
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

HARRY MANELLI, CARLO CALLEGARINI

Le emoglobine sintetizzate in colture organotipiche di area vascolare embrionale di pollo associata o non a fegato embrionale

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.1-2, p.
107–109.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_1-2_107_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. — *Le emoglobine sintetizzate in colture organotipiche di area vascolare embrionale di pollo associata o non a fegato embrionale*^(*).
Nota ^(**) di HARRY MANELLI e CARLO CALLEGARINI, presentata dal
CorrISP. P. PASQUINI.

SUMMARY. — In organotypic culture the association has been realized between vascular area pieces of 5, 6, 7 days chick embryos, with embryonic liver fragments of 12, 13, 14 days chick embryos also. The electrophoretic analysis of the haemolyzates of the three explant types has shown that there are no valid differences between the haemoglobins present in explants, with and without liver, and those present in the controls of the same age. That would demonstrate that if the vascular area is erithropoietically active after the fourth day of incubation, the haemoglobin formed is of the definitive type.

Da precedenti ricerche (Manelli, 1963; Raunich e Manelli, 1965 a, b; Raunich, Manelli, Mastrolia e Gardenghi, 1966; Manelli, Raunich, Mastrolia, Gardenghi e Callegarini, 1966) è risultato che espianti di area vascolare di embrioni di pollo di 22, 48, 72, 100 ore di incubazione, coltivati fino ad un massimo di 6 giorni, sono capaci di differenziare soltanto le emoglobine elettroforeticamente meno veloci, corrispondenti cioè a quelle di tipo fetale (secondo la terminologia di Manwell, Baker e Betz, 1966). Inoltre si è potuto dimostrare che l'associazione in coltura organotipica del fegato embrionale di pollo, il quale, come è noto, mantiene attiva *in vitro* l'eritropoiesi midollare (Salvatorelli, 1966 e 1967) con espianti di area vascolare di embrioni di 22, 48 e 72 ore, favorisce la conservazione dell'emoglobina già prodotta senza però influire sulla sua qualità (Manelli e Callegarini, 1967).

Per completare il quadro dell'eritropoiesi *in vitro*, con particolare riguardo alle emoglobine sintetizzate, abbiamo voluto estendere lo studio a espianti di area vascolare di età più avanzata, e cioè di embrioni di 5, 6, 7 giorni di incubazione. È ovvio che si tratta ancora del problema non risolto dell'origine degli elementi della 2^a generazione e della qualità della emoglobina (embrionale e adulta) legata a questi: se infatti nel sacco vitellino prosegue l'eritropoiesi e se, come prospettato, questa produce soltanto elementi embrionali, anche l'emoglobina sintetizzata in espianti di sacco vitellino dovrebbe avere qualità diverse da quella circolante nell'embrione vero e proprio.

Ad un certo numero di espianti è stato anche associato il fegato di embrioni di pollo di 12, 13, 14 giorni.

(*) Lavoro eseguito negli Istituti di Zoologia dell'Università di Roma, diretto dal prof. P. Pasquini, e di Anatomia comparata dell'Università di Ferrara, diretto dal prof. L. Raunich, nell'ambito del Gruppo di Ricerca per l'Embriologia del C.N.R., per lo studio del differenziamento.

(**) Pervenuta all'Accademia il 27 luglio 1968.

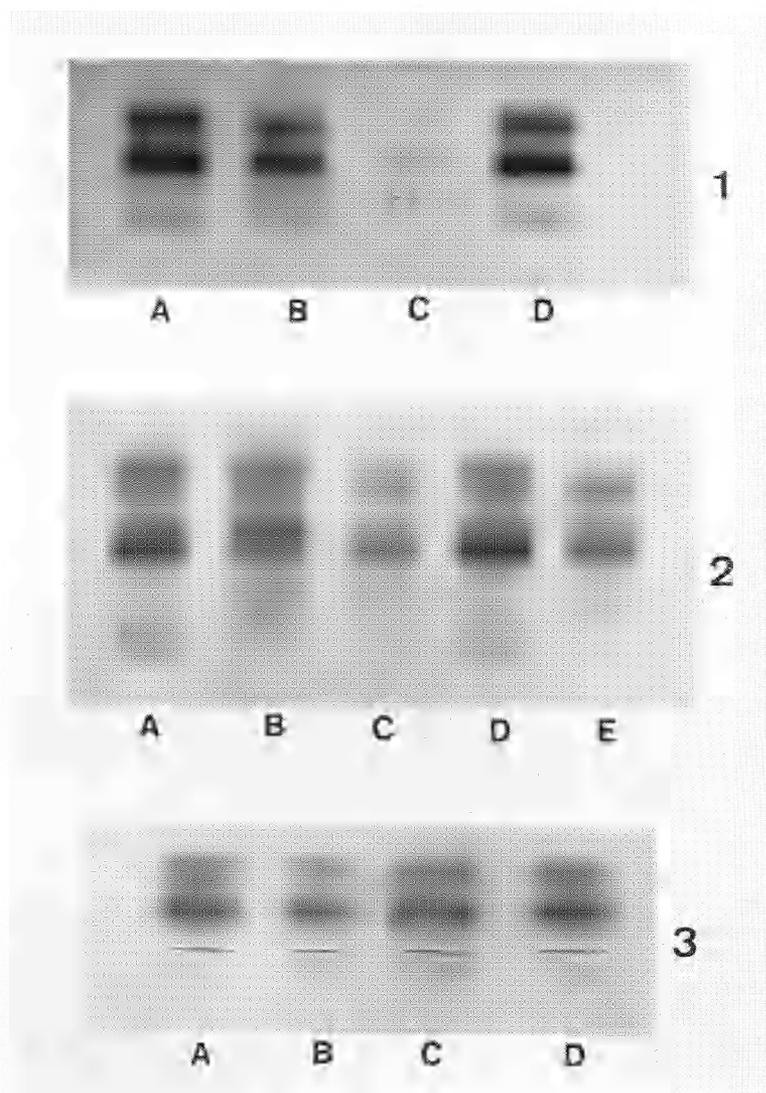
Le colture organotipiche sono state eseguite secondo la tecnica di Wolff e Haffen (1952) descritta dettagliatamente nei lavori precedenti già citati. Soltanto il mezzo di coltura è stato leggermente modificato: invece del plasma di pollo è stato usato il siero di cavallo. I pezzi di area vascolare erano costituiti dal sacco vitellino, ricco di vasi, che pescano nel sottostante vitello fluidificato. La parte del fegato embrionale che veniva associata all'espianto era quella esterna o meglio periferica: essa veniva suddivisa in piccoli frammenti i quali erano giustapposti strettamente all'abbozzo sanguigno. Di associazioni ne sono state fatte 71, di cui 20 fra area vascolare di 5 giorni e fegato di 12; 33 fra area vascolare di 6 giorni e fegato di 13; 18 fra area vascolare di 7 giorni e fegato di 14. L'elettroforesi dell'emoglobina è stata eseguita su gel d'amido in sistema discontinuo di buffer TRIS — borato a pH 8,6.

I risultati ottenuti possono essere così brevemente riassunti: l'esame elettroforetico dell'emoglobina raccolta da ognuno dei tre gruppi di colture non ha messo in evidenza differenze significative né fra i vari tipi di espianti né fra questi e i controlli; in altre parole le frazioni emoglobiniche sono uguali fra gli espianti e i corrispondenti stadi *in vivo*. Neppure l'associazione del fegato ha determinato modificazioni del comportamento dell'emoglobina.

Questo risultato starebbe a dimostrare che, se il sacco vitellino è ancora eritropoieticamente attivo dopo il 5° giorno di incubazione, l'emoglobina sintetizzata è quella di tipo definitivo; e quindi il trapasso dalla sintesi dell'emoglobina embrionale a quella di tipo definitivo si compirebbe ugualmente in tutti i focolai eritropoietici, sia embrionali che extraembrionali.

BIBLIOGRAFIA.

- MANELLI H., *Osservazioni sulle colture in vitro del blastema ematico dell'embrione di pollo*, « Ric. Sci. », 33 (II-B) 493-498 (1963).
- MANELLI H. e CALLEGARINI C., *Ulteriore contributo al citodifferenziamento in vitro degli emociti embrionali dell'area vascolare del pollo*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », 42, ser. VIII, 442-446 (1967).
- MANELLI H., RAUNICH L., MASTROLIA L., GARDENGHI G. e CALLEGARINI C., *Cell and hemoglobin differentiation in explants of the area vasculosa in the chick embryo*, « Acta Embryol. Morph. Exp. », 9, 169-186 (1966).
- MANWELL C., BAKER C. M. A. e BETZ T. W., *Ontogeny of haemoglobin in the chicken*, « J. Embryol. Exp. Morph. », 16, 65-81 (1966).
- RAUNICH L. e MANELLI H., *Le proprietà elettroforetiche delle emoglobine sintetizzate in espianti di area vascolare dell'embrione di pollo*, « Ric. Sci. », 35 (II-B), 31-38 (1965).
- RAUNICH L. e MANELLI H., *Ulteriore contributo allo studio delle proprietà elettroforetiche dell'emoglobina sintetizzata in espianti di area vascolare dell'embrione di pollo*, « Ric. Sci. », 35 (II-B), 267-272 (1965).
- RAUNICH L., MANELLI H., MASTROLIA L. e GARDENGHI G., *Citodifferenziamento in vitro degli elementi sanguigni dell'area vascolare dell'embrione di pollo*, « Arch. Zool. It. », 51 (vol. Giub. P. Pasquini), 25-45 (1966).
- SALVATORELLI G., *Observations sur l'hématopoïèse in vitro dans la moelle osseuse embryonnaire de poulet*, « C. R. Acad. Sci. Paris », 262, 666-668 (1966).
- SALVATORELLI G., *L'influence favorable du foie embryonnaire sur l'hématopoïèse in vitro dans la moelle osseuse d'embryon de poulet*, « J. Embryol. Exp. Morph. », 17, 2, 359-365 (1967).



SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

- Fig. 1. - Fotografia di ferogrammi su gel d'amido delle emoglobine ottenute in espianti di area vascolare di embrioni di pollo di 5 gg., coltivati per 6 gg.; A e D: controlli (cioè embrioni di 11 giorni); B: espianti con fegato; C: espianti senza fegato (il ferogramma è appena percettibile, però vi si intravedono le stesse frazioni dei controlli e degli espianti con fegato).
- Fig. 2. - Fotografia di ferogrammi su gel d'amido delle emoglobine ottenute in espianti di area vascolare di embrioni di pollo di 6 gg., coltivati per 6 gg.; A, B e D: controlli (cioè embrioni di 12 giorni); C: espianti senza fegato; E: espianti con fegato.
- Fig. 3. - Fotografia di ferogrammi delle emoglobine ottenute in espianti di area vascolare di embrioni di pollo di 7 gg. coltivati per 6 gg.; C e D: controlli (cioè embrioni di 13 giorni); A: espianti senza fegato; B: espianti con fegato.