

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

fosse del tutto sospesa. Il che dimostra che la vitalità dei batterii è indispensabile per la fermentazione lattica. Resta infine da spiegare un ultimo fatto: perchè mai nello esperimento con siero di latte, e molto di più in quello con soluzione di lattosio, la reazione s'arrestò a una concentrazione di acido notevolmente più bassa di quella riscontrata nel latte?

La contraddizione è solo apparente: quello che influisce sulla vitalità dei batterii non è l'acidità potenziale, che abbiamo determinato col metodo titrimetrico, ma bensì l'acidità attuale, vale a dire la concentrazione attuale degli idrogenioni. Ora è chiaro che avendo il latte una forza neutralizzatrice superiore a quella del siero, e questo avendola superiore a quella della soluzione di lattosio, il rapporto fra acidità potenziale ed attuale va diminuendo nei tre liquidi, dal latte alla soluzione di lattosio; così che, se avessimo misurato con un metodo fisico la concentrazione degli idrogenioni, probabilmente l'avremmo trovata eguale in tutti e tre i casi.

Chimica. — *La costituzione del protoplasma nelle cellule viventi.* Nota di GIUSEPPE LEVI, presentata dal Corrisp. G. GALEOTTI.

Il metodo delle colture dei tessuti *in vitro* si presta mirabilmente alla soluzione di problemi istologici.

Le cellule emigrate dal pezzo trapiantato nel plasma, se si ha cura di distendere sul copri-oggetti il plasma ancora liquido in uno strato assai tenue, si appiattiscono a tale punto, che diventano delle lamine di estrema sottigliezza, dimodochè l'analisi dell'intima costituzione del protoplasma viene grandemente facilitata. La coltura viene esaminata al microscopio, mantenendo quest'ultimo in un termostato Pfeiffer alla temperatura di 39°.

Le cellule mesenchimali coltivate in plasma si presentano a forma variabile: affusate, stellate, triangolari, con numerosi prolungamenti, spesso ramificati.

La forma della cellula dipende da vari fattori, non sempre esattamente determinabili, pur essendo eguale la quantità di plasma. Anzitutto dal tessuto dal quale la cellula proviene: ho notato, ad esempio, che, mentre le cellule mesenchimali del miocardio e del tegumento e dei miotomi hanno prevalentemente la forma di lamelle con tozzi prolungamenti, le cellule mesenchimali dei gangli spinali emettono invece prolungamenti sottili, non di rado estremamente lunghi.

Le varie cellule sono talora isolate, altre volte riunite in serie; anche i singoli punti di una stessa coltura presentano diversità notevolissime.

La cellula acquista una forma lamellare soltanto dopo 14-20 ore di permanenza della coltura nel termostato. Invece le colture di 3-10 ore

di vita sono meno adatte per tali osservazioni; in queste le cellule periferiche emettono prolungamenti lunghi, filiformi e ramificati, successivamente fa capolino un cappuccio di citoplasma, poi il nucleo; e soltanto più tardi la cellula diviene visibile nella sua totalità.

Poche parole sul nucleo: questo si presenta in forma di una grossa vescicola, sferica od ovale; una forma molto allungata ha il nucleo delle cellule più spiccatamente affusate; il contenuto nucleare delle cellule in riposo è otticamente omogeneo, ed il suo indice di refrazione non è molto diverso da quello del citoplasma. Contiene una o due masse molto refrangenti, che corrispondono a quelli che vengono comunemente chiamati nucleoli, sferiche od ovali od a forma irregolare; in una stessa cellula la forma dei nucleoli cambia continuamente; si disgregano in granuli per poi ricostituirsi in una massa compatta, oppure emettono dei prolungamenti.

Nel citoplasma si distingue una parte fondamentale, poco refrangente, a costituzione perfettamente omogenea; neppure coi mezzi ottici più potenti riuscii a distinguere in questa parte del citoplasma, che è di gran lunga la prevalente, una struttura qualsiasi; la differenza dell'indice di refrazione fra il citoplasma ed il plasma circostante non è molto elevata, tanto che il contorno cellulare non si distingue affatto nelle colture fortemente illuminate col condensatore.

È evidente che la refrangenza del citoplasma è direttamente proporzionale al suo spessore: è relativamente rilevante nella parte contigua al nucleo, ove la lamina protoplasmatica è meno assottigliata; va diminuendo verso la parte distale dei prolungamenti ameboidi, ove il citoplasma è in forma di una lamina tenue. Le condizioni suddette rendono spesso difficilmente apprezzabili i limiti di questi prolungamenti.

In questa parte omogenea del citoplasma sono sospesi gli organi cellulari in forma di filamenti e di granulazioni di vario volume; gli uni e gli altri sono in continuo movimento; i filamenti (che definiremo senz'altro come centrioconti) ed i grossi granuli si spostano lentamente: con rapidità maggiore i granuli più minuti.

Gli uni e gli altri si differenziano otticamente dal citoplasma, nel quale sono immersi, per il loro indice di refrazione più elevato; tanto nettamente che si riesce agevolmente a determinarne il numero ed a riprodurli con l'apparecchio da disegno; e la sola difficoltà, che ne ostacola la riproduzione con quel mezzo, è il continuo spostamento ed i mutamenti di forma che essi subiscono.

Esaminando una stessa cellula a brevi intervalli, anche di frazioni di minuto, apprezziamo un mutamento nella sede dei singoli filamenti, e contemporaneamente la loro forma si modifica: alcuni si allungano e si assottigliano; altri si accorciano e divengono più tozzi; ed il cambiamento di forma è accompagnato da un aumento nella loro refrangenza: il che fa supporre che non soltanto la forma, ma anche lo stato fisico sia mutato.

Oppure certi bastoncini si riuniscono con rapidità sorprendente in serie, costituendo un lungo filamento; questo fatto avviene di solito nelle cellule con lunghi prolungamenti.

Mentre i filamenti di cui ci siamo finora occupati sono un attributo costante di tutte le cellule, le granulazioni invece possono anche mancare e quando esistono offrono una costanza di tipo e di distribuzione di gran lunga minore di fronte ai filamenti; variabilità che in parte è in correlazione con altri caratteri morfologici della cellula, in parte con la fase della sua attività biologica.

Diciamo, ora, dei caratteri fisici delle granulazioni. Queste sono più refrangenti dei condrioconti, il che permette di distinguerle anche ad un medio ingrandimento ed in condizioni meno favorevoli d'illuminazione; hanno differente volume; spesso sono minutissime, ed in tal caso sono caratterizzate da una grande mobilità; si spostano rapidamente, insinuandosi negli interstizi fra i condrioconti, quasi fossero sospinte da un movimento di propulsione; talora dopo essersi insinuate sin quasi ad un'estremità della cellula, sono ricacciate di nuovo verso il punto di partenza.

In quanto alla distribuzione rispettiva tra filamenti e granuli, ho notato che nella parte del citoplasma che si trova presso il nucleo prevalgono i corti filamenti ed i granuli, mentre che nel tratto più distale della cellula e dei prolungamenti si trovano di preferenza i filamenti più lunghi.

Quale rapporto sussiste tra filamenti e granulazioni?

Il rispondere a tale quesito è più difficile di quanto non possa sembrare a prima giunta; anche quando fissiamo la nostra attenzione sopra un'unica cellula per parecchio tempo, i mutamenti nella sede e nella forma degli organuli in essa contenuti sono così rapidi che il seguire il destino di ciascuno di essi è cosa veramente ardua.

Dapprima propendevo per ritenere che non esistesse un rapporto genetico tra filamenti e granuli: e questa mia convinzione si fondava sul fatto che i condrioconti son sempre lisci; mai ho notato forme a rosario, le quali lascino supporre una frammentazione lineare nei filamenti.

Piuttosto mi è sembrato che talora dall'estremità di un filamento si distaccassero dei minuti granuli; e, più sovente, che dei corti filamenti divenissero gradatamente più tozzi e si trasformassero in granulazioni: e queste alla lor volta ripercorrevano talora il cammino fatto, e ridivenivano filamentose.

Nelle cellule espanse in lunghi prolungamenti ho notato la riunione di molti filamenti in serie lineare; ne risulta un unico lunghissimo condrioconto il quale tosto si frammenta di nuovo in vari segmenti; e questi, dopo breve tempo, si ricostituiscono in una nuova unità. Sovente ho notato l'incurvamento di filamenti in anse, od in anelli, che ben presto si raddrizzano. Talora due filamenti si accollano, anzichè in serie lineare, a V od a T, e nel

punto di congiunzione si nota un ispessimento; ma il fenomeno è fugace, ed i due filamenti tosto si liberano.

Tali spostamenti dei condrioconti sono certamente correlativi al movimento ameboide della cellula; quanto più attivo è il movimento, tanto più vivace è il cambiamento di sede e di forma dei filamenti. Con ciò non intendo di affermare che si tratti di spostamenti passivi: ed anzi io trassi dalle mie ricerche la convinzione, che i filamenti siano dotati di un certo grado di contrattilità; se essi non possedessero tale proprietà, non mi saprei spiegare i mutamenti nella loro forma. E, d'altro canto, anche in cellule nelle quali i movimenti ameboidi sono estremamente lenti, quali quelli dell'ectoderma tegumentario di embrioni di pollo, ho osservato analoghi mutamenti nella forma e nella sede del condrioma.

Quale valore abbia questo mutamento, non mi fu dato finora di stabilire. Ma insisto sopra un carattere che ritengo importante ed al quale ho più sopra accennato: quello della loro reversibilità.

I fenomeni da me osservati trovano il loro riscontro in quelli illustrati dal Pensa⁽¹⁾ nel condrioma di cellule epidermiche di giovani foglioline di rosa viventi; filamenti anastomizzati a rete si trasformavano in una massa spugnosa, per poi riacquistare le forme di filamenti; si trattava, anche in questo caso di fenomeni reversibili. Ed il Pensa esprime il convincimento, fondato sulle sue osservazioni su elementi cartilaginei, che anche il condrioma delle cellule animali sia qualche cosa di instabile nella sua forma e disposizione.

Gli organi cellulari fin qui descritti non sono certo i soli che io abbia osservati nelle cellule coltivate *in vitro*. Spesso ho notato la comparsa di goccioline di grasso; e queste potevano essere tanto numerose e grandi, che il corpo cellulare ne è completamente riempito. Non rara era pure la comparsa di granulazioni di natura proteica.

Queste sostanze metaplastiche si distinguevano facilmente dai condriosomi, oltre che per il maggior volume, anche per la più spiccata refrangenza; esse si differenziavano di preferenza in colture di qualche giorno di vita, e la loro comparsa preludeva sovente a gravi alterazioni della cellula. Però una piccola quantità di grasso è compatibile, anche in questi elementi con la vitalità della cellula, ed anzi ho spesso visto, tanto in colture viventi quanto in colture fissate, cellule in mitosi contenenti abbondante grasso.

Se il condrioma abbia una parte nell'elaborazione di queste sostanze, per il momento tralascio di discutere.

Le mie ricerche dimostrano adunque che:

1°) che la parte fondamentale del citoplasma è un colloide liquido - un sol - senza struttura veruna, nel quale sono sospesi degli organuli

(1) Pensa A., *Condriosomi o pigmento autocianico nelle cellule vegetali*. Anat. Anz., Bd. 45 (1913).

dotati di proprietà fisiche ben definite e nettamente differenziati dalla prima, i condriosomi:

2°) i condriosomi cambiano continuamente di sede e di forma, anche indipendentemente dai movimenti ameboidi delle cellule; più sensibile è il mutamento di forma del condrioma durante la mitosi; e durante questo processo la parte fondamentale liquida del citoplasma diminuisce, forse per perdita d'acqua;

3°) i cambiamenti nella forma del condrioma sono sempre reversibili;

4°) che le strutture (filare od alveolare), le quali furono ritenute un attributo costante del protoplasma vivente, hanno il valore di differenziazioni funzionali, dato che esse mancano nelle cellule embrionali differenziate, quali sono quelle da me studiate; perchè, tenendo conto dei caratteri dei condriosomi (mobilità e grande mutabilità di forma), non possiamo considerarli come l'esponente della struttura filare del protoplasma, come vuole il Meves.

Chimica fisiologica. — *Sulle azioni enzimatiche del sangue riguardanti il glicosio. II: Distruzione e condensazione del glicosio per opera del sangue circolato, con o senza glicosio, nel pancreas sopravvivate.* Nota del dott. UGO LOMBROSO, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Abbiamo visto, nella precedente Nota, che il sangue di cane normale è capace di esercitare due azioni differenti di fronte al glicosio in esso contenuto: l'una delle quali conduce ad una condensazione, l'altra ad una distruzione di glicosio.

Ambedue questi fenomeni si presentano in misura assai variabile da caso a caso, ma però non mai così cospicua da modificare profondamente, nelle prime 12 ore di permanenza in termostato, il potere riducente del sangue, al quale sia stato aggiunto glicosio nella proporzione di 0.5-1 %.

Considerando la capacità a distruggere il glicosio del sangue normale in generale, si può senz'altro escludere l'ipotesi che il differente comportamento nel consumare il glicosio, osservato nelle esperienze di circolazione in organi isolati sopravvivate⁽¹⁾, si debba ad una diversa attività glicolitica del sangue adoperato., poichè la quantità del glicosio distrutto fu, nel maggior numero dei casi, di troppo maggiore a quanto potevasi attendere dalla glicolisi per opera del sangue.

(1) Esperienze inedite ricordate e riassunte nella Nota precedente.