

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

GERMANO SALVATORELLI, ANNA MARIA GULINATI

**L'effetto eritropoietico del fegato di diversa età su  
culture organotipiche di midollo osseo embrionale d  
ipollo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 43 (1967), n.3-4, p.  
242-245.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1967\\_8\\_43\\_3-4\\_242\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_43_3-4_242_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/>

**Embriologia sperimentale.** — *L'effetto eritropoietico del fegato di diversa età su culture organotipiche di midollo osseo embrionale di pollo* (\*). Nota (\*\*) di GERMANO SALVATORELLI e ANNA MARIA GULINATI, presentata dal Corrisp. P. PASQUINI.

SUMMARY. — The erythropoietic effect of liver in organotypic explants of marrow in the chick is not limited to the foetal period, but extends through all the life span of the chick. Foetal liver seems to be much more active than that of adults.

Espianti organotipici di midollo osseo di feti di pollo di 19 giorni di incubazione mantengono, *in vitro*, una attiva eritropoiesi solo se associati a frammenti di fegato di embrioni di pollo di 8-9 giorni di incubazione (Salvatorelli, 1966 [1], 1967 [2]). Infatti in espanti di midollo solo, ovvero associato a frammenti di organi diversi (per esempio, mesorene), l'eritropoiesi si arresta quasi bruscamente. Lo stesso fenomeno si manifesta anche su altri organi ematopoietici embrionali, come la milza (Salvatorelli e Gulinati 1967 [3]).

Questo fatto si può interpretare ammettendo che il fegato embrionale del pollo sia sede di produzione di un fattore eritropoietico, ad azione eritropoietinosimile.

Tale ipotesi è anche avvalorata dal fatto che estratti acellulari di fegato embrionale mantengono *in vitro* l'attività eritropoietica del midollo osseo (Salvatorelli, 1967 [4]).

Questa eventuale produzione, da parte del fegato embrionale di pollo, di sostanze eritropoietinosimili, è un fatto nuovo, e in conseguenza non si sa se ciò sia solo un fenomeno transitorio, peculiare di un breve periodo embrionale (fase coincidente con la sintesi dell'emoglobina di tipo adulto; vedi Raunich, Callegarini e Cucchi, 1966 [5], Manwell, Baker e Bets, 1966 [6]), o se invece sia una funzione che una volta instauratasi si conservi per tutta la vita individuale; se quest'ultima ipotesi si dimostrasse esatta, la produzione di ormoni eritropoietici si realizzerebbe con modalità diverse nel pollo da quanto si verifica nei Mammiferi, dove l'eritropoietina (oggi già chimicamente identificata) verrebbe prodotta invece nel rene.

Ci è apparso pertanto di notevole importanza un confronto dell'attività eritropoietica del fegato di embrioni e di feti di pollo di varia età (da 4 giorni di incubazione fino alla schiusa), nonché di pulcini di 9 e 30 giorni di età, e di un pollo adulto di un anno. Nella presente nota vogliamo esporre i risultati sinora conseguiti su tale argomento.

(\*) Lavoro eseguito con un contributo del C.N.R. nell'ambito del Gruppo di Ricerca per l'Embriologia del C.N.R.

Istituto di Anatomia Comparata dell'Università di Ferrara, Direttore prof. Leo Raunich.

(\*\*) Pervenuta all'Accademia il 2 settembre 1967.

## MATERIALE E TECNICA.

Gli esperimenti sono stati impostati nel senso di sottoporre, in cultura organotipica, sempre il medesimo tipo di midollo osseo (di feti di 19 giorni di incubazione, e che rispondono con una attiva eritropoiesi all'azione del fegato embrionale di 8 giorni di incubazione) all'azione di frammenti di fegato di embrioni di: 5, 6, 9, 11, 16, 18 giorni di incubazione, 9 giorni, 30 giorni ed un anno dopo la schiusa.

Per la tecnica degli espianti rimandiamo ai lavori di Salvatorelli, 1966 e 1967 [2]. I tempi di cultura sono di 4, 5, 7, 8 e 10 giorni.

Come criterio per la valutazione dell'effetto eritropoietico è stato assunto quello della ricerca e del conteggio degli elementi eritroidi immaturi (proeritroblasti ed eritroblasti basofili) in strisci di espianti coltivati per almeno 4 giorni; nel midollo coltivato da solo non esiste dopo 4 giorni di cultura, nessun elemento immaturo della serie rossa.

## RISULTATI.

Nello sviluppo embrionale del pollo il primo abbozzo epatico si riscontra alla fine del 2° giorno di incubazione, e consiste in una evaginazione del bordo anteriore dell'ombelico intestinale entro un sottile strato di mesenchima disposto intorno al seno venoso. Questo diverticolo ben presto si biforca in uno cranio-dorsale e uno ventre-caudale, che si accrescono e proliferano, al 3° e 4° giorno di incubazione, anastomizzandosi e costituendo una guaina cilindrica di tessuto epatico a contatto con il seno venoso (vedi Le Douarin, 1964) [7].

Lo stadio più giovane da cui è stato possibile isolare anatomicamente il fegato è quello di 5 giorni di incubazione.

Nella Tabella I sono riportate le percentuali degli elementi immaturi della serie rossa (proeritroblasti ed eritroblasti basofili) rapportati al numero totale degli elementi conteggiati negli strisci degli espianti sinora eseguiti; nell'ultima colonna è riportato anche il numero delle mitosi riscontrate. La fig. 1 illustra ancora meglio i risultati conseguiti.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.

Benché i risultati ora esposti siano ancora assai incompleti specie se consideriamo il grandissimo interesse del problema trattato, alcune conclusioni si possono pur tuttavia trarre.

La prima è quella che l'azione eritropoietica del fegato in espianti organotipici di midollo non è legata a un determinato stadio circoscritto dello sviluppo embrionale, ma si estende a tutto il periodo prenatale; si può dire che praticamente il fegato manifesta attività eritropoietica sin dal momento in cui si è differenziato e la conserva per tutta la vita.

TABELLA I.

Età del fegato associato al midollo osseo	Emocit.	Pro. Er.	Er. Bas.	Er. Pol.	Mitosi	
5 g. inc. . . . .	0,13	0,30	0,33	0,53	0,10	4 g. cultura
6 g. inc. . . . .	0,06	0,23	0,30	1,10	0,03	4 g. cultura
9 g. inc. . . . .	0,03	0,20	0,60	0,90	0,30	4 g. cultura
	0,30	1,30	3,5	3,30	—	5 g. cultura
	0,27	0,57	2,90	1,30	0,26	15 g. cultura
11 g. inc. . . . .	0,03	0,16	0,80	2,20	0,01	4 g. cultura
16 g. inc. . . . .	0,25	0,70	1,50	4,35	0,25	4 g. cultura
	—	—	0,36	1,16	—	8 g. cultura
	0,03	—	0,06	1,13	0,06	10 g. cultura
18 g. inc. . . . .	0,01	0,11	0,33	1,11	0,03	4 g. cultura
	—	—	0,01	0,1	—	7 g. cultura
SCHIUSA						
9 g. . . . .	—	—	0,06	0,16	—	5 g. cultura
	0,03	—	—	0,16	0,1	8 g. cultura
30 g. . . . .	—	0,06	0,06	0,46	0,03	4 g. cultura
	—	—	—	0,16	—	7 g. cultura
1 anno . . . . .	—	—	—	0,13	0,03	4 g. cultura
	—	—	—	0,16	—	6 g. cultura

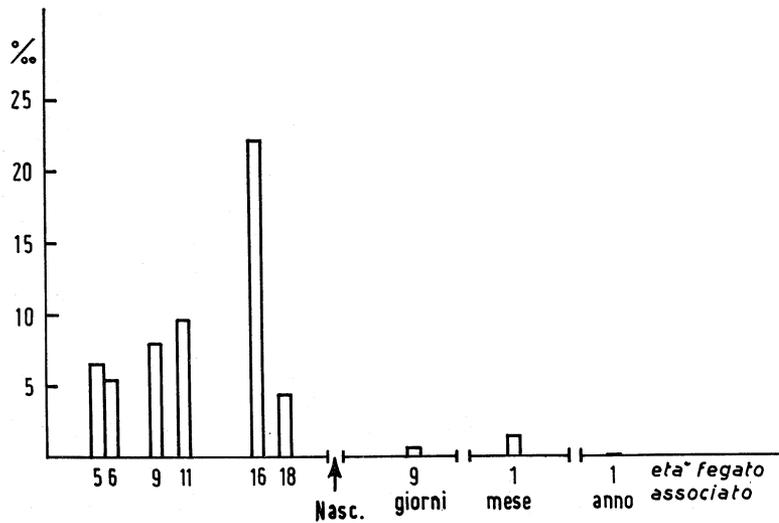


Fig. 1. - Percentuale di elementi immaturi (proeritroblasti + eritroblasti basofili) in espianti di midollo di 19 giorni di incubazione associato a fegato di varia età. In ascisse l'età del donatore del fegato, in ordinate il numero, rapportato a 1000 elementi conteggiati, di elementi immaturi della serie rossa.

La seconda è quella che dopo lo sgusciamento il fegato manifesta un'azione eritropoietica assai più tenue rispetto al fegato del periodo embrionale e fetale. Benché il metodo, da noi impiegato, del conteggio degli eritroblasti basofili e proeritroblasti negli strisci sia piuttosto poco preciso, in quanto molti fattori tecnici possono influire sul risultato del conteggio, purtuttavia le differenze sono talmente pronunciate da non essere attribuibili a un evento casuale.

Non disponiamo ancora di dati sufficienti sopra la regolazione, negli Uccelli, dell'eritropoiesi; recenti ricerche dimostrerebbero che il controllo dell'eritropoiesi appare simile a quello dimostrato per i Mammiferi, con la mediazione di un fattore umorale, diverso però da quello dei Mammiferi [8]. Con lo sgusciamento cambiano, negli Uccelli, le condizioni respiratorie e di ossigenazione dei tessuti, per cui non è da escludere a priori una certa relazione fra il calo dell'attività eritropoietica del fegato e le condizioni respiratorie del neonato e dell'adulto.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] G. SALVATORELLI, *Observations sur l'hématopoïèse in vitro dans la moelle osseuse embryonnaire de Poulet*, «C. R. Acad. Sci. Paris», 262, 666-668 (1966).
- [2] G. SALVATORELLI, *L'influence favorable de foie embryonnaire sur l'hématopoïèse in vitro dans la moelle osseuse de l'embryon de poulet*, «J. Embryol. Exp. Morph.», 17, 359-365 (1967).
- [3] G. SALVATORELLI e A. M. GULINATI, *Osservazioni sulla eritropoiesi in cultura organotipica di milza embrionale di pollo*, «Rend. Accad. Naz. Lincei», Serie VIII, 42, 447-451 (1967).
- [4] G. SALVATORELLI, *Action des extraits de levure et de foie sur l'erythropoïèse medullaire in vitro*, «C. R. Acad. Sci. Paris», 264, 344-347 (1967).
- [5] L. RAUNICH, C. CALLEGARINI e C. CUCCHI, *Ricerche sopra le emoglobine elettroforeticamente lente durante lo sviluppo embrionale del pollo*, «Ric. Sci.», 36, 203-206 (1966).
- [6] C. MANWELL, C. M. A. BAKER e T. W. BETZ, *Ontogeny of haemoglobin in the chicken*, «J. Embryol. Exp. Morph.», 16, 65-81 (1966).
- [7] N. LE DOUARIN, *Etude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif et du foie chez l'embryon de poulet*, «Bull. Biol. France-Belgique», 98, 543-676 (1964).
- [8] W. F. ROSSE e T. A. WALDMANN, *Factors controlling erythropoiesis in Birds*, «Blood», 27, 654-661 (1966).