

COMPORTAMENTO DEGLI EMBRIONI DI *RANA ESCULENTA* SOTTOPOSTI A DOSI SUB-LETALI E LETALI DI RAGGI X IN SEGUITO ALLA LORO UNIONE IN PARABIOSI CON EMBRIONI NORMALI(*)

LEA MISTRUZZI

SUMMARIVM. — Auctor perspexit ex parabiosi inter communes ranarum foetus et foetus eiusdem speciei qui antea per radios X irradiati sint, aliquatenus reparari irradiationis damna, si paria sint in parabiosi, cum aliter omnino absorbeatur foetus irradiatus.

Espongo in questa nota i risultati di ricerche preliminari, eseguite nell'Istituto di Anatomia Comparata di Roma, che mirano a mettere in evidenza sia alcune peculiarità delle lesioni da raggi X sia l'influenza che sul loro svolgersi viene esercitata da un particolare ambiente quale quello costituito da un embrione normale.

Altri Autori hanno studiata l'influenza esercitata dalla presenza di determinate sostanze organiche ed inorganiche nell'ambiente di sviluppo del tessuto espianato (SCHUBERT) o degli organismi irradiati ma, da quanto risulta dalla letteratura, nessuno ha mai pensato di osservare quella esercitata da un organismo sano in condizioni di parabiosi con uno irradiato.

Occupandomi già da un anno di problemi inerenti alle parabiosi, volevo tentare questo genere di operazioni fra embrioni irradiati con raggi ultravioletti e embrioni normali; ma non essendo riuscita ad ottenere una dose tale da causare le condizioni necessarie al mio studio dopo un certo numero di giorni dall'irradiazione e poichè PERRI nello stesso istituto

(*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio Filippo Silvestri il 15 gennaio 1945.

aveva iniziato con successo esperienze di trapianti dei donatori trattati con raggi X, che riferirò in seguito, ho deciso di adoperare per il momento queste radiazioni.

Ho eseguito le parabiosi unendo due embrioni allo stadio di vescicola ottica primaria, togliendo un lembo di pelle, evitando di asportare il tuorlo sottostante, sui loro fianchi opposti e poi facendo combaciare le ferite e agevolando con una leggera pressione la loro saldatura. Le operazioni sono state eseguite in vaschette di paraffina contenenti soluzione fisiologica con l'aiuto di un paio di forbicette da iridectomia. Gli embrioni di *Rana esculenta* uniti in parabiosi appartenevano sempre allo stesso lotto e si trovavano allo stesso stadio. Erano uniti in parabiosi un embrione normale ed uno trattato precedentemente con raggi X. L'irradiazione è stata effettuata con un tubo per terapia (Müller-Metro) ad una tensione di 40 Kv ed una intensità di 3mA senza filtro. La distanza della vaschetta di vetro contenente gli embrioni e sempre la stessa quantità di acqua, era di 21,5 cm. dall'anticatodo. I tempi di esposizione ai raggi erano di 15, 30 e 60 minuti primi.

Le lesioni prodotte dai raggi erano di diversa entità a seconda della dose, ma non esiste in senso assoluto una proporzionalità diretta fra dose e gravità delle lesioni: talvolta per le stesse dosi si hanno risultati differenti e per dosi diverse risultati molto vicini dato che molti fattori influenzano la particolare roentgensensibilità degli embrioni, quali lo stadio di sviluppo al quale furono irradiati, la temperatura ambiente ed inoltre anche le condizioni individuali degli embrioni provenienti da lotti diversi, ferme restando le altre condizioni sperimentali.

In genere gli embrioni irradiati per 15' sopravvivono e presentano poche lesioni istologiche limitate al tessuto nervoso; gli altri organi e tessuti sono normali. Dati gli effetti poco appariscenti che si ottengono per questa dose ho preferito eseguire la maggior parte delle esperienze su embrioni trattati per 30' e 60'. In seguito a queste irradiazioni gli embrioni allo scadere di pochi giorni (6-7 nel primo caso, 4-5 nel secondo⁽¹⁾) presentano gravi alterazioni istologiche e morfologiche.

(¹) Bisogna tener presente che la temperatura ambiente nel periodo delle operazioni (giugno-agosto) era piuttosto elevata e che quindi i processi dello sviluppo si esplicavano con maggiore velocità.

Il tipo di queste ultime è affine a quello osservato da molti altri autori in embrioni di anfibî sottoposti, in varî stadi di sviluppo, all'azione dei raggi X, del radio e di altri agenti sia chimici che fisici. In genere si osserva riduzione, che può giungere fino alla inibizione o rudimentazione di tutta la parte cefalica precordale con atrofia dell'apparato boccale; gli occhi possono essere rudimentali o mancare del tutto o si può conservare qualche loro componente (cristallino, *tapetum nigrum*); la capsula otica è sempre presente esclusi i casi di completo riassorbimento o degenerazione della testa. Le branchie sono più tozze e meno ramificate di quelle normali; il corpo si presenta spesso ricurvo dorsalmente e la coda può avere i bordi della pinna frastagliati. Un edema si comincia a manifestare nella zona cardiaca e poi si estende talvolta confluyendo con altri eventualmente formati in altre zone. La pressione esercitata dall'idrope impedisce lo sviluppo normale degli organi addominali i quali si presentano molto piccoli. L'intestino raramente forma i tipici avvolgimenti ma per lo più è breve e più dilatato del normale. Il cuore molto piccolo pulsa ritmicamente. Le lesioni istologiche sono particolarmente evidenti nel tessuto nervoso ma anche altri tessuti risentono molto dell'azione lesiva dei raggi. Nei tessuti colpiti si osservano zone contenenti nuclei picnotici, granuli e zolle di pigmento e detriti cellulari.

Tutte queste lesioni che compaiono dopo un certo periodo di latenza, la cui durata dipende da varî fattori fra i quali principalmente la dose, si presentano più o meno estese negli embrioni di *Rana esculenta* che sono stati sottoposti ai raggi X per 30-60 minuti primi.

Unendo in parabiosi embrioni trattati con raggi X con altri normali si ottiene che in principio le lesioni si sviluppano in essi come nei controlli isolati ma ad un certo stadio (branchie esterne) mentre le lesioni continuano ad estendersi in questi ultimi fino a determinarne la morte, nei primi esse subiscono un arresto e l'irradiato non solo sopravvive ma è anche capace di ulteriore accrescimento e differenziazione. Molte coppie sono state portate avanti per parecchie settimane e sono state fissate via via; la descrizione del loro comportamento e dei preparati istologici con esse eseguiti è oggetto di un lavoro in esteso. Una coppia che ho portato fino alla metamorfosi dimostra che non solo l'embrione irradiato è sopravvissuto e si è accresciuto

rispetto ai controlli isolati ma è anche stato capace di compiere quelle trasformazioni istologiche (intestino) e morfologiche (sviluppo degli arti) che sono inerenti a tale stadio. La coppia però non è riuscita a superare la completa metamorfosi forse a causa anche del trattamento tiroideo troppo energetico.

L'accrescimento degli irradiati è sempre inferiore a quello dei normali e si ha sempre una coppia disarmonica con un apparato digerente in comune con branchie o polmoni saldati. La fusione di questi e di altri organi (reni, fegato) sono secondarie, determinate dalle particolari condizioni spaziali che impediscono il loro normale sviluppo e dalla posizione della zona di unione dei due individui. Anche in queste mie esperienze quindi si ha una verifica della legge di BORN sulla tendenza a fondersi, in particolari condizioni, degli organi simili.

Le coppie eseguite con embrioni che hanno più sofferto dell'irradiazione (generalmente dopo un'ora di esposizione ai raggi) presentano un comportamento differente perchè l'irradiato viene quasi totalmente o totalmente riassorbito dal normale. Nella parte addominale di quest'ultimo talvolta si nota ancora la disposizione degli organi assili dell'irradiato con la muscolatura ai lati e la corda al centro; di midollo spinale in genere nessuna traccia. Il riassorbimento si inizia dalla testa e poi prosegue verso la coda che è la parte meno sensibile dell'embrione. Riguardo all'accrescimento degli embrioni si vede che l'embrione normale deve nutrire attraverso le connessioni vasali, che si sono stabilite per mezzo della parabiosi, oltre che a mezzo dell'intestino che è comune ai due individui della coppia, l'irradiato la cui bocca è atrofica o del tutto assente.

Dal normale arrivano perciò all'irradiato non solo sostanze che quest'ultimo utilizza per il proprio accrescimento ma anche altre che direttamente o indirettamente, eccitando forse i meccanismi di difesa o fornendo i mezzi necessari con i quali questi si possono esplicare, bloccano l'estendersi delle lesioni e permettono la sopravvivenza dell'embrione irradiato. Si deve inoltre considerare che anche l'embrione e la larva normale usufruiscono a loro volta delle sostanze dell'irradiato: nelle parabiosi nelle quali si osserva il riassorbimento dell'ir-

radiato è evidente che le sostanze che lo costituiscono vengono in parte assimilate e forse anche in parte eliminate dal normale. Il fatto che le dimensioni di quest'ultimi siano eguali e talvolta anche leggermente maggiori (al principio della vita larvale) di quelle dei controlli normali isolati, dimostra un'utilizzazione delle sostanze provenienti dal compagno irradiato in quanto nelle parabiosi fra embrioni ambedue normali ho osservato lo sviluppo armonico dei due parabionti le cui dimensioni però erano sempre inferiori a quelle dei controlli isolati. Potrebbe darsi che il normale consumi per il suo sviluppo anche il deutoplasma dell'irradiato e possa riassorbire anche cellule già differenziate di quest'ultimo.

Questi risultati confermano quelli di PERRI esposti in una nota che apparirà in questa stessa rivista: quest'autore ha eseguito trapianti di occhi di embrioni irradiati su embrioni normali e viceversa e nel primo caso ha osservato che l'occhio trapiantato presenta le stesse alterazioni dell'occhio rimasto *in situ* mentre il donatore è in vita e che dopo la morte di quest'ultimo il trapianto può essere sia assorbito completamente (in genere in seguito ad irradiazione di 30-60 minuti primi) oppure rimanere in vita senza dar segno di riassorbimento. Nel secondo caso l'occhio dell'embrione normale risente pochissimo dell'ambiente. Dalle esperienze di PERRI risulta quindi che le lesioni rimangono localizzate alla parte irradiata; anche nelle mie esperienze di parabiosi non ho mai notato l'estendersi delle lesioni istologiche al normale; solamente in qualche caso l'edema originatosi nell'irradiato si estende al normale, ma questo è un fenomeno di secondaria importanza che si spiega con la continuità delle cavità corporee dei due animali; però tale idrope è per lo più transitoria perchè il liquido viene in qualche modo riassorbito o eliminato dagli emuntori del normale.

La localizzazione delle lesioni è stata messa in evidenza da molti altri autori (VINTEMBERGER sulle uova, PUCKETT su girini in stadio di sviluppo avanzato). Il PUCKETT ha inoltre studiato l'azione combinata dei raggi X e della tiroide sui girini di rana e ha osservato che gli animali irradiati iniziavano i processi regressivi che accompagnano la metamorfosi ma non erano capaci di differenziare le strutture caratteristiche della rana adulta.

I miei risultati concordano anche con quelli del COTTRONEI su embrioni al litio uniti in parabiosi con embrioni normali e rivelano l'influenza benefica di un organismo sano sulla vitalità di un individuo che per lesioni in esso determinate con mezzi fisici o chimici era destinato a soccombere e mettono quindi in evidenza la intima unione fisiologica che si è stabilita fra essi in seguito alla parabiosi.

BIBLIOGRAFIA

COTTRONEI, « Arch. Zool. », 10, 85-126, 1922.

PUCKETT, « Journ. of exper. Zool. », 76, 303-323, 1937.

SCHUBERT, « Deut. Med. Wochenschrift. », 1, 489-490, 1928.

VINTEMBERGER, « C. R. Soc. Biol. », 99, 1590, 1928; 109, 208, 1932; 112, 1033, 1933; 112, 809, 1933; 117, 693, 1934.