

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

HARRY MANELLI, BEATRICE TANNO

## Primi risultati di trapianti corio-allantoidei di area vascolare periferica dell'embrione di pollo

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 42 (1967), n.3, p. 439–441.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1967\\_8\\_42\\_3\\_439\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_3_439_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/>



**Biologia.** — *Primi risultati di trapianti corio-allantoidei di area vascolare periferica dell'embrione di pollo* <sup>(\*)</sup>. Nota di HARRY MANELLI e BEATRICE TANNO, presentata <sup>(\*\*)</sup> dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — In this note the AA. discuss the first results obtained in carrying out three series of chorion-allantoic transplantations of small pieces of extraembryonic area, including the terminal or peripheric sinus of chick embryos at 2-3-4 days of development. The overall age of transplantations varies from a minimum of 3 days to a maximum of 12 days. The transplanted extraembryonic area, including the marginal sinus, presents blood cell elements corresponding to the main stages of development of first generation erythrocytes described in the literature. Moreover it always shows young proerythroblastlike elements—observed in the same marginal area, in control embryos too—which give evidence of an hematopoietic activity of this area.

Fra i numerosi punti tuttora oscuri dell'ematopoiesi embrionale negli Uccelli, uno riguarda le cosiddette due generazioni di eritrociti: infatti, se è noto e dimostrato che i primi elementi circolanti derivano dagli isolotti di Wolff, non si conosce con precisione l'origine degli elementi della seconda generazione (quella che compare in circolo verso il 4<sup>o</sup>-5<sup>o</sup> giorno di incubazione) né se alcuni centri o aree del blastema sanguigno primitivo possano funzionare come centri di una ematopoiesi prolungata e successiva, né infine i fattori che attivano questi focolai eritropoietici secondari. Lo studio di tale problema è stato già impostato, da uno di noi con altri collaboratori [1] dal punto di vista sperimentale, mediante la tecnica delle colture *in vitro* organotipiche su aree vascolari di diversa età; tuttavia non si è ancora riusciti a ottenere, in condizioni sperimentali, una tipica eritropoiesi della II generazione. Le ricerche in questo senso sono in pieno svolgimento, ma accanto alla tecnica delle colture *in vitro* (con l'impiego di svariati fattori chimici) abbiamo voluto sperimentare anche un tipo di tecnica del tutto differente come impostazione teorica; una tecnica cioè che isoli l'area in studio ma non impedisca l'apporto all'espianto di fattori eventuali presenti nel circolo embrionale, ossia quella dei trapianti corio-allantoidei.

Nella presente Nota vogliamo riportare i primi risultati concreti ottenuti, che illustrano le possibilità offerte da questa metodologia nello studio di diversi problemi del differenziamento del sangue, come ad esempio quello, ancora del tutto sconosciuto, del passaggio dalla sintesi dell'emoglobina fetale a quella adulta.

Si ammette in genere che la sede dell'eritropoiesi secondaria sia il seno periferico o terminale e le zone estreme del reticolo vascolare vitellino [2],

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia dell'Università di Roma, diretto dal prof. P. Pasquini, nell'ambito del Gruppo di ricerca per l'Embriologia del C.N.R. per lo studio del differenziamento.

(\*\*) Nella seduta dell'11 marzo 1967.

non si conosce però per nulla il momento preciso in cui inizia questa eritropoiesi secondaria (cui seguirà poi quella terziaria nei focolai ematopoietici transitori, come per esempio la milza, e definitivi, come il midollo osseo), né quanto questa duri, né la qualità di emoglobina da questa sintetizzata.

Ai fini di un risultato positivo delle presenti esperienze, nell'ambito del problema delineato, occorre che i trapianti corio-allantoidei delle aree embrionali soddisfino le seguenti esigenze:

1° che non contraggano ovviamente rapporti diretti di continuità col torrente circolatorio dell'embrione ospite;

2° che si formino lacune sanguigne ben delimitate;

3° che gli elementi in queste contenute siano in condizioni ottimali di differenziamento morfologico e biochimico.

Ci sembra che tutt'e tre queste esigenze siano state realizzate negli esperimenti preliminari qui descritti.

\* \* \*

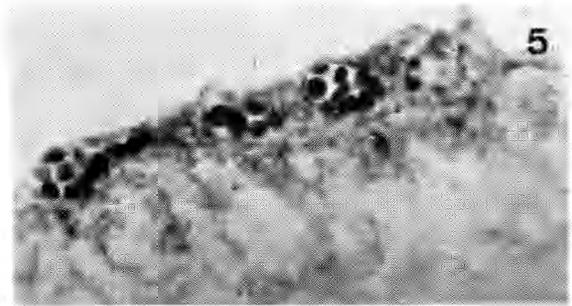
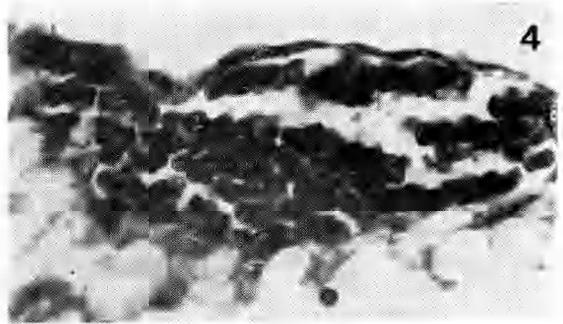
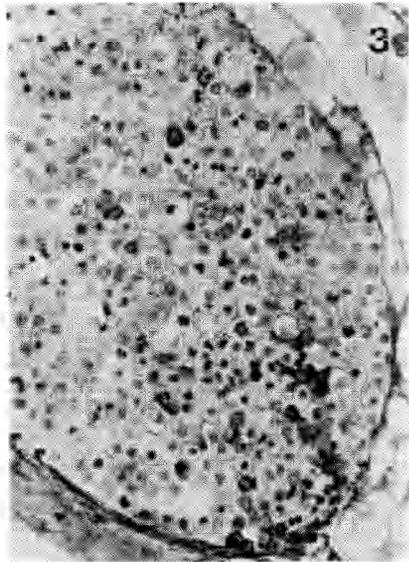
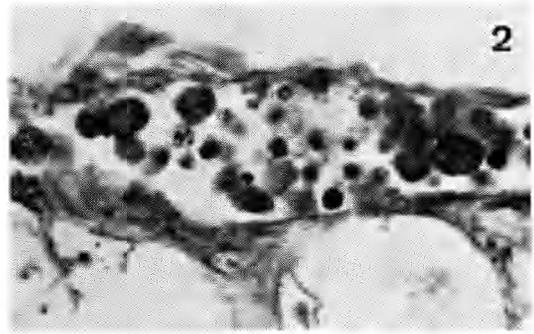
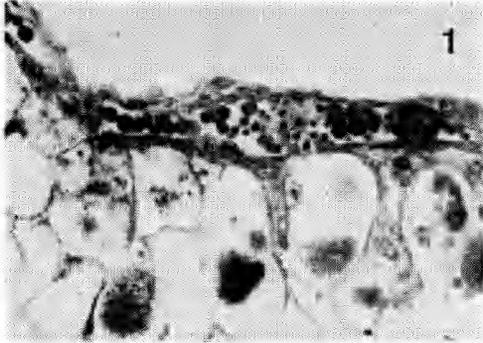
Le ricerche sono state condotte su uova di pollo (razza Livorno bianca), incubate a 37,5° C. Sono state fatte tre serie di trapianti, in cui l'età dell'ospite era sempre di 7 giorni di incubazione, e il donatore rispettivamente di 2, 3 e 4 giorni di incubazione. Negli embrioni ospiti, a due giorni di incubazione, veniva aspirata una piccola quantità di albume, per facilitare l'apertura del guscio a 7 giorni, stadio in cui veniva eseguito il trapianto. Il pezzo di area periferica contenente il seno periferico e piccole porzioni di area vitellina ad esso adiacente, accuratamente lavato in soluzione di Tyrode sterile, veniva adagiato sulla membrana corio-allantoidea, in zone distanti dai vasi principali, in modo che l'espianto non fosse a contatto diretto coi medesimi; la finestra del guscio veniva quindi chiusa con dischetti di mica attaccati al guscio stesso con paraffina.

Nelle tre serie di esperimenti i trapianti sono stati coltivati sull'allantocorion da un minimo di 1 giorno a un massimo di 8 giorni, in modo che quelli trapiantati a due giorni di incubazione raggiungessero un massimo di 10 giorni, quelli di 3 giorni un massimo di 11 e quelli di 4 un massimo di 12 giorni. I trapianti furono fissati in liquido di Helly o di Carnoy, inclusi in paraffina, sezionati in fette seriali di 6-7 micron e infine colorati col metodo Giemsa, May Grünwald-Giemsa o Dominici.

\* \* \*

Soltanto il 65 % dei trapianti eseguiti, di tutt'e tre le serie, è sopravvissuto; la più alta mortalità si è avuta nella serie in cui l'espianto proveniva da embrioni di 4 giorni di incubazione.

I trapianti presentano un aspetto vescicoloso, spesso senza aver contratto alcun rapporto con il corio-allantoide. All'esame microscopico i trapianti si presentano costituiti da una o più lacune sanguigne, contenenti elementi sanguigni a vari stadi di differenziamento morfologico, e con parete propria costituita da un tipico endotelio vasale, circondata in parte da cellule vitelline





endodermiche (Tav. I, figg. 1, 2, 3). L'aspetto degli elementi sanguigni contenuti è quello tipico di età corrispondente.

Quello che però importa maggiormente di segnalare è la presenza, nelle lacune differenziate, di diversi elementi sanguigni altamente immaturi, che dimostrano una eritropoiesi attiva nei trapianti. Tali cellule, che spiccano (ved. Tav. I, figg. 1, 2, 3) nella popolazione di cellule delle lacune per il loro citoplasma fortemente basofilo, e per il nucleo grande vescicoloso contenente uno o due nucleoli assai appariscenti, corrispondono morfologicamente a quelli che sezioni di seno periferico e vasi adiacenti mettono in evidenza in embrioni controllo, e che testimoniano una neoproduzione di elementi sanguigni (con modalità però del tutto sconosciute) in queste località (Tav. I, figg. 4, 5).

Non abbiamo sinora eseguito strisci degli elementi di queste lacune, per cui non possiamo dare ragguagli precisi sopra la loro struttura e in conseguenza sopra la loro appartenenza alla I<sup>a</sup> o ad ambedue le generazioni di eritrociti, né abbiamo ancora eseguito preparazioni dell'emoglobina dei trapianti per lo studio elettroforetico.

Scopo della presente Nota era solo quello di illustrare le possibilità offerte da questa tecnica dei trapianti corio-allantoidei, e ci sembra che i risultati siano positivi, specie per quanto concerne differenziamento e processi eritropoietici delle aree trapiantate.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] MANELLI H., *Osservazioni sulle colture in vitro del blastema ematico dell'embrione di pollo*, « Ric. Sci. », 33 (II-B), 493-498 (1963); RAUNICH L., MANELLI H., MASTROLIA L. e GARDENGI G., *Citodifferenziamento in vitro degli elementi sanguigni dell'area vascolare dell'embrione di pollo*, « Arch. Zool. It. », LI, 25-45 (1966); MANELLI H., RAUNICH L., MASTROLIA L., GARDENGI G. e CALLEGARINI C., *Cell and hemoglobin differentiation in explants of the area vasculosa in the chick embryo*, « Acta Embryol. Morph. Exper. » 9, 169-186 (1966).
- [2] ROMANOFF A. L., *The Avian Embryo*, Macmillan, New York 1960.

#### SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Sezione di un trapianto di 7 giorni complessivi (4 giorni di coltura); nel vaso sono ben visibili elementi giovanili proeritroblastosimili (Giemsa - 335 ×).
- Fig. 2. - Particolare della foto precedente; si osservano anche alcune mitosi (Giemsa - 884 ×).
- Fig. 3. - Sezione di trapianto di 8 giorni complessivi (6 giorni di coltura); grossa lacuna ripiena di cellule sanguigne, prevalgono di gran lunga gli eritrociti maturi, fra i quali si rinvencono però anche elementi giovanili proeritroblastosimili. (Giemsa - 350 ×).
- Fig. 4. - Sezione di area extraembrionale, contenente il seno terminale di un embrione controllo di 5 giorni; si osservano in questa zona molti elementi giovanili del tutto simili a quelli dei trapianti. (Giemsa - 335 ×).
- Fig. 5. - Sezione dell'area extraembrionale periferica di un embrione controllo di 7 giorni; anche in questo caso gli elementi giovanili indifferenziati sono numerosi e localizzati nel seno terminale come è dimostrato dalla presenza dell'adiacente entoderma vitellino. (Giemsa - 335 ×).