

---

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

---

ROSALBA LANZANI MACI, VINCENZO G. LEONE

**Effetti del tiamfenicolo sullo sviluppo embrionale del  
pollo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 61 (1976), n.6, p. 641–644.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1976\\_8\\_61\\_6\\_641\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1976_8_61_6_641_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/>



**Zoologia.** — *Effetti del tiamfenicolo sullo sviluppo embrionale del pollo* (\*). Nota di ROSALBA LANZANI MACI e VINCENZO G. LEONE, presentata (\*\*) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — The effects of TAF on the development of the chick embryo are studied *in vitro* and *in ovo*. Treatments performed at early stages inhibit the histogenesis of the blood islets, and the embryonal development stops at stage 26/27 of Hamburger and Halmiton. These effects probably depend on the interference with the protein synthesis, both at level of mitochondria and of specific cytoplasmic proteins.

Gli effetti secondari di alcuni antibiotici quali cloramfenicolo (CAF), tiamfenicolo (TAF) e loro affini, sono stati studiati da molti ricercatori anche su soggetti umani in cura per varie infezioni (cfr. confronta punto 9).

Molti Autori somministrando ad alcuni pazienti varie dosi di CAF osservarono una diminuzione dei globuli rossi, bianchi e trombociti.

Per studiare il meccanismo d'azione di tali sostanze, altri ricercatori le hanno somministrate ad embrioni di vari animali in modo da vedere le eventuali malformazioni che esse provocano.

Colombo e Micciarelli (1964) hanno studiato gli effetti del CAF su blastodermi di pollo, coltivati *in vitro*. Gli Autori osservarono una inibizione dello sviluppo embrionale con alterazioni a carico del sistema nervoso centrale; le isole sanguigne apparivano notevolmente ridotte pur con un normale sviluppo del cuore. Successivamente gli stessi Autori osservarono, in blastodermi disembrionati, una riduzione delle isole sanguigne tanto maggiore quanto più precoce è lo stadio di trattamento; gli Autori considerano tale riduzione proporzionale alla concentrazione del CAF e alla durata del trattamento.

Anche su embrioni di pollo *in vitro* Billet, Collini ed Halmilton (1965) hanno trovato che il CAF ne inibisce il differenziamento e i precoci processi morfogenetici.

H. Fritz e R. Hees (1971) hanno sperimentato su ratti il CAF e hanno trovato che esso può provocare malformazioni diverse che sono tanto più gravi quanto più giovane è lo stadio di gestazione.

Magliulo e Coll. (1965) sperimentarono sia il CAF che il TAF su megaloblasti isolati da embrione di pollo alla 60° ora d'incubazione. Nelle colture tali sostanze deprimono l'indice mitotico e statmocinetico della popolazione cellulare studiata.

Lallier 1962 e Horstadius 1963, trattando embrioni di ricci di mare con TAF, videro che veniva agevolata la vegetalizzazione mentre era notevolmente inibita l'animalizzazione.

(\*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università Statale di Milano.

(\*\*) Nella seduta dell'11 dicembre 1976.

Con la presente ricerca si è cercato di approfondire lo studio degli effetti del TAF sullo sviluppo embrionale del pollo, trattando gli embrioni sia *in vitro* che *in ovo*.

*Trattamento in vitro.* Uova embrionate di pollo (livornesi bianche) sono state poste ad incubare sino al raggiungimento di stadi compresi tra linea primitiva e 3 somiti (secondo Hamburger e Hamilton), cioè per 24-48 ore.

I blastodermi di 110 embrioni sono stati espantati *in vitro* secondo la tecnica di New e coltivati per 24 ore. 30 di questi, da servire per controllo non sono stati trattati: 80 invece, divisi in tre lotti, sono stati trattati con TAF (glicinato cloridrato).

Il I lotto di trattamento è costituito da 25 embrioni espantati allo stadio di linea primitiva (L.P.) ed incubati per 24 ore in presenza di 0,05 µg di TAF; il II lotto di trattamento è costituito da 25 embrioni espantati allo stadio di 3 somiti ed incubati per 24 ore in presenza di 0,05 µg/embrione di TAF; il III lotto di trattamento è costituito da 25 embrioni espantati allo stadio di linea primitiva ed incubati per 24 ore in presenza di 0,1 µg/embrione di TAF.

Alla fine dell'incubazione sia i controlli che i trattati sono stati fissati in Bouin e colorati con Bleu di Antracene.

Al momento della fissazione si è osservato:

1) nei controlli cuore pulsante, isole sanguigne della massima estensione (++++), somiti da 8 a 22 disposti regolarmente tubo neurale in via di chiusura (Tav. I, fig. 1);

2) nel primo lotto di trattamento il blastoderma è poco sviluppato, il tubo neurale generalmente aperto; i somiti sono malformati o assenti, il cuore pulsa, le isole sanguigne sono più o meno ridotte (++) ed addensate alla periferia (Tav. I, fig. 2);

3) nel II lotto di trattamento si è osservato una minor riduzione delle isole sanguigne rispetto al lotto precedente (+++); le altre strutture appaiono nei limiti della norma (Tav. I, fig. 3);

4) nel III lotto di trattamento la riduzione delle isole sanguigne è molto più evidente rispetto ai lotti precedenti (++ ovvero +); inoltre si osservarono malformazioni a carico del sistema nervoso che resta aperto, dei somiti che sono più piccoli e irregolarmente disposti.

*Trattamento in ovo.* Uova fecondate sono state trattate con 0,2 µg/embrione di TAF e indi poste ad incubare in un termostato per un numero di giorni variabile:

1) al 2° giorno di incubazione il 15,5 % degli embrioni si era sviluppato in modo normale e non si evidenziava alcuna malformazione; il 64 % degli embrioni trattati presentava notevoli difetti di sviluppo con marcata riduzione dell'area embrionale e delle isole sanguigne mentre il 24 %, dopo aver iniziato lo sviluppo, era degenerato (Tav. II, figg. 4-5);

2) degli embrioni osservati al 5° giorno di incubazione il 64 % appariva più pallido rispetto ai controlli per evidente riduzione della vascolarizzazione superficiale e presentava un certo arresto di sviluppo corrispondente allo stadio 26-27 di H.H.; non si evidenziavano tuttavia particolari malformazioni. Il 26 % degli embrioni era completamente degenerato (Tav. II, figg. 4, 5, 6, 7).

In ulteriore serie di esperimenti sono state trattate 30 uova fecondate con una concentrazione maggiore di antibiotico, cioè di 0,5 µgr/embrione e poi incubate. Tale concentrazione è risultata tossica e gli embrioni dopo aver iniziato lo sviluppo, degenerano rapidamente. Una incubazione di 72 ore prima del trattamento con antibiotico non ha modificato in alcun modo l'effetto dell'antibiotico stesso.

Dall'analisi di questi dati si vede chiaramente che il TAF impedisce il normale sviluppo dell'embrione di pollo.

Negli embrioni espantati e trattati *in vitro* appare costante una forte riduzione delle isole sanguigne accompagnata, in un elevato numero di casi, da notevoli malformazioni a carico del sistema nervoso e dei somiti.

La riduzione delle isole sanguigne è tanto maggiore quanto più precoce è lo stadio di trattamento (L.P. = + ovvero ++ e 3 somiti +++), ed è in relazione con la concentrazione dello antibiotico.

Gli embrioni trattati *in ovo* e successivamente incubati per diversi giorni presentavano un notevole ritardo dello sviluppo che subisce poi un totale arresto intorno allo stadio 26-27 H.H.

Questi fenomeni sono indubbiamente in diretto rapporto con la diminuita formazione degli isolotti sanguigni e quindi con una minor irrorazione dell'embrione, ma anche con i processi degenerativi che si instaurano più tardivamente.

Il TAF, come d'altra parte il CAF, inibisce la sintesi proteica e in particolare quella della proteine mitocondriali (cfr. in questo punto 9).

Le nostre ricerche dimostrano che il TAF inibendo la sintesi delle proteine mitocondriali e cioè la formazione dei mitocondri, inibisce tutti i processi di accrescimento. In particolare sono inibiti i processi dell'accrescimento della muscolatura perché il differenziamento delle fibre muscolari funzionanti risente della carenza di mitocondri. Non sorprende pertanto che col CAF si osservi lo sviluppo di ratti iposomici quali quelli di Fritz e Hees (1971).

#### LAVORI CITATI

- [1] F. S. BILLET, R. COLLINI e L. HAMILTON (1965) - « J. Embryol. Exp. Morphol. », 13, 341-356.
- [2] G. COLOMBO e A. MICCIARELLI (1964) - « Acta Embryologiae at Morphologiae Experimentalis », 7, 303-313.
- [3] H. FRITZ e R. HEES (1971) - « Toxicology and applied Pharmacology », 19, 667-674.
- [4] R. LALLIER (1953) - « J. Embryol. Exp. Morphol. », 10, 563.
- [5] H. L. HAMILTON (1952) - *Lillie's development of the chick*, 3rd. ed., Holt. Rinehart e Wiston, New York.

- [6] S. HORSTASIUS (1963) - «Development Biol.», 7, 144.  
[7] R. MAGLIULO, G. AZZARETTI, C. G. MORANDINI e G. STASSINO (1965) - «Giorn. Ital. Chemioterapia», 12 (14), 74-81.  
[8] D. A. T. NEW (1966) - *The culture of vertebrate embryos*. Academic Press.  
[9] INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHLORAMPHENICOL-THIAMPHENICOL (1973) - January 10-12, Sils Maria (CH).

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

### TAVOLA I

- Fig. 1. - Controllo espianto LP-incubazione 24 ore.  
Fig. 2. - Embrione trattato *in vitro* a LP con 0,05  $\mu$ gr di TAF per 24 ore.  
Fig. 3. - Embrione trattato *in vitro* a 3 S con 0,05  $\mu$ gr di TAF per 24 ore.

### TAVOLA II

- Fig. 4. - Controllo incubazione 48 ore.  
Fig. 5. - Embrione trattato *in ovo* con 0,2  $\mu$ gr/embrione di TAF ed incubato per 48 ore.  
Fig. 6. - Controllo incubazione 5 giorni.  
Fig. 7. - Embrione trattato *in ovo* con 0,2  $\mu$ gr/embrione di TAF ed incubato per 5 giorni.



