

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXIX.
1922

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1922

27. *Acidoton urens* Sw. (Euforbiaceae). Composizione chimica sconosciuta.
28. *Acidoton microphyllus* Urb. (Euforbiaceae). « Frutex urentissimum »⁽¹⁾.
Composizione chimica ignota.
29. *Philodendron consanguineum* Schott. (Araceae). « Planta causticum acer-
rimum praebet »⁽²⁾. Composizione chimica ignota.
30. *Tabernaemontana citrifolia* Linn. (Apocinaceae). Il lattice avrebbe po-
tere caustico. Non se ne conosce la composizione chimica.

Anatomia. — *Ulteriori osservazioni sull'azione di elettroliti su tessuti viventi, separati dall'organismo, studiata col metodo delle colture « in vitro »*⁽³⁾. Nota del dott. OLIVIERO OLIVO, presentata dal Corrisp. GIUSEPPE LEVI⁽⁴⁾.

II.

Conseguenze dell'azione temporanea del cianuro di potassio su frammenti di tessuti di embrioni di pollo isolati e coltivati « in vitro ».

Il KCN è uno dei più potenti veleni per l'organismo animale: secondo Geppert agirebbe sui tessuti come veleno delle ossidazioni; inoltre ha fisiologicamente un'azione caratteristica e bene studiata di arresto o di notevole rallentamento sulle funzioni catalitiche di numerosi fermenti di origine sia animale che vegetale. Mi parve quindi interessante il ricercare quale potesse essere di fronte a questa sostanza, il comportamento di tessuti embrionali viventi, esaminati col metodo delle colture « in vitro ».

Mi servii a tale scopo di embrioni di pollo dal 5° al 14° giorno di incubazione. Frammenti molto piccoli (meno di 1 mm. di diam.) di cuore e di tegumento (i soli due organi saggiati) venivano mantenuti per un tempo determinato in liquido di Ringer, al quale, al momento dell'uso, si aggiungeva a gocce il KCN in soluzione N (normale) (6,5 %) in modo da ottenere soluzioni che andavano da 1/10000 (0,00065 %) a 1/10 (0,65 %) della soluzione normale. Quindi si lavavano ripetutamente in Ringer e si allestiva il preparato col metodo delle colture in plasma (Harrison-Burrows). Tutte le volte si facevano pure preparati di controllo in condizioni per quanto possibile identiche, specialmente per spessore del coagulo di plasma.

(1) Urban. Symbolae Antillanae. II. 302; VII. 193.

(2) Urban. Symbolae Antillanae. VIII. 82.

(3) Lavoro eseguito nell'Istituto anatomico della R. Università di Torino, diretto dal prof. G. Levi.

(4) Pervenuta all'Accademia l'8 agosto 1922; V. pag. 163.

Dall'esame di circa 60 colture trattate col KCN e di circa 40 di controllo, ho potuto rilevare, che vi è nei tessuti esaminati una tolleranza molto considerevole ad un trattamento, anche prolungato, con soluzioni relativamente forti di KCN. Soltanto sol. N/10 (0,65 %) determinavano la morte del frammento assai rapidamente, cioè già dopo 6 minuti d'immersione nella soluzione, dopo questo trattamento la coltivazione riusciva completamente negativa. I frammenti che erano stati uccisi dal KCN, avevano un aspetto insolito già quando si toglievano dalla soluzione di KCN; sembravano macerati ed a piccolo ingrandimento apparivano come masse amorfe, finemente granulose, a margini indistinti.

Per le soluzioni più diluite di KCN riassumo per maggior chiarezza i risultati in una tabella segnando per ogni dose di KCN il limite minimo di tempo d'immersione che risultò sufficiente a uccidere il tessuto, e il limite massimo di tempo tollerato senza danno per l'esito della coltura.

Soluzione KCN usata	Tessuti coltivati giorni di incubazione	Tempo massimo tollerato	Tempo minimo per uccidere il tessuto
N/20 (0.325 %)	Cuore 12 giorni	8 minuti	40 minuti
N/50 (0.13 %)	Cuore 12 giorni	8 minuti	40 minuti
Id.	Cuore 5 giorni	45 minuti	Non provato tempo più lungo
N/100 (0.065 %)	Cuore 10 giorni	30 minuti	1 ora
Id.	Cuore 14 giorni	1 ora (unica coltura attiva dopo 1-h).	Non provato tempo più lungo
N/500 (0.013 %)	Cuore 10 giorni	4.20' ore	Non provato tempo più lungo
Id.	Cuore 12 giorni	2.20' ore	6.20' ore

Soluzioni di KCN N/1000 (0,0065 %) o più diluite non impedirono mai lo sviluppo normale della coltura.

Quando non si raggiungevano le dosi o i limiti di tempo necessario a uccidere il tessuto, le colture si comportavano in modo perfettamente ana-

logo a quelle normali, per il momento in cui si iniziava la migrazione, per il tipo di migrazione, per la forma delle cellule, per le particolarità citologiche del nucleo e del citoplasma, per la durata e il grado di attività proliferativa, frequenza di mitosi, persistenza di contrazioni ritmiche per oltre due giorni nei frammenti di cuore. Neanche nei casi in cui arrivai più vicino al limite tra dose letale e non letale, non osservai differenze di grado nell'attività delle colture, ma esse erano sempre o normali o del tutto negative. Le sole differenze apprezzabili dalle colture di controllo, si avevano nel decorso dei fenomeni degenerativi; ma queste erano più differenze di grado che non di qualità. Sembra che i fatti degenerativi si svolgano con maggiore lentezza; inoltre, mentre nelle colture normali le cellule che degenerano, si alterano in blocco (tanto nucleo che citoplasma), qui si osserva spesso, che mentre il citoplasma conserva un aspetto relativamente normale, di cellula vivente, il nucleo che nelle colture integre è del tutto omogeneo, con un grosso nucleolo, in queste condizioni assume un contorno più rifrangente (bianco o nero, a seconda che il fuoco dell'obbiettivo è alto o basso) spesso punteggiato; internamente il nucleo, si fa finemente granuloso, e poichè il nucleolo scompare precocemente, mi sembra possibile che questa alterazione sia legata a una disgregazione del nucleolo. Nell'insieme le cellule così alterate davano l'impressione di essere state fissate. Successivamente in molti di tali nuclei si osservano delle incisure a semi-luna (uniche o doppie), dovute alla formazione di voluminosi vacuoli chiari, i quali determinavano una compressione del nucleo; è probabile che questo vacuolo del citoplasma debba la sua origine a materiale spremuto dal nucleo. Questi vacuoli reagiscono negativamente col Sudan III, e perciò si distinguono agevolmente dalle gocce di grasso che sovente risiedono in intimo rapporto col nucleo. In cellule col nucleo così alterato non furono osservati movimenti di locomozione.

Tali alterazioni, sebbene non specifiche per i pezzi trattati col KCN, perchè si riscontrano talora anche in colture normali, in queste colture però sono molto più costanti e diffuse.

Riassunto: *Il trattamento temporaneo con soluzioni di KCN anche relativamente concentrate, non arresta le manifestazioni vitali delle cellule del cuore e del tegumento di embrioni di pollo dal 5° al 14° giorno di incubazione, saggiate col metodo delle colture « in vitro ». Sembra che la resistenza alle soluzioni di KCN sia maggiore per i tessuti di embrioni più precoci che per quelli di embrioni più inoltrati, il che si accorderebbe colle osservazioni di Child in Planaria, che la resistenza al KCN è tanto maggiore quanto più giovane è il tessuto.*