



PONTIFICIA
ACADEMIA
SCIENTIARVM

ACTA
Vol. XII - N. 17
pag. 183-198

CONSIDERAZIONI SULL'OVAIA DI CAVIA COBAJA TRATTATA CON COLCHICINA (*)

(Con tre tavole)

GIULIO PERRI

SYMMARIUM. — Colchomycina in caviis iniecta per complures dies (usque ad novem), in singula cc. ad 1/50.000 vel 1/100.000 diluta, haec expertus est Auctor:

1) cellulae folliculi Graaf destruuntur;

2) ovocita ita vitiatur ut abnormiter gignantur veluti morulae: cuius rei causa quaerenda est in inordinato et insueto stimulo in ovocitam, quae iam folliculi cellulis non protegitur.

Putat Auctor dupliciter operari colchicinam: primum destruens cellulas granulosa folliculi, deinde incitans ovulum ad quamdam parthenogenesisim.

Le ricerche sull'azione della colchicina sulle cellule somatiche sono numerose, dopo quelle iniziali di DUSTIN e della sua scuola; scarse invece sono le ricerche che riguardano l'azione dell'alcaloide sulle cellule germinali.

Dei lavori trovati sull'argomento uno solo, LITS (1935) tratta dell'azione della colchicina sulle uova ovariche dell'animale normale. Altri riguardano l'azione sulle uova fecondate di animali inferiori (rana) (KEPPEL e DAWSON) o degli amnioti.

Quando già questo lavoro stava per essere dato alla stampa ho avuto modo di leggere il lavoro di WALDO e VISMATT (1945) in cui si parla dell'effetto della colchicina sulla divisione delle uova di topo. Ma anche in questo caso si tratta di uova già fecondate.

Sembra ad ogni modo dalle ricerche di vari autori che la colchicina sull'uovo fecondato abbia una azione inibitrice sulla divisione:

(*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio S. E. Antonio Pensa, nella Tornata ordinaria dell'8 febbraio 1948.

cioè sarebbe dimostrata un'azione statmocinetica anche sull'uovo fecondato.

Ma il problema dell'azione della colchicina sull'uovo ovarico è particolarmente di difficile soluzione perchè si sovrappongono e si confondono con gli eventuali effetti prodotti dalla colchicina, quelli di processi regressivi delle uova, che si svolgono anche di norma indipendentemente dall'azione della colchicina, quale l'astresia follicolare. L'astresia follicolare, fenomeno che si manifesta in tutte le età della vita si fa più evidente quando l'organismo raggiunge la maturità sessuale: e ad essa sono legate lesioni caratteristiche dell'uovo. Ma oltre a questi fenomeni inerenti alla astresia follicolare si possono trovare, nell'ovaio di mammiferi uova che presentano mitosi atipiche, degenerazioni frammentarie dell'ovocita, fatti di pseudo partenogenesi; reperti che nelle uova ovariche sono molto più frequenti nei mammiferi di quanto non sia riportato nei trattati.

È facile capire perciò come i risultati ottenuti col trattamento colchicinico possono essere assai difficilmente interpretabili perchè, indipendentemente dalla colchicina, possono agire sulle uova ovariche ed influire quindi diversamente nella interpretazione dei dati sperimentali, altri fattori quali sono quelli che normalmente determinano l'astresia follicolare e la degenerazione dell'uovo ovarico.

Non posso divulgarmi in questa nota, per esigenze di spazio concesso alla stampa, nell'esposizione della bibliografia che si riferisce al fenomeno di DUSTIN determinato dalla colchicina ed agli argomenti collaterali ai quali ho ora accennato.

La bibliografia non ho trascurato di raccoglierla ma mi riservo di pubblicarla in lavoro più esteso, ad ogni modo rimando alla vasta monografia di ASTALDI, ALLEGRI e MAURI amplissima ed aggiornata fino alla fine del 1947.

È necessario però che io ricordi almeno, il lavoro di LITS (1935) come quello che ha maggiore attinenza colla mia ricerca.

Questo Autore ha messo in evidenza nell'ovaio di topolino trattato con piccole dosi di colchicina (gr. 0,00025 per 20 gr. di peso) due fatti:

1) la risposta della granulosa alla droga, risposta assai intensa con comparsa di una notevole quantità di figure colchiciniche.

2) aumento notevole del numero di mitosi atipiche e di divisione in blastometri dell'ovocita non fecondato in seguito all'iniezione della colchicina, aumento che è di 9-10 volte in confronto al normale.

Tale fenomeno è stato notato dall'autore solo nei follicoli atresici e con un massimo dopo 16 ore dalla iniezione della colchicina.

L'autore conclude che gli pare legittimo pensare che questo aumento di frequenza delle forme di divisione dell'uovo, sia dovuto non solo all'atresia, ma che venga provocato dall'azione eccitomitotica della colchicina.

RICERCHE PERSONALI

Dopo alcuni tentativi per orientarmi sull'effetto della colchicina sulla cavia, sono giunto alla conclusione che una dose di colchicina che avesse effetto e nello stesso tempo potesse essere ripetuta per vari giorni senza uccidere l'animale era la dose di 1 cc. di soluzione 1/50.000 introdotta per via parenterale. Tale dose non sufficientemente tossica per provocare la morte di una cavia di 400-600 gr. poteva ripetersi per 10 giorni consecutivi.

La necessità di prolungare il trattamento per vari giorni era legata allo scopo di assicurare la determinazione delle alterazioni sui vari elementi costitutivi dell'ovaio che avrebbe potuto sfuggire a un trattamento breve.

Le cavie trattate sono state 14 e ciascuna di esse subì il trattamento per un intervallo di tempo variabile da 1 a 9 giorni dopo di che sono state sacrificate; precedentemente erano state isolate dai maschi per almeno 4 mesi.

Le dosi più forti sul 1/5000 - 1/10.000 portavano a morte l'animale dopo 24 ore. La colchicina usata era la colchicina pura cristallizzata Carlo Erba.

Quando il trattamento era di 1 cc. di colchicina in soluzione 1/50.000 si aveva una diminuzione costante di peso (20-50 gr. al dì).

Al giorno stabilito gli animali venivano sacrificati e le ovaie fissate in Susa o sublimato acetico, incluse in paraffina e colorate con ematossilina eosina o ematossilina ferrica di Heidenhain e rosso congo.

RISULTATI DELLE RICERCHE SPERIMENTALI

Tratterò separatamente delle varie formazioni dell'ovaia che sono interessate nel processo:

a) *epitelio germinativo*. - L'epitelio germinativo non sembra risentire alcun effetto delle varie dosi di colchicina; lo stesso può dirsi, per inciso, per i corpi lutei. LITS invece riporta di aver notato lesioni tardive e carico dei corpi lutei.

b) *follicoli cofori primari*. - Negli animali trattati con dosi massimo (1 cc. di sol. 1/10.000), alla nona ora, non si notano alterazioni degne di nota nei follicoli cofori primari; negli animali trattati con dosi minori; ma ripetute per parecchi giorni, si nota che gli ovociti dei follicoli oofori primari hanno nuclei con masse cromatiche addensate e fortemente colorabili che molto ricordano le forme di sinapsi; poco evidente è la membrana nucleare, l'ovoplasma chiaro, spugnoso è contenuto da una pellicola tesa al massimo. Con una certa frequenza si notano in essi follicoli con ovociti aventi 2-4 nuclei come se fosse avvenuta una segmentazione dell'ovocita.

Non ho mai potuto sorprendere mitosi negli ovociti del follicolo ooforo primario.

Le cellule follicolari sono con grande frequenza in metafase colchicina.

Comunque l'aspetto degli ovociti di questi follicoli è ben diverso dall'aspetto normale (fig. 1).

c) *follicoli vescicolosi*. - Le lesioni più caratteristiche si hanno a carico delle cellule della granulosa dei follicoli vescicolari.

Qui vediamo come questo tessuto risenta elettivamente dell'azione carioclasica della colchicina, ma è assai interessante seguire il destino di queste cellule alterate per l'azione di un trattamento colchicinico protratto per un periodo più o meno lungo. Seguendo l'andamento di queste alterazioni e delle successive fasi riparative si può ricostruire abbastanza facilmente il fenomeno.

Sotto un'azione massiva ma di breve durata della colchicina le cellule della granulosa si presentano per il 60-70 % in metafase colchicina. Ammassi di cromosomi al centro della cellula fortemente

colorata, membrana cellulare tesissima; protoplasma chiaro. Si può riconoscere che si tratta di metafasi solo perchè in sezioni in cui il nucleo è preso di profilo si vede che si tratta di piastre equatoriali atipiche; altrimenti non è possibile distinguere i cromosomi gli uni dagli altri (fig. 2).

A mano a mano che l'azione della colchicina si prolunga, l'aspetto delle cellule follicolari si altera sempre più, si fanno sempre più rare le metafasi colchicinee mentre la cavità del follicolo si riempie di detriti cellulari, specialmente di ammassi di cromatina che a poco a poco si colorano metacromaticamente e poi si sbriciolano in granulini.

In breve tempo (2-3 giorni) del follicolo vescicoloso, non rimane che una cavità ripiena di detriti, solo alcune cellule follicolari periferiche addossate alla teca interna, si conservano integre. Se l'ovocita esiste le cellule del cumulo ooforo sono le ultime a dare segni di degenerazione e spesso alcune di esse rimangono attaccate all'uovo che si trova immerso in questo ammasso di detriti cellulari.

Le cellule più esterne, che hanno resistito all'azione della colchicina, se dopo un certo numero di giorni si interrompe il trattamento o si attende a sacrificare l'animale qualche giorno, riprendono a proliferare ma con carattere profondamente diverso da quelli normali. Mentre le cellule follicolari sono cellule ben nette individuate, come conseguenza di questa secondaria proliferazione risulta invece la formazione di sincizii cellulari.

Dalla proliferazione delle cellule follicolari superstiti derivano infatti formazioni sinciziali, plurinucleate che si espandono in mezzo ai detriti cellulari sotto forma di bottoni germinativi, tozzi, mammellonati o allungati a guisa di salsicciotto; si protendono all'interno del follicolo e tendono ad invaderlo. Molto spesso si staccano pezzi di sincizio e noi li troviamo come isolotti di cellule in mezzo al follicolo. Si tratta di masserelle rotondegianti di protoplasma, contenenti 20-30 nuclei senza divisione apprezzabile del citoplasma.

I nuclei hanno aspetto normale, il protoplasma è granuloso. La loro derivazione dalle cellule follicolari superstiti è sicura e facilmente constatabile nelle microfotografie (fig. 3). Se l'osservazione dell'ovaio dopo trattamento colchicinico si fa dopo 7-8 giorni dall'ultima iniezione di colchicina si nota che queste cellule hanno invaso tutto il follicolo che è trasformato in un ammasso solido di cellule, riunite in un grosso

sincizio. Questo è l'aspetto più frequente, ma molte volte l'aspetto finale assunto dai follicoli è diverso ed altrettanto caratteristico. Le cellule follicolari proliferate dopo il trattamento colchicinico invece di assumere un aspetto sinciziale e di penetrare nel follicolo si dispongono sulla superficie interna della cavità disponendosi in più strati irregolari con bottoni e sporgenze variamente sviluppate che deformano la cavità follicolare. Questa disposizione delle cellule è analoga a quell'aspetto che si ha nella atresia follicolare quando il follicolo atresico diventa cistico; ma è assai più irregolare sia per il numero che per la disposizione degli strati.

Osservando alcune di queste formazioni a tipo cistico ci si rende conto del reperto riferito da LEO LOEB. Questo autore (1902, 1903, 1932) descrisse delle formazioni analoghe a quelle da me trovate in ovaie di cavie non trattate in alcun modo e le considerò come formazioni embrionali dovute a partenogenesi di nova ovariche. Dalla documentazione fotografica che il LOEB ha dato di tali formazioni risulta, a mio avviso, che sono simili a quelle da me osservate e precedentemente descritte; ma l'interpretazione di LEO LOEB è secondo me errata e dipende dal fatto che probabilmente l'Autore le ha osservate isolatamente, senza ricercarne l'origine. Probabilmente quelle del LOEB corrispondono a sezioni tangenziali escludenti il lume della cavità follicolare di formazioni aventi lo stesso significato. In queste condizioni la disposizione regolare delle cellule può dare l'illusoria impressione di formazioni embrionali, mentre non si tratta che di stratificazione regolare di cellule follicolari proliferate sotto uno stimolo anormale.

Riassumendo: le cellule follicolari sottoposte per parecchi giorni ad azione di dosi piccole di colchicina si comportano nel seguente modo:

- 1) metafasi colchicinicche numerosissime (40-60 % delle cellule) per cui in due o più riprese quasi tutte le cellule sono passate attraverso questa fase di mitosi atipica. La grande maggioranza delle cellule (80 %) viene distrutta per picnosi, carioressi, cariolisi; i detriti cellulari vengono a riempire così la cavità del follicolo ed in seguito riassorbiti ed eliminati;

- 2) una piccola percentuale di cellule superstiti (15-20 %) che hanno superato questa fase proliferativa, assumendo però caratteri ben diversi da quelli di partenza; si riuniscono spesso in masse sinciziali che

sporgono nella cavità follicolare e la riempiono con successive proliferazioni fino ad obliterarla.

In alcuni casi l'ovocita permane sia pure alterato quasi circondato da queste formazioni.

3) In qualche caso invece le cellule superstiti si dispongono alla periferia in vari strati multipli che rivestono la parete interna del follicolo fino a formare una cavità cistica irregolare.

Ad ogni modo è notevole il fatto che il tessuto della granulosa è assai sensibile all'azione della colchicina.

d) *azione sull'ovocita*. — Per quanto riguarda l'azione della colchicina sull'ovocita essa è assai evidente. Non su tutti gli ovociti agisce la sostanza ma solo su quelli che si trovano in follicoli dei quali il tessuto delle cellule follicolari è già stato profondamente alterato. Queste cellule hanno un'azione trofica e di protezione sull'ovocita. Si capisce quindi come l'ovocita possa risentire direttamente l'azione della colchicina quando esse sono alterate e in gran parte distrutte.

La prima lesione tipica che si nota, nell'ovocita è a carico della zona pellucida. Questa formazione invece di avere un contorno regolare e preciso si presenta ondulata, sfrangiata con finissime digitazioni rivolte verso l'esterno a guisa di raggi, come se il gel da cui è formata tendesse a contrarsi e ad alterarsi.

Le digitazioni assumono colorazioni sempre più basiche nella loro parte più periferica. In stadi più avanzati di alterazione la zona pellucida si presenta seghettata, piegata, rugosa, e poi scompare lasciando l'uovo libero nel fluido del follicolo.

Generalmente quando l'ovocita ha la zona pellucida alterata si hanno in esso le prime alterazioni cromatiche. Raramente queste lesioni si incontrano in uova con zona pellucida integra. Le alterazioni cromatiche sono, in ordine di tempo, le seguenti: in un primo tempo si hanno lesioni caratteristiche di disposizione della cromatina. Non si hanno nell'ovocita metafasi colchicine tipiche. I cromosomi si presentano aggruppati più o meno regolarmente intorno ad un fuso acromatico che può essere normale, ma molto più spesso è atipico, risultandone mitosi pluriolari (fig. 4). Spesso si hanno varie figure mitotiche in uno stesso ovocita, talvolta in un ovocita più di un nucleo.

Considerando le varie alterazioni che si presentano nell'ovocita distribuite nel tempo si può ricostruire il fenomeno nel seguente modo: mitosi atipica con formazione di due, tre, quattro ed anche più aggruppamenti di cromosomi diversi, irregolari di numero e di forma, generalmente rotondeggianti. Ciascuno di questi ammassi di cromosomi a sua volta si comporta come un nucleo e da ciascuno di essi si possono originare altre mitosi contemporanee o successive nello stesso ovo (fig. 5). Si può così arrivare ad avere 5-6 gruppi di cromosomi nello stesso ovocita, spesso raggruppati ad un polo dell'ovo ma talvolta disposti in punti lontani dell'ovocita stesso.

Abbastanza frequentemente si può sorprendere in questo stadio l'emissione di globuli polari in numero vario contenenti ciascuno quantità diverse di cromatina (fig. 6-7). A volte nel globulo polare stesso si notano delle mitosi mentre nell'ovocita si hanno aggruppamenti irregolari di cromatina. A questo stadio segue la lesione più caratteristica e tipica degli ovociti che è la loro frammentazione. L'ovocita cioè, nel quale si hanno varie mitosi e si sono formati vari aggruppamenti di cromosomi, presenta l'ovoplasma diviso in porzioni proporzionali alla massa di cromatina sì che l'uovo viene a presentarsi frammentato in elementi irregolari nucleati come se stesse dividendosi in blastomeri per formare una morula (fig. 8).

In ciascuno di questi elementi si possono notare mitosi oppure nuclei completi (fig. 9) che ricordano i blastomeri.

Questi nuclei col progredire dell'azione della colchicina perdono di colorabilità e si fanno evanescenti; nei giorni più avanzati di trattamento si notano ovociti suddivisi irregolarmente in elementi dei quali solo una parte presentano un nucleo, più spesso contengono ombre di nuclei evanescenti oppure cromosomi isolati nel citoplasma (fig. 9-10).

Se si fa un grafico riportando sulle ordinate i giorni di trattamento e sulle ascisse la percentuale di elementi che si trovano nelle ovaie trattate si notano le seguenti particolarità.

Iniziando il trattamento abbiamo che circa il 45 % dei follicoli vescicolari presentano un ovocita, questo numero sotto il trattamento colchicinico cade fino a 17-20 %, percentuale che si mantiene fino alla fine del trattamento raggiungendo il minimo, con la 5ª giornata di trattamento. Il numero delle mitosi segue lo stesso andamento con

un massimo al 1° giorno e un minimo nella 5ª giornata, per risalire ancora verso la 8ª-9ª giornata. Per le segmentazioni invece il fenomeno è inverso. Basso, inizialmente 25 %, sale per raggiungere un massimo di 60 %, nella 3ª giornata, mentre le mitosi diminuiscono; scende notevolmente tra la 5ª e la 6ª giornata al 45 % e si mantiene su questa linea fino alla fine del trattamento.

Questo andamento permette di chiarire un fatto: le mitosi sono seguite con ritardo di circa 1-2 giorni dalla comparsa delle segmentazioni. Il che vuol dire che a mano a mano che le mitosi si manifestano, a distanza di due giorni si ha la massima percentuale di segmentazioni. Questo fatto si accorda con quanto sostengono WALDO e WIMSATT circa un'azione inibente della colchicina sulla divisione cellulare. Ciò è abbastanza logico se si pensa che in metafase la cellula si arresta per parecchie ore.

L'azione della colchicina ha alterato gravemente la vitalità degli ovociti diminuendone il numero, quelli che resistono evolvono verso la segmentazione dopo aver attraversato lo stadio di una mitosi, più o meno regolare.

Tali dati non hanno valore assoluto data la difficoltà di racchiudere o definire complessi fenomeni biologici in limiti matematici, certamente però aiutano ad interpretare il susseguirsi del fenomeno nel tempo. I dati sono desunti dal conteggio di non meno di 70-80 follicoli per ciascun ovaio, contati su sezioni lontane l'una dall'altra per evitare nei limiti del possibile di conteggiare due o più volte uno stesso follicolo.

Concludendo si può ricostruire l'azione della colchicina sugli elementi dell'ovaio in questo modo:

Nelle primissime ore l'azione si svolge prevalentemente a carico delle cellule follicolari della granulosa che vengono gravemente alterate (picnosi, ressi, lisi del nucleo) e in gran parte distrutte.

Viene così ad essere isolato l'ovocita che risente dell'azione diretta dell'alcaloide non più protetto dalle cellule follicolari e dal cumulo coforo.

Le prime lesioni sull'ovocita riguardano la zona pellucida che si ritrae e si altera in maniera caratteristica. Seguono mitosi anormali pluripolari e la cromatina dell'ovocita si divide irregolarmente sotto lo stimolo tossico della colchicina.

Alle mitosi seguono le segmentazioni dell'ovoplasma attorno ai vari gruppi di cromosomi a formare delle pseudo-segmentazioni irregolari dell'ovocita che abbiamo descritto.

Che anche queste cellule risultanti dalla segmentazione o pseudo-blastomeri abbiano capacità proliferativa e che la segmentazione tenda a progredire è un fatto chiaro dimostrato dalla presenza anche in esse di mitosi.

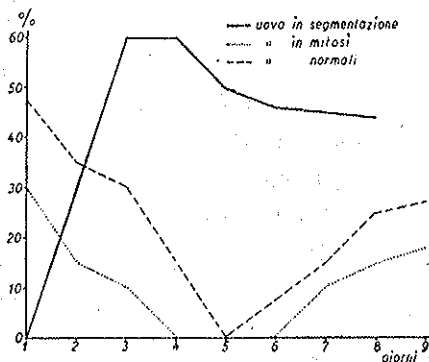


FIG. 13.

Nel frattempo le cellule della granulosa che sono rimaste vitali hanno ripreso a proliferare assumendo il carattere di un sincizio e come tali tendono a circondare la cavità irregolare del follicolo, le rivestono disponendosi in vari strati ed assumendo un aspetto che può essere come abbiamo detto, se non se ne conoscesse l'origine, scambiato per formazioni embrionali quali sono state descritte da LEO LOEB.

Da questo insieme di dati si direbbe che la colchicina può agire effettivamente sulle cellule della linea germinale femminile e cioè sugli ovociti ma solo dopo che sono state distrutte le barriere difensive dell'ovocita stesso (granulosa, cumulo coforo, zona pellucida).

Resta ora da vedere come avvenga il fenomeno e se questa azione della colchicina sia analoga a qualche fattore che anche in altre circostanze e in condizioni normali può determinare nell'ovaia fatti simili.

Abbiamo, infatti visto che è possibile notare alterazioni del genere di quelle da me descritte, però con frequenza assai minore, in folli-

coli atresici di ovaie normali, e in ovaie di animali trattati con prolano o con urina di donna gravida, ed anche in questo caso le alterazioni ovulari sono accompagnate da atresia follicolare.

Non è possibile pensare che i fatti da me osservati dopo l'azione della colchicina non siano legati direttamente all'azione della colchicina; per convincersi di questo basta guardare la percentuale altissima di ovociti che presentano tali lesioni. Ma innanzi tutto la colchicina agisce esaltando un fenomeno che si verifica nell'ovaia anche in condizioni normali oppure sotto l'influenza di altre sostanze (quale ad es. il prolano) e cioè l'atresia follicolare che assume però nel caso specifico dell'azione della colchicina, proporzioni imponenti e caratteristiche particolari. Si tratta di una atresia rapidissima e profonda in conseguenza della quale l'ovocita viene a trovarsi esposto all'azione della colchicina da un lato e di tutte le sostanze anormali che si formano per la distruzione massiva di cellule della granulosa.

Questi due fatti tendono ad agire in maniera potente e contemporanea sull'ovocita la cui potenzialità mitotica viene deviata verso forme alterate da questi stimoli abnormi a cui è sottoposto ormai staccato come è dal complesso dei sistemi regolatori dell'organismo.

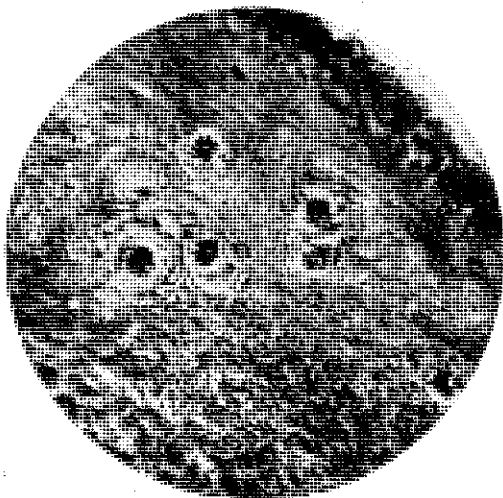


FIG. 1.

Omal II. Obiettivo 45. Aspetto delle uova dei follicoli primarii. Cavia N. 7, giorni di trattamento 9. Susa Em. Eosina.

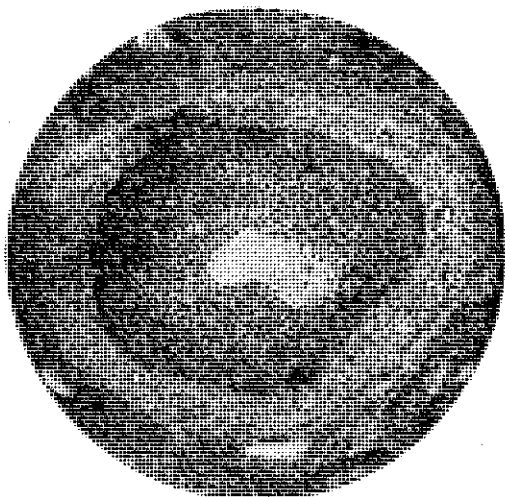


FIG. 2.

Omal II. Obiettivo 10. Aspetto delle cellule della granulosa del follicolo dopo trattamento con colchicina. Cavia N. 2, Susa Em. Eos.

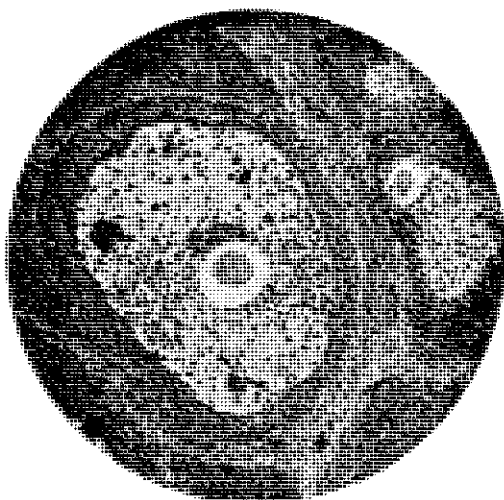


FIG. 3.

Isoletti di cellule ad aspetto sinciziale derivate dalla proliferazione delle cellule della teca interna. Cavia N. 5. Susa Em. Ferriem. Omal 2, obiettivo 10.

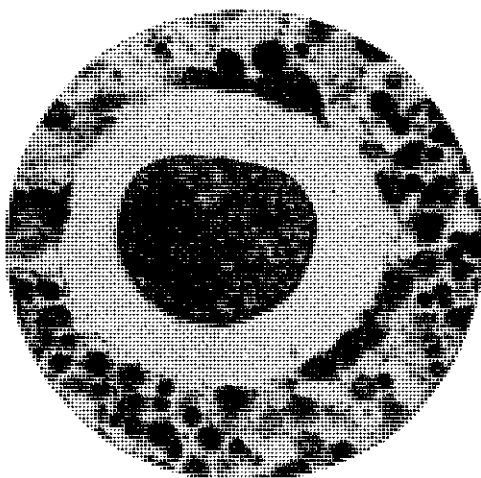


FIG. 4.

Omal III. Obiettivo 75. Mitosi pluripolare in uovo ovarico trattato con colchicina. Cavia cobaya. Susa Em. Eosina. Cavia N. 9.

BIBLIOGRAFIA

- AMOROSA E. C., « Nature », CXXXV, 226. 1935.
- ASAMI G., « Anat. Rec. », XVIII, 323. 1920.
- ASTALDI, ALLEGRI e MAURI, « Il Farmaco », ottobre 1947.
- ATHIAS M., « Anat. Anz. », XXXIV, 1, 5. 1909.
- « Arch. Anat. Micr. », XXV, 403. 1929.
- ALLEN E., SMITH G. M. e GARDNER W. V., « Endocrinology », XXI, 412, 413. 1937.
- « Am. Jour. of Anat. », LXI, 321. 1937.
- BASTENIE P. e ZYLBERSZAX S., « C. R. Ass. Biol. », CXXVII, 822. 1938.
- BALBIANI E., « C. R. Ac. Sc. », LXIII. 1864.
- BONNET E., « Erg. Anat. Entw. », IX. 1899.
- BOUIN P., « C. R. Soc. Biol. », LII, 17. 1900.
- BRANCA A., « La Cellule », XXXIV, 53. 1924.
- « C. R. Ass. Anat. », XVII, 59. 1922.
- BUJARD E. e ICKOWCZ M., « Bull. Hist. Applic. », XII, 373. 1935.
- BUSHNELL R. J., « Anat. Rec. (suppl.) », LXXII, 97. 1938.
- BRANCA A., « Biol. », XXXV, 325. 1926.
- BRUES A. M., « J. of Physiology », LXXXVI, 63. 1936.
- BRUES A. M. e COHEN A., « Biochem Hour », XXX, 1363. 1936.
- BRUES A.M. e JACKSON E. B., « Am. J. Cancer. », XXX, 504. 1937.
- CLEARING P. A., « Jour. Path and Bact », XLIV, 469. 1937.
- COSTANTIN TH., « Bull. Hist. appl. », XVII, 97. 1940.
- CARNOT P. e MAY R. M., « C. R. Soc. Biol. », CXXVIII, 641. 1938.

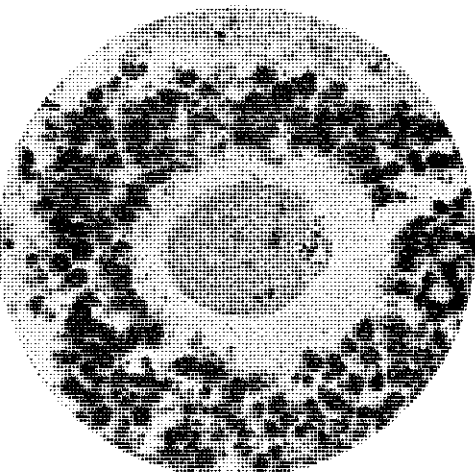


FIG. 5.

Omal III. Obiettivo 45. Ammassi di cromosomi sparsi nel citoplasma dell'ovocita alcuni dei quali depositi in mitosi. Cavia n. 9. Em. Ferriera, Susa.

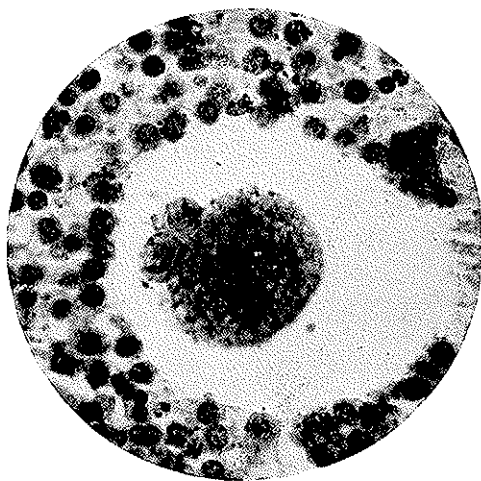


FIG. 6.

Globuli polari. Omal III. Obiettivo 45. Residui di cromosomi nel citoplasma. Cavia N. 7. Susa Em. Ferriera.

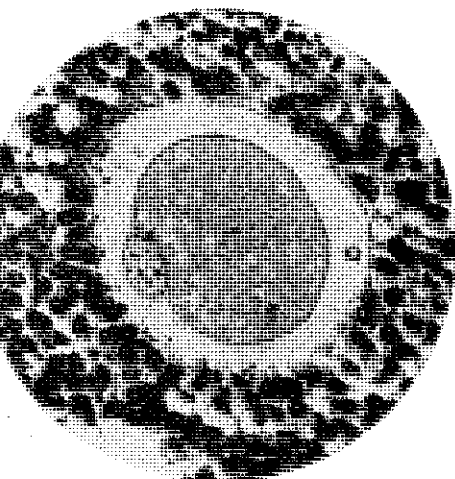


FIG 7.

Globuli polari. Cavia 7. Omal III. Obiettivo 45. Susa Em. Eosina.



FIG 8.

Segmentazione di uovo in porzioni alcune nucleate. Omal II. Obiettivo 20. Susa Em. Eosina. Cavia 5.

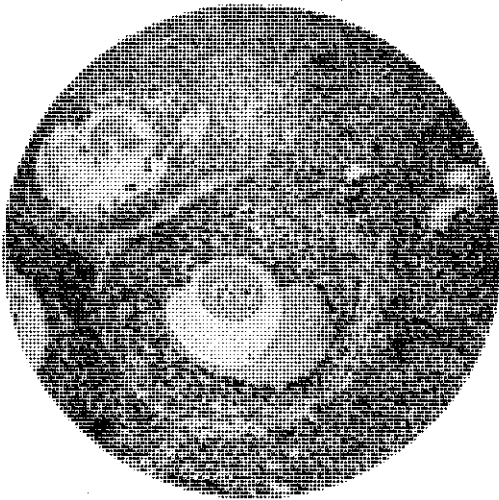


FIG. 9.

Ovocita binucleato. Susa ematossilina eosina.
Cavia 4. Susa emat. Eosina Oculare. Omal II.
Obiettivo 10.

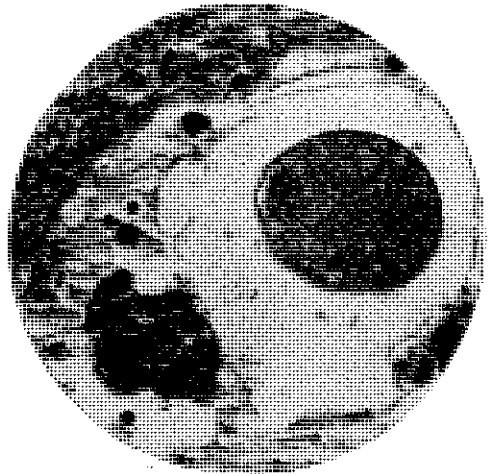


FIG. 10.

Cromosomi ammassati ad un polo o sparsi nel
citoplasma. Nella cavità del follicolo ammassi
di cellule rigenerate dalla teca interna, a carat-
tere sinciziale. Omal III. Obiettivo 45. Susa Em.
Ferrica. Cavia 9.

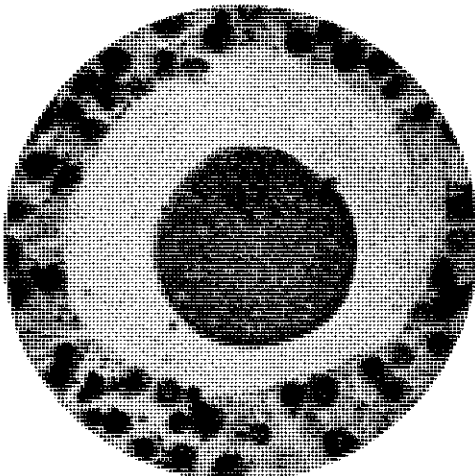


FIG. 11.

Globuli polari, ammasso di cromosomi nel cito-
plasma. Cavia 3. Omal III. Obiettivo 75. Susa
Em. Eosina.

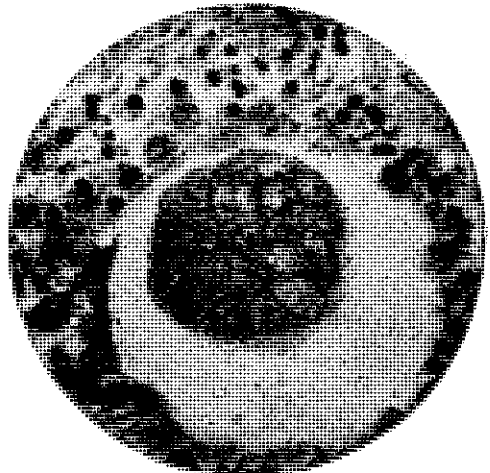


FIG. 12

Segmentazione di uovo in varie porzioni ineguali
con piccoli ammassi di cromosomi sparsi nel ci-
toplasma. Cavia 9. Omal III. Obiettivo 45. Susa
Em. Ferrica.

BIBLIOGRAFIA

- AMOROSA E. C., «Nature», CXXXV, 226. 1935.
- ASAMI G., «Anat. Rec.», XVIII, 323. 1920.
- ASTALDI, ALLEGRI e MAURI, «Il Farmaco», ottobre 1947.
- ATHIAS M., «Anat. Anz.», XXXIV, 1, 5. 1909.
- «Arch. Anat. Micr.», XXV, 403. 1929.
- ALLEN E., SMITH G. M. e GARDNER W. V., «Endocrinology», XXI, 412, 413. 1937.
- «Am. Jour. of Anat.», LXI, 321. 1937.
- BASTENIE P. e ZYLBERSZAX S., «C. R. Ass. Biol.», CXXVII, 822. 1938.
- BALBIANI E., «C. R. Ac. Sc.», LXIII. 1864.
- BONNET E., «Erg. Anat. Entw.», IX. 1899.
- BOUIN P., «C. R. Soc. Biol.», LII, 17. 1900.
- BRANCA A., «La Cellule», XXXIV, 53. 1924.
- «C. R. Ass. Anat.», XVII, 59. 1922.
- BUJARD E. e ICKOWCZ M., «Bull. Hist. Applic.», XII, 373. 1935.
- BUSHNELL R. J., «Anat. Rec. (suppl.)», LXXII, 97. 1938.
- BRANCA A., «Biol.», XXXV, 325. 1926.
- BRUES A. M., «J. of. Physiology», LXXXVI, 63. 1936.
- BRUES A. M. e COHEN A., «Biochem Hour», XXX, 1363. 1936.
- BRUES A.M. e JACKSON E. B., «Am. J. Cancer.», XXX, 504. 1937.
- CLEARING P. A., «Jour. Path and Bact», XLIV, 469. 1937.
- COSTANTIN TH., «Bull. Hist. appl.», XVII, 97. 1940.
- CARNOT P. e MAY R. M., «C. R. Soc. Biol.», CXXVIII, 641. 1938.

- CAVALLERO C., «Tumori», XXV, 506. 1939.
- «Arch. it. Med. Sper.», II, 389. 1938.
- COURNEI R., «Arch. Anat. Hist. Embr.», II, 455. 1923.
- COURNEI R. e OBERLUNG, «Boll. Soc. Anat.», 724. 1923.
- CHAPPELLIER A., «C. R. Soc. Biol.», XVI, 543. 1909.
- CLARK E. B., «The Anat. Rec.», XXV, 313. 1923.
- CHAMPY, «C. R. Soc. Biol.», XCVI, 1103. 1927.
- DIXON V. E., London, 1906 pag. 95.
- DUSTIN A. P., «C. R. Soc. Biol.», LXXXV, 23. 1921.
- DIXON W. E. e MALDE W., «J. Physiol.», XXXVII, 50. 1903.
- DUSTIN A. P., «Arch. Anat. Micr.», XXI, 37. 1929.
- DUSTIN e CHODKOWSKY K., «C. R. Ass. Anat.», 170. 1937.
- DUSTIN A. P., HAVAS L. e LITS F., «C. R. Ass. Anat.», XXXII, 177. 1937.
- DER STRICHT V., «Verh. Anat. Gesell.», 1901 pag. 108.
- DEMPSEY F. V., «Am. J. Physiol.», CXX, 126. 1937.
- «Anat. Rec.», LXXXV, 223. 1939.
- ENGLE E. T., «Anat. Rec.», 341. 1927.
- «Am. Jour.», XXXIX. 1927.
- GUINOCHE M., «Bull. Hist. Appliquee», XVIII, 213. 1941.
- HAÄGSTRÖM P., «Act. Gynec. Scand.», I. 1922.
- HARTMANN C., «Am. Jour. Anat.», XXXVII, 1. 1926.
- HENNEGUY F., «C. Ren.», CXVI. 1893.
- «Jour. de l'Anat. et de la Physiol.», XXX, 43. 1864.
- JCKOWICZ M., «C. R. Soc. Biol.», CXIX, X, 34. 1935.
- KINGENY H. M., «Biol. Bull.», CCXL, 243. 1914.
- KRAFKA J. Jr., «Anat. Rec.», XIX, 21. 1939.
- KINGSBURY B. F., «The Am. Jour. Anat.», CXV, 309. 1939.
- KAMPEINER O. F., «Am. Jour. Anat.», XLIII, 45. 1929.

- LITS F. J., «C. R. Soc. Biol.», CXV, 1421. 1934.
- «C. R. Soc. Biol.», CXVIII, 393. 1935.
- LOEB L., «Jour. Med. Res.», VI, 39. 1901.
- «The Anat. Rec.», LI, 372. 1932.
- MYERS H. I., YOUNG W. C. & DEMPSEY E. W., «The Anat. Rec.», LXV, 381, 401. 1936.
- MAC DONALD E. & LOG J. A., «The Ant. Jour. Anat.», LV, 343. 1934.
- MAYER CH., «C. R. Ass. Anat.», XXV, 402. 1932.
- NEWMANN H. H., «Biol. Bull.», XXV, 1913.
- PAFF G. H., «Am. J. Anat.», LXIV, 331. 1939.
- PALADINO G., «Mon. Zool. It.», V, 140. 1894.
- SNEIDER M. E., «The Anat. Rec.», LXX, 13. 1937.
- SEYLE H., «The Anat. Rec.», LXXV, 59. 1939.
- SMITH SENTIMA C., «Am. Jour. of. Anat.», XXXV, 254. 1925.
- SANSOM «Jour. of. Anat.», LV, 1. 1920.
- YOUNG W. C., DEMPSEY W., MYERS H. I. & HAQUIST C. W., «Am. Jour. Anat.», LXIII, 457. 1938.
- PETHNARI, «C. R. Soc. Biol.», XCII, 1294. 1925.
- WALDO C. M. & WUNSATT W. A., «Anat. Rec.», XCIII, 363. 1945.