

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXXI

1924

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

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

1924

Anatomia. — *Sull'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili nell'embrione di pollo, in relazione alla loro differenziazione strutturale e morfologica: I. Differenziazione funzionale e morfologica dell'abbozzo cardiaco* ⁽¹⁾. Nota del dott. OLIVIERO OLIVO, presentata dal Corresp. GIUSEPPE LEVI ⁽²⁾.

I rapporti fra struttura e funzione sono, più che in qualsiasi altro tessuto, appariscenti nel tessuto muscolare, e ciò per la sua notevole differenziazione morfologica e per la grande specializzazione fisiologica. È naturale quindi che numerosi autori si sieno occupati dell'argomento, con l'intento di rilevare se vi sia e quale sia il substrato morfologico speciale a ogni singolo carattere fisiologico della contrazione muscolare.

Accanto al problema generale ve ne ha uno più limitato, ma di non minore interesse, sia dal punto di vista dell'istologia generale, sia da quello della fisiologia dell'embrione; cioè il problema che riguarda i tessuti contrattili embrionali studiati durante la loro differenziazione strutturale correlativamente alla loro evoluzione funzionale.

Nelle presenti ricerche mi prefissi per l'appunto di determinare, con la massima precisione possibile, il momento in cui si istituisce nei vari tessuti contrattili embrionali l'attività funzionale effettiva o latente, per decidere poi dall'esame istologico se vi è qualche carattere morfologico, citologico o istochimico particolare, indispensabile per l'iniziarsi della funzione; e questo feci su 45 blastodermi di pollo al 2° giorno d'incubazione.

La tecnica seguita per accertare la contrattilità era la stessa che si usa per la coltura dei tessuti *in vitro*; cioè raccoglievo tutto il blastoderma o l'organo in esame su un copri-oggetti, lo includevo in un sottile strato di plasma liquido di pollo diluito con Ringer, il quale coagulava immediatamente, e l'esaminavo poi al microscopio su un porta-oggetti ad incavo, a temperatura costante. Per le stimolazioni elettriche introducevo nel plasma, in vicinanza dei punti da eccitare, due sottili elettrodi di platino, e usavo poi stimoli semplici o multipli di corrente indotta ottenuti con una pila e una slitta di Du Bois Reymond.

Tale espediente tecnico presenta notevoli vantaggi ed è soltanto in merito ad esso che mi è stato possibile di fare le presenti osservazioni: in primo luogo i tessuti si trovano in un ambiente che consente una sopravvivenza notevolmente lunga; in secondo luogo sono mantenuti fissi in un mezzo trasparente, tale da permettere l'osservazione microscopica, cosa indispensabile

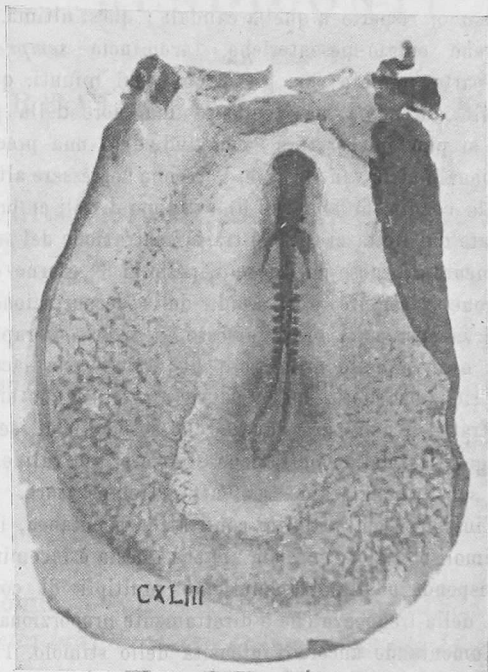
⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto anatomico della R. Università di Torino.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 19 agosto 1924.

trattandosi di movimenti di ampiezza molto limitata; infine la trama elastica di fibrina costituisce per i tessuti contrattili un carico che è proporzionato alla loro forza contrattile.

Per il cuore embrionale del pulcino si ammetteva concordemente che le prime contrazioni spontanee comparissero allo stadio di 12 somiti; soltanto secondo osservazioni, contraddette, di rari autori (Lillie, 1908; Chandler, 1908; Whorter e Whipple, '912) le contrazioni inizierebbero allo stadio di 10-11 somiti.

La difficoltà di osservare le primissime contrazioni sta nel fatto che queste inizialmente sono di ampiezza piccolissima, e molto sensibili agli abbassamenti di temperatura. Ecco quindi il vantaggio della tecnica da me seguita; raccoglievo di solito il blastoderma intero, dopo liberato dalla membrana pellucida, con la faccia ventrale e quindi con l'abbozzo cardiaco aderente al vetrino. Esaminai in tale modo una prima serie di blastodermi tra i 9 e i 13 somiti (in complesso 26), e constatai che l'abbozzo cardiaco di tutti, senza eccezione, presentava contrazioni ritmiche regolari, già notevolmente valide. Studiai inoltre una seconda serie di blastodermi raccolti tra lo stadio di 6 e quello di 8-9 somiti (in complesso 19). Fra questi embrioni della 2^a serie osservai subito (cioè nel momento in cui venivano tolti dall'uovo) contrazioni spontanee soltanto in due casi: in uno di 7 e in uno di 8 somiti. In tutti gli altri 17 invece, mantenendoli in plasma a temperatura costante di 39°, e sorvegliandoli costantemente al microscopio durante il loro ulteriore sviluppo, potei sorprendere le primissime contrazioni dell'abbozzo cardiaco qualche tempo dopo che erano state collocati in plasma; queste si manifestavano regolarmente durante la differenziazione della nona coppia di somiti, e raramente un poco prima (ved. fig.). Le prime contrazioni di questi abbozzi cardiaci, *la cui differenziazione era avvenuta « in vitro »*, sono limitate a una zona assai ristretta dell'abbozzo cardiaco, più frequentemente nella metà sinistra; hanno un'ampiezza massima di 1-2 μ , e sono perciò apprezzabili solamente ad un ingrandimento di circa 600 diam.; sino dalla prima loro comparsa presentano un ritmo molto regolare, pur essendo assai rare (4-5 al minuto); con discreta rapidità però si fanno più frequenti e più valide (dopo mezz'ora sono già 15-20 al minuto) e si diffondono a una sempre maggiore zona di tessuto cardiaco. Di solito le contrazioni si iniziano quando l'abbozzo cardiaco ha la forma di un piccolo otricolo, situato sulla linea mediana, da cui partono caudalmente le due vene onfalo-mesenteriche; spesso è apprezzabile nell'embrione vivente la persistenza del mesocardio ventrale. È notevole che non raramente l'attività contrattile si inizia prima che sia avvenuta la fusione dei due abbozzi cardiaci pari: anzi, nel caso in cui ebbi contrazioni allo stadio di 7 somiti, non si poteva nemmeno parlare di abbozzo cardiaco vero e proprio. Non di rado correlativamente alla mancata fusione morfologica degli abbozzi pari, si osserva l'autonomia funzionale delle due metà, destra e sinistra, che presentano ritmo



Embrione raccolto alla 30^a ora di incub. allo stadio di 8-9 somiti. — Dopo un'ora si hanno 9 somiti, e iniziano contraz. ritmiche regolari a sin. (8 al min.). — Dopo un'altra ora, 9-10 somiti, contraz. sinergiche; di tutto l'abbozzo cardiaco (34 al minuto).

Fiss. Zenzer. Col. carminio. Fotogr. con l'app. Edinger. Ingr. 14 diam.



Embrione raccolto alla 71^a ora di incub., allo stadio di 40 somiti. — Contrazioni per stimoli elettrici sino al 18° miotomo. Fiss. Zenzer. Col. carminio. Fot. con l'app. Edinger. Ingr. 8 diam.

e frequenza diversi. Pure interessante è la non rara asincronicità della parte craniale dell'abbozzo, rispetto a quella caudale; quest'ultima, data dai tratti iniziali delle vene onfalo-mesenteriche, incomincia *sempre a contrarsi* più tardi della parte craniale; ma già dopo pochi minuti, quando presenta attività contrattile autonoma, ha frequenza maggiore della parte arteriosa. Tale fatto forse si può interpretare come indice di una precocissima differenziazione funzionale atrio-ventricolare. Potrebbe non essere altro se non l'esagerazione (date le condizioni abnormi di sviluppo di tali embrioni) del breve intervallo osservato dal Bottazzi (1896) tra la contrazione del segmento venoso e quella del segmento arterioso nel cuore di pollo al 3° giorno di incubazione.

La contrazione è sempre più rapida della decontrazione; con la sola ispezione si osserva spesso un breve arresto in sistole. Il rapido aumento di frequenza, che si osserva nelle prime ore di attività cardiaca, avviene per una progressiva riduzione della lunga pausa diastolica che si ha all'inizio dell'attività contrattile; non pare invece che si modifichi sensibilmente la durata delle singole fasi della contrazione. Col farsi più valide, le contrazioni diventano meno sensibili agli abbassamenti di temperatura.

Prima dell'iniziarsi dell'attività contrattile spontanea, il cuore non è eccitabile con stimoli elettrici; ma, non appena questa è incominciata, la parte che si contrae risponde a stimoli semplici e multipli di corrente indotta, con un aumento della frequenza che è direttamente proporzionale all'intensità dello stimolo. Aumentando ancora l'intensità dello stimolo, il cuore accresce la sua frequenza riducendo l'ampiezza della diastole, sino ad arrestarsi contratto. Quando il cuore sospende la sua attività per abbassamento di temperatura, resta sospesa pure la sua eccitabilità per stimoli elettrici.

Studiando questi abbozzi cardiaci precoci sulle sezioni microtomiche dopo fissazione in liq. di Maximow e colorazione con l'ematosilina ferrica, non vi si riconosce ancora verun carattere citologico specifico ben palese. Il mantello mioepicardico ha ancora una costituzione nettamente cellulare; le cellule sono globose o cubiche, ricche di vitello con numerosi brevi condriosomi; sono disposte in uno strato semplice o doppio; non sono dimostrabili, in nessun punto, delle miofibrille.

Dalle presenti ricerche si può quindi concludere che la funzione contrattile del materiale, che costituisce l'abbozzo miocardico dell'embrione di pollo, si inizia durante la formazione della nona coppia di somiti (e, eccezionalmente, anche prima), molto prima che nello strato cellulare semplice, che formerà il miocardio, si differenzino le miofibrille e spesso prima che si possa parlare di un reale abbozzo cardiaco.

G. C.