
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

OLIVIERO MARIO OLIVO, RENZO LASCHI, MARIA LUISA
LUCCHI

Prime fasi della fibrillo-genesi nei mioblasti cardiaci di pollo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.6, p. 790–793.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_6_790_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Citologia (Microscopia elettronica). — *Prime fasi della fibrillogenesi nei mioblasti cardiaci di pollo* (*). Nota di OLIVIERO MARIO OLIVO, RENZO LASCHI e MARIA LUISA LUCCHI, presentata (**) dal Socio O. M. OLIVO.

Nell'embrione di pollo l'attività contrattile ritmica spontanea si inizia allo stadio di 9 somiti, ed eccezionalmente poco prima, a 8-7 somiti (Olivo 1924). A questo stadio non sono dimostrabili al microscopio ottico miofibrille. Le prime scarse miofibrille lisce compaiono allo stadio di 11 somiti (Olivo 1924, 1925). Il problema è di stabilire quale sia la base morfologica dell'attività contrattile delle prime ore. Nel 1924 Olivo aveva accettato la teoria di Bottazzi della contrazione sarcoplasmatica; tale ipotesi è rimasta sempre per lo meno vaga, perché la contrazione muscolare è movimento orientato e come tale richiede una qualche struttura citoplasmatica orientata. Una prima indicazione di organizzazione orientata in seno al citoplasma dei mioblasti, prima della comparsa delle miofibrille, è stata data da Olivo (1932) con l'impiego del microscopio polarizzatore. Nei miotomi la birefrangenza compare prima che essi siano contrattili, e prima della comparsa di miofibrille dimostrabili al microscopio ottico. Per i mioblasti cardiaci è rimasta dubbia la presenza di birifrangenza prima dello stadio di 10-11 somiti.

Abbiamo ripreso in esame il problema del substrato morfologico della attività contrattile iniziale del cuore, presunta sarcoplasmatica con la microscopia elettronica.

Materiale e tecnica: sono stati utilizzati cuori di embrioni di pollo fra la 24^a e la 30^a ora di incubazione, allo stadio di sviluppo da 7 a 16 somiti. I blastodermi raccolti in soluzione fisiologica e liberati della membrana pellucida venivano raccolti distesi su una lastrina di mica, alla quale venivano fissati con una goccia di plasma sanguigno e tracce di estratto embrionale e quindi montati su porta-oggetti ad incavo secondo la tecnica delle colture *in vitro* in goccia pendente. Al microscopio tenuto alla temperatura di 38° si controllava lo stadio di sviluppo e se il tubo cardiaco avesse già iniziato le pulsazioni. Quindi con due tagli trasversali, eseguiti con coltellino del Gräfe, si eliminavano le parti craniale e caudale dell'embrione, conservando il solo segmento comprendente il tubo cardiaco. Questo veniva fissato in OsO₄ all'1% in tampone veronal acetato a pH 7,4 per la durata di tre ore a temperatura ambiente. Successivamente i pezzetti, lavati velocemente e disidratati in alcool, venivano inclusi in metacrilati (9:1 fra butile e metile) le sezioni sono state eseguite con gli ultramicrotomi Porter-Blum e LKB,

(*) Lavoro eseguito col sussidio del Consiglio Nazionale delle Ricerche

(**) Nella seduta del 10 giugno 1964.

usando lame di vetro e venivano osservate al microscopio elettronico Siemens Elmiskop I. Per aumentare il contrasto, abbiamo utilizzato l'impregnazione dei pezzetti con acetato di uranile al 0,2% durante la disidratazione, e quindi colorato le sezioni sulle griglie con idrossido di piombo, secondo la tecnica di Karnovsky. Le sezioni sono sempre state condotte secondo piani frontali e si sono utilizzate le sezioni tangenziali del tubo cardiaco.

RISULTATI.

Allo stadio di 7 somiti, tubo cardiaco non contrattile, si reperiscono con difficoltà in alcuni mioblasti dei miofilamenti dello spessore di 50 Å, a decorso ondulato, dispersi nel citoplasma e in parte raccolti in fascetti lassi di 0,5-0,6 μ circa (Tavv. I e II). L'apparato di Golgi è molto sviluppato (Tav. I), i microsomi sono molto scarsi. I miofilamenti sono immersi nella parte anista del citoplasma e non presentano nessun particolare rapporto topografico con gli organuli cellulari (microsomi, reticolo endoplasmatico, mitocondri), rispetto all'apparato reticolare interno si trovano tanto in sua prossimità quanto a distanza dal medesimo. Le membrane plasmatiche non presentano particolari differenziazioni.

Ad 8 somiti (cuore non pulsante) i miofilamenti si sono fatti molto più numerosi, sempre a decorso ondulato, in parte raccolti in fascetti lassi (Tav. III) o disposti a plesso (Tav. IV). I microsomi e polisomi si sono fatti molto numerosi. L'apparato reticolare è sempre molto sviluppato (Tav. III), numerose sono le goccioline osmiofile di lipidi di circa 1 μ di diametro. Le membrane cellulari presentano numerosi pori di circa 0,1-0,2 μ che stabiliscono continuità materiale fra i vari mioblasti, presentano inoltre dei tratti più addensati e alcuni caratteristici desmosomi.

A 9 somiti l'abbozzo cardiaco pulsa ritmicamente. La citologia dei mioblasti non pare molto modificata. Oltre a fascetti paralleli di miofilamenti ondulati, vi sono miofilamenti dispersi e intrecciati (Tavv. V-VI); i miofilamenti sono sempre indipendenti, tra loro non si osservano né anastomosi né immagini di duplicazione. L'apparato di Golgi è sempre molto sviluppato.

A 11 somiti il cuore pulsa ritmicamente. I miofilamenti hanno assunto un aspetto più rigido, sono rettilinei, raccolti in fascetti paralleli separati da intervalli piuttosto uniformi; alla loro superficie si nota un addensamento finemente granulare, il loro spessore è di 80-100-150 Å (Tav. VII); in questo stadio si reperiscono le prime miofibrille dotate di strie Z (Tav. VIII), l'apparato di Golgi è sempre molto sviluppato. I microsomi sono molto numerosi.

A 14 somiti i mioblasti contengono già dei plessi di miofibrille, le quali frequentemente si dividono dicotonicamente in senso longitudinale ad angolo molto acuto. Tutte le miofibrille sono dotate di strie Z, opache ai raggi elettronici. I plasmalemmi presentano frequenti desmosomi (Tav. IX-X).

A 15-16 somiti le miofibrille, fattesi più numerose, palesano una intima architettura molto regolare, gli intervalli fra le strie Z misurano da 1 μ a

1,7 μ ; benché non si siano colte miofibrille tagliate trasversalmente, quelle colpite in sezione obliqua lasciano indovinare una disposizione geometrica uniforme. È presumibile che anche la sostanza interfilamentosa abbia acquisito natura e struttura molecolare piuttosto ben definita e specifica (Tavv. XI e XII). I microsomi sono sempre molto numerosi.

CONCLUSIONI.

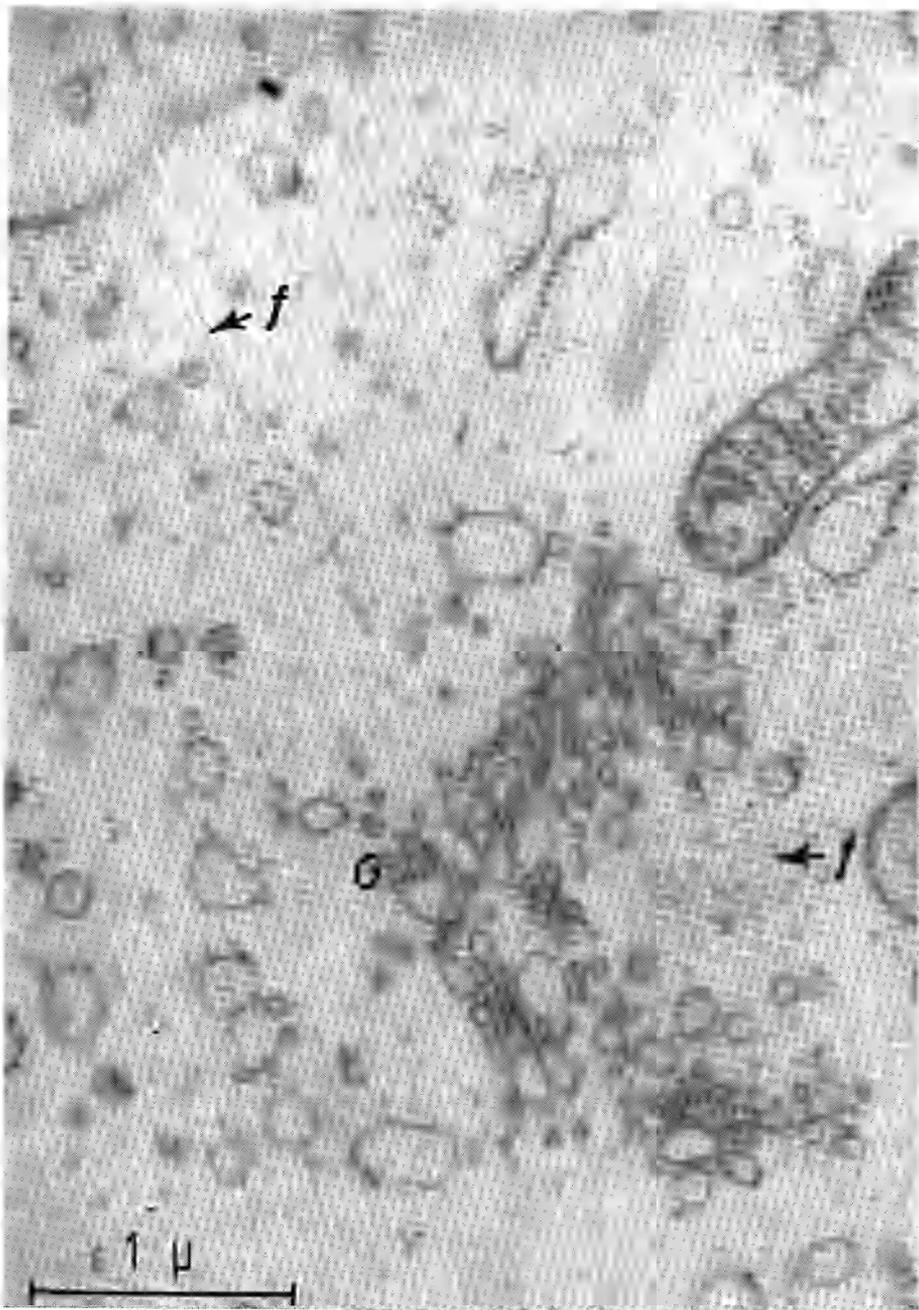
I miofilamenti sono il primo costituente delle future miofibrille morfologicamente dimostrabile al microscopio elettronico. Essi si differenziano in seno alla fase anista del citoplasma senza rapporti topografici con nessun organulo cellulare, non si avvertono segni di duplicazione (contrariamente all'ipotesi teorica di Heidenhain), è probabile che si tratti di ultrafibrille di actina. La loro comparsa inizia allo stadio di 7 somiti e precede di poco l'inizio dell'attività contrattile spontanea. A 11 somiti si addensano sui miofilamenti finissimi granuli che potrebbero essere di miosina. I miofilamenti si fanno rettilinei e si organizzano le prime miofibrille con strie Z. Al momento iniziale dell'attività contrattile nel citoplasma dei mioblasti sono presenti elementi ultramicroscopici di struttura fibrillare.

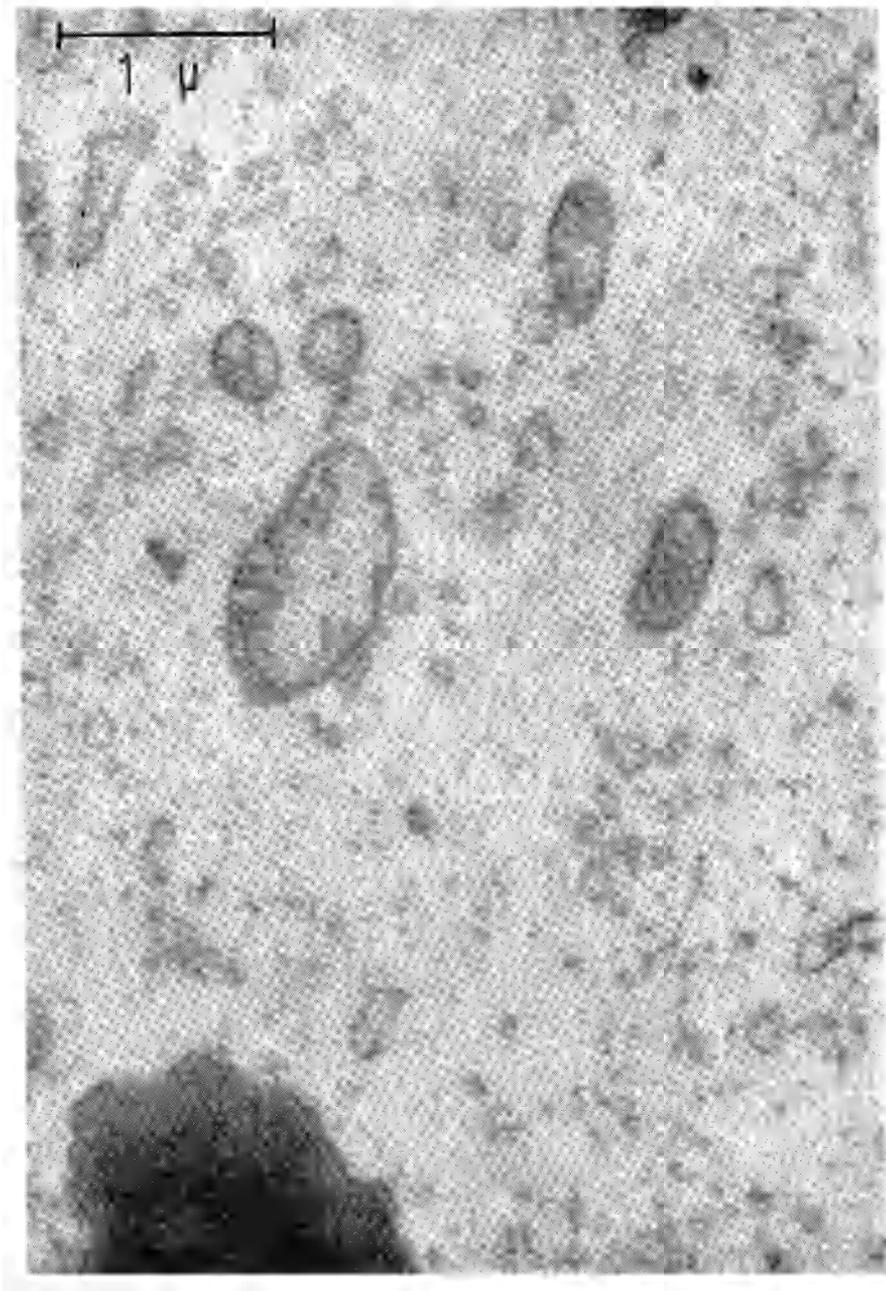
BIBLIOGRAFIA.

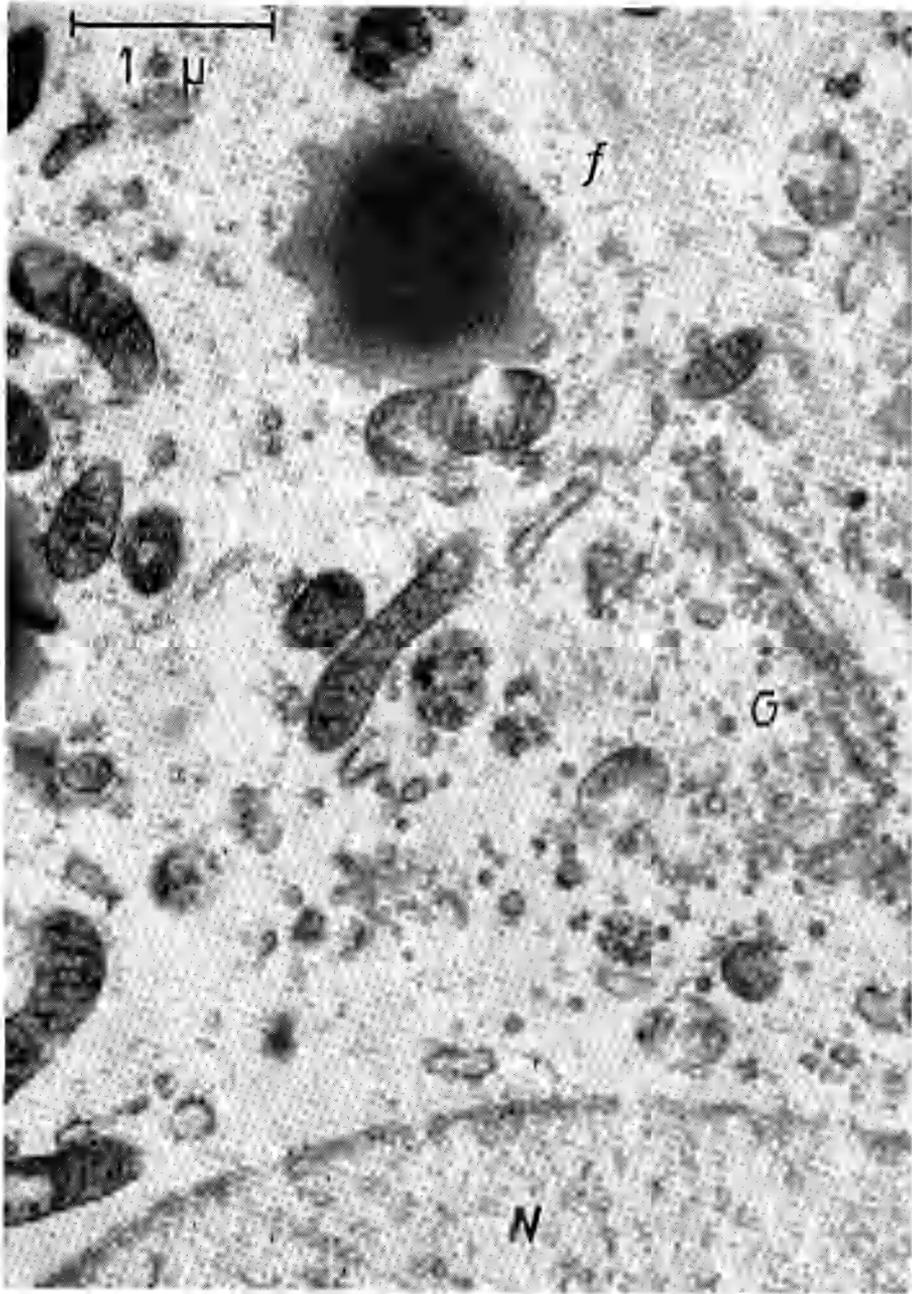
- O. M. OLIVO, *Sull'inizio della capacità funzionale dei tessuti contrattili nell'embrione di pollo, in relazione alla loro differenziazione strutturale e morfologica. - I. Differenziazione strutturale e morfologica dell'abbozzo cardiaco*, « Acc. Naz. Lincei », 33, 209-212 (1924).
 ID., *Sull'inizio della funzione contrattile del cuore e dei miotomi dell'embrione di pollo in rapporto alla loro differenziazione morfologica e strutturale*, « Arch. f. Exper. Zellf. », 1, 427-500 (1925).
 ID., *Birefrangenza e miofibrille nei mioblasti del pollo*, « Boll. Soc. It. Biol. Sper. », 7, 466-468 (1932).

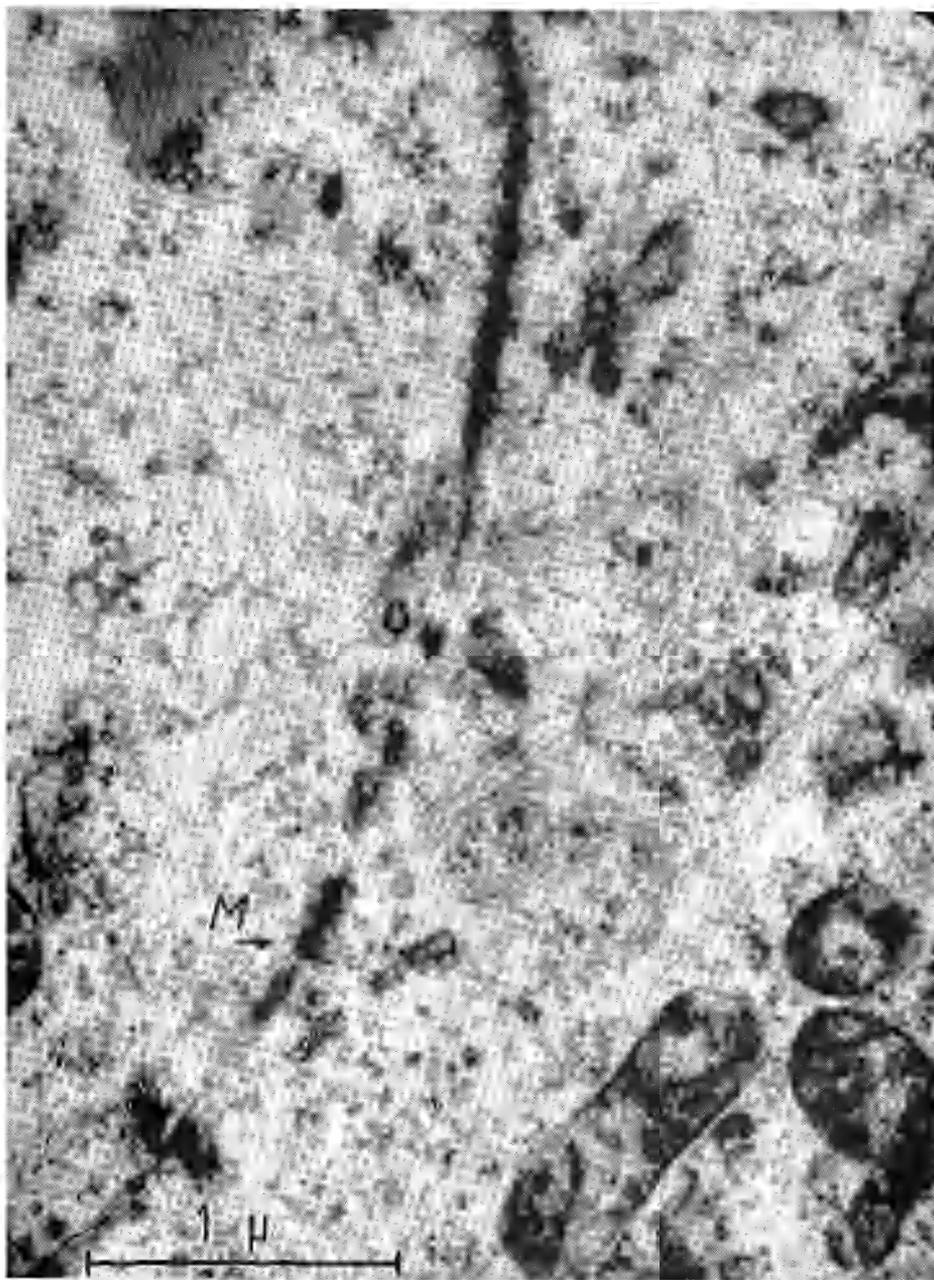
SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-XII

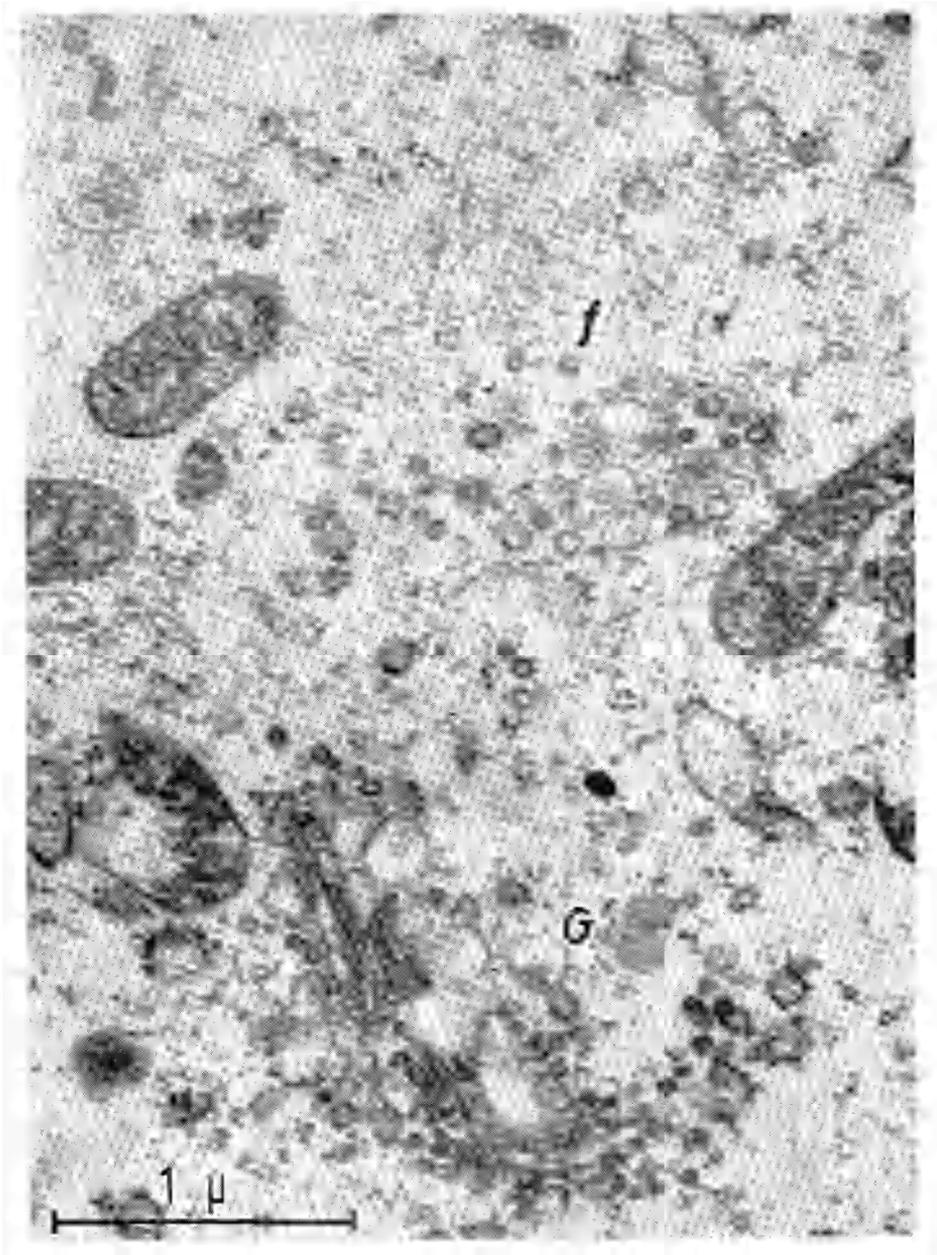
- TAVOLA I. - Mioblasta cardiaco di embrione di pollo di 7 somiti. *f*: miofilamenti; *G*: apparato di Golgi. Ingr. 34.500.
 TAVOLA II. - Lo stesso abbozzo cardiaco della Tav. I. Miofilamenti raccolti in fascetti paralleli. In basso gocciolina di grasso. Ingr. 28.000.
 TAVOLA III. - Mioblasta cardiaco di embrione di pollo di 8 somiti. *f*: miofilamenti raccolti in fascetti ondulati che preludiano la formazione delle miofibrille. *G*: apparato di Golgi; *N*: nucleo. Ingr. 26.000.
 TAVOLA IV. - Lo stesso cuore della Tav. III. *M*: membrana cellulare. Numerosi miofilamenti disposti a plesso. Ingr. 40.000.
 TAVOLA V. - Mioblasta cardiaco di embrione di pollo di 9 somiti. *f*: miofilamenti dispersi; *G*: apparato di Golgi. Ingr. 39.000.



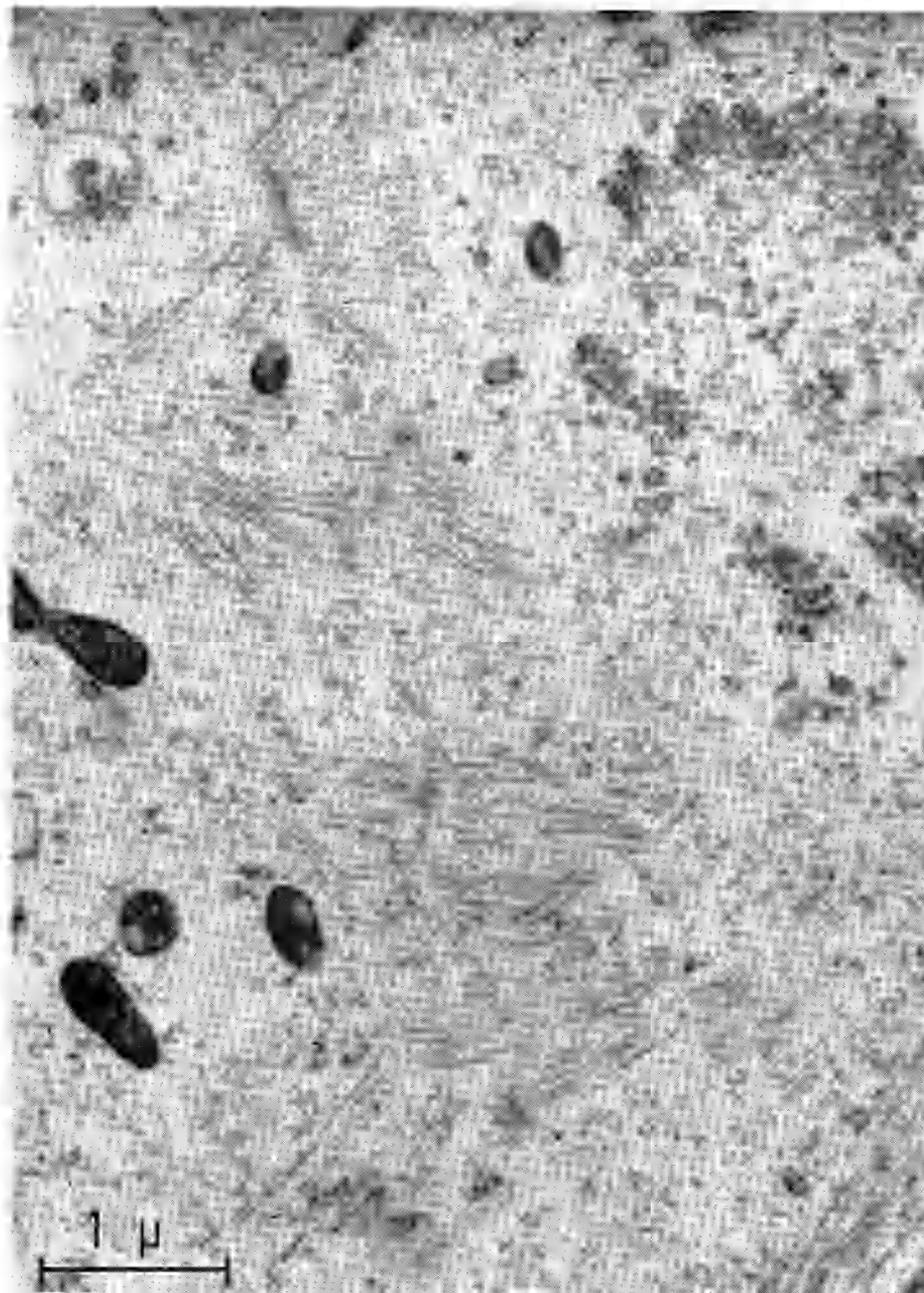


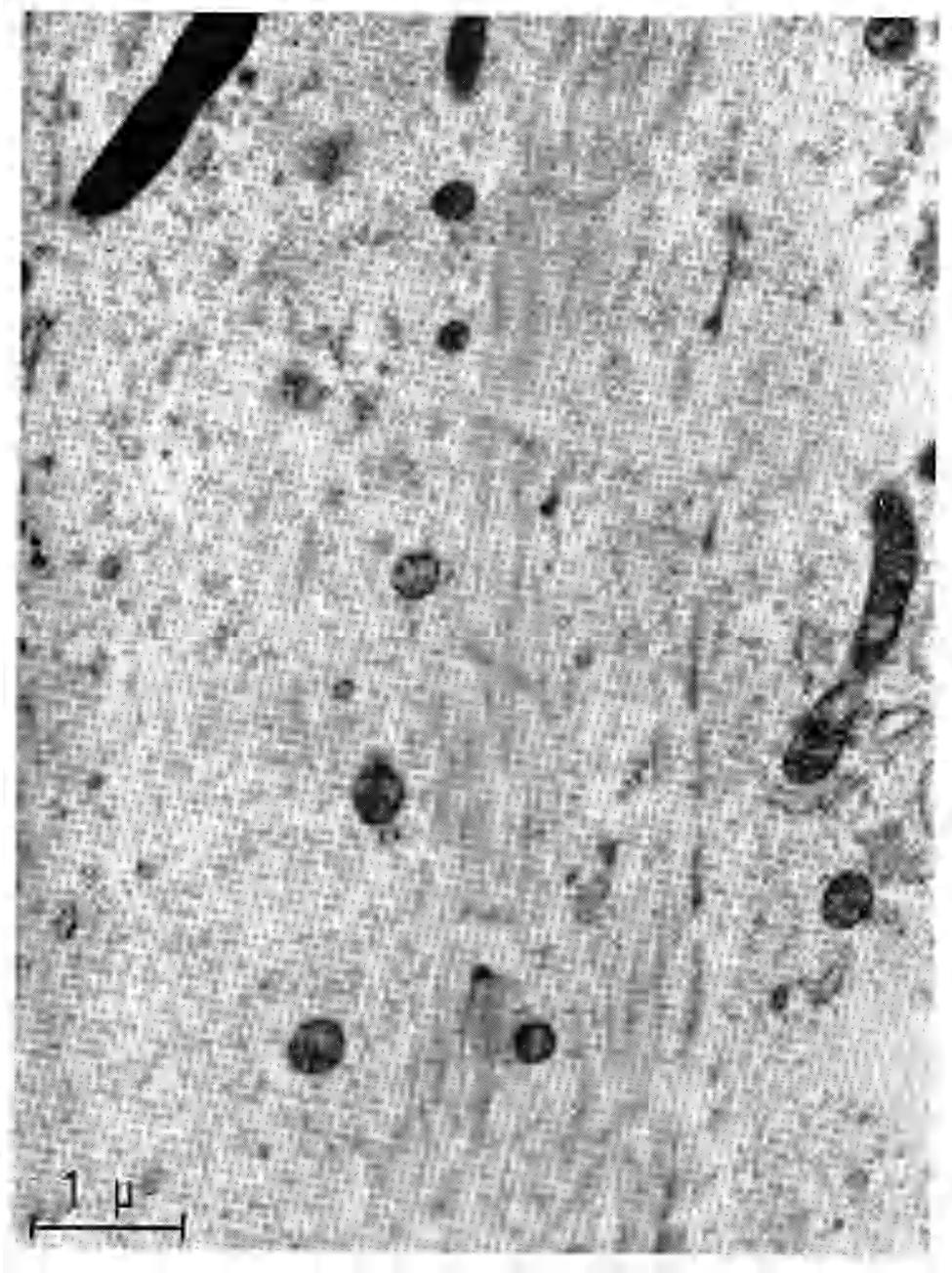


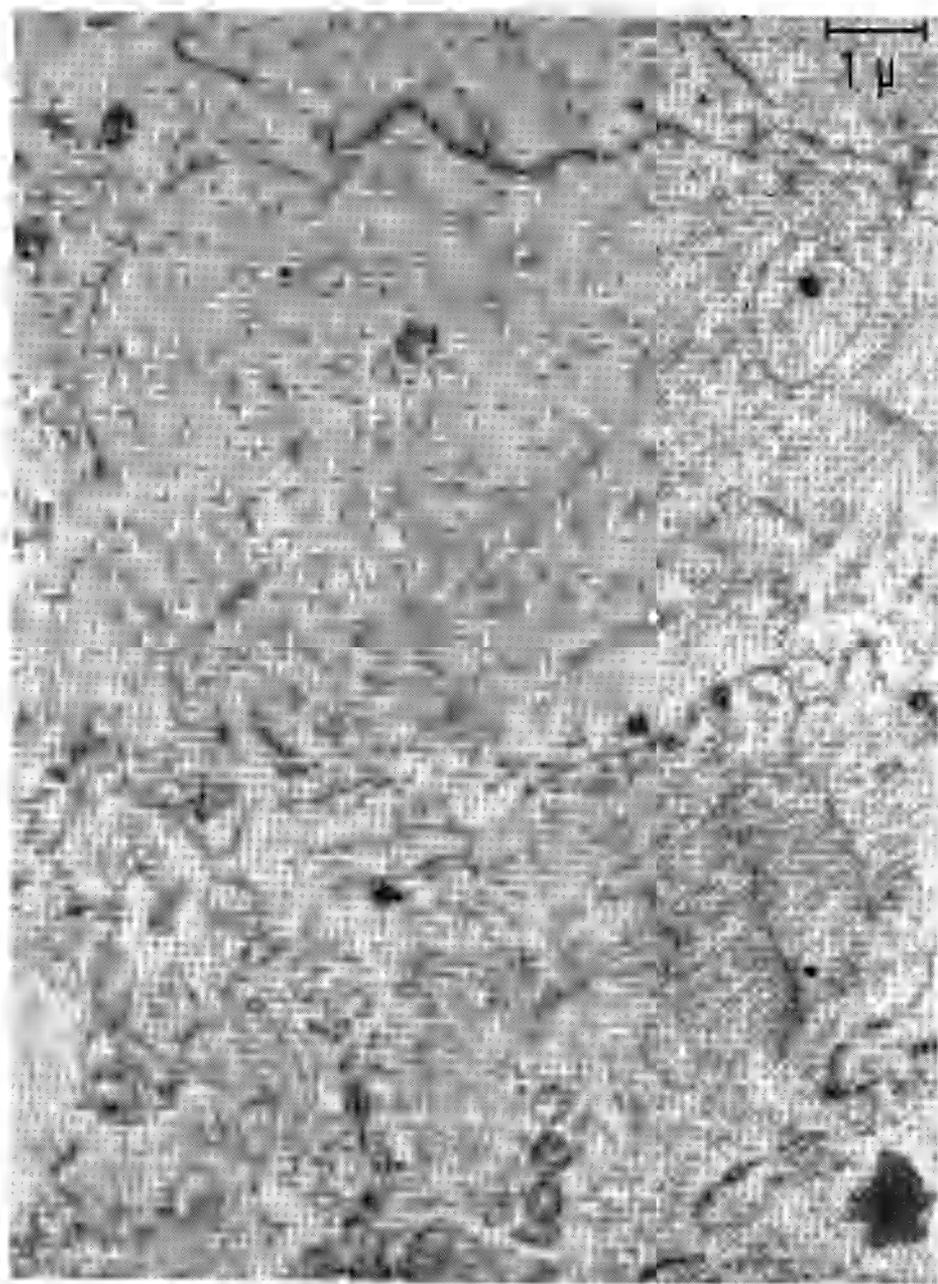


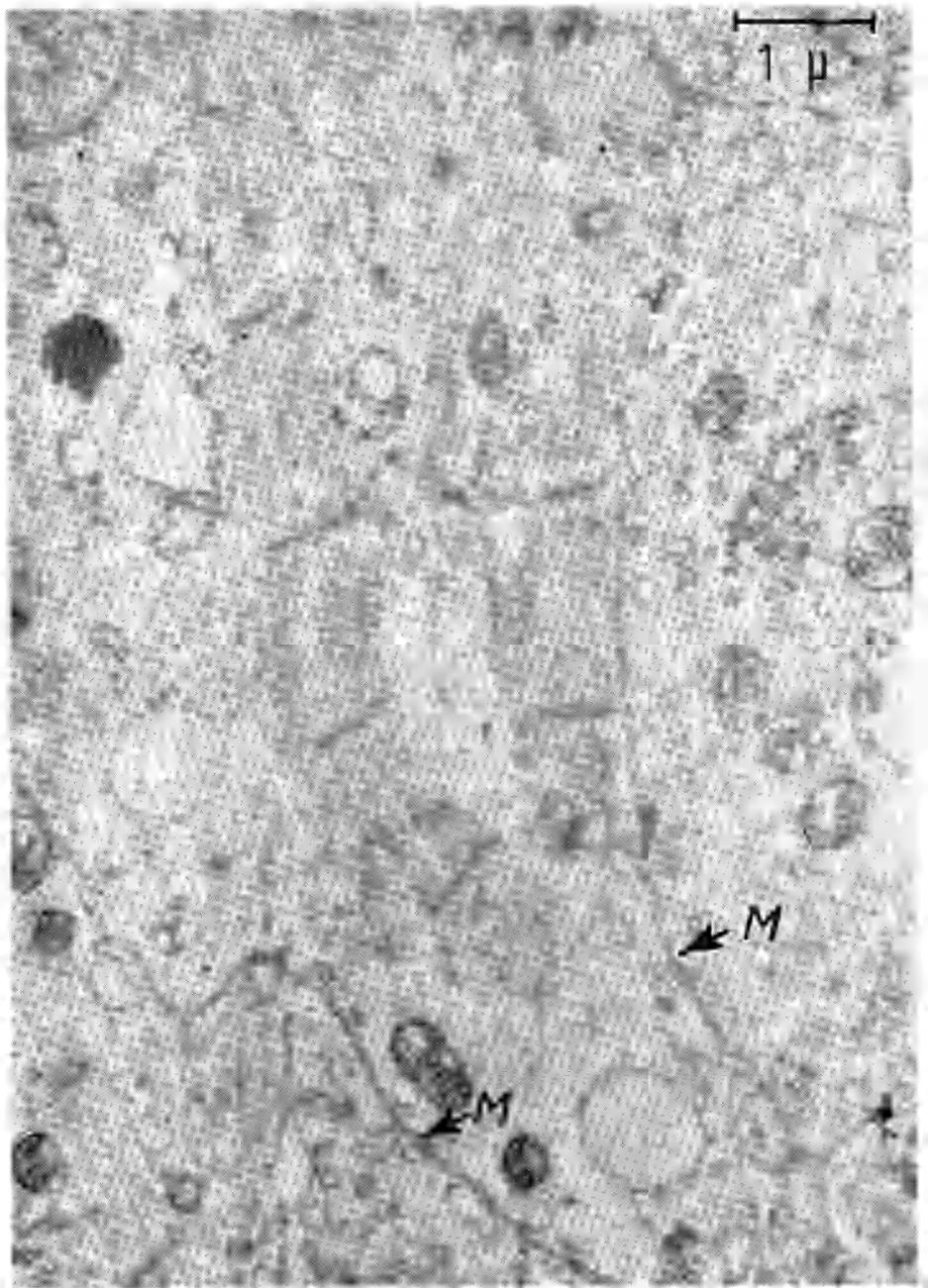


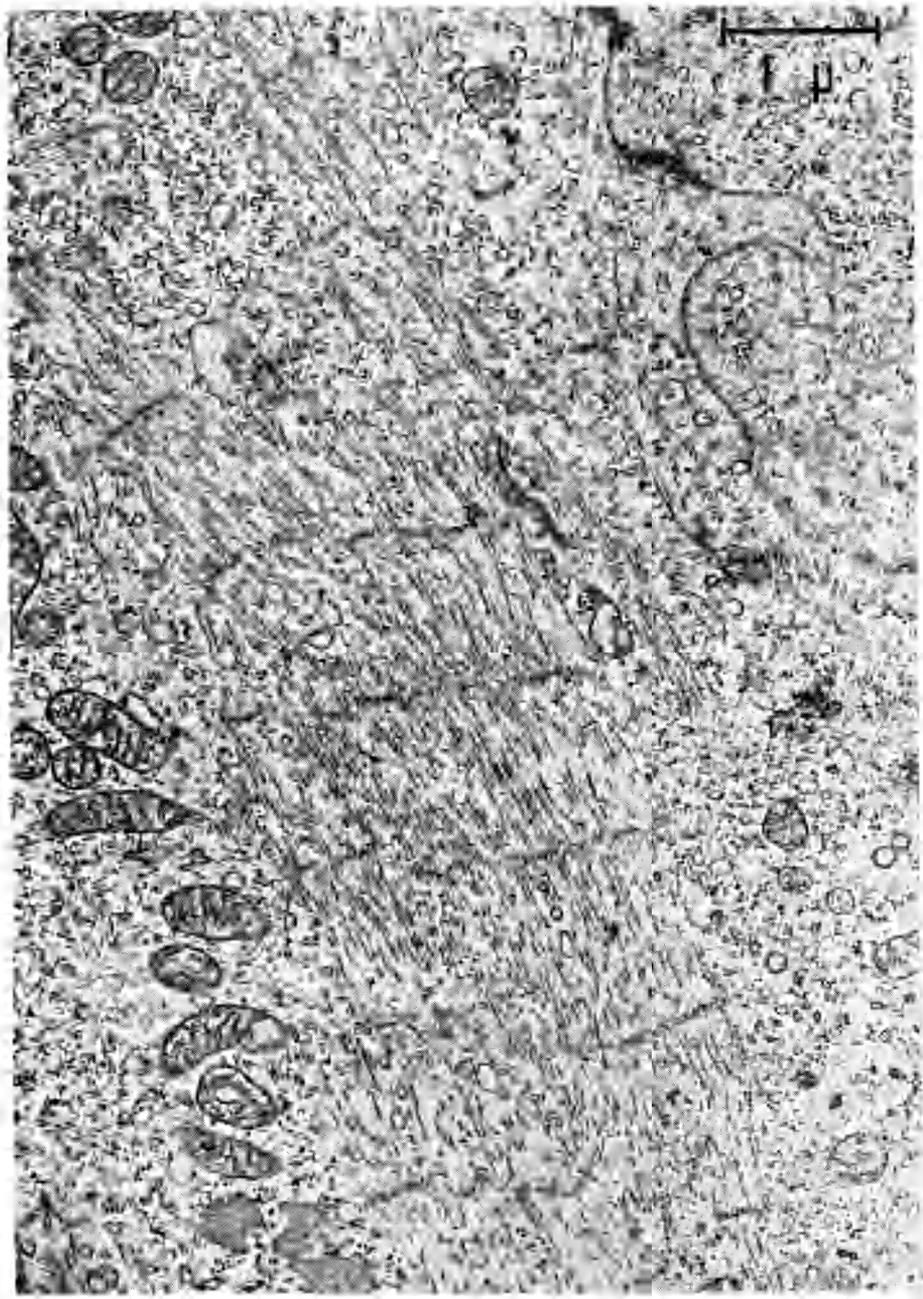


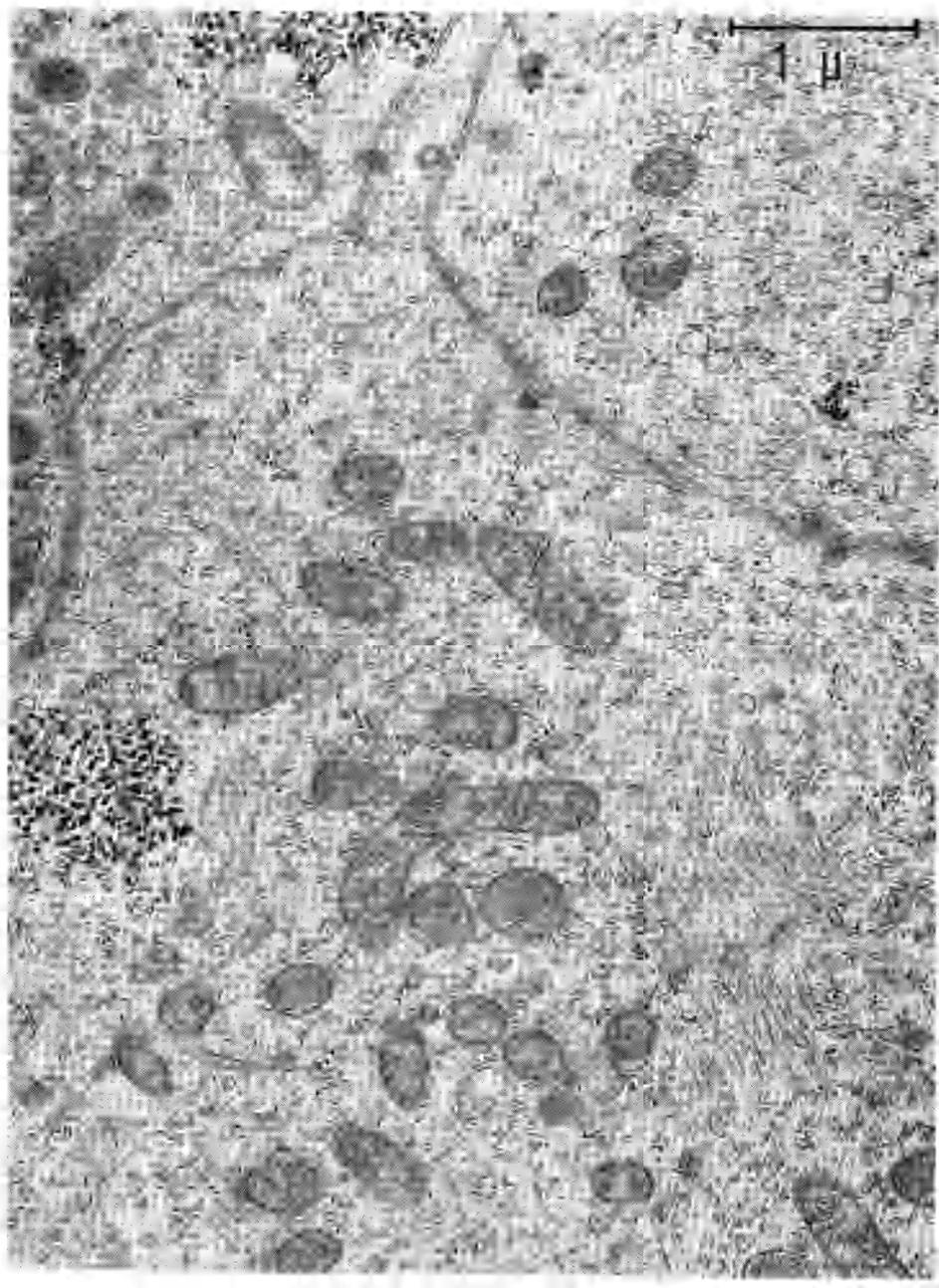












- TAVOLA VI. — Stesso cuore della Tav. V. *N*: nucleo, a sinistra di questo un fascetto di miofilamenti; in basso miofilamenti dispersi. Ingr. 18.000.
- TAVOLA VII. — Mioblasta cardiaco di embrione di 11 somiti, miofilamenti rigidi sui quali aderiscono minute granulazioni. In alto a destra apparato di Golgi. Lungo il decorso dei fasci di miofilamenti delle ombre, forse inizio delle strie Z. Ingr. 24.000.
- TAVOLA VIII. — Stesso cuore della Tav. VII. Miofibrilla con strie Z. A destra di questa membrana cellulare con numerosi pori. Ingr. 18.000.
- TAVOLA IX. — Mioblasti di embrione allo stadio di 14 somiti, plesso di miofibrille con strie Z. Ingr. 12.000.
- TAVOLA X. — Lo stesso cuore della Tav. IX. *M*: membrane cellulari, miofibrille con strie Z. Ingr. 18.000.
- TAVOLA XI. — Mioblasta di embrione di pollo allo stadio di 15-16 somiti. Miofibrilla con strie Z e miofilamenti ispessiti. A destra in alto membrana cellulare con plasma desmi. Ingr. 19.500 Microsomi molto numerosi.
- TAVOLA XII. — Stesso cuore della Tav. XI. Miofibrille sezionate obliquamente con disposizione regolare dei miofilamenti. A sinistra e in alto forse depositi di glicogene. Ingr. 24.000.