 m.o. di diminuzione della p.o. Le stesse rette di regressione hanno coefficienti di correlazione di 0.07 per il femore e la tibia.

È perciò probabile che fattori multipli intervengano nella regolazione della p.o., e che di altre attività del midollo, a seconda della dominanza dei vari fattori (probabilmente diversa per intensità nei vari midolli), ne siano mascherate alcune e ne emergano altre.

Sulla pressione osmotica del midollo osseo.

Sospendendo midollo fresco in soluzioni isotoniche di sostanze diverse (glucosio, NaCl, urea, ecc.), il citoplasma tende a ridursi come se il liquido fosse ipertonico. Ciò indurrebbe a pensare che il mezzo nel quale gli stessi elementi vivono e si riproducono nel midollo abbia normalmente una pressione osmotica (p.o.) diversa da quella del sangue, evenienza effettiva, particolarmente nel rene (WIRZ, HARCITAY, KUHN: *Helvet. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1951, **9**, 196). La p.o. del sangue fresco, a 22-23° C, è stata trovata in 9 ratti di peso corporeo di gr. 407 ± 100 , pari a milliosmoli (m.o.) 276.2 ± 11.3 , mentre in 46 ratti, dopo qualche tempo dal prelievo in recipienti fortemente eparinizzati, è stata trovata di 343.2 ± 43.2 m.o.

Nei midolli dei 9 ratti della prima serie le p.o. trovate sono state: per l'omero 451.54 ± 32.9 ; per la tibia 436.2 ± 31.2 ; per il femore 399.9 ± 44.7 ; cioè: 1) la p.o. del midollo osseo è più alta di quella del sangue; 2) essa è tanto più alta quanto più piccola è la massa di midollo contenuta nell'osso.

Infatti nel midollo dell'omero è più alta che nella tibia ($P < 0.001$), e in questa più alta che nel femore ($0.05 < P < 0.10$). Centrifugando a 20000 rpm (=48200 g) per 40 min. a 0° C si è ottenuto un sopranatante con p.o. di 556 m.o. in un gruppo di 16 ratti, e 798 m.o. in un altro di 7 per l'omero: 600 e 657.5 per la tibia, e 623 per un altro gruppo di 8 ratti: 611 e 702.5 per il femore, e 725 in un ratto e 431.4 ± 48.7 in un altro gruppo di 16 ratti nei quali si era lesa il lobus intermedius (l. paramedianus) del cervelletto circa 2 mesi prima.

Il liquido intercellulare ha perciò una p.o. dello stesso ordine di grandezza di quella del midollo totale, e superiore a quella del sangue circolante.