ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

ANNO CCCXIX.

1922

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXI.

2° SEMESTRE.

BIBLIOTHECA LYNCEORUM

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1922

D'altra parte, come ci siamo accertati, quando il cloruro di boro agisce sul ferro a temperatura non troppo bassa, si forma anche un boruro di ferro.

Per cementare con boro abbiamo perciò riscaldato a 900° per un'ora un acciaio a 0,13 C in ambiente di cloruro di boro e idrogeno. L'acciaio si è infatti ricoperto di uno strato di circa 0,3 mm. di una lega ricca di boro, durissima. Questa intacca il vetro e può servire a tagliarlo.

L'aspetto dello strato cementato è quello della fig. 1 (attacco con acido picrico, ingrandimento 25 diametri).

Operando in condizioni simili, si è avuta cementazione anche col nichel. Nella fig. 2 (senza attacco, ingrandimento 125 diametri) si vede nettamente la differenza fra la zona periferica cementata e l'interno del metallo.

Questi fenomeni sono attualmente oggetto di più precise indagini.

Anatomia. — *La reale esistenza delle miofibrille nel cuore dell'embrione di pollo. Osservazioni sul cuore vivente e su elementi coltivati in vitro* [1]. Nota del Corrisp. Giuseppe Levi [2].

In antecedenti Memorie [3] illustrai la struttura degli elementi del cuore di embrioni di pollo coltivati *in vitro*, provando che in queste condizioni talora si mantengono i caratteri specifici strutturali delle fibre muscolari dell'embrione; e che quando invece i movimenti di locomozione degli elementi emigrati dall'espianto nel coagulo sono più vivaci, le miofibrille, trascinate nelle propaggini dirette in vario senso che la cellula emette, non hanno più l'orientazione che è tipica per l'elemento muscolare; se poi la sdifferenziazione di quest'ultimo è ancor più pronunziata, le miofibrille assumono aspetto identico ai condrioconti.

Contemporaneamente alla mia più recente pubblicazione, M. Lewis [4] si occupò della struttura del cuore dell'embrione di pollo da 12 a 22 somiti vivente e fissato; negli stadi precoci sarebbe costituito da cellule ben individualizzate e non da un sincizio; non vi si distinguono lunghi filamenti; i mitocondri sono limitati alla regione del nucleo e non si estendono mai

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto anatomico della R. Università di Torino.

(2) Pervenuta all'Accademia il 5 ottobre 1922.

(3) Levi G., *Migrazione di elementi specifici differenziati in colture di miocardio e di muscoli scheletrici*. Arch. per le Sc. Med., vol. 40, 1916; Id., *Nuovi studi su cellule coltivate in vitro. Attività biologiche* ecc. Arch. It. di Anat. e di Embr., vol. 16, 1919.

(4) M. Lewis, *The development of cross striation in the heart muscle of the chick embryo*. The Johns Hopkins Bull., vol. 30, n. 340, 1919.

da una cellula all'altra. Nelle cellule del cuore vivente si vedono in condizioni favorevoli strie trasversali chiare e scure, limitate alla superficie della cellula. Solamente sotto l'azione del liquido fissatore si formano negli strati superficiali fibrille trasversalmente striate. Taccio delle indagini antiche e recenti sulla struttura del cuore dell'embrione precoce di pollo di Chiarugi, di Kurkiewicz, di Wieman, di Bruno, di Congdon, perchè non compiute su materiale vivente.

È doveroso aggiungere che M. Lewis si astiene dal generalizzare il suo reperto, affermando che esso riguarda esclusivamente l'embrione di pollo nei primi due giorni.

Però Warren Lewis, il quale ha precedentemente eseguito importanti ricerche sulla struttura degli elementi muscolari coltivati *in vitro* in collaborazione con M. Lewis, in una recente comunicazione [1], nel riferire su nuove ricerche sulla struttura degli elementi muscolari lisci e degli endoteli viventi, afferma che i medesimi non contengono fibrille. L'ectoplasma degli elementi contrattili avrebbe una speciale costituzione, alla quale esso deve la proprietà di contrarsi: le fibrille che si formano sotto l'azione dei liquidi fissatori sarebbero l'espressione, anzichè di una vera struttura preesistente, di speciali proprietà fisiche dell'ectoplasma.

Questo punto di vista difficilmente si accorda con quanto fu visto sulla costituzione degli elementi contrattili di altri vertebrati; ad es. nei miotomi delle larve di anfibi, nei quali le miofibrille esistono sicuramente nel vivente, e così pure nei muscoli di molti altri animali adulti.

Io ho ripetuto ed esteso ad elementi coltivati *in vitro* le osservazioni sopra riferite di M. Lewis.

Osservazioni sul cuore di embrioni viventi. — Furono compiute col metodo di M. Lewis.

Il blastoderma di uova di pollo a partire dallo stadio a 10 somiti, isolato in liquido di Locke, era trasportato sovra un coprioggetti e, dopo aver rimosso l'eccesso di liquido, il vetrino veniva capovolto sovra un comune portaoggetti e circondato con vaselina; la lieve pressione del coprioggetti basta ad appiattire il cuore, e la sua parete a questo periodo è talmente sottile, che può essere esaminata agevolmente con obiettivi ad immersione.

Per saggiare l'azione del liquido fissatore, il blastoderma veniva capovolto sopra una goccia di liquido Zenker senza acido acetico, oppure di Zenker-formolo.

L'esame di blastodermi viventi mantenuti alla temperatura di 39° conferma quanto M. Lewis ha rilevato: che il cuore, il quale in molti punti

[1] Lewis W. H., *Smooth muscle and endothelium in tissue cultures.* Proc. Am. Ass An., Anat. Rec., vol. 21, pag. 72, 1921.

continua a pulsare, non ha, almeno nei precoci stadî, costituzione sinciziale; si distinguono grandi cellule rotonde ed elittiche con nucleo trasparente, contenente un grosso nucleolo granuloso ed una fitta matassa di condrioconti. Nei punti ove il preparato aveva una maggiore trasparenza io ho veduto distintamente delle miofibrille, costituite da parti scure e chiare alternate alla superficie della cellula. In embrioni di 10-14 somiti queste erano scarse e non passavano mai da una cellula all'altra.

Nel preparato eseguito in queste condizioni erano visibili solamente le fibrille che si trovavano lungo i margini della cellula, ove questa confina con altra vicina; nel velo di citoplasma che ricopre il nucleo non ho veduto miofibrille.

L'esame del blastoderma fissato col metodo sopra indicato conferma i dati di fatto apprezzabili nel vivente: le miofibrille risaltano con grande nitidezza, ma sono negli embrioni a 10 somiti scarsissime.

Il che s'accorda del resto colle ricerche di G. Bruno [1] compiute sotto la mia guida sullo stesso materiale, ma su preparati sezionati nel microtomo e colorati.

La sola divergenza fra tali risultati e quelli che attualmente riferisco, è che le miofibrille in questi precoci stadî dello sviluppo del cuore, non sembrano oltrepassare i limiti di una singola cellula; cosicchè sembra che le manipolazioni tecniche conducano alla riunione artificiale per gli estremi di miofibrille distinte, d'onde l'illusione di una struttura sinciziale.

Osservazioni su elementi del miocardio coltivati in vitro. — Nella coltivazione *in vitro* del cuore di embrione di pollo, ben di rado accade che gli elementi di quest'organo mantengano nella coltura i proprî caratteri strutturali; su ciò ho insistito già nella mia pubblicazione del 1919. In molte centinaia di colture nelle quali era avvenuta una migrazione di elementi ben riconoscibili per molti aspetti, che qui non è il luogo di ricordare, come mioblasti, in ben poche fui in grado di apprezzare ben distinti i caratteri ritenuti comunemente specifici di questi elementi, la presenza cioè di miofibrille striate. Nella maggior parte delle colture i mioblasti si sdifferenziano; come questa sdifferenziazione avvenga dirò quando saranno completate le ricerche che ho in corso.

Qui riferirò sovra alcune esperienze eseguite di recente, nelle quali sono riuscito a distinguere nella coltura vivente delle miofibrille striate: le colture furono eseguite sul cuore di embrioni inoltrati.

Ecco in poche parole il fatto di maggiore entità: quando dall'espianto si liberano cellule ben individualizzate, esse perdono i caratteri di elementi

[1] Bruno G., *La struttura del miocardio dell'embrione di pollo all'inizio della sua funzione.* Mon. Zool. Ital., vol. 29, pag. 53, 1918.

muscolari. Ma quando l'espianto si assottiglia in una membrana sottile per « movimento di massa » dei suoi elementi costitutivi (Oppel, Levi, loc. cit.) al limite fra il tessuto e la zona d'invasione si osservano nella sottile massa protoplasmatica delle lunghe miofibrille in parte liscie, in parte dotate di quella costituzione moniliforme che viene comunemente indicata come di « fibrilla striata », aspetto che sembra dovuto alla presenza di corpicciuoli rifrangenti a forma di minuscoli parallelepipedi, disposti in serie regolare, e che, come si ritiene generalmente, sono destinati a formare i dischi anisotropi della fibra adulta.

Le miofibrille sono sempre situate ad una notevole distanza l'una dall'altra e sembrano incluse in un protoplasma omogeneo. Una di queste colture fu da me seguita per molte ore col proposito di studiare le modificazioni che avvengono nell'intima struttura delle miofibrille.

Si tratta di una coltura di cuore di embrione al 9° giorno di incubazione; alla 48ª ora di vita della coltura si vede una massa protoplasmatica con molti nuclei, caratterizzata da un fascio costituito da miofibrille liscie per la più gran parte della loro estensione e che solamente nella parte distale della coltura hanno una struttura moniliforme.

La coltura fu esaminata ad intervalli durante 17 ore, mantenendola sempre sotto il microscopio alla temperatura di 39°. Non ho veduto nella regione studiata modificazioni rilevanti, e neppure un appariscente spostamento attivo degli elementi. Talora le miofibrille divengono in qualche punto più ondulate di quel che erano, ma questo può verisimilmente essere un fatto passivo dipendente da spostamento di elementi contigui.

Mutamenti più importanti avvengono nell'intima struttura delle singole fibrille; due ore dopo l'inizio dell'osservazione, due miofibrille divengono più rifrangenti ed a poco a poco acquistano un aspetto moniliforme; per quale intimo processo questa trasformazione avvenga, non ho potuto stabilire. Anche nelle ore successive ho notato in altri punti un'analoga differenziazione.

I fatti osservati nel cuore dell'embrione di pollo vivente durante i primi due giorni d'incubazione, e nelle colture di cuore di embrioni più inoltrati hanno raffermata in me la convinzione, fondata su ricerche antecedenti, *che le miofibrille esistono realmente nelle cellule e nelle fibre muscolari viventi del cuore dell'embrione, e non sono un prodotto di coagulazione determinato dai liquidi fissatori,* come ritenne M. Lewis.