



RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXIII, serie 6^a, 1° sem., fasc. 12. - Roma, giugno 1936-XIV.

313438

Biologia. — *Fenomeni di accrescimento embrionale e larvale studiati nei trapianti tra Anuri e Urodeli*⁽¹⁾. Nota di GIULIO COTRONEI e ALDO SPIRITO, presentata⁽²⁾ dal Socio F. SILVESTRI.

Come abbiamo già accennato in una Nota precedente (Cotronei e Perri, 1936)⁽³⁾, da molti anni l'Istituto di Anatomia comparata di Roma ha affrontato lo studio, negli Anfibi, della compatibilità e incompatibilità embrionale e larvale che si verificano nei trapianti xenoplastici di abbozzi di organi.

L'argomento, certamente interessante, ha richiesto, non soltanto molti anni di studio, ma anche la collaborazione di molti ricercatori. Soltanto in tale modo Cotronei e i suoi allievi hanno potuto fissare, accertandoli accuratamente, dei dati i quali sono serviti di base per l'ulteriore studio dell'argomento.

Se si considerano i dati esistenti in letteratura, prima del nostro lavoro, si rimane colpiti dalla frammentarietà dei risultati e dalla mancanza di una reale coordinazione di essi. Un recente lavoro della scuola di Harrison (Hewitt, 1934)⁽⁴⁾ implicitamente riconosce tale stato di fatto quando dice: « The difference between the reaction of urodele tissue in an anuran environment and that of anuran tissue in a urodele environment was noted by Harrison ('25) and is particularly evident in the work of Cotronei and his school... ». Avvertiamo che le brevi osservazioni dell'Harrison furono da noi citate nella loro reale portata.

Le nostre indagini, metodicamente condotte con molti abbozzi di organi e con molte specie di Anfibi (ed altre ricerche sono in corso), hanno per la prima volta chiaramente e nettamente dimostrato che in queste operazioni di trapianti xenoplastici bisogna ben distinguere tra incompatibilità larvale, che si stabilisce dopo che l'ospite (Urodele) ha iniziato la sua vita larvale e dopo il differenziamento degli abbozzi trapiantati (di Anuri); e incompatibilità embrionale, che come regola impedisce il differenziamento dell'abbozzo trapiantato portandolo a rapidissima distruzione durante la vita embrionale dell'ospite (abbozzi di Urodeli su alcuni Anuri).

Il fatto, però, più singolare che incontrammo nelle nostre ricerche fu quello di aver trovato qualche Anuro, che non soltanto permetteva il diffe-

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia e Embriologia comparate della R. Università di Roma.

(2) Nella seduta del 21 giugno 1936.

(3) Questi « Rendiconti », seduta del 5 giugno 1936.

(4) « Jour. Exp. Zool. », 69, 235-260, 1934.

At.
B
55
H

renziamento degli abbozzi di Urodeli trapiantati, ma che dava modo (*Hyla arborea*) agli abbozzi di *Triton* di mostrare una maggiore resistenza alla distruzione, che non nei trapianti inversi. E in una Nota del 4 agosto 1931 (Nota VII) mettevamo in rilievo che: « la vescicola ottica di *Triton taeniatus* e *cristatus* (sia primaria che secondaria o introflessa) trapiantata su embrioni di *Hyla arborea* presenta uno sviluppo di massa e una resistenza maggiore che non l'occhio degli Anuri sugli Urodeli ».

Ci proponevamo di approfondire l'argomento dell'accrescimento degli abbozzi di Anuri posti sugli Urodeli e degli abbozzi degli Urodeli posti sugli Anuri, dove è possibile la compatibilità. Tale studio è fondamentale per il valore interpretativo che abbiamo dato alle nostre esperienze. È risulta tanto più necessario dopo che recenti Autori, che pur fondamentalmente hanno confermato i reperti che corrispondevano colle nostre ricerche, mostrano tuttavia di dissentire da alcune interpretazioni.

Abbiamo dunque voluto riprendere lo studio dell'accrescimento di abbozzi embrionali (vescicola ottica) di Urodeli (*Triton taeniatus*) trapiantati su embrioni di Anuri (*Hyla arborea*) inquantochè troviamo riferito dalla Hewitt che: « The abortive development of xenoplastic urodele grafts may easily be due to factors other than specific toxins, e. g., to the inability of their cells to utilize nourishment furnish ed them by the host ». Purtroppo la Hewitt, obbiettiva nel riferire tanto i nostri risultati, quanto i suoi che utilizzeremo per le nostre considerazioni, non ha ripetuto le nostre esperienze di trapianto di abbozzo di Urodelo su embrioni di *Hyla* perchè: « The size discrepancy between *Hyla* and *Amblystoma* embryos made reciprocal transplantations in this series impossible ».

Ed è invece proprio la differenza di comportamento tra la *Rana esculenta* e l'*Hyla arborea* che ci ha dato i due termini estremi dei processi riguardanti la compatibilità e la incompatibilità embrionale.

La verifica diretta, con altri metodi di indagini, di tale risultato è stata perseguita da Cotronei e Perri (1934-36).

Sappiamo ora che la *Rana esculenta*, altri Ranidi e Bufonidi portano a rapidissima distruzione gli abbozzi di Urodeli trapiantati; vera distruzione necrotica o citolitica e non semplice atrofia. L'*Hyla arborea* invece ha rappresentato finora il massimo grado di compatibilità; massimo, diciamo, perchè superiore a quello da noi rilevato nei trapianti di abbozzi di Anuri su embrioni di Urodeli.

Le esperienze compiute quest'anno ci hanno permesso di seguire l'accrescimento dell'occhio di *Triton* trapiantato su *Hyla* dissociandone nettamente i due periodi: embrionale, in cui si è assorbito anche il vitello dell'ospite, e larvale dopo che l'*Hyla* ha cominciato ad assumere alimento dall'esterno.

Nelle nostre esperienze abbiamo trapiantato la vescicola ottica primaria di *Triton taeniatas* nella testa o nella regione ventrale di embrioni di *Hyla arborea* allo stadio di bottone codale. Sono stati fissati alcuni esemplari ospiti nel momento in cui l'*Hyla* ha terminato il riassorbimento del vitello di riserva ventrale, conservandone altri per l'ulteriore accrescimento larvale, nutrendoli con tuorlo d'uovo.

Questi esemplari sono stati fissati successivamente a periodi vari. Per alcuni casi sono stati fissati contemporaneamente per controllo embrioni di tritone.

Le nostre osservazioni che brevemente riassumiamo ci hanno mostrato che l'occhio di *Triton* posto su *Hyla* si accresce tanto durante il periodo embrionale, quanto durante il periodo larvale dell'ospite.

Diamo qui alcune misure della retina e del cristallino degli abbozzi oculari di *Triton* trapiantati su *Hyla*, e di *Triton* rimasti *in situ*, al termine del riassorbimento vitellino. Diametro massimo dell'occhio di *Triton* trapiantato su *Hyla*: μ 400; diametro massimo del suo cristallino: μ 144.

Diametro massimo dell'occhio di *Triton* di controllo: μ 410; diametro massimo del suo cristallino: μ 150.

Questi reperti che noi riferiamo come indicatori, e che vanno aggiunti agli altri da noi ottenuti precedentemente, dimostrano che l'occhio di *Triton* trapiantato su *Hyla* ha utilizzato il vitello dell'ospite, dopo che ha esaurito il proprio vitello endocellulare.

Per quanto non intendiamo con i dati esposti delimitare rigorosamente l'accrescimento dell'occhio al termine del vitello, tuttavia è evidente che l'occhio di *Triton* si è accresciuto utilizzando il vitello di riserva dell'*Hyla*.

Ma le precedenti osservazioni sono state integrate dallo studio dell'accrescimento successivo dell'occhio trapiantato. Questo accrescimento è stato assai cospicuo durante il periodo larvale dell'*Hyla* ospite. Infatti dopo 33 giorni dall'operazione, e cioè dopo 20 giorni dall'inizio dell'assunzione dell'alimento dall'esterno (tuorlo d'uovo) da parte dell'*Hyla* ospite, abbiamo che l'occhio di *Triton* ha raggiunto le seguenti dimensioni: diametro massimo dell'occhio di *Triton*: μ 640; diametro massimo del suo cristallino: μ 240.

Altri esemplari di *Hyla* ospiti fissati 39 giorni dopo l'operazione, e cioè 26 giorni dopo l'assunzione dell'alimento dall'esterno, hanno mostrato l'occhio di *Triton* accresciuto e raggiungente le seguenti dimensioni in un caso che riferiamo come indicativo.

Diametro massimo dell'occhio: μ 688; diametro massimo del suo cristallino: μ 256.

I calcoli eseguiti per ora sui volumi raggiunti dal cristallino, che si presta per la sua forma pressochè sferica a misure sufficientemente esatte, ci hanno dimostrato un volume circa 5,6 volte maggiore rispetto a quello calcolabile al termine dell'assorbimento vitellino.

Pochi giorni dopo aver fissato questi esemplari, mostrandoci l'occhio trapiantato di *Triton* accresciuto così notevolmente, si notano in altri ospiti netti segni di distruzione a carico del trapianto.

Le presenti osservazioni ci hanno dunque dimostrato che l'occhio di *Triton* trapiantato su *Hyla* si accresce non soltanto utilizzando il vitello dell'ospite (*Hyla*); ma che è capace anche di utilizzare per un periodo notevole di tempo i materiali nutritivi assunti dall'*Hyla* dall'esterno ed elaborati da essa.

Queste esperienze così diverse da quelle di trapianti di abbozzi oculari di *Triton* su embrioni di *Rana esculenta* ci mostrano, come abbiamo già detto, due termini estremi. La vescicola ottica di *Triton* su embrioni di *Rana esculenta* va distrutta quando ancora nelle sue cellule sono contenuti corpuscoli vitellini. È questo un fatto ben accertato dalle nostre esperienze. Nè vale riferirsi a condizioni speciali operate dal freddo (Hewitt) perchè il fatto positivo non viene infirmato (si consultino le esperienze di Perri, 1932). Holtfreter⁽¹⁾ di recente ha confermato che gli abbozzi di Urodela trapiantati su *Rana esculenta* vanno distrutti con frammentazione in 2-4 giorni. Le esperienze su l'*Hyla* hanno invece dimostrato che l'occhio di *Triton* utilizza ottimamente il nutrimento embrionale e larvale dell'ospite.

L'interpretazione che mostra di seguire la Hewitt che « l'abortivo sviluppo » di trapianti di abbozzi di Urodela su Anuri, piuttosto che a fattori dovuti a specifiche tossine, sia determinato dall'incapacità di utilizzare il nutrimento dell'ospite, dall'incapacità di eliminare prodotti di escrezione elaborati da essi e dalle altre possibilità risultanti dalle discrepanze tra il grado di differenziazione dell'ospite e del trapianto, è completamente sommersa dalle esperienze che abbiamo riassunte.

Cade la prima ipotesi della Hewitt perchè l'abbozzo oculare di *Triton* su *Rana esculenta* può essere distrutto senza che riesca neppure a utilizzare il proprio vitello endocellulare (Ved. ricerche di Perri e relative figure, 1932).

Il non poter eliminare prodotti di escrezione non potrebbe spiegare la rapidissima distruzione dell'abbozzo oculare di *Triton* su *Rana* a temperatura piuttosto elevata.

E poi perchè nelle esperienze di Spirito (1932) e negli espianti (Cotronei e Perri, 1934-1936), quando si riescono ad eliminare « le nostre sostanze tossiche citolizzanti », i trapianti e gli espianti procedono nello sviluppo? Quindi sono le sostanze citolizzanti che distruggono. La mancata utilizzazione del nutrimento è quindi effetto e non causa dei risultati sfavorevoli.

La controprova di queste considerazioni è data con ancor maggiore evidenza dai risultati ottenuti usando l'*Hyla* come ospite. In questo caso non vi è antagonismo di nutrizione. Non vi è stata difficoltà di eliminazione

(1) « Roux' Archiv », 133, 1935.

di prodotti di escrezione che ostacolassero lo sviluppo, perchè vi è stato un accrescimento molto notevole.

E dati i risultati positivi raggiunti con l'*Hyla* ospite si dimostra che anche le « discrepancies » non sono l'elemento che ha influito nei ben differenti risultati ottenuti con l'abbozzo oculare di *Triton* trapiantato su *Rana esculenta*.

Tuttavia soltanto più tardi l'occhio di *Triton*, differenziatosi e accresciutosi molto notevolmente sull'*Hyla* (più che quelli degli Anuri posti sugli Urodeli), va fatalmente distrutto.

L'interpretazione che noi crediamo di dare a quest'ultimo risultato è che, pur con la compatibilità di nutrimento e con la possibilità degli scambi respiratori ecc., assicurati dalla stabilita irrorazione sanguigna dell'occhio trapiantato, in quest'ultimo si accumulano lentamente prodotti tossici che fatalmente finiscono con ucciderlo.

Le osservazioni sopra esposte ci hanno dimostrato due modalità ben differenti di comportamento degli abbozzi di Urodeli trapiantati su Anuri. Teniamo a riferire che una terza modalità, anche essa differente dalle precedenti, è quella che si verifica nei trapianti di abbozzi di Anuri su Urodeli. Tutto lascia ritenere, e le osservazioni tuttora in corso sugli abbozzi oculari ci convalidano in questa opinione, che la compatibilità embrionale degli abbozzi di Anuri sugli Urodeli, da noi ammessa da molti anni, si espliciti unicamente, crediamo, con l'utilizzazione del vitello dell'ospite. Al termine del vitello di quest'ultimo le nuove condizioni biochimiche si palesano con processi di rapida distruzione per alcuni abbozzi; meno rapida per altri. Per l'occhio noi abbiamo ammesso una rapida distruzione.

A questo proposito ci richiamiamo a quanto dice la Hewitt, che, pur confermando in sostanza la distruzione larvale, tende ad ammettere che le sue esperienze mostrino che le parti trapiantate di Anuri su Urodeli conservano la loro integrità per un lungo tempo e si riferisce agli strati retinici di un caso tenuto in vita per 27 giorni dopo che l'ospite (*Amblystoma punctatum*) ha iniziato la sua vita larvale⁽¹⁾. Ma aggiunge: «The pigment epithelium does not usually maintain itself for as long a time as the other layers of the retina. It may lose its normal smooth appearance as early as 18 days after transplantation and in 60 per cent of the cases fixed 4 weeks or more after operation the pigment epithelium was lumpy and fragmented».

Soltanto in due casi tenuti più lungamente in vita lo strato pigmentato era sufficientemente normale. Questi risultati che la Hewitt obbiettivamente riferisce, come noi abbiamo obbiettivamente riferito tutti i risultati della nostra scuola, sono la più chiara e sicura conferma di quanto noi sosteniamo da tempo.

(1) Sarebbe importante conoscere i dati riguardanti la temperatura durante questa esperienza.

Quando si tiene presente lo stadio di operazione della Hewitt e i giorni che debbono intercorrere tra operazione e inizio della assunzione dell'alimento dall'esterno, possiamo bene concludere che anche nelle esperienze della Hewitt si sono manifestate, nel momento biologico da noi indicato, le proprietà citolizzanti dell'Urodelo ospite verso l'abbozzo di Anuro trapiantato, che in pochi giorni hanno già palesato nelle parti più sensibili i segni della loro distruzione.

Vogliamo concludere, rispondendo alle considerazioni della Hewitt, che ci sembra che siano le parti di organo che prima si distruggono, e non quelle più resistenti, a mostrarci l'iniziarsi delle condizioni citolizzanti. Le variazioni individuali non possono stupire in quest'ordine di fenomeni.

55641





