
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ALBERTO STEFANELLI, ANNA MARIA ZACCHEI

**Prime osservazioni sperimentali sui processi
morfo-genetici di embrioni di Anuri sottoposti ad
elevate pressioni idrostatiche**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 52 (1972), n.4, p. 573–575.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_52_4_573_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. — *Prime osservazioni sperimentali sui processi morfogenetici di embrioni di Anuri sottoposti ad elevate pressioni idrostatiche* (*). Nota di ALBERTO STEFANELLI e ANNA MARIA ZACCHEI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Preliminary observations reported hereafter on the morphogenesis of Amphibian embryos (Anura) show that hydrostatic pressure of an order of magnitude of 200–300 atm. brings about partial inhibition of gastrulation (i.e. morphogenesis does not proceed beyond initial dorsal lip formation), whereas in embryos to which pressure was applied at the neurula stage (just elevated neural folds) neural tube fusion is accomplished along a pattern superimposable to that of the control embryos, grown at normal hydrostatic pressure.

Il problema dell'effetto della pressione idrostatica sui viventi è stato affrontato con mezzi sperimentali in tempi relativamente recenti. L'interesse è stato suscitato tra l'altro dal reperimento di organismi, appartenenti a diversi tipi animali, nelle fosse oceaniche che raggiungono anche profondità di oltre 11.000 metri con pressioni che superano le 1000 atmosfere.

Le prime ricerche con le alte pressioni, ben superiori a quelle naturali, dell'ordine di 5000–15000 atm. sono state dirette, dati i mezzi impiegati per raggiungerle, su sostanze organiche, dimostrando la coagulazione dell'albumina d'uovo (Bridgman, 1914) e di carbosiemoglobina (Bridgman e Conant, 1929), la inattivazione di enzimi, di virus e di tossine, come pure la capacità di uccidere batteri e lieviti (Larson, 1918; Basset *e coll.* dal 1932 al 1938; Gidding *e coll.*, 1929; Luyet, 1937; Macheboeuf *e coll.*, 1933–34; Lauffen e Dow, 1941). Si è così giunti al concetto che l'alta pressione denatura le proteine e, dopo le ricerche di Johnson *e coll.* (1940–1945), che con l'aumento della temperatura la pressione ha effetti a livelli meno spinti. La relazione pressione-temperatura ha portato, ad opera di Eyring (1935), Wynne-Jones e Eyring (1935), Polany e Evans (1935), Glasstone *e coll.* (1941), alla moderna equazione della velocità assoluta di reazione basata sulla equazione di Arrhenius (1889) temperatura-velocità di reazione.

Nella recente monografia di A. M. Zimmerman (1970)⁽¹⁾ sono riportati i risultati ottenuti, sino a quella data, sottoponendo a pressioni idrostatiche elevate svariati materiali viventi da parte di diversi gruppi di lavoro (C. B. ZoBell, Istituto di Oceanografia di La Jolla; S. B. Zimmerman e A. M. Zimmerman, Università di Toronto; J. A. Kitching, Norwich, Università di East

(*) Con un contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta dell'8 aprile 1972.

(1) A.M. ZIMMERMAN, *High pressure effects on cellular processes*, Academic Press, New York e London, 1970.

Anglia; H. Flugel e C. Schlieper, Università di Kiel; T. H. Murakami, Okayama Medical School, Giappone; D. Marsland, Università di New York).

Ricerche sul vivente sono state fatte a proposito della contrazione muscolare (Cattell e Edwards, 1928, 1930, 1932) e della emissione luminosa di cellule batteriche (Brown 1934, 1935, 1942, 1957, 1958; Eyring e Magee 1942; Johnson *e coll.* 1942, 1945, 1954; McElroy 1943) dimostrando l'applicabilità della equazione della velocità assoluta di reazione nei rapporti tra la pressione e la intensità della luminescenza e della contrattilità.

Come in tutti i processi biologici vi è « un ottimo di temperatura » che varia nelle varie specie e in processi specifici, così, dalle ricerche ora accennate, si è tratta la conclusione che esiste anche un « ottimo di pressione ». Essa è basata su questi presupposti: nei processi di reazione che portano ad un aumento di volume del sistema (e che sono endergonici) l'aumento di pressione ritarda il processo, in quelli in cui vi è diminuzione di volume (e che sono in genere esergonici) la pressione è favorevole. In quelli in cui non vi sono variazioni volumetriche la pressione non ha effetto.

Di particolare importanza per i nostri problemi morfologici sono le osservazioni dell'effetto inibente della pressione (150-400 atm.) sulla divisione cellulare, studiata nella segmentazione delle uova di echinodermi e di rana (Marsland, 1938), sulla motilità delle ciglia e flagelli (vedi Kitching, 1970; Zimmerman *e coll.*, 1970) e sulla motilità ameboidea legata a fenomeni di gelazione e solificazione dell'ectoplasma e di contrattilità di filamenti (vedi Marsland, 1970).

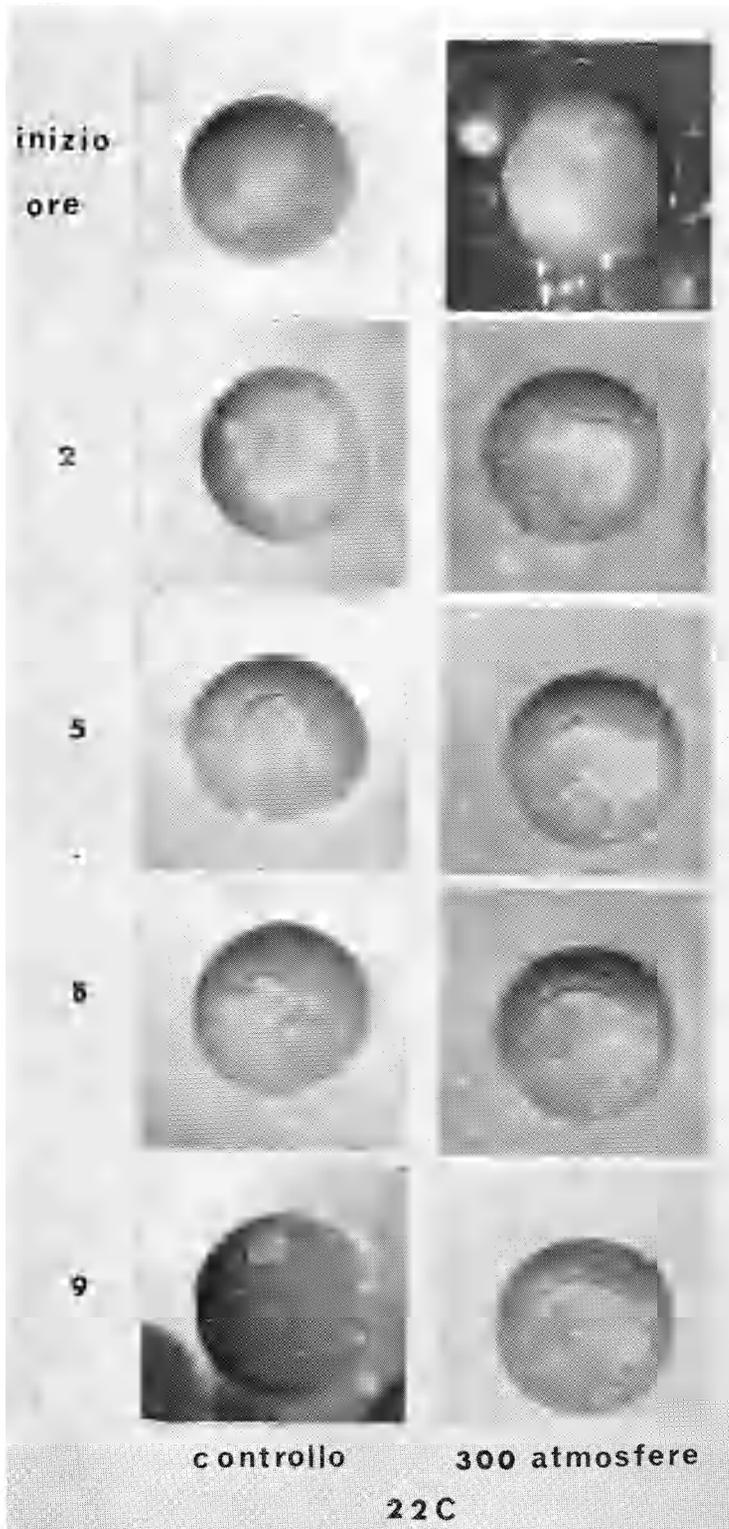
Il diverso effetto, selettivo alle differenti pressioni, sulla divisione cellulare da un lato e sul movimento cellulare dall'altro, ci ha spinti ad usare la pressione idrostatica come mezzo sperimentale in problemi di morfogenesi embrionale, campo che gli studiosi delle alte pressioni non hanno per nulla indagato.

È noto dalle classiche osservazioni di His, Ruffini e Glücksmann, per citare solo le figure eminenti, che nella morfogenesi animale, intervengono tre ordini fondamentali di fenomeni: la moltiplicazione cellulare, il movimento cellulare, la morte cellulare.

La moltiplicazione cellulare della fase di segmentazione dell'uovo, in cui le cellule vanno via via diminuendo di volume, va distinta da quella dalla fase successiva di accrescimento embrionale in cui le cellule figlie prima di dividersi devono accrescersi sino alla grandezza cellulare specifica costante.

I movimenti cellulari provocano le estroflessioni e introflessioni, i fenomeni di rottura e saldatura e i fenomeni di embolia. Ruffini dimostrò nel 1907 come le cellule in attività di movimento assumono la forma caratteristica « a fiasco »; Holtfreter 40 anni dopo le ribattezzò « bottle cells ».

La Tav. I mostra in modo evidente come il processo di gastrulazione (in *Bufo*) sia notevolmente inibito. Mentre i controlli raggiungono lo stadio di tappo vitellino piccolo in 9 h (22°C) le uova sottoposte a 300 atm. presentano la formazione del I solco la cui estensione rimane nelle successive ore assai limitata.



Gastrulazione in *Bufo bufo* in condizioni normali di controllo e alla pressione di 300 atmosfere (a 22° C). Notare nei controlli la formazione del I solco e del tappo vitellino con la sua successiva introflessione e negli embrioni sottoposti a pressione l'arresto del processo alla formazione del I solco.

Nella Tav. II ⁽²⁾ si nota invece come la neurulazione (in *Rana*) non sia affatto inibita a 300 atm.. Infatti a 22°C il tubo nervoso è chiuso in 8 h sia nei controlli che negli embrioni sotto pressione. È da notare che i controlli sono messi in egual numero sia nella camera di compressione, sia in una ugual camera non compressa (in genere 3-6 embrioni per esperienza). Manca ancora un controllo istologico per constatare soprattutto se non vi siano difetti nel sistema ventricolare; le preparazioni sono in corso.

Da questi primi risultati, più volte ripetuti, appare evidente come nella gastrulazione il fenomeno di embolia, rappresentato dallo sticotropismo delle cellule ectodermiche dei solchi falciformi, fondamentalmente di movimento, non sia inibito, mentre il processo epibolico che si accompagna ad attiva moltiplicazione cellulare sia inibito.

Invece nella neurulazione l'accartocciamento della placca in tubo è essenzialmente un processo di movimento, povero di attività moltiplicativa. La neurulazione è pertanto un processo che non comporta aumento nel numero di cellule e non richiede in modo sensibile energia. E pertanto la pressione di 300 atm. (che blocca la divisione cellulare) non ha effetto sulla neurulazione intesa quale processo di chiusura del tubo neurale.

È opportuno ricordare come già da osservazioni fatte nel 1895 da Roux l'accartocciamento della placca neurale di *Rana* è interpretato come un fenomeno *autonomo* indipendente da forze esterne, e come Glaser, nel 1914, abbia potuto osservare come nel passaggio da placca a tubo neurale non vi sia modificazione apprezzabile nel numero di cellule.

Il volume totale del tubo, che è stato dimostrato tre volte superiore rispetto a quello della placca, non è dovuto a sintesi di nuovo protoplasma, ma ad assunzione di acqua che è dell'80% nel sistema nervoso mentre è del 60% per l'intero corpo.

Queste antiche osservazioni danno un preciso significato alla paradossale risposta di comportamento di diversi processi morfogenetici quali sono la segmentazione, la gastrulazione e la neurulazione, sottoposti ad una stessa elevata pressione idrostatica.

(2) Le fotografie delle due tavole sono state eseguite, sia a pressione normale dei controlli, sia sotto pressione, attraverso gli oblò della camera di compressione descritta da Stefanelli nella Nota precedente di questo fascicolo.