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

sezionate longitudinalmente e, usando una grande diligenza, si son potuti asportare, sotto forma di minutissimi frammenti, rispettivamente cm^3. 35 e 18 di midollo. Le due tibie sono state, quindi, ricomposte, incollate e cubate con la sabbia. Si sono trovati rispettivamente cm^3. 34 e 17 di volume interno, cifre che corrispondono quasi perfettamente al volume del midollo, il quale, si noti, sarebbe forse risultato in quantità un po' minore se fosse stato possibile di ridurlo in polvere omogenea. Per conseguenza la risposta deve essere, anche qui, affermativa.

c) Si può assumere il volume esterno delle ossa come indice dello sviluppo somatico degli individui dei due sessi? In via assoluta no, perchè, come è noto, nella composizione dell'organismo dei due sessi le ossa entrano con una proporzione un po' differente. Tuttavia è chiaro che, fra i caratteri somatici coi quali è conveniente di confrontare il volume del midollo osseo, stanno, in prima linea, il volume e, subordinatamente, la lunghezza delle ossa (quest'ultima sintomo, piuttosto, della statura che non del *quantum* di ossa), specie se tali caratteri confermino, sostanzialmente, quanto si sa intorno al peso e alla lunghezza dell'intero organismo maschile e femminile, che costituiscono i più complessi e sicuri indici dello sviluppo somatico.

Eliminate, così, le principali obbiezioni che si possono muovere contro la impostazione del nostro problema, procederemo nelle prossime Note, con speditezza sul cammino tracciato.

Anatomia. — *Sull'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili nell'embrione di pollo, in relazione alla loro differenziazione strutturale e morfologica*: II. *Differenziazione funzionale e morfologica dei miotomi* [1]. Nota del dott. OLIVIERO OLIVO, presentata dal Corrisp. GIUSEPPE LEVI [2].

Per la muscolatura scheletrica mi proposi lo stesso quesito che per il cuore. Le ricerche dirette a stabilire il primo apparire dell'eccitabilità per stimoli elettrici della muscolatura volontaria nell'embrione di pollo sono invero assai scarsi. Ricordo soltanto le ricerche molto accurate di Preyer (1885) secondo cui i primi movimenti volontarii del tronco si hanno nella prima metà del quinto giorno di incubazione; e le ricerche di Weiss (1899) secondo cui l'eccitabilità elettrica dell'embrione appare soltanto al sesto giorno, dopo che si hanno già movimenti lenti automatici, spontanei; l'autore stesso esprime il dubbio che ciò dipendesse da difficoltà tecniche. Ricordo ancora

[1] Lavoro eseguito nell'Istituto anatomico della R. Università di Torino.
[2] Pervenuta all'Accademia il 19 agosto 1924.

le ricerche di Galeotti e Levi (1913) fatte su materiale di anfibi. Risultato di queste ricerche, come pure di quelle di Weiss, si è che tanto la motilità spontanea, quanto quella provocata da stimoli elettrici, comparirebbe dopochè nei somiti si sono differenziate singole miofibrille trasversalmente striate.

Io cominciai da esaminare l'eccitabilità dei muscoli del collo di embrioni di 6-7 giorni, raccogliendo dei fascetti muscolari in plasma e stimolandoli nel modo esposto nella mia prima Nota. Ottenni così contrazioni piuttosto rapide, spesso guizzi fugaci che interessavano porzioni più o meno estese di tessuto muscolare. Allora esaminai embrioni sempre più precoci, e accertai l'eccitabilità dei miotomi per stimoli elettrici in uno stadio assai più giovane di quanto non avessi prima sospettato.

Liberavo completamente gli embrioni dall'amnios e dal tubo cardiaco, ed esaminavo poi frammenti dell'embrione costituiti da un numero vario di miotomi o anche l'embrione intero. Quando le osservazioni si fanno su serie di miotomi isolati, le contrazioni avvengono con maggiore facilità a carico dei miotomi posti alle estremità; in tale caso questi ultimi stirano il coagulo di plasma, e aumentano la curvatura a convessità dorsale del segmento di embrione in esame; quando invece si stimolano gli embrioni interi, fissati su tutta la superficie esterna del corpo dal coagulo di plasma, si osserva un curioso movimento ad armonica della serie dei miotomi craniali; tale movimento varia con l'intensità e col ripetersi degli stimoli, dato il vario grado di eccitabilità e di esauribilità dei singoli miotomi. Non posso dilungarmi qui nei dettagli tecnici, che è indispensabile seguire per avere un esito favorevole.

Esaminai quattro embrioni prima dello stadio di 27 somiti, e non potei osservare contrazione di sorta. Invece in 34 embrioni dallo stadio di 28 a quello di 49 somiti (dei quali 10 sotto i 32 somiti) potei dimostrare che vi è costantemente la capacità contrattile per stimoli elettrici in un numero variabile dei miotomi più craniali. Lo stadio di 28-30 somiti, in cui si ha la prima comparsa della contrattilità, è raggiunto di norma nella seconda metà del terzo giorno di incubazione.

Quando si inizia la contrattilità, il materiale contrattile è molto scarso, e debole rispetto alla massa totale dell'embrione ed alle notevoli resistenze esterne che dovrebbe vincere per dare dei movimenti apprezzabili ad occhio nudo, oppure a piccolo ingrandimento; da ciò la necessità di ricorrere alla tecnica delle colture in vitro e all'esame microscopico, con ingrandimenti forti.

Le osservazioni principali che potei fare sono le seguenti: le contrazioni dei miotomi avvengono sempre in direzione cranio-caudale; si ottengono tanto per stimoli unici quanto multipli di corrente indotta. Negli embrioni più giovani (28-30 somiti) le contrazioni sono assai lente, molto simili a quelle di muscoli lisci; il tempo di eccitazione latente è notevole, spesso valutabile

subiettivamente a 1-2 secondi; l'altezza della contrazione è piccolissima, appena percettibile a un ingrandimento di 4-500 diam.; i miotomi in tale stadio sono assai rapidamente esauribili; dopo una o due contrazioni bisogna attendere qualche minuto prima di avere una nuova risposta agli stimoli; con stimoli tetanizzanti, anche prolungati, si ottengono, per quanto si può giudicare con l'esame a vista, contrazioni analoghe a quelle ottenute con stimoli unici. Esaminando embrioni più inoltrati, vediamo che gradatamente un numero sempre maggiore di miotomi diventa eccitabile; intanto i miotomi più craniali che sono cresciuti notevolmente di lunghezza, dànno delle contrazioni sempre più rapide, soprattutto nella fase contrattiva, e inoltre queste si fanno sempre più elevate e si possono ripetere a brevi intervalli per un numero sempre maggiore di volte; quando intervengono fenomeni di fatica, il preparato non risponde più a tutti gli stimoli ritmici che gli sono apportati, e la decontrazione si allunga gradatamente, sino a che, data la sua lentezza, non è più apprezzabile direttamente all'osservazione microscopica; usando stimoli tetanizzanti della stessa intensità degli stimoli semplici efficaci, si può ottenere un'attività contrattile ritmica periodica, che ricorda sensibilmente l'attività cardiaca; per ottenere il tetano bisogna aumentare notevolmente l'intensità degli stimoli; ad ogni modo il tetano è sempre di una durata breve, di pochi secondi. Anche negli embrioni molto giovani (35 somiti) la veratrina altera la contrattilità muscolare, determinando in primo tempo, a piccola dose, la contrattura del miotomo, e abolendo dopo azione prolungata la contrattilità.

Non ho esaminato ancora istologicamente tutti gli embrioni usati in questi esperimenti. Negli esemplari di 40 somiti dopo fissazione in liq. di Maximow e colorazione con l'ematossilina ferrica, su sezioni sagittali, i miotomi che si contraevano risultano di forma rettangolare e conservano i limiti reciproci con i rispettivi miotomi craniale e caudale, ben netti e rettilinei; i singoli miotomi sono costituiti da cellule molto allungate, fusiformi, mononucleate; i nuclei piuttosto grandi, ovalari, poveri di cromatina, sono raccolti in prevalenza verso la zona media del miotomo; il corpo cellulare è un poco più intensamente colorabile di quello di elementi indifferenti, per cui assume una tinta grigiastra; i mitocondri, piuttosto numerosi, sono orientati parallelamente all'asse del mioblasta. Dai preparati esaminati sinora non ho potuto ancora acquistare la certezza che in essi non esistano fibrille striate mature o per lo meno moniliformi; è troppo nota la grande difficoltà tecnica di dimostrare istologicamente formazioni tenui e delicate quali sono le miofibrille all'inizio della loro differenziazione; però è certo che in questo stadio siamo ancora lontani dall'esistenza delle grosse miofibrille striate, mature, quali si possono dimostrare con relativa facilità al quarto giorno di incubazione; probabilmente ne siamo anche più lontani nei più giovani miotomi capaci di contrazione che non ho ancora esaminato.

Credo quindi molto probabile che anche per i miotomi, come ho dimostrato per il cuore, la capacità contrattile preceda la differenziazione di miofibrille striate.

Ritengo molto verosimile che i miotomi, se si contraggono per stimoli artificiali, abbiano pure una funzione contrattile attuale, quando si trovano nella loro sede normale, nell'embrione in via di sviluppo. Ho già degli elementi per ammettere che si tratti per lo meno di un certo grado variabile di contrazione tonica; cercherò in seguito di precisare con degli esperimenti già iniziati, quale possa esser la funzione attuale di tale precoce contrattilità, e quale efficacia essa possa avere sia sull'ulteriore evoluzione del materiale contrattile volontario dell'embrione di pollo, sia sullo sviluppo morfologico di tutto l'embrione stesso.

Se mi sarà concesso, intendo pure indagare più obiettivamente i caratteri delle prime contrazioni dei miotomi, col metodo della registrazione grafica o microcinematografica.

Dalle precedenti ricerche risulta che nell'embrione di pollo la contrattilità per stimoli elettrici nei miotomi più craniali inizia costantemente tra la 60ª e 70ª ora di incubazione, allo stadio di 28-29 somiti. Le prime contrazioni sono molto piccole, lente, e facilmente esauribili; hanno caratteri molto simili alle contrazioni di fibre muscolari liscie. I miotomi che si contraggono in tale stadio sono costituiti da lunghe cellule fusate, mononucleate, ricche di condrioconti, orientati secondo l'asse dei mioblasti.

G. C.