
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

LUCIA MASTROLIA, VALENTINA PATRIZIA GALLO,
HARRY MANELLI

Attività acetilcolinesterasica e pseudocolinesterasiche nelle surrenali di *Rana esculenta* e *Bufo bufo*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 56 (1974), n.4, p. 615–622.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_4_615_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 III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Zoologia. — *Attività acetilcolinesterasica e pseudocolinesterasiche nelle surrenali di Rana esculenta e Bufo bufo* (*). Nota di LUCIA MASTROLIA, VALENTINA PATRIZIA GALLO e HARRY MANELLI, presentata (**) dal Socio P. PASQUINI.

SUMMARY. — The localization of acetylcholinesterase (AChE) and pseudocholinesterase (PsChE) in adrenals of *Rana esculenta* and *Bufo bufo* was studied with Lewis and Shute method (1969). The activity of AChE in *Rana* is positive in the chromaffin cells and is localized in the nuclear envelope, in the cisternae of the rough endoplasmic reticulum and in some vesicles or cisternae of the vacuolar system, and in some chromaffin granules.

The AChE reaction in *Bufo* chromaffin cells is less intense than in *Rana*'s; it is positive in the vacuolar system; it rarely appears in the Golgi system and on the cell membrane for short lengths only. The nerve fibres located among the adrenal cells, both in *Rana* and *Bufo*, generally show a positive reaction to AChE located at axonal surfaces and in some vesicles and neurotubular structures within the axoplasm. The endings, whose morphologic aspect was cholinergic, generally react positively to AChE.

No activity was found in *Rana* and *Bufo* adrenals when butyrylthiocholine was used as substrate.

È noto che le cellule cromaffini o adrenali della surrenale dei Mammiferi e degli Uccelli hanno una innervazione simpatica pregangliare, e che l'acetilcolina ha un ruolo importante nella trasmissione degli impulsi a queste cellule. Infatti con tecniche istochimiche e più recentemente con il microscopio elettronico è stata messa in evidenza la presenza di attività AChEsica nelle cellule adrenali sia nei Mammiferi (Lewis e Shute, *loc. cit.*; Mastrolia e Coupland, dati inediti) che negli Uccelli (Mastrolia e Manelli, 1972), ed è stata così confermata la natura colinergica dell'innervazione di queste cellule.

Nel presente lavoro la ricerca dell'attività AChEsica è stata estesa alle surrenali di due generi di Anfibi anuri: *Rana* e *Bufo*, allo scopo sia di verificare, sulla base della sua distribuzione, la natura colinergica dell'innervazione e colinocettiva di queste cellule, sia di avere un quadro comparativo in specie di classi differenti, cioè in rapporto con i Mammiferi e con gli Uccelli, e anche tra due generi appartenenti allo stesso ordine. Contemporaneamente, anche per il controllo della specificità dell'attività AChEsica, sono state compiute ricerche sulla presenza delle PsChE.

MATERIALI E METODI

Le ricerche sono state compiute in surrenali di *Rana esculenta* e *Bufo bufo*. La tecnica impiegata per la dimostrazione dell'AChE e delle PsChE è quella messa a punto da Lewis e Shute (*loc. cit.*), la quale è una modificazione del metodo originale di Koelle e Friedenwald (1949).

(*) Dall'Istituto di Zoologia dell'Università di Roma, diretto dal prof. H. Manelli.

(**) Nella seduta del 20 aprile 1974.

Le surrenali tagliate in piccoli pezzi, sono state fissate a 0-4°C in gluteraldeide al 2% tamponata a pH 7,2 con tampone cacodilato 0,05 M, per un paio d'ore.

Successivamente sono state incubate in mezzi d'incubazione contenenti i seguenti substrati ed inibitori specifici:

1) ioduro di acetiltiocolina (AthCh, Fluka A. G., Buchs S. G.) per la dimostrazione dell'AChE (su questo substrato agiscono anche le PsChE): 13 mM;

2) ioduro di acetiltiocolina + iso-OMPA (tetrakisopropilpirofosforamide, Koch-Light Lab. Ltd.) inibitore delle PsChE e in particolare della BuChE (Pearse, 1960), per la dimostrazione dell'AChE: $8 \cdot 10^{-5}$ M, secondo El-Badawi e Schenk (1967).

3) ioduro di butiriltiocolina (ButhCh, Fluka A. G., Buchs S. G.) per la dimostrazione delle PsChE: 13 mM;

4) ioduro di butiriltiocolina + BW 284c51 (1,5 bis (4-allildimetilammonio-fenil) pentano-3-one-dibromuro, Welcome Reagents Ltd.) potente e selettivo inibitore dell'AChE (Koelle, 1955), per la dimostrazione delle PsChE: 10^{-5} M, secondo Bayliss e Todrick (1956);

5) ioduro di butiriltiocolina + iso-OMPA, per il controllo dell'azione di questo inibitore;

6) mezzo privo di qualsiasi substrato per controllo.

Le surrenali sono state incubate a 4°C in AthCh per 2½ e 4 ore, e in ButhCh per 4½ e 5½ ore. Le surrenali di *Bufo* sono state incubate in AthCh anche per un periodo di tempo più lungo, cioè fino a 5½ ore.

I pezzi sono stati quindi fissati in tetrossido d'osmio 1% in tampone fosfato di Millonig, disidratati ed inclusi in Araldite. Le fette sottili sono state poi tagliate all'ultramicrotomo (Porter Blum) e sono state osservate al microscopio elettronico Siemens Elmiscop 1 A, senza colorazioni di contrasto, al fine di poter meglio osservare i precipitati della reazione.

RISULTATI

Le osservazioni al M.E., riportate qui di seguito, riguardano preparati incubati in tutti i mezzi, ma in particolare quelli incubati per l'attività AChEsica in presenza di iso-OMPA e per l'attività BuChEsica in presenza di BW 284c51.

Anzitutto va premesso che sia in *Rana* (Coupland, 1971) che in *Bufo* (Piezzi, 1967), sono distinguibili al M.E., dopo fissazione con gluteraldeide e tetrossido l'osmio, due tipi di cellule: uno contenente granuli molto opachi agli elettroni, ed un altro con granuli meno opachi e con matrice finemente granulare.

Secondo i predetti Autori queste cellule possono essere rispettivamente interpretate come cellule a noradrenalina e cellule ad adrenalina.

Ciò premesso, noi abbiamo osservato che in *Rana esculenta* la reazione per l'AChE è abbondantemente positiva in ambedue i tipi di cellule. I precipitati sono localizzati nello spazio perinucleare (Tav. I, fig. 1; Tav. II, fig. 3) addossati alla faccia interna della membrana che delimita la cisterna di cui, per alcuni tratti, possono riempire anche il lume.

L'attività AChEsica è inoltre notevolmente intensa nelle cisterne del reticolo endoplasmatico rugoso e in alcune vescicole del sistema vacuolare. Anche in questo caso i precipitati sono localizzati sulla superficie interna

delle membrane. Le vescicole e le cisterne positive, in ambedue i tipi di cellule sono o sparse nel citoplasma, o, e soprattutto, concentrate nella zona adiacente alla membrana cellulare, anche in prossimità di terminazioni nervose (Tav. I, fig. 2).

Nel sistema di Golgi qualche leggero precipitato di reazione è presente talora sulla membrana di alcune vescicole (Tav. I, fig. 2), occasionalmente su qualche granulo cromaffine di ambedue i tipi. La reazione non è mai risultata positiva né sulla membrana cellulare, né sparsa nel citoplasma, né legata a ribosomi liberi.

Tra le cellule adrenali è possibile osservare fibre amieliniche, isolate o in fasci, che in genere presentano reazione positiva per l'AChE localizzata sulla loro membrana assoplasmatica (Tav. I, fig. 1). Occasionalmente le vescicole all'interno dell'assone mostrano leggeri depositi sulla faccia interna della membrana.

La morfologia delle terminazioni a livello delle cellule adrenali è tipicamente colinergica; infatti all'interno di queste si possono distinguere due tipi di vescicole: uno rotondeggiante di circa 750–1.200 Å di diametro, che dopo fissazione con gluteraldeide e tetrossido d'osmio, mostra del materiale finemente granulare e moderatamente opaco agli elettroni. L'altro tipo costituito di vescicole ovali o rotondeggianti, dal diametro di circa 350–600 Å non mostra nel suo interno alcuna opacità agli elettroni. Queste vescicole sono più numerose delle prime e sono localizzate nella regione sinaptica, mentre le altre, cioè quelle più grandi, sono localizzate nella parte preterminale, ove sono presenti anche mitocondri e particelle di circa 350 Å di diametro, dense agli elettroni e disposte irregolarmente, interpretabili verosimilmente come glicogeno.

Le terminazioni sono in generale positive per l'AChE (Tav. II, fig. 5): i precipitati sono localizzati su tutta la membrana o solo su brevi tratti di essa e la positività è stata riscontrata anche a livello della membrana della parte preterminale della terminazione (Tav. II, fig. 4). Non è stato invece osservato alcun precipitato all'interno delle terminazioni, nel citoplasma e nelle vescicole sinaptiche.

In *Bufo bufo*, in entrambi i tipi di cellule, la reazione per l'AChE appare ad un primo esame solo debolmente positiva rispetto all'attività osservata in *Rana esculenta*, nel senso che poche cellule mostrano positività e che gli organuli citoplasmatici contengono scarsa quantità di precipitati.

L'AChE è positiva nel sistema vacuolare e, più raramente che in *Rana*, si possono osservare cisterne positive situate alla periferia della cellula. Il sistema di Golgi solo occasionalmente presenta qualche precipitato; i granuli contenenti amine sono risultati sempre privi di reazione. La membrana cellulare è positiva per l'AChE soltanto per brevi tratti di alcune cellule (Tav. II, fig. 6).

Le fibre nervose amieliniche disposte in gruppi o isolate tra le cellule cromaffini presentano la membrana assoplasmatica o del tutto negativa alla reazione dell'AChE, o positiva soltanto per piccoli tratti. All'interno degli

assoni è stata riscontrata attività AChEsica nei neurotubuli o in qualche vescicola (Tav. III, fig. 10), anche nei casi in cui la membrana assoplasmatica non presenta reazione. Sono state osservate anche fibre le quali, pur essendo morfologicamente identiche alle precedenti erano assolutamente prive di reazione tanto sulla membrana assoplasmatica quanto nel loro interno.

La presenza di attività AchEsica è stata riscontrata anche a carico della membrana assoplasmatica e dei neurotubuli di alcune fibre mieliniche poste in prossimità delle cellule cromaffini (Tav. III, fig. 11).

Le cellule adrenali di *Bufo* sono apparse riccamente innervate, e la morfologia delle terminazioni è simile a quella osservata in *Rana*. Le vescicole sinaptiche chiare, con diametro di circa 400-600 Å appaiono in generale numerose e molto addensate nella zona sinaptica; nella zona presinaptica si osservano mitocondri, particelle di glicogeno e vescicole più grandi e opache agli elettroni con diametro di circa 800-1.200 Å.

La reazione per l'AChE è positiva solo in alcune delle terminazioni osservate ed è localizzata sulla membrana delle stesse (Tav. III, figg. 8 e 9). Molte terminazioni dall'aspetto colinergico infatti non mostrano alcun precipitato, anche quando nella cellula adiacente si possono osservare precipitati di reazione per l'AChE (Tav. III, fig. 7).

Sia in *Rana* che in *Bufo* la reazione per le pseudocolinesterasi è risultata sempre negativa sia nelle cellule adrenali che nelle terminazioni e nelle fibre nervose.

DISCUSSIONE

Dalle nostre osservazioni è anzitutto emerso che l'attività AChEsica è presente anche nelle cellule adrenali di *Rana esculenta* e *Bufo bufo*, così come lo è nei Mammiferi e negli Uccelli. Il sito di attività, comune sia alla rana che al rospo, è risultato essere soprattutto il reticolo endoplasmico, e da ciò si può dedurre che, al pari di altre proteine enzimatiche, anche questa venga sintetizzata in questa struttura. In *Rana* appare inoltre quasi sempre positiva anche la cisterna perinucleare, e poiché questa, come si sa, è in relazione con il reticolo endoplasmico, ci sembra logico supporre che anch'essa sia interessata alla sintesi di questo enzima.

Più difficile da definire ci sembra il ruolo del sistema del Golgi, dato che l'attività AChEsica nelle sue vescicole e cisterne è debole e presente solo occasionalmente.

Particolare attenzione merita, secondo noi, la localizzazione di queste strutture AChE-positivo in seno alle cellule adrenali, poiché il fatto che le cisterne o vescicole AChE-positivo si trovano molto spesso in prossimità della membrana cellulare - peraltro essa stessa molto raramente positiva - anche nella zona presinaptica, potrebbe rivestire un significato funzionale, nel senso che l'AChE, la cui azione si esplica a livello delle membrane, e quindi anche di quella plasmatica, verrebbe portata per mezzo di queste strutture

nel luogo in cui verrebbe utilizzata. Va detto che nel pollo (Manelli *et al.*, 1973) e nel coniglio (Mastrolia e Coupland, dati inediti) le cellule adrenali mostrano positività per l'AChE sulla membrana plasmatica e meno nel reticolo endoplasmico, almeno rispetto alla rana; da ciò si potrebbe forse dedurre che negli Uccelli e nei Mammiferi l'enzima venga rapidamente riversato dalle strutture di sintesi o di trasporto sulla membrana esterna cellulare e che negli Anfibi questo processo avvenga o più lentamente o soltanto al momento dell'utilizzazione dell'enzima. Va anche detto che la disposizione particolare delle cisterne e delle vescicole AChE-positivo osservata nelle cellule adrenali di *Rana* e *Bufo* ricorda quella delle «subsurface cisternae» osservate in cellule nervose, sia del sistema nervoso centrale che periferico (Rosenbluth, 1962) di alcuni Vertebrati. In particolare essa potrebbe essere analoga a quella delle «subsurface cisternae» AChE-positivo osservate da Brzin *et al.* (1966) nei gangli simpatici di *Rana*, evidenziandosi in tal modo forse anche la comune origine neuroectodermica delle cellule simpatiche e delle cellule adrenali.

Per quel che riguarda la diversa intensità di reazione che si riscontra in *Rana* e in *Bufo*, a noi pare che questo fatto possa essere dovuto o a momenti metabolici diversi oppure ad una distribuzione specie-specifica dell'attività.

La presenza di questa attività enzimatica nelle cellule adrenali si può spiegare con la natura colinergica dell'innervazione, che d'altra parte viene ad essere confermata e dalla morfologia delle terminazioni e dalla constatazione che tanto in *Rana* quanto in *Bufo* esse sono AChE-positivo. Il fatto poi che a volte sia possibile osservare terminazioni dalla tipica morfologia colinergica, ma prive di reazione all'enzima, può verosimilmente essere attribuito al momento funzionale.

Riteniamo anche che si debba rilevare che non si sono osservate né in *Rana* né in *Bufo*, terminazioni la cui morfologia le facesse assomigliare a quelle di tipo adrenergico, e ciò contrariamente a quanto era stato osservato da Piezzi (1966) in *Bufo arenarum*. A questo proposito anche Coupland (1972) è dell'avviso che nelle cellule adrenali degli Anfibi esista un sol tipo di terminazioni, quello colinergico.

Quanto alla presenza di AChE sulle membrane degli assoni delle fibre nervose in prossimità o in contatto con le cellule adrenali, essa potrebbe confermare la nostra interpretazione dell'innervazione colinergica della ghiandola; peraltro sorgono dei dubbi sul significato di quelle fibre, sia in *Bufo* che in *Rana*, che non presentano alcuna reazione. Una spiegazione ragionevole di questo reperto potrebbe venirci dalla considerazione che lungo l'assone la positività non è uniformemente distribuita (come si può vedere nella sezione longitudinale di una fibra nella Tav. I, fig. 1) e che quindi una sezione trasversale od obliqua in cui la fibra nervosa appare priva di reazione potrebbe corrispondere a quella zona in cui l'assolemma non è reattivo.

La localizzazione dell'attività AChEsica, all'interno degli assoni, in alcuni neurotubuli e vescicole, può essere interpretata nel senso che questi organuli costituiscono il sistema attraverso cui la proteina enzimatica viene trasportata

dai luoghi di sintesi (reticolo endoplasmico, cisterna perinucleare) a quelli in cui viene utilizzata, ipotesi questa già avanzata da Fukuda *et al.* (1959) e da Koelle *et al.* (1965).

Questa ipotesi è anche in accordo con quella di Kása e Csillik (1968), i quali hanno osservato in neuroni colinergici di varie specie di Mammiferi che l'AChE compare oltre che in altre sedi anche a carico dei neurotubuli.

Altra ipotesi alternativa potrebbe essere quella secondo cui questi organuli possano essere essi stessi luogo di sintesi dell'enzima. A favore di questa ipotesi sono le ricerche di Koenig (1965), il quale ha dimostrato, nei Mammiferi, che l'AChE può essere sintetizzata nell'assone di neuroni colinergici.

Per quanto riguarda le PsChE, esse sono risultate assenti nelle cellule adrenali di *Rana* e *Bufo*. Questi dati che trovano riscontro con altre ricerche di Shen *et al.* (1955) e di Chacko e Cerf (1960) sul sistema nervoso di *Rana* e *Bufo* e con quelle di Brzin *et al.* (*loc. cit.*), ci permettono di ritenere che l'attività enzimatica riscontrata sia tutta di natura acetilcolinesterasica.

In conclusione, l'aspetto più significativo che emerge dall'insieme dei risultati della nostra indagine al M. E., è che anche negli Anfibi anuri (più precisamente in *Rana* e *Bufo*) l'innervazione delle cellule adrenali è di natura colinergica.

BIBLIOGRAFIA

- BAYLISS B. J. e TODRICK A. (1956) - *The use of a selective acetylcholinesterase inhibitor in the estimation of pseudocholinesterase activity in rat brain*, « Biochem. J. », 62, 62.
- BRZIN M., TENNYSON V. M. e DUFFY P. E. (1966) - *Acetylcholinesterase in frog sympathetic and dorsal root ganglia*, « J. Cell. Biol. », 31, 215.
- CHACKO L. W. e CERF J. A. (1960) - *Histochemical localization of cholinesterase in the amphibian spinal cord and alteration following ventral root section*, « J. Anat. », 94, 74.
- COUPLAND R. E. (1972) - *The chromaffin system*. In « Handbuch der experimentellen pharmakologie », 33, 16.
- EL-BADAWI A. e SCHENK E. A. (1967) - *Histochemical methods for separate, consecutive and simultaneous demonstration of AChE and Norepinephrine in cryostat sections*, « J. Histochem. Cytochem. », 15, 580.
- FUKUDA T. e KOELLE G. B. (1959) - *The cytological localization of intracellular neuronal acetylcholinesterase*, « J. Biophysic. and Biochem. Cytol. », 5, 433.
- KÁSA P. e CSILLIK B. (1968) - *AChE synthesis in cholinergic neurons: electron histochemistry of enzyme translocation*, « Histochemie », 12, 175.
- KOELE G. B. (1955) - *The histochemical identification of acetylcholinesterase in cholinergic, adrenergic and sensory neurons*, « J. Pharmacol. and Exp. Therap. », 114, 167.
- KOELE G. B. e FOROGLU-KERAMEOS C. (1965) - *Electron microscopic localization of cholinesterase in a sympathetic ganglion by a gold-thiolacetic acid method*, « Life Sciences », 4, 417.
- KOELE G. B. e FRIEDENWALD J. S. (1949) - *A histochemical method for localizing cholinesterase activity*, « Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. », 70, 617.
- KOENIG E. (1965) - *Synthetic mechanisms in the axon. I. Local axonal synthesis of acetylcholinesterase*, « J. Neurochem. », 12, 343.
- LEWIS P. R. e SHUTE C. C. D. (1969) - *An electron-microscopic study of cholinesterase distribution in the rat adrenal medulla*, « J. Microscopy », 89, 181.

- MANELLI H., MASTROLIA L. e GALLO V. P. (1973) - *Attività acetilcolinesterasica e pseudocolinesterasiche nelle surrenali degli embrioni e degli adulti di pollo*, « Riv. di Biol. », in corso di stampa.
- MASTROLIA L. e MANELLI H. (1972) - *Sulla presenza di alcune esterasi nelle surrenali di pollo*, « Acta Embr. Exp. », 264.
- PEARSE E. A. G. (1960) - *Histochemistry theoretical and applied*. 2nd Ed. Churchill. London.
- PIEZZI R. S. (1966) - *Two types of synapses in the chromaffin tissue of the toad's adrenal*, « Acta Physiol. Latinoam. », 16, 282.
- PIEZZI R. S. (1967) - *Chromaffin tissue in the adrenal gland of the toad, Bufo arenarum Hensel*, « Gen. Comp. End. », 9, 143.
- ROSENBLUTH J. M. D. (1962) - *Subsurface cisterns and their relationship to the neuronal plasma membrane*, « J. Cell. Biol. », 13, 405.
- SHEN S. C., GREENFIELD P. e BELL E. J. (1955) - *The distribution of cholinesterase in the frog brain*, « J. Comp. Neurol. », 102, 717.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

- Fig. 1. - Surrenale di rana: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Reazione nella cisterna perinucleare (freccette) e nel reticolo endoplasmico (cerchi) di una cellula cromaffine. Osservare la sezione longitudinale di una fibra nervosa (FN), con abbondante reazione in alcuni tratti dell'assolemma. 12.000 ×.
- Fig. 2. - Surrenale di rana: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Cellula ad adrenalina (A) e cellula a noradrenalina (N) con abbondante reazione nel sistema vacuolare. Caratteristica è la disposizione di alcune cisterne (freccette), adiacenti alla membrana cellulare. 19.000 ×.

TAVOLA II

- Fig. 3. - Surrenale di rana: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Reazione nello spazio perinucleare di una cellula ad adrenalina (A) e, molto leggera, in alcune vescicole del complesso di Golgi (G). Abbondanti precipitati sulla membrana di alcune fibre nervose (FN). 15.000 ×.
- Fig. 4. - Surrenale di rana: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Reazione sulla membrana della parte preterminale di una terminazione (freccia grande) e nel sistema vacuolare di una cellula ad adrenalina (freccette piccole). 15.000 ×.
- Fig. 5. - Surrenale di rana: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Terminazione (T) tra una cellula ad adrenalina (A) ed una a noradrenalina (N). Reazione su un breve tratto della membrana della terminazione (freccia corta) e in cisterne del sistema vacuolare, anche adiacenti alla terminazione (freccette lunghe). 17.500 ×.
- Fig. 6. - Surrenale di rospo: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Reazione nel reticolo endoplasmico (freccia lunga) di una cellula ad adrenalina e su un breve tratto della membrana cellulare (freccia corta). 18.000 ×.

TAVOLA III

- Fig. 7. - Surrenale di rospo: incubazione con AthCh + iso-OMPA. La reazione, assente sulla membrana di una terminazione (T) è presente invece in alcune cisterne del sistema vacuolare (freccia) della cellula cromaffine. 18.000 \times .
- Figg. 8 e 9. - Surrenale di rospo: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Terminazione (T) in cellule cromaffini con abbondante reazione sulle membrane. 24.000 \times ; 21.000 \times .
- Fig. 10. - Surrenale di rospo: incubazione con AthCh + iso-Ompa. Fascio di fibre nervose, circondate dalla cellula di Schwann, in prossimità di cellule cromaffini. Osservare i sottili precipitati, all'interno delle fibre, su neurotubuli ed in cisterne. 24.000 \times .
- Fig. 11. - Surrenale di rospo: incubazione con AthCh + iso-OMPA. Fibra mielinica in prossimità di una cellula cromaffine; reazione positiva sulla membrana della fibra (freccie lunghe) e all'interno dell'assone su neurotubuli (freccie corte). 21.000 \times .





