

AZIONE DEI RAGGI RÖNTGEN SU EMBRIONI E LARVE DI ANFIBI (*)

NOTA II

TEODORO PERRI

SUMMARY. — Quid efficiant radii X in fetibus *Ranae esculentae* Auctor investigavit, germina transferens inter radiatos et normales fetus; in larvis autem *Ranae esculentae*, subministrans tiroideos sucos. In insitionibus inter normales et radiatos fetus perspexit Auctor magni momenti esse pronephrum in hydrope ex radiatione gignenda.

Le ricerche che dal 1944 ⁽¹⁾ vado eseguendo sull'azione dei raggi X su embrioni e larve di Anfibi, studiano la diversa röntgensuscettibilità dei vari abbozzi, indagandola con varie metodiche (trapianto di abbozzi tra embrioni irradiati e normali; innesti di ampie parti embrionali tra embrioni irradiati e normali; somministrazione di estratti tiroidei a larve irradiate; ecc.). Queste ricerche sono utili per meglio conoscere, nel loro aspetto morfologico e funzionale, le proprietà intrinseche dei vari abbozzi, le correlazioni tra le varie parti dell'organismo irradiato, ed implicitamente a distinguere le azioni dirette dei raggi X da quelle indirette.

Questa nota è un breve sunto dei risultati conseguiti nel 1945 ⁽²⁾,

(*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio Filippo Silvestri il 12 gennaio 1946.

(1) « Acta », vol. 8, n. 9, 1945, pag. 67-72.

(2) Nell'Istituto di Anatomia comparata della R. Università di Roma.

indagando su embrioni e su larve di *Rana esculenta* ⁽¹⁾. Ho irradiato con tensione di 40.000 volt, intensità di 3 milliampere, senza filtro, distanza degli irradiati dall'anticatodo di cm. 21,5 per gli embrioni e di cm. 10,5 per le larve. La quantità di raggi è stata somministrata in unica dose, o in più di una con brevi intervalli. Gli irradiati venivano tenuti in una vaschetta di vetro (sempre la stessa) con uno strato di mm. 4 di acqua comune.

Nelle esperienze che qui riferisco, gli embrioni sono stati irradiati allo stato di bottone codale appena accennato. Nella mia precedente nota ne riferii il comportamento generale; mi limito qui a ricordare che per irradiazioni di 30' o più gli embrioni muoiono con notevole idrope, e che per dosi di 25' possono morire dopo un tempo più lungo e senza idrope. Sia nelle esperienze di trapianto che di innesti ho sempre usato dosi di 30' o più. Il periodo di sopravvivenza, com'è noto, dipende dalla temperatura in cui sono tenuti gli embrioni dopo l'irradiazione. Mi sono accertato che le differenze di temperatura dell'acqua durante l'irradiazione, anche se di una diecina di gradi, non hanno una notevole influenza; e perciò non ho avuto, per una stessa dose, risultati differenti secondo il mese in cui ho irradiato.

* * *

Come ho già accennato al principio di questa nota, la principale linea direttiva delle mie esperienze è lo studio della diversa röntgen-suscettibilità dei vari organi. Le esperienze dell'anno scorso mi avevano mostrato che la vescicola ottica primaria è più resistente ai raggi X che non l'intero embrione; ed infatti se viene trapiantata da un embrione irradiato su uno normale, si ha che continua a svilupparsi mentre l'embrione cui apparteneva muore; solo se la irradiazione supera una

⁽¹⁾ Sperimentai anche su embrioni di *Bufo vulgaris*, *B. viridis*, ecc. Per essi mi limito a notare che in *B. viridis*, irradiando allo stadio di bottone codale per 40' o più, si osservano spessissimo due profonde fessure laterali che dalla regione buccale giungono sino alla cavità olfattoria; la parte dorsale compresa tra le fessure è stesa in avanti. Ho notato inoltre che in *B. vulgaris* ed in *B. viridis*, in confronto a *Rana esculenta*, la sopravvivenza all'irradiazione è maggiore e l'idrope insorge più tardivamente.

certa dose, l'occhio trapiantato va presto in disfacimento e viene riassorbito. Ho riconfermato questi risultati ed ho tenuto in vita l'embrione normale ospitante per più lungo tempo, anche per un mese e mezzo (arti posteriori già comparsi). In alcuni casi ho notato distruzione tardiva dell'occhio; in altri sopravvivenza in buone condizioni anche dopo un mese e mezzo ma con notevolissima riduzione di vo-

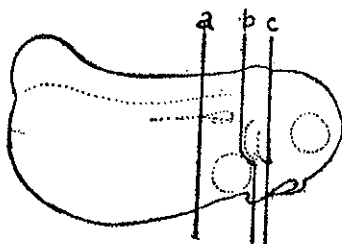


FIG. 1.

Schema mostrante le linee lungo le quali sono stati eseguiti innesti tra embrioni normali ed irradiati.

lume. Ho consigliato alla sig.^{na} N. FRONTALI, interna in questo Istituto, varie esperienze di trapianto dell'occhio irradiato nella cavità orbitaria di larva normale; i risultati già raggiunti confermano i miei e li estendono.

Queste esperienze di trapianto vanno evidentemente estese a quanti più abbozzi è possibile. Ho per ora notato che la regione branchiale e la regione buccale, trapiantate su embrione normale, presentano una röntgensensibilità maggiore che la vescicola ottica. Gli organi adesivi hanno invece una scarsissima röntgensuscettibilità: trapiantati infatti da embrione irradiato su normale compiono il loro ciclo in maniera sensibilmente normale, e questo per dosi sia debolissime che medie e forti.

Come si vede, la tecnica dei trapianti si profila di notevole utilità per lo studio della röntgensuscettibilità differenziale dei vari organi.

Collegate con queste esperienze, sono quelle di trapianti di abbozzi ma in senso inverso, cioè da embrione normale su embrione irradiato. La vescicola ottica, come avevo già notato nella mia precedente nota,

non risente in modo sensibile dell'influenza dell'embrione irradiato. La regione branchiale si sviluppa invece molto meno che nei trapianti tra embrioni normali; ma è da tener presente che negli embrioni irradiati sono notevolmente alterate (idrope) le condizioni di circolo, le quali (Ekman) hanno tanta importanza nello sviluppo delle branchie; ed ho potuto anch'io persuadermene asportando l'abbozzo cardiaco oppure i pronefri in embrioni giovani o avanzati.

Adunque un'azione diretta, diversa da quella ora prospettata, dell'embrione irradiato sugli abbozzi di embrione normale non è finora risultata.

* * *

Strettamente collegate con le esperienze di trapianto tra embrioni normali ed irradiati sono le esperienze di innesto tra una parte di embrione irradiato ed una parte di embrione normale sicchè l'embrione risulti completo. Queste esperienze d'innesti permettono in più di esaminare l'aspetto fisiologico del problema. Anche qui sperimentai su *Rana esculenta*, irradiando allo stadio di bottone codale con dosi sufficienti a portare a morte gli embrioni con notevole idrope. Il piano divisorio tra normale ed irradiato è all'incirca trasversale e situato a diversa altezza (vedi schema annesso).

Se la parte irradiata è quella posteriore, e giunge a comprendere il pronefro e l'abbozzo cardiaco (linea *b* dello schema), sia l'insorgenza dell'idrope che la sopravvivenza sono come nei controlli (embrioni normali irradiati con la stessa dose). Se invece comprende il pronefro ma non il cuore (ne ho studiati solo tre casi), l'idrope insorge più tardi ma la sopravvivenza nei miei casi è stata la stessa. Se, infine, non comprende nè il pronefro nè il cuore (linea *a* dello schema) non si ha idrope e la sopravvivenza è lunghissima.

Nei casi in cui la parte irradiata è quella anteriore, se essa si estende fino a comprendere il pronefro ed il cuore (linea *a* dello schema) tanto l'insorgenza dell'idrope che la sopravvivenza sono come nei controlli. Se comprende il cuore e l'encefalo ma non il pronefro, l'idrope insorge dopo un tempo nettamente maggiore e la sopravvivenza è più lunga. Se comprende l'encefalo, ma nè il cuore nè il pronefro (linea *b* dello schema), l'idrope insorge ancora più tardi, o più chiaramente che

nella combinazione precedente coincide con un notevole riassorbimento dell'encefalo irradiato, tanto che gli occhi possono giungere a contatto. A convalida, ricordo che asportando in embrioni normali la parte anteriore ad una linea passante caudalmente al midollo allungato e cefalicamente al cuore (cioè secondo la linea *b* dello schema) si ha, concordemente ad esperienze di D'ANCONA e NUTI, l'insorgenza dell'idrope. Infine, quando la parte irradiata giunge posteriormente a tagliare a mezzo la regione branchiale (linea *c* dello schema) non si ha idrope, e lo stesso si ha negli embrioni normali in cui venga asportata la parte corrispondente a quella irradiata (¹).

Risulta adunque la notevole importanza che ha il pronefro nel determinare l'idrope precoce; sull'influenza del cuore i dati non mi paiono ancora sufficienti. Non ho notato, neppure nelle combinazioni che non danno idrope, alcuna chiara influenza della parte irradiata sulla normale o viceversa.

Il VINTEMBERGER (²), in uova di rana rossa a due blastomeri, irradiandone uno solo, non osservò nel successivo sviluppo alcuna chiara influenza tra le due metà dell'embrione. La MISTRUZZI (³), in questo Istituto, ha osservato che un embrione irradiato con dose letale si avvantaggia dall'essere unito in parabiosi con uno normale, tanto che una coppia trattata con tiroide giunse alla metamorfosi; è da tener presente, per gli opportuni confronti, che nelle parabiosi alcune condizioni sono notevolmente diverse che negli innesti tra ampie parti embrionali.

* * *

Le stesse questioni di röntgensuscettibilità differenziale viste per gli embrioni, si hanno pure per lo stadio larvale. Questo stadio comincia con l'assunzione di alimento esterno e con l'inizio (Cotronei) dello stabilirsi delle correlazioni nervose ed endocrine. Anche qui trovano utile applicazione i trapianti che saranno estesi in questo senso. Ho iniziato esperienze che tendono allo studio di detto problema ma per via diversa, cioè osservando l'azione di estratti tiroidei (⁴) su

(¹) In queste condizioni di semplice asportazione (in embrioni normali di *Rana esculenta*) le due otocisti si avvicinano ed in parte si saldano.

(²) « C. R. Soc. de Biol. », vol. 99, 1928, pagg. 1590 e 1592.

(³) « Acta », vol. 8, n. 12, 1945.

(⁴) Ho usato l'Endotiroidina I. S. M.

larve giovani o giovanissime irradiate per un'ora. Premetto che le larve così irradiate risentono l'azione degli estratti tiroidei meno che le normali, e ciò in accordo con alcune esperienze del PUCKETT⁽¹⁾. Ma questa inibizione determinata dai raggi X è diversa nei diversi organi, si ha cioè una röntgensuscettibilità differenziale. Gli abbozzi degli arti non si sviluppano per nulla o quasi; invece l'encefalo, l'occhio, l'otocisti, ecc. risentono discretamente l'azione tiroidea e così possono raggiungere un grado di differenziamento nettamente più avanzato che le larve solo irradiate e fissate poco prima di morire; si ha un accentuarsi delle disarmonie da somministrazione tiroidea (Cotronei). È evidente che anche qui, al pari di quanto si è visto negli embrioni, la morte precoce dell'intero organismo impedisce agli organi meno röntgensensibili di estrarre tutte le capacità rimaste loro dopo l'irradiazione. Ricordo che mentre negli embrioni l'abbozzo lentogeno resiste all'irradiazione più dell'abbozzo retinico, invece nelle larve è meno resistente.

* * *

Numerose ricerche di vari Autori avevano mostrato una suscettibilità differenziale dei vari organi di fronte ai più svariati agenti sia fisici che chimici (anche per i raggi X); desidero qui ribadire che l'uso dei trapianti permette una visione dei fatti molto più completa, particolarmente nei casi ove la morte dell'intero organismo impedisce di seguire sino in fondo il destino di ciascuna parte di esso. E ciò verificasi non solo per i raggi X ma anche per altre condizioni: ricordo qui, perchè me ne vado occupando, l'azione della temperatura, ove già il BUCCIANTE (nel pollo) aveva usato la tecnica delle culture *in vitro*, e mie esperienze sul digiuno delle larve⁽²⁾.

⁽¹⁾ « Journ. of exper. Zool. », vol. 76, 1937.

⁽²⁾ In embrioni normali di *Rana esculenta*, sottoposti a rapido e notevole aumento di temperatura, in modo che riportati alla normale muoiano costantemente dopo alcuni giorni; ho notato che la vescicola ottica trapiantata su embrione normale continua a vivere ed a svilupparsi. Nelle larve normali giovanissime (di *R. esculenta*) per effetto del digiuno prossime a morire e non più capaci di rialimentarsi, ho osservato che l'occhio trapiantato su una larva normale continua nel suo sviluppo.

CONCLUSIONI

1° Queste esperienze hanno posto in evidenza una notevole röntgensuscettibilità differenziale tra i vari abbozzi embrionali, ove la tecnica dei trapianti ha mostrato che alcuni di essi (vescicola ottica, coda) possono sopravvivere anche a lungo alla morte dell'embrione cui appartenevano; e lo stesso comportamento si ha tra i vari abbozzi delle larve.

2° Esperienze di innesti pongono in rilievo la notevole importanza del pronefro nel determinare l'idrope, quale effetto dell'irradiazione.