ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXV.

1918

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVII.

2° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1918

Biologia. — *Considerazioni sulla costituzione fisica del citoplasma desunte da nuovi dati morfologici sulle cellule coltivate « in vitro »* [1]. Nota di GIUSEPPE LEVI, presentata dal Socio BATTISTA GRASSI [2].

Coll'insistere negli studî sulle cellule viventi coltivate in vitro, mi fu concesso di estendere e di completare con nuovi dati le osservazioni sulle quali ho precedentemente riferito [3]; una documentazione estesa di tali fatti sarà data in una monografia di imminente pubblicazione.

Io ho dimostrato, in pieno accordo coi risultati apparsi poco prima dei miei di W. ed M. Lewis, che nelle colture le cellule mesenchimali, le quali dal tessuto emigrano nel coagulo, sono quasi sempre molto espanse in superficie, e ritenni che per questa condizione fosse possibile di compiere l'analisi dell'intima costituzione del citoplasma; i condriosomi risaltano sul tenue citoplasma omogeneo nel quale sono inclusi, perchè assai più refrangenti; inoltre essi sono sempre mobilissimi.

Come tutti sanno, ben diversa è l'imagine che si ha nelle cellule dei tessuti viventi; queste appaiono opache, refrangenti e granulose, ed i condriosomi non sono quasi mai nettamente individualizzati.

Io mi posi il problema, quali cause abbiano determinato un mutamento tanto profondo nella costituzione della cellula, quando emigra dal tessuto nel plasma. Sebbene la espansione in superficie faciliti, per ragioni evidenti, l'analisi ottica delle parti contenute nella cellula, per varî argomenti mi resi conto che questo fattore non è sufficiente; inoltre resta da spiegare la causa dell'espansione in superficie, la quale non può essere considerata come l'effetto di un adattamento strettamente meccanico.

Certamente non appena le cellule arrivano nel coagulo, la massa protoplasmatica complessiva si accresce, e questo dipende, almeno prevalentemente, da adsorpzione di una gran quantità d'acqua; l'accrescimento della cellula avviene nella forma più favorevole al metabolismo, cioè coll'estensione della superficie assorbente, la quale può manifestarsi coll'assottigliamento del corpo cellulare in una lamina tenuissima — ed è il caso più frequente — oppure coll'emissione di lunghi e sottili prolungamenti, la quale del resto va sempre associata ad un assottigliamento del corpo cellulare.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia umana della R. Università di Palermo.

(2) Pervenuta all'Accademia il 12 settembre 1918.

(3) Levi G., *La costituzione del protoplasma studiata nelle cellule viventi fuori dell'organismo*, 1916, Arch. di Fisiol., vol. 14.

Se invece l'imbibizione è assai limitata, la cellula assume nel coagulo una forma affusata.

L'imbibizione ci spiega l'estrema trasparenza che acquista il citoplasma, e ci spiega pure perchè i condriosomi, che erano immobili nelle cellule del tessuto, possano, trovandosi in un mezzo più fluido, spostarsi con tanta rapidità.

Ma l'espansione in superficie non potrebbe essere interpretata come l'effetto anzichè la causa dell'imbibizione? L'ipotesi che la prima, essendo connessa ad un abbassamento della tensione superficiale, renda la cellula più permeabile all'acqua, non può essere eliminata *a priori*.

Certameate nell'analisi di fenomeni tanto oscuri è difficile di precisare quale sia il fattore causale e quale la conseguenza; ma per le cellule in vitro l'estensione in superficie trova la spiegazione più ovvia, se si considera come il risultato di un adattamento, che ristabilisce il rapporto fra massa e superficie, turbato dall'aumento di volume della cellula.

Cerchiamo ora di definire in qual modo la struttura della cellula venga modificata dall'imbibizione.

Le cellule della zona di invasione sono costituite da un colloide omogeneo ed assai fluido e da parti colloidali in una fase più densa, i condriosomi: la mobilità grandissima degli organuli sospesi nel primo ci dà la certezza, che questo si trova nella fase liquida, mentre la forma ben definita, per quanto mutevole dei condriosomi, dimostra che essi son costituiti da parti gelificate, nelle quali però avvengono continuamente dei mutamenti nello stato di aggregazione.

Le cellule a forma lamellare della zona di invasione possono adunque essere definite come una sospensione idrofila, nella quale le parti nella fase più densa, i condriosomi, per il loro volume e perchè molto disseminati sono visibili con mezzi ottici ordinarî.

Nelle cellule del frammento di tessuto esplantato le parti nelle due fasi diverse non sono ben distinte con mezzi ottici ordinarî, perchè il costituente nella fase meno densa ha un'indice di refrazione più vicino a quello dei condriosomi, ed anche perchè questi sono tanto ravvicinati, che è impossibile di differenziarli otticamente dalla sostanza in cui sono contenuti.

Inoltre si tenga presente che nelle cellule del tessuto i condriosomi sono immobili, il che dimostra che la sostanza fondamentale nella fase meno densa che li contiene è gelatinizzata; queste cellule sarebbero adunque costituite da due gel di densità diversa.

L'imbibizione che avviene quando la cellula emigra dal tessuto nel plasma, interessa prevalentemente il colloide nella fase meno densa, di modo che questo subisce una peptizzazione, si rigonfia enormemente e diviene meno refrangente, molto meno il colloide più denso, il condrioma; e ciò si accorda pienamente coi fatti illustrati da Mayer e Schaeffer, che la presenza

di lipoidi in un gel limita il grado di imbibizione da parte di questo; e noi sappiamo che i condriosomi sono appunto costituiti da complessi lipoproteici.

L'imbibizione può interessare tutto il citoplasma, ma non di rado è limitata alla regione ove più attivo è il movimento protoplasmatico, all'ectoplasma, mentre l'endoplasma appare spesso denso ed opaco, i condriosomi vi sono addensati ed immobili; il che lascia supporre che in questa regione il colloide nella fase meno densa sia gelificato, mentre nell'ectoplasma, tenuto conto della mobilità dei condriosomi, è certamente nella fase liquida.

Le modificazioni nella struttura del citoplasma sono reversibili; se si mantiene per un periodo da 1 a 2 ore una coltura attiva alla temperatura di 15°-20°, i movimenti protoplasmatici si arrestano, e nello stesso tempo la struttura della cellula diviene simile a quella che era prima della migrazione nel plasma; se la temperatura si eleva di nuovo, si ripetono nelle cellule le trasformazioni strutturali, che indicano un grado elevato di imbibizione.

Queste esperienze dimostrano adunque la reversibilità di tali fenomeni intimamente connessi all'attività di locomozione della cellula.

Parimenti durante la mitosi, come fu da me dimostrato in passato [1], i caratteri fisici delle cellule viventi si trasformano per un addensamento del condrioma; è molto probabile che al mutamento nelle proprietà ottiche contribuisca una gelificazione, dipendente da brusca sottrazione d'acqua, del colloide nella fase meno densa.

Durante la telofase, per abbassamento della tensione superficiale, avviene in regioni limitate della superficie una parziale idratazione del colloide, ed in quel punto il citoplasma emette quelle caratteristiche gemme ameboidi di aspetto ialino, del significato delle quali mi occupai nel 1916. Per questa via avviene una rapida idratazione del colloide nella fase meno densa, in seguito alla quale la cellula ridiviene trasparente e riprende la forma lamellare, che aveva prima della mitosi; contemporaneamente i condriosomi divengono mobili, il che dimostra che è avvenuta una peptizzazione di quel colloide.

I condriosomi cambiano continuamente di forma e di posizione, tanto più rapidamente quanto più vivace è l'attività di locomozione della cellula. Inoltre la massa complessiva del condrioma può a vicenda crescere o diminuire. Questo dimostra, che i condriosomi possono sottrarre o rispettivamente cedere acqua ed altre sostanze dal colloide nella fase meno densa in cui sono sospesi.

Ciò riescirebbe inconciliabile col presupposto di una netta distinzione morfologica e chimica fra il colloide nella fase liquida ed i condriosomi; ma ciò non è certamente.

[1] Levi G., *Il ritmo e le modalità della mitosi nelle cellule viventi coltivate in vitro*, 1916, Arch. ital. di Anat. e di Embr., vol. 15.

Già Fauré-Fremiet aveva ammessa l'esistenza nella parte fondamentale del citoplasma di sostanze lipoidi; queste essendo disciolte resterebbero invisibili al microscopio, ma potrebbero gelificare ed assumere la forma ben definita di granuli e di filamenti.

Così il fenomeno inverso si spiega con una peptizzazione dei condriosomi, in seguito alla quale essi perdono i caratteri di entità morfologiche.

Tutto ciò ci induce a modificare alquanto il punto di vista espresso in passato da qualche citologo, ed al quale io stesso mi ero avvicinato, che i condriosomi siano organuli immutabili. Essi neppure dal punto di vista strettamente morfologico costituiscono sempre individualità definite, ma quelle che potrebbero sembrare tali si uniscono o si dissociano assumendo forme diverse da quelle che avevano prima.

Per di più tutto lascia supporre un continuo scambio di sostanze fra i colloidi nelle due fasi diverse, che formano il substrato fisico dei due costituenti morfologici del citoplasma.

Varî fatti dimostrano adunque, per quanto per via indiretta, che nelle cellule coltivate in vitro avviene un'idratazione della parte fondamentale del citoplasma, e questa spiega i profondi mutamenti nella loro forma e costituzione, i quali debbono essere interpretati come un fenomeno di regolazione, determinato dall'ambiente tanto diverso in cui le cellule si trovano.

Ma la causa dell'imbibizione ci sfugge ancora, ed a spiegarla non possiamo invocare che delle ipotesi; dei dati più sicuri si potranno avere quando saranno più progredite le ricerche sperimentali sui fattori che determinano le variazioni nella forma delle cellule in vitro.

La proprietà che hanno varie cellule, ma soprattutto quelle dell'embrione in determinate fasi dello sviluppo, di legare al protoplasma una grande quantità d'acqua, fu attribuita a forze osmotiche; molti fatti, e specialmente quelli messi in luce da Backmann e da Ruffini, dimostrano l'importanza di questo fattore.

Però negli ultimi anni incominciò a predominare la tendenza di attribuire quella proprietà delle cellule più ad affinità dei costituenti colloidali, anzichè all'influenza dei cristalloidi contenuti nella sostanza organizzata.

Martin Fischer ha dimostrato, che minime quantità d'acido nelle cellule ne elevano l'affinità per l'acqua. D'altra parte le ricerche da me eseguite in questo senso dimostrano, che le variazioni nella pressione osmotica del mezzo non modificano in modo sensibile l'imbibizione delle cellule.

Seguendo le vedute di M. Fischer ritengo probabile, che nelle cellule in vitro per le particolari condizioni in cui esse si trovano, venga ostacolata l'eliminazione dei prodotti catabolici acidi e che la presenza di idrogemini liberi determini l'imbibizione del colloide nella fase meno densa.

La conseguenza diretta di questo fenomeno è l'effetto di superficie, il quale è tanto utile al metabolismo della cellula; così l'equilibrio fra ana-

bolismo e catabolismo si ristabilisce e la cellula può vivere relativamente a lungo.

Il problema della struttura del citoplasma è stato da me studiato in varî elementi, ma a preferenza nelle cellule migranti del mesenchima e nei mioblasti; nelle prime è semplificato dal fatto, che nella sostanza fondamentale omogenea per lo più non si vedono altri organi all'infuori dei condriosomi, e delle inclusioni che eventualmente si possono formare per turbamenti nel metabolismo, quali goccie di grasso o granulazioni proteiche.

Nei mioblasti il problema diviene più complesso per la presenza nel citoplasma di organuli deputati alla funzione specifica, delle miofibrille. La costituzione e la distribuzione di queste può rimanere simile a quelle che erano nel tessuto; ma spesso, per effetto dell'imbibizione delle cellule, possono prodursi nella loro struttura modificazioni di non lieve entità; ma su tale argomento mi propongo di riferire in altra occasione.

E. M.