

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

tutte uguali alla più centrale. La continuità del campo e l'uniformità restano così assicurate];

3<sup>o</sup>) esatto dosaggio delle radiazioni uniformemente distribuite, in modo da potersi con sicura coscienza stabilire la dose adatta ad ogni esigenza di cura;

4<sup>o</sup>) norme tassative nella scelta, acquisto ed impiego terapeutico delle placche di Radium; [la suddetta legge di graduazione, imponendo invero delle serie di placche di valore definito, ogni arbitrio è abolito, e vien tolto via un caos di valori disparati, in cui si stenta a trovar due campioni di esatta equipollenza];

5<sup>o</sup>) economia di Radium, di tempo e di sedute; [il rapporto tra il materiale radiante richiesto dal raggio (o diametro) e quello che esigerebbe l'intera superficie tracciata dalla sua rotazione per esser tutta ricoperta, dimostrano i suddetti vantaggi];

6<sup>o</sup>) fuochi incrociati a tutta la superficie e a tutta le profondità, accessibili alla quantità del Radium impiegato.

Non è dunque la moltiplicazione della materia o dell'energia che io intesi ottenere, ma quella degli effetti, utilizzando una provvidenziale condizione offerta dalla biologia.

*Anatomia. — L'azione degli elettroliti su tessuti viventi, separati dall'organismo, studiata col metodo delle colture « in vitro »*<sup>(1)</sup>. Nota III. *Conseguenze dell'azione del cianuro di potassio su colture in « vitro » già sviluppate*, del dott. OLIVIERO OLIVO, presentata dal Corresp. GIUSEPPE LEVI<sup>(2)</sup>.

Volli saggiare l'azione del KCN su colture già sviluppate in plasma normale, dopo due giorni che l'espianto fu eseguito.

Per questo scelsi sempre colture estese, e nelle quali le cellule erano perfettamente integre; le lavavo in liquido di Ringer, facendo galleggiare il copri-oggetti con la coltura in basso, quindi le passavo nella soluzione di KCN, le lavavo ancora ripetutamente in Ringer, asciugavo accuratamente l'eccesso di liquido, e chiudevo ancora il preparato sul porta-oggetti a incavo.

Una soluzione N/1000 (0,0065%), fatta agire per 10 minuti, non manifestò alcuna azione rilevabile, neanche dopo 4 ore del trattamento; solamente dopo molto tempo la coltura degenerò, alterandosi notevolmente la forma

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

(2) Pervenuta all'Accademia l'8 agosto 1922.

delle sue cellule e presentando i nuclei fortemente picnotici e in parte a contorno rifrangente, con le altre particolarità descritte nella Nota II.

Una soluzione N/500 (0,013 %) fatta agire per 5 minuti provocò dopo pochi altri minuti l'insorgenza di un numero molto rilevante di mitosi che si arrestavano durante le prime fasi (1); dopo 9 ore dal trattamento le cellule erano ancora integre, la superficie occupata dalle cellule migrate si accrebbe fino alla 22<sup>a</sup> ora dopo il trattamento (si misurarono quattro diametri della coltura in osservazioni successive, col micrometro oculare). Dalla 9<sup>a</sup> ora in poi cominciarono ad apparire dei nuclei alterati nel modo descritto trattando dell'azione del KCN sui frammenti di tessuto (vedi Nota II).

La stessa soluzione N/500, fatta agire per 15 minuti determina in quasi tutte le cellule periferiche dei movimenti di locomozione relativamente vivaci dei prolungamenti protoplasmatici, che spesso si allungano notevolmente; dopo 6 ore si possono seguire delle mitosi tipiche; intanto comparisce qua e là l'alterazione caratteristica del nucleo. Fissata e colorata alla 7<sup>a</sup> ora, si osserva in un limitato settore della coltura un numero molto rilevante di figure di mitosi, dallo stadio di spirema a quello di diaster.

Ancora la soluzione N/500, fatta agire per 30 minuti, determina subito in alcuni nuclei l'alterazione caratteristica, altri li rende picnotici; pure qui movimenti protoplasmatici vivaci alla periferia. Le alterazioni degenerative si fanno lentamente più gravi; solo dopo 25 ore quasi tutte le cellule sono profondamente alterate, di forma irregolare, granulose, con nucleo picnotico.

Usando soluzioni N/100 (0,065 %) per 3, 5 e 10 minuti, si hanno approssimativamente gli stessi effetti che con la soluzione precedente, cioè movimenti protoplasmatici vivaci, in qualche caso presenza di molte mitosi, e la consueta alterazione del nucleo; soltanto il susseguirsi di tali fenomeni è molto più rapido.

Lo stesso risultato ebbi su una coltura trattata per 3 minuti con una soluzione N/20 (0,325 %).

In queste esperienze i fatti più salienti e costanti sono i movimenti protoplasmatici vivaci, la frequenza di mitosi, e la degenerazione più o meno rapida della coltura. Per i primi due fenomeni, non mi pare poter affermare senz'altro che sieno effetto del KCN, potendo essere attribuiti al lavaggio in Ringer; in quanto ai fatti degenerativi, credo che le cellule migrate sieno più sensibili al KCN di quando fanno parte integrante del tessuto, per due ragioni: in primo luogo perchè durante la migrazione esse si sono fortemente appiattite ed espanse, e presentano a contatto con i liquidi dell'ambiente una superficie molto maggiore di quando stavano nella compagine del tessuto, sicchè il KCN può penetrare più rapidamente e in copia maggiore

(1) Un arresto del processo mitotico alla profase o alla metafase non è raro nelle colture; di questo argomento si sta occupando il prof. Levi.

nella cellula; tanto più che la cellula migrata nelle colture « in vitro » aumenta di volume, secondo Levi, per un'elevata imbibizione di liquido. Questa condizione ci spiegherebbe l'effetto più rapido del KCN sulla coltura che non sul frammento di tessuto.

L'azione nociva che si esplica sulla coltura con soluzioni che risultano innocue sul tessuto, credo doverla riferire al fatto, che cellule che già da 30-40 ore vivono in un'ambiente anormale, hanno subito qualche alterazione, se anche non rilevabile al microscopio, per cui sono probabilmente diventate più sensibili a qualsiasi agente nocivo, fisico o chimico.

Si sa come sia inevitabile che qualsiasi coltura, se non viene rinnovata ogni 2° o 3° giorno in nuovo plasma, vada incontro dopo un periodo di tempo più o meno lungo a processi degenerativi. Tali processi è probabile dipendano, o da accumulo nel mezzo di coltura dei prodotti del catabolismo cellulare, o da modificazioni chimiche (di natura autolitica) che avvengono nel plasma tenuto a 38°-40°, o dall'esaurirsi nel plasma di una qualche sostanza organica, indispensabile al trofismo normale delle cellule migrate, o da questi e altri fattori associati. Comunque mi sembra verosimile, che se esiste qualcuna di tali condizioni, l'azione lesiva di una sostanza dannosa per l'integrità biologica delle cellule, come sarebbe il caso qui del KCN, possa essere facilitata, perchè portata su elementi che non dispongono più delle stesse risorse (proprie e d'ambiente) degli elementi situati nella loro sede naturale (tessuto appena espantato).

Infine per poter sorvegliare al microscopio quali fossero i fenomeni di morte rapida cagionata dal KCN in soluzioni concentrate, esaminai delle colture normali, attive e integre, dopo aver distaccato il copri-oggetti colla coltura, dalla cella di vetro, e avervi aggiunto una goccia di KCN in soluzione N/10 (0,65%).

Quasi immediatamente le cellule arrotondavano il loro contorno e molte si facevano sferiche (effetto probabile dell'aggiunta di liquido). Dopo 3-4 minuti in molte cellule si forma in un punto determinato della superficie una estroflessione regolare della parete cellulare, per la formazione di una grossa vescicola omogenea, più chiara del resto del citoplasma, e che cresce rapidamente fino a 1/3-1/2 del volume cellulare; scompaiono i condriocenti, la cellula si fa perfettamente rotonda; in pochi istanti anche il nucleo, fattosi sferico si dissolve, e il suo contorno diventa invisibile; segue la scomparsa dei nucleoli: ancora per brevi istanti la cellula è visibile come un grosso disco circolare, chiaro, omogeneo, grande 2-3 volte più della cellula primitiva, in cui si scorgono soltanto i granuli di grasso; poi scompare anche il contorno cellulare; in pochi minuti scompare la visibilità di tutte le cellule migrate. Si ha l'impressione che tutti i costituenti cellulari vengano come disciolti e si mescolino costituendo una soluzione omogenea.

In un caso, dopo 12 minuti, quando era quasi scomparsa la visibilità della coltura, provai a lavarla in Ringer e prosciugarla dall'eccesso di liquido, ma il risultato fu il medesimo.

Usando una soluzione N/20 (0,325) si hanno gli identici risultati, soltanto meno tumultuari, e la visibilità non scompare completamente neanche dopo parecchi minuti.

Colture così trattate, se si fissano immediatamente e si colorano con ematossilina, lasciano riconoscere in qualche punto delle tracce appena percettibili delle cellule scomparse, sotto forma di chiazze leggermente azzurre; moltissimi altri elementi invece sono ancora discretamente colorabili, hanno forma ovale o poliedrica con angoli arrotondati, contorno sfumato, ma è scomparsa qualsiasi particolarità citologica; sono delle semplici masse omogenee granulose senza struttura, con granuli di grasso.

Quanto fu osservato al microscopio circa la distruzione rapida delle cellule migrate, rende ragione dell'aspetto insolito che presentano i frammenti di tessuti trattati con soluzione di KCN concentrate (vedi Nota II).

Riassunto: *Cellule migrate nel coagulo in colture « in vitro » tollerano soluzioni di KCN a una concentrazione minore e per un periodo di tempo più breve dei tessuti da cui le cellule provengono; ritengo probabile che in queste condizioni le cellule per la loro grande espansione in superficie e per la ricchezza di liquido endocellulare assorbano più rapidamente e in maggior copia il veleno, e che per essere vissute già a lungo in un ambiente anormale si sieno alterate in qualche modo nella loro costituzione, sì da essere diventate anche più sensibili all'azione del veleno.*

## MEMORIE

### DA SOTTOPORSI AL GIUDIZIO DI COMMISSIONI

FERMI E. *Sul peso dei corpi elastici.* Pres. dal Corrisp. ARMELLINI.

MAGGINI M. *Ricerche di fotometria fotografica sopra alcune variabili ad eclissi in radiazioni monocromatiche.* Pres. dal Corrisp. BEMPORAD.

### RELAZIONI DI COMMISSIONI

Il Corrisp. SEVERI, relatore, a nome anche del Socio BIANCHI, legge una Relazione sulla Memoria del dott. FRANCESCO TRICOMI: *Sulle equazioni lineari alle derivate parziali di 2° ordine di tipo misto*, concludendo col proporre la inserzione del predetto lavoro negli Atti accademici.

La proposta della Commissione esaminatrice, messa ai voti dal PRESIDENTE, è approvata dalla Classe, salvo le consuete riserve.