

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

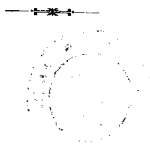
Estratto dal vol. XXIV, serie 6^a, 2^o sem., fasc. 7-8. - Roma, ottobre 1936-xv

Tentativi d'impianti di tessuti nel vitreo dell'occhio di cavia

NOTA

DI

C. KOCH, B. SCHREIBER e G. SCHREIBER



Lib.
B
57

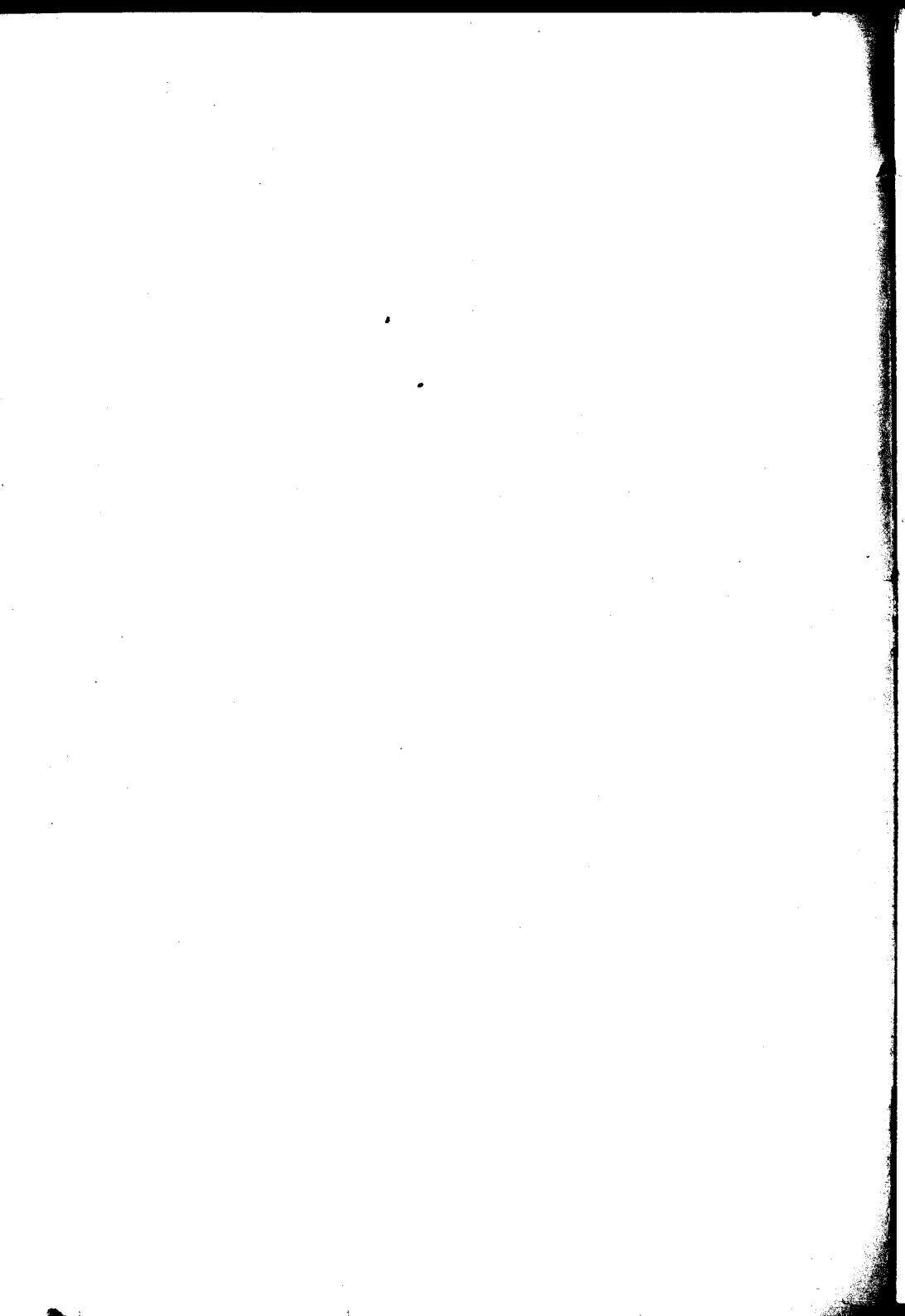
58

ROMA

DOTT. GIOVANNI BARDI

TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

1936-xv



Biologia. — *Tentativi d'impianti di tessuti nel vitreo dell'occhio di cavia*⁽¹⁾. Nota⁽²⁾ di C. KOCH, B. SCHREIBER e G. SCHREIBER, presentata dal Corrisp. F. RAFFAELE.

Riferiamo in questa Nota sui particolari di tecnica ed alcuni risultati d'impianti di tessuti diversi nel corpo vitreo dell'occhio vivente; impianti eseguiti con lo scopo di saggiare l'accrescimento dei tessuti in questo ambiente così singolare, il quale, secondo le ricerche manometriche di Fischer⁽³⁾ manca del ricambio respiratorio.

Il vitreo infatti, non consuma ossigeno nè produce anidride carbonica; nel mentre non sono ancora note le sue capacità glicolitiche.

La nostra intenzione era quella di portare nel vitreo il tessuto o frammento di organo in attivo accrescimento e proliferazione (cute, intestino embrionale, glandola mammaria secernente, utero ecc.) allo scopo di vedere se e quali elementi istologici vi si accrescono; ed inoltre se le modalità di questo accrescimento risultassero morfologicamente simili a quelle degli espianti « in vitro » oppure presentassero qualche atipia riferibile al carattere asfittico del ricambio di questo mezzo.

La scarsa proliferazione dei tessuti così innestati ci ha costretti a rinunziare ai trapianti in serie e alle ricerche di controllo sul metabolismo dell'innesto, inizialmente progettati.

Ci sembra però utile dare alcune informazioni sulla tecnica d'impianto e cenni sui risultati ottenuti.

Ritagliate con i comuni accorgimenti di asepsi brevi fettucce dei materiali di impianto, queste vengono introdotte nel lume di un grosso ago da siringa armato di mandrino esattamente calibrato, secondo la tecnica di Erlich⁽⁴⁾ per i trapianti in serie di tumori.

(1) Lavoro eseguito negli Istituti di Zoologia e Anatomia comparata della R. Università di Padova e di Zoologia della R. Università di Milano.

(2) Pervenuta all'Accademia il 24 settembre 1936.

(3) H. FISCHER v. BUNAU, « Arch. f. Augenheilk. », 106, 1932.

(4) P. ERLICH, « Arb. a. d. K. Inst. f. Exper. Ther. », 1906 e « Z. f. Krebsf. », 5, 1907.

Nel frattempo una cavia viene posta in leggera narcosi eterea e fissata a mano. Lussato il globo oculare fuori dell'orbita, viene praticata una piccola incisione nella cornea onde far uscire l'acqueo. Quest'accorgimento di tecnica è necessario per eliminare l'aumento di pressione endo-oculare, che potrebbe ostacolare l'introduzione del materiale ed espellere il pezzo dopo ritirato l'ago.

Si esegue ora un breve taglio nella sclera intiggendovi un cortellino del Graefe con la lama orientata in senso meridiano. È opportuno eseguire tale incisione con la punta della lama rivolta verso il polo posteriore dell'occhio per rispettare il cristallino ed in uno dei meridiani obliqui onde evitare le fibre dei muscoli oculomotori retti. Poi, attraverso questo taglio s'introduce la cannula innescata del tessuto e si spinge il mandrino.

Seguendo l'operazione all'oftalmoscopio, si vede facilmente liberarsi dalla cannula e spostarsi nel vitreo il pezzo di impianto che talvolta rimane sospeso in questo, altre volte, ritirata rapidamente la cannula, si avvicina alla ferita e ivi rimane.

Frequentemente, a 7-10 giorni dall'innesto si stabilisce un distacco parziale o totale della retina. Fra le pieghe della retina distaccata si nasconde talvolta il pezzo innestato e non è quindi più possibile controllarne all'oftalmoscopio il comportamento successivo.

Abbiamo sinora eseguiti sette innesti di parete del corno uterino di cavia giovane, undici di mammella di cavia allattante, sette di pelle di feto di cavia e due di testicolo di cavia neonata.

L'occhio contenente l'innesto fu asportato dopo tempi variabili da 4 a 32 giorni. Per il prelevamento del pezzo, l'occhio venne enucleato e fissato intero in Zenker acetico o in Bouin. Dopo circa 12 ore di permanenza nel fissativo venne asportato, con taglio tangenziale una calotta di cornea e attraverso l'apertura, asportato il cristallino con delicata manovra. Dopo una ulteriore permanenza nel fissativo l'occhio venne incluso in paraffina e tagliato in serie.

Una fonte di errore per la corretta interpretazione dei reperti istologici sta nel fatto che dalla ferita si inoltrano nel vitreo delle gettate di fibroblasti che derivano probabilmente in parte del tessuto connettivo sottocongiuntivale. Altri gruppi di fibroblasti derivano dal frammento di organo impiantato nel vitreo. La provenienza di fibroblasti dalla congiuntiva osservato già dal Campos⁽¹⁾ come conseguenza di cauterizzazioni perforanti della sclera dell'occhio di coniglio, si presenta a nostro avviso già di per se interessante in quanto l'aspetto di questi fibroblasti infiltratisi a lamina nel vitreo, ricorda molto da vicino quello delle lamine di fibroblasti in coltura.

La figura 1 rappresenta infatti parte di una di queste lamine costituite da fibroblasti in assetto sinciziale e nuclei ellissoidi e con estremità libere del protoplasma a forma di propaggini lamellari. Nel citoplasma e fra i

(1) R. CAMPOS, «Ann. Ottalm.», 62, 1934.

fibroblasti si rilevano con la colorazione di Malory caratteristiche fibrille connettivali. Mancano in questi gruppi di fibroblasti figure mitotiche.

Tra i vari tessuti innestati, ricorderemo due casi particolarmente significativi. Un frammento di corno uterino di cavia giovane, il quale dopo 36 giorni di innesto in cavia adulta mostrava una proliferazione a zaffi radiali di elementi riferibili a fibrocellule lisce del miometro in attiva proliferazione mitotica (figg. 2, 3, 4).

Questi elementi in dati punti del preparato s'inoltrano in un coagulo sanguigno e si adagiano sulla sua superficie. L'identificazione delle fibre muscolari e la loro differenziazione dai fibroblasti riesce facile nei punti dove queste, colpite trasversalmente, appaiono a sezione approssimativamente circolare, con le miofibrille nettamente visibili entro il citoplasma attorno al nucleo (fig. 4). I fibroblasti appaiono invece quali sottili lamine. Altri criteri differenziali rilevabili dalle figure 1, 3, 4, sono la forma stessa della cellula, la forma del nucleo e la disposizione della cromatina. Va ricordata inoltre, una formazione pseudo cistica chiusa, affiancata al frammento innestato nel vitreo, derivata dall'endometrio con le proprie ghiandole tubulari. Nella parete di questa cavità le numerose mitosi attestano una attiva proliferazione delle cellule epiteliali.

Facciamo seguire ora una breve relazione su di un innesto di ghiandola mammaria di cavia allattante prelevato al 21° giorno dopo l'impianto fatto nel vitreo pure di cavia allattante.

Il pezzo in questo caso, a differenza del caso precedente, ove il frammento innestato era isolato nel vitreo, è rimasto aderente alla cicatrice sclerale, dalla quale si sono insinuati travate di fibroblasti e capillari sanguigni neoformati.

L'aspetto più notevole di quest'innesto è dato dall'accrescimento a lamina sinciziale dell'epitelio ghiandolare con formazione di lacune circolari. Il quadro istologico ricorda molto da vicino l'accrescimento degli epitelii nelle culture *in vitro* (figg. 5, 6).

Entro tale sincizio le cellule si presentano polimorfiche e frequentemente binucleate; si vedono alcuni nuclei in divisione diretta; mancano del tutto figure mitotiche. Sono assenti granuli di secrezione. Analogamente a quanto ebbero ad osservare Francescon e Zambelli⁽¹⁾ nelle culture *in vitro* di ghiandola mammaria espantata tre giorni dopo il parto, anche nel nostro caso si nota in vari punti delle sezioni una netta separazione fra elementi epiteliali accresciuti a lamina e fibroblasti⁽²⁾.

(1) A. FRANCESCON e ZAMBELLI, « Boll. Soc. Ital. Biolog. Sperim. », VIII, pp. 577 e 1268, 1933 e « Atti Soc. Med. Chir. Padova », XI, p. 242, 1933.

(2) Queste ricerche vennero in parte eseguite durante l'estate 1935 nei Laboratori dell' Ospedale « Regina Elena » e nel Manicomio Provinciale di Trieste. Ci è grato poter esprimere qui i più scorti ringraziamenti ai primari dottori E. Ferrari, C. Sai ed E. Licen, per l'ospitalità e la cortesia usatoci.

Sugli innesti di epidermide, di intestino embrionale ecc. riferiremo in una Nota successiva.

Concludendo, intendiamo rilevare che, con questa tecnica relativamente semplice, siamo riessiti ad impiantare frammenti d'organo nel vitreo dell'occhio vivente di cavia.

Abbiamo potuto seguire gl'innesti per un tempo variabile da pochi giorni ad un mese ed abbiamo potuto osservare anzitutto la sopravvivenza di elementi di frammenti d'organo innestati e lo sviluppo, seppure stentato, di cellule connettivali (fibroblasti) epiteliali, e muscolari lisce.

Volendo interpretare questi risultati, va tenuto conto delle peculiari condizioni di ricambio del corpo vitreo già ricordate, condizioni che non sono le più favorevoli all'accrescimento dei tessuti normali.

Riteniamo però che le condizioni sono diverse in quei casi nei quali dalla ferita sclerale si sono insinuati capillari neoformati nel pezzo innestato. In successive nostre ricerche utilizzeremo quest'ultima circostanza, favorendo di proposito con opportuni accorgimenti di tecnica, la vascolarizzazione del frammento innestato.

Verremo così a realizzare la coincidenza di un frammento d'organo coltivato in condizioni simili a quello di un espianto *in vitro*, allacciato alla rete vascolare del portatore per mezzo dei vasi congiuntivali.

Servendoci di queste condizioni particolari potremo sperare di accelerare ed aumentare l'accrescimento per ora lento ed esiguo dei tessuti innestati nel vitreo e completare così lo studio dei problemi moriologici relativi. Le ricerche sui frammenti completamente isolati nel vitreo, se ulteriormente proseguite e perfezionate, potranno invece contribuire alla soluzione di problemi inerenti alla patogenesi dei tumori, rappresentando il nostro, un tentativo di agire sull'accrescimento di un tessuto coltivandolo in un ambiente a ricambio respiratorio ridotto o mancante.

