



RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

Vol. IV, fasc. 7, 1° Semestre — Seduta dell'8 aprile 1888.

STUDI SUL SANGUE

LA PRODUZIONE DELLE PIASTRINE

NEL SANGUE DEI VERTEBRATI OVIPARI

NOTA

DEI DOTT.

C. MONDINO e L. SALA

LA PRODUZIONE DELLE PIASTRINE E L'EVOLUZIONE DELLE EMAZIE

NEL SANGUE DEI VERTEBRATI VIVIPARI

NOTA

DEL PROF.

CASIMIRO MONDINO

*man. 1/2*  
*65*  
*34*

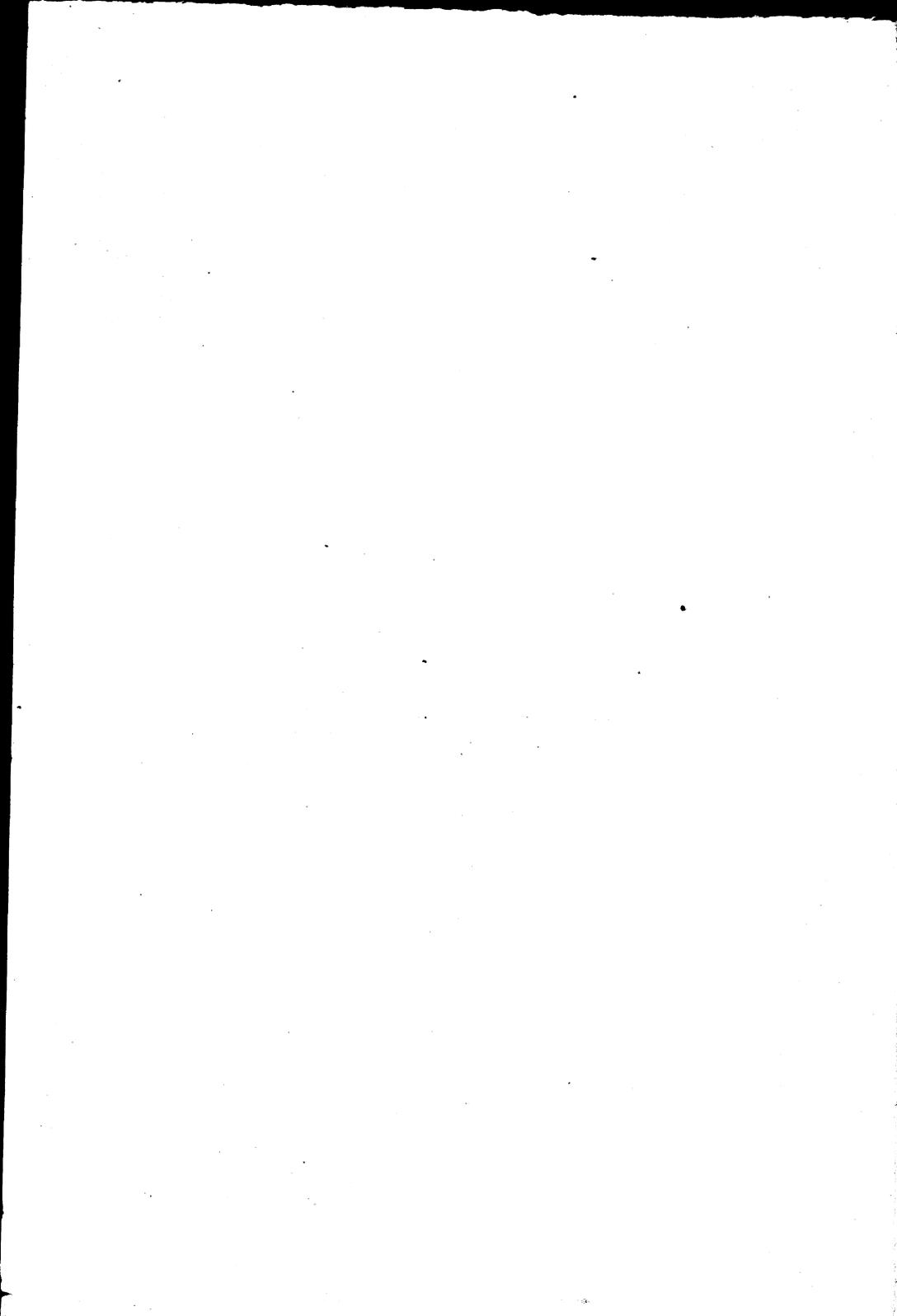


ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1888



---

**Fisiologia** — *Studi sul sangue. La produzione delle piastrine nel sangue dei vertebrati ovipari.* Nota dei dottori C. MONDINO e L. SALA, presentata dal Corrispondente GOLGI.

\* L'importanza delle questioni oggi ancora controverse sull'anatomia del sangue e la speranza di potere colla costante e paziente indagine riuscire a portare qualche nuovo contributo per la loro soluzione, ci spinsero ad intraprendere una serie di osservazioni, il cui risultato esponiamo ora in modo sommario mentre siamo lavorando per la pubblicazione in esteso.

\* Studiammo la produzione delle piastrine nel sangue dei vertebrati ovipari, sia durante la sua riparazione nell'adulto, sia durante il suo accrescimento nell'embrione; ci servimmo della rana, della salamandra, del pollo.

\* Per studiare la riparazione del sangue, praticavamo abbondantissimi salassi, per es. nella rana amputavamo tutto un arto superiore; come reagente colorante usammo il siero stesso del sangue che studiavamo addizionato di metil-violetto fino a raggiungere un color mammola un po' intenso e passato ad un filtro lavato di soluzione acquosa di bicloruro di mercurio al 0,50 %, per cui conteneva tracce di questo sale che valevano a fissare più rapidamente le piastrine nella forma che hanno sortendo dai vasi.

\* Nel sangue di rana incominciando dal 3° giorno ad arrivare al 6°, dopo il salasso si notano abbondanti le forme cariocinetiche delle piastrine: ad osservare chiare le forme nucleari giova una goccia di soluzione acquosa diluita di acido acetico che penetra per capillarità nel preparato: il filamento nucleare si presenta molto grosso e descrive delle volute ampie che si possono seguire facilmente.

\* Abbiamo visto tutti gli stadi successivi della cariocinesi fino alla separazione delle due piastrine figlie. Dal 6° giorno in poi le figure cariocinetiche diminuiscono.

\* Con identica tecnica abbiamo osservato la cariocinesi delle piastrine nel sangue di embrioni di pollo e di girini di pochi giorni.

\* Durante la riparazione del sangue nella rana ebbero campo di stabilire ripetute osservazioni, che comprovano essere la coagulabilità del sangue in ragione diretta della quantità di piastrine che contiene; avviene infatti di ottenere sangue poverissimo di piastrine: questo coagula con grande difficoltà; capita di ottenere sangue ricchissimo di piastrine: coagula rapidissimamente \*.

**Fisiologia.** — *La produzione delle piastrine e l'evoluzione delle emazie nel sangue dei vertebrati vivipari.* Nota del prof. CASIMIRO MONDINO, presentata dal Corrispondente GOLGI.

• Proseguendo gli studi sul sangue, constatati che la cariocinesi delle piastrine si verifica ogni qualvolta avviene un consumo considerevole e rapido dell'organismo.

• Conservando rane nella stufa ove si stanno incubando ova di gallina, esse consumano rapidamente; dopo un numero di giorni, che varia a seconda la grossezza e robustezza dell'animale, si trovano quelle forme enormemente grosse di piastrine che Hayem ha osservato nelle rane dissotterrate al fine dell'inverno e che, colla opportuna tecnica riferita, si dimostrano non essere altro che magnifiche forme cariocinetiche.

• Dopo aver ripetutamente constatato la cariocinesi nelle piastrine degli ovipari, la questione della produzione delle piastrine nei vivipari si presentava con nuovi dati per la sua risoluzione: io la studiai sia nel sangue in via di riparazione, sia nel sangue fetale. Mi valse di cavie, conigli, topi. In qualunque di questi animali sottoposto a salassi quotidiani, valendosi dello siero al metile suddescritto, si constata che le piastrine aumentano via via di volume: se ne hanno di quelle che superano in lunghezza il diametro dei globuli rossi.

• È detto che sotto l'azione dell'acqua o dell'acido acetico, le piastrine si dividono in una sostanza granulosa, che si raccoglie verso la parte centrale, ed in una sostanza ialina periferica.

• Le piastrine trattate colla delicata tecnica esposta lasciano scorgere ugualmente una sostanza granulosa che tende a raccogliersi verso il centro dell'elemento; però nelle piastrine allungatissime del sangue che si sta riparando, questa sostanza si raccoglie costantemente in due ammassi, uno per ciascuna metà dell'elemento il quale nella linea mediana si presenta molto pallido.

• Si trovano esagerazioni di questa figura microscopica fino ad osservare piastrine colla forma di allungatissima cifra  $\infty$  e colla sostanza granulosa disposta in due ammassi: uno per ciascuna metà dell'elemento.

• Questa sostanza granulosa si scorge perchè si tinge più intensamente che non il resto dell'elemento col violetto di metile; Hayem ha notato che si colora intensamente colla ematosilina.

• Il fatto che questa sostanza è cromatica, che tende a raccogliersi in una unica massa più o meno centrale nelle piastrine di volume ordinario, che si raccoglie in due masse nelle piastrine allungate, disposte a cifra  $\infty$  del sangue che si sta riparando, il fatto stesso di questo aumento di volume e di questa disposizione a cifra  $\infty$  delle piastrine durante la

riparazione del sangue e, infine, la descritta cariocinesi degli elementi omologhi nei vertebrati ovipari, parmi autorizzino la conclusione che le piastrine dei vivipari si moltiplichino per mitosi e che la sostanza granulosa è sostanza nucleare.

\* Osservai le piastrine nell'embrione di topo di 8, 9, 10 millimetri di lunghezza: aperte le membrane dell'ovo con un taglio netto di forbici, raccogliero in un vetro d'orologio scaldato a 37° il liquido amniotico limpidissimo ed il feto: con un colpo di forbici aprivo il cuore pulsante; raccolto in una pipetta calda a 37° il sangue che fuorusciva diluendosi nel liquido amniotico, lo esaminavo immediatamente alla temp. di 37°.

\* È difficile studiare senza colorazione elementi così piccoli; ma coi ripetuti tentativi ho visto senza dubbio alcuno più volte una piastrina molto allungata dividersi in due.

\* Il processo avviene rapido, e perchè in questi primi momenti che il preparato è allestito le piastrine non sono ben ferme, e perchè non sono colorate è difficile afferrarne i dettagli; ma non vi ha dubbio che una piastrina molto allungata la quale mentre move nel preparato si è offerta alla osservazione da ogni sua parte, si è mostrata all'evidenza un elemento unico (osservazione coll'obb.  $\frac{Df}{Ap} \frac{2.0^{mm}}{1.30}$  om. imm. ed oc. 18 (10<sup>mm</sup>) Zeiss) poco dopo

si dimostra come due piastrine riunite capo a capo, e se seguitano i leggeri movimenti nella preparazione le due piastrine si separano.

\* Del resto questi leggeri movimenti nel preparato possiamo prolungarli a volontà, senza perdere d'occhio l'elemento, alitando dolcemente verso la preparazione, non certo toccando il coprogetti con un ago, chè allora si provoca uno scompiglio tale da rendere inevitabile non solo coi potenti ingrandimenti che qui occorrono, ma anche coi deboli, il perdere di vista l'elemento oggetto di osservazione.

\* Si potrebbe dire che si tratti di rottura delle piastrine, non della loro moltiplicazione; ma se si tien conto delle descritte figure microscopiche che offrono le piastrine lunghe quando vengono colorate con siero-metile; del fatto che le piastrine non molto allungate non si vedono dividere mai, e che d'altronde mai si vedono alterate le piastrine dalla delicatissima tecnica usata, è ovvio ritenere che realmente si tratta di moltiplicazione, non di alterazione.

\* L'ultima serie delle mie ricerche fu diretta a stabilire come dalle cellule rosse nucleate derivino le emazie adulte prive di nucleo dei mammiferi.

\* Mi valse di cavia, conigli, topi e studiai il sangue fetale ed il sangue in via di riparazione.

\* Nel sangue dei feti di topo, preparato nel modo sopraesposto, si notano grosse cellule rosse di diametro molto superiore a quello normale delle emazie, emazie ordinarie e microemociti.

« Una goccia di siero-metile intensamente colorato che si fa penetrare per capillarità nel preparato, basta per colorare opportunamente gli elementi.

« Si vedono cellule rosse nucleate di grandissimo diametro; poi tutte le forme di passaggio da queste alle comuni emazie; le cellule rosse diminuiscono di volume a misura che si sviluppa in esse il cerchione periferico caratteristico dei globuli rossi: se ne vedono di quelle in cui questo cerchione occupa appena appena l'estrema periferia dell'elemento, ed il loro diametro è appena un poco diminuito: poi si trovano tutti gli stadi successivi di accrescimento dell'ispessimento periferico e proporzionale diminuzione di diametro dell'elemento fino ad arrivare alle ordinarie emazie.

« Contemporaneamente a questi mutamenti di forma si osservano le diverse fasi di un processo speciale di distruzione cui sottostà il nucleo: la sostanza di questo si risolve, tutto in giro, in trabecole granulose che si dirigono verso la periferia dell'elemento. Queste trabecole, nelle emazie in cui il processo è poco avanzato, si tingono al pari della massa centrale residua del nucleo: in fasi più avanzate, se ne trovano di quelle che non assumono più una colorazione intensa se non in certi tratti; nel resto della loro estensione si tingono poco, e se si fa agire l'acido acetico, in questi tratti la colorazione non resiste e la sostanza della trabecola scolorata si distingue soltanto per una rifrazione speciale; in fasi ancora più avanzate una gran parte delle trabecole in cui si è risolta la sostanza nucleare non si tinge più affatto, nè più si distingue in mezzo al protoplasma, il quale va perdendo quella delicatezza che offre nelle forme giovani: ne risultano figure svariate di sostanza nucleare tingibile sparsa qua e là nell'elemento.

« A misura che si osservano forme più adulte di emazie, si vede che, collo sviluppo del cerchione periferico, va di pari passo una specie di coartazione del protoplasma che diventa più resistente ai reagenti: contemporaneamente cresce l'intensità del colore rosso.

« Le emazie che contengono tuttavia quantità discrete di sostanza nucleare tingibile, la lasciano intravedere coll'uso dello siero-metile; esse sono naturalmente le meno adulte; nelle più adulte non si riesce più a vedere sostanza nucleare tingibile perchè questa, oltre all'essersi fatta scarsissima, è meglio velata dal protoplasma fortemente colorato.

« Se si fa agire l'acido acetico, molte emazie che col semplice siero-metile non mostravano tracce di nucleo, impallidendo ne lasciano scorgere resti più o meno abbondanti ed evidenti.

« Le emazie che contengono maggior quantità di sostanza nucleare ancora tingibile sono le più grosse, e sono generalmente le prime ad impallidire sotto l'azione dell'acido acetico; quelle che resistono meglio all'acido sono in genere forme più piccole e quando impallidiscono offrono o scarsissimi o nulli i residui nucleari.

« I micro-emociti sono per la massima parte resistentissimi all'acido

acetico e pochi contengono residui nucleari; la loro colorazione rossa è assai intensa.

« Questo complesso di caratteri unitamente al loro diametro li allontana assai dalle forme di globuli rossi evidentemente giovanissime, e rende poco accettabile l'opinione che le considera come forme giovani di emazie.

« Lo studio del midollo delle ossa di animali ripetutamente salassati mi diede risultati identici a questi ottenuti col sangue fetale.

« Tutto ciò prova che le cellule rosse moltiplicatesi per cariocinesi (Bizzozero) danno luogo alle emazie per una successiva trasformazione della forma: la sostanza che sta al centro dell'elemento si porta alla periferia la quale si inspessisce mentre il centro si assottiglia; il diametro dell'elemento intanto diminuisce.

« Anche la sostanza nucleare migra verso la periferia: le trabecole che forma questa sostanza migrante dapprima sono ancora tingibili, ma poi mentre si avverano tutte queste modificazioni che formano l'evoluzione dell'emazia anche la sostanza nucleare si trasforma: perde l'affinità pei colori come perde il significato di nucleo.

« Per quanto la successione delle forme sia criterio di molto valore negli studi morfologici, pure volli controllare coll'esperimento i risultati ai quali mi aveva condotto.

« Se veramente il processo descritto è quello pel quale le emazie perdono il nucleo, nel sangue d'un animale ben nutrito, nel quale l'ematopoiesi è scarsissima, si devono incontrare tutte o quasi emazie adulte che perciò non offrono più traccia di nucleo: in un animale ripetutamente salassato si devono avere quasi tutte emazie giovani con residui nucleari cioè assai abbondanti.

« Presi due animali adulti press'a poco d'egual peso (ripetei l'esperimento sui topi, sui conigli, sulle cavie) e dopo averli ingrassati esaminavo il sangue tingendo con siero-metile e rischiarando con acido acetico.

« In scarsissime emazie riescivo a tingere qualche granulo di sostanza nucleare.

« Incominciavo a salassare abbondantemente uno di questi animali mentre tutti e due venivano nutriti egualmente; già nel giorno successivo al salasso molte emazie mi lasciavano vedere residui nucleari, e insistendo nei salassi, finivo per ottenere un sangue nel quale quasi tutte le emazie contenevano sostanza nucleare tingibile; in alcune la forma del nucleo era ancora conservata assai bene.

« Nelle emazie che contenevano molta sostanza nucleare, questa, fortemente tinta in violetto, traspariva leggermente anche prima dell'azione dell'acido acetico; nel massimo numero però delle emazie la sostanza nucleare non si rivelava se non coll'azione dell'acido acetico.

« Mentre avveniva questa modificazione nel sangue dell'animale salassato, il sangue dell'animale tenuto per controllo si conservava invariato.

« Sosposi i salassi e nutrito abbondantemente l'animale, in 15, 20 giorni il suo sangue ritornava normale, preciso a quello del compagno non salassato.

« Ho ripetuto fino a tre volte l'esperienza sul medesimo soggetto. poi sul soggetto che prima serviva di controllo invertendo così le parti: il risultato rimase costante.

« Ho visto spesso nuclei di cellule rosse protundere dal corpo protoplasmatico, lo vidi anzi protundere tanto che questo dava luogo ad una specie di stelo il quale, allargandosi alla sua estremità, abbracciava il nucleo; ma posso recisamente affermare che mai il nucleo viene ad uscire dal corpo cellulare, ad esser messo in libertà: non avviene di vedere questa cosa neppure quando si esamina il sangue in condizioni tali da assistere alla scissione delle emazie.

« Del resto più frequentemente, e meglio che nelle cellule rosse dei mammiferi, si vede protundere il nucleo delle emazie delle rane, che non son destinate a perderlo; ma neppur qui avviene mai di vedere il nucleo staccarsi dall'elemento; si tratta di un semplice dislocamento del nucleo e che non va mai tant'oltre da mettersi il nucleo in libertà.

« Pubblicherò presto queste osservazioni, dando quel corredo di disegni e quelle descrizioni di dettagli tecnici che sono necessari perchè l'esposizione di un fatto istologico sia chiara e completa -.

