

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCC.
1903

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XII.

2° SEMESTRE.



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1903

Zoologia. — *Ulteriori studi sulla Filaria immitis, Leidy* (1).
Nota preliminare del dott. G. NOÈ, presentata dal Socio B. GRASSI (2).

Ho continuato nell'estate scorsa, e sto tuttora proseguendo, gli studi sopra la *Filaria immitis*, in particolar modo dal lato biologico.

Nella mia precedente Memoria: *Sul ciclo evolutivo della Filaria immitis* ecc. (3) avevo lasciato insolute alcune questioni, di importanza biologica non secondaria, tra cui l'esplicazione ampia e precisa del meccanismo di migrazione delle larve adulte dall'ospite intermedio all'ospite definitivo e l'essenza del fenomeno mirabile, per cui la *Filaria immitis* — e per ciò anche la *Filaria Bancrofti* — al termine della sua evoluzione larvale, si avvia direttamente al *labium* delle zanzare dalle quali è ospitata.

Quanto al primo punto, debbo innanzi tutto dichiarare, come le ultime ricerche confermino pienamente le mie precedenti, estesamente riportate nella Memoria citata, fornendo la dimostrazione inoppugnabile dell'ipotesi già da me emessa sulla deposizione frazionata dei nematodi sotto la cute del cane. Il fatto, riassunto brevemente, si compie nel seguente modo.

Le filarie, raccogliendosi nel *labium*, determinano, come è noto, la distensione della cuticola dorsale e l'obliterazione più o meno completa della doccia e contribuiscono perciò a produrre, insieme col piegamento dell'organo, la lacerazione della cuticola stessa, all'atto della puntura. Però, la fuoruscita dei nematodi non avviene d'un tratto e contemporaneamente, ma per gradi ed in numero che non ho mai riscontrato maggiore di uno per volta. Senza escludere a priori che essi possano abbandonare il *labium* a due a due, vedremo tra poco la ragione meccanica di un fatto così singolare. Per ora, mi interessa di porre in rilievo la cosa, la quale, così come è riepilogata, si compie sempre nel caso normale, ossia quando l'infezione dell'ospite intermedio consegue realmente lo scopo utile alla specie parassita, che sta appunto nella piena riuscita dell'atto migratorio.

Ciò lascia chiaramente comprendere che il caso opposto non è vantaggioso al parassita. E così è infatti.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata della R. Università di Roma.

(2) Presentata nella seduta dell'8 novembre 1903.

(3) Ricerche fatte nel Laboratorio di Anatomia normale della R. Università di Roma ed in altri Laboratori biologici, vol. VIII, fasc. 3 e 4, 1901. Vedi inoltre: B. Grassi e G. Noè, *Propagazione delle Filarie del sangue esclusivamente per mezzo della puntura di peculiari zanzare*, 1^a Nota preliminare, nei Rendiconti della R. Accad. dei Lincei, vol. IX, 2^o sem., serie 5^a, fasc. 5, anno 1900 — G. Noè, id. id., 2^a Nota preliminare, Rend. R. Accad. dei Lincei, vol. IX, 2^o sem., serie 5^a, fasc. 12, anno 1900 — G. Noè, id. id., Rend. R. Accad. dei Lincei, vol. IX, 1^o sem., Serie 5^a, fasc. 8, anno 1901.

Quando il numero delle filarie nel *labium* è soverchio, questo, già al suo primo piegarsi, si fende lungo la parete dorsale e, per lo più, nella sua seconda metà. — In un solo caso, in cui l'accumulo dei nematodi era singolarmente considerevole, la lacerazione si è prodotta alla base. — Allora le larve prorompono ad un tratto e tutte insieme dalla lacerazione, venendo a cadere sulla superficie cutanea o su qualsiasi altra, sulla quale si effettui l'operazione. E qui, noi assistiamo ad un fenomeno facile a prevedersi e che io infatti avevo già intuito durante i miei studi precedenti, ossia alla morte delle filarie fuoruscite.

Le larve adulte di filaria non sono menomamente difese contro la siccità, e tale è appunto lo stato svantaggioso dell'ambiente nel quale vengono a trovarsi, nelle anzidette circostanze. Ben presto perciò si raggrinzano e disseccano. Ciò ho osservato tanto sulla pelle e sulle mucose del cane, quanto sulla pelle umana e sia in seguito alla fuoruscita spontanea delle larve, avvenuta per la puntura della zanzara, sia in seguito alla lacerazione del *labium*, provocata artificialmente sul posto, previa perforazione della cute mercè un ago di diametro abbastanza grosso.

Si domanderà ora se ciò che non avviene sulla pelle arida, possa invece compiersi sulla pelle bagnata, ovviando cioè all'inconveniente della siccità. Ed anche a questo posso con tutta sicurezza rispondere negativamente, in base ad esperienze fatte, anche in questo caso, sul cane e su me stesso.

Tutti questi esperimenti, dei quali ora non riferisco che i risultati, saranno estesamente descritti nella Nota definitiva che stenderò tra poco.

Mi ero proposto di vedere se, nelle circostanze surriferite, l'invasione dell'ospite potesse avvenire sulle mucose naturalmente umide e precisamente su quella del naso, ma non sono riuscito nell'intento, non ostante molte prove, per il motivo che alla puntura segue immediatamente la reazione dell'animale ed il leccamento della parte offesa, e, d'altra parte, legando strettamente il muso, la mucosa si inaridisce ben tosto, sia per l'aumentato calore, sia per la respirazione, divenuta più rapida.

Del resto, l'obiezione che potrebbe sollevarsi a questo riguardo, mi sembra possa rimuoversi facilmente, pensando appunto che una zanzara non riuscirà mai, per il medesimo motivo, a posarsi, o quanto meno a condurre innanzi l'operazione della puntura, appena l'abbia iniziata, su di una parte dell'organismo tanto sensibile.

Eliminata così la possibilità che la penetrazione nell'ospite avvenga attivamente per opera dello stesso parassita, facentesi strada per il foro praticato dalla zanzara, vediamo come essa si eseguisce realmente.

Dirò subito che il meccanismo è effettivamente quale è stato supposto da me, ne' miei studi precedenti, inducendolo da circostanze e da fatti svariati (vedi op. cit. pagg. 331 e 332). Le filarie, cioè, vengono trascinate dagli stilette entro la ferita e quivi abbandonate; e siccome la zanzara non

può, durante questa operazione, succhiare sangue, così, alla prima, fa seguire una seconda puntura e così via di seguito, finchè non si sia sbarazzata degli incomodi ospiti; donde deriva una sorta di disseminazione dei parassiti sulla superficie del corpo.

Ma, si domanderà, come avviene che le filarie escano successivamente, ossia per gradi, e non contemporaneamente, posto che la causa determinante la loro emissione è la lacerazione della cuticola dorsale del *labium*? Qualche cosa ne avevo già detto nella mia precedente Memoria a pag. 328. Ora però sono in grado di rispondere con maggior sicurezza e precisione alla domanda, poichè sono riuscito più volte ad osservare il meccanismo naturale di uscita, producendo cioè, sotto la lente, tutti gli atti che precedono il succhiamento del sangue.

È necessario, all'uopo, metterla in un'immobilità assoluta, senza tuttavia ricorrere ad anestetici — i quali spesso influiscono anche sui nematodi — il che si ottiene, staccandogli le ali e le zampe; adagiarlo sul vetrino porta-oggetti, a contatto di una gocciola di soluzione fisiologica e tentar di provocare il ripiegamento del *labium* nel seguente modo: tenendo fermo il torace senza comprimerlo, il che si può fare posponendo al dorso semplicemente una lancetta ed esercitando, all'estremità della proboscide, una dolce spinta in senso centripeto, mercè un oggetto delicato, incapace di lacerare, quale sarebbe ad esempio un rotolino di carta bibula, imbevuta pure di soluzione fisiologica, od un pennellino. L'operazione non è difficile ad eseguirsi, con un po' di esercizio.

Ove si riesca nell'intento, si assiste ad un fatto, che, per esser ben compreso, ha duopo di alcune spiegazioni preliminari.

Oltre alla curvatura che si produce, e perdura durante la succhiatura del sangue, verso la metà della proboscide (vedi fig. a) colla concavità rivolta verso gli stilette, se ne effettua un'altra, in senso inverso, all'estremità, nel punto ove l'*oliva* si articola al *labium*.

L'*oliva*, come ognuno sa, è costituita di due metà, *semiolive*, articolantesi al *labium*. Tra queste, giace la *linguetta*, la quale va restringendosi ed assottigliandosi verso l'estremità.

Essa continua appunto il piano superiore ed inferiore del *labium*, i quali convergono all'estremità e dorsalmente è pure foggiate a doccia, non altrimenti di questo. Si noti, che essa non è articolata al *labium*, come lo sono le due *semiolive*. In posizione di riposo, essa giace nel vano lasciato da queste ed accoglie nella sua doccia l'estremità del mazzo degli stilette, il quale è fiancheggiato e, per grande parte, coperto dalle *semiolive*.

Quando la zanzara punge, gli stilette abbandonano la loro sede normale nella doccia labiale (o per meglio dire questa si scosta da quelli), ma non quella che occupano in riposo nella regione dell'*oliva*; il che può avvenire appunto in grazia dell'articolazione tra le *semiolive* ed il *labium*; per questo

motivo, al luogo dell'articolazione si forma una curvatura in senso opposto alla mediana, ossia a concavità ventrale.

Orbene, la linguetta, durante la puntura, si comporta diversamente dalle semiolive, poichè la sua cuticola dorsale si curva soltanto in virtù della sua



FIG. a.

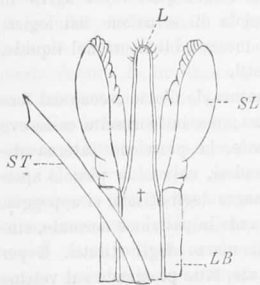


FIG. b.

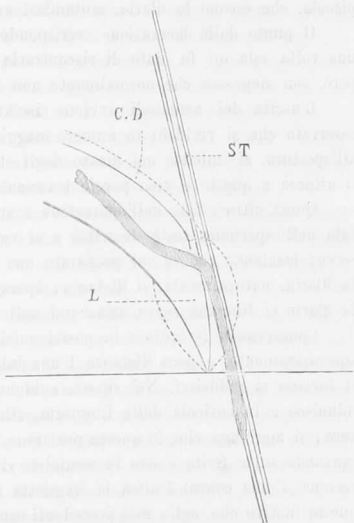


FIG. c.

La fig. a, tolta dalla mia Memoria precedente, rappresenta un'*Anopheles* in atto di succhiare.

La fig. b, tolta da Ficalbi, rappresenta l'estremità della proboscide, veduta dorsalmente. Le varie parti sono scostate un poco tra di loro per rendere più evidenti i rapporti. LB: *Labium* colla doccia dorsale; St: uno degli *Stiletti* spostato dalla doccia; SL: *Semiole* articolantesi col *labium*; L: *Linguetta*. La crocetta indica il luogo ove si produce la lacerazione della cuticola.

La fig. c è una ricostruzione schematica del meccanismo di inoculazione delle *Filarie*. L: *Linguetta*; St: mazzo degli *Stiletti*; Cd: *Cuticola* della doccia. La sezione longitudinale si immagina praticata secondo il piano mediano.

La linea tratteggiata rappresenta i contorni, prima, del margine della doccia, poi, della semiole di sinistra; questi contorni giacciono, naturalmente, in un piano più profondo di quello corrispondente alla sezione longitudinale.

Debbo avvertire che, per necessità di dimostrazione, ho dovuto esagerare lo spazio che giace tra il piano cuticolare dorsale ed il piano cuticolare ventrale della linguetta e tener l'estremità di questa lontana dal mazzo degli stiletti, mentre la sua cuticola dorsale, nell'atto della puntura è effettivamente, in totalità, a contatto cogli stiletti che vi scivolano sopra.

flessibilità; così avviene che questa, per essere molto delicata e sottoposta a grande tensione, — occupa infatti il lato convesso della piega e riceve i colpi dei nematodi, spinti all'estremità dalla grande piega del *labium*, avanzantesi dalla base — si lacera molto facilmente, ogniqualvolta si eseguisca l'operazione descritta dianzi. Ed è appunto per questa apertura, sempre molto piccola, che escono le filarie, aiutandosi anche coi propri movimenti.

Il punto della lacerazione corrisponde alla crocetta segnata nella fig. *b*; una volta sola mi fu dato di riscontrarla più in basso. Si può affermare, però, con sicurezza che normalmente non si produca mai al disopra.

L'uscita dei nematodi avviene isolatamente; almeno, io non ho mai osservato che si verifici in numero maggiore. Il nematode, appena affacciato all'apertura, si imbatte nel mazzo degli stilette, che scivola sulla linguetta, si attacca a questo e vien perciò trascinato nella ferita.

Quest'ultima fase dell'operazione è stata da me chiaramente constatata nell'esperienza testè descritta e si verificava ogni qual volta agivo in secco; lasciando cadere sul preparato una gocciola di soluzione fisiologica, la filaria, naturalmente, si distacca; operando invece addirittura nel liquido, le filarie si liberano senza attaccarsi agli stilette.

Conservando il *labium* in posizione di puntura, le filarie escono dal foro successivamente, a poca distanza l'una dall'altra; ma la fuoriuscita cessa ove il *labium* si raddrizzi. Nel riposo, evidentemente, la pressione interna diminuisce e la cuticola della linguetta, rilasciandosi, chiude la piccola apertura; si aggiunga che, in questa posizione, il mazzo degli stilette si appoggia, gravando, sulla ferita e che le semiolive ritornando in posizione normale, rinserrano l'una contro l'altra la linguetta ed il mazzo degli stilette. È per questo motivo che, nelle mie precedenti esperienze, fatte premendo sul vetrino coprioggetto, le filarie schizzavano fuori innanzi al punto indicato nella fig. *c*, e quando l'eliminazione loro avveniva nella regione dell'oliva, era localizzata sempre all'estrema punta delle due metà di essa.

In sostanza, le mie recenti esperienze, mentre confermano ciò che ho pubblicato nella precedente Memoria, quanto al meccanismo fondamentale di migrazione passiva delle larve, ne precisano meglio tutti gli atti (1), almeno nella successione normale dei fatti che accompagnano lo sviluppo di questo nematode.

(1) Osservo che, di tutti coloro i quali si sono occupati delle Filarie ematiche, chi si è più avvicinato alla verità, quanto al meccanismo di uscita messo ora in luce da me, è stato il Dutton, nel *Journal of Tropical Medicine* del 15 Agosto, (n. 16, vol. IV), 1901. Egli, per altro, è nel vero soltanto quando suppone che la lacerazione si produca verso l'estremità della proboscide, poichè la spiegazione che egli dà del meccanismo è affatto priva di fondamento. Il punto di minor resistenza esiste, è vero, ma in corrispondenza alla *cuticola dorsale* della linguetta non al punto da lui indicato; sorpassato il quale, le filarie si troverebbero sempre rinchiuso nella cavità della linguetta stessa.

Di più, posso affermare:

I. Che il passaggio dall'uno all'altro ospite ha luogo soltanto allorchè la lacerazione si produce nella regione indicata, là dove gli stiletti urtano contro la cuticola.

II. Che ogni qual volta la lacerazione si produce altrove, i nematodi, versati fuori d'un tratto ed in grande copia, vanno irremissibilmente perduti.

La prima condizione si verifica quando il numero dei nematodi non è soverchio (8-10 all'incirca). Che se esso è troppo elevato, il *labium*, sottoposto a grande turgore, si fende al suo primo piegarsi, come si è veduto. Ciò accade quando la maturazione delle larve e la conseguente invasione del *labium* incominciano subito dopo un pasto, nel quale caso il tempo intercedente tra questo e il successivo è abbastanza lungo (36-48 ore, Grassi) da permettere a quelle di accumularsi nel *labium* in grande numero.

Questo fatto assume vero carattere di coefficiente di limitazione, da aggiungersi a quello, già così sorprendente, della elevata percentuale di morti tra gli *Anopheles* infetti ai primi ed agli ultimi stadi ed all'altro della dispersione delle larve adulte in ospiti inopportuni. Ricordo, a proposito di questo fattore di limitazione, recentemente venuto alla luce e che deve agire molto potentemente, i casi numerosi occorsimi ne' miei studii precedenti, nei quali l'infezione è mancata, non ostante che i cani fossero stati punti da zanzare infettate appositamente in laboratorio (vedi op. cit. Parte sperimentale). Il fatto mi aveva molto preoccupato ed era rimasto senza spiegazione; ora possiamo con molta verosimiglianza ritenere che tali zanzare non abbiano potuto trasmettere l'infezione, causa il soverchio accumulo di nematodi nel *labium*, tanto più che è oltremodo facile che tale eventualità si verifichi in zanzare mantenute in cattività e lontane dal contatto cogli animali. Mi è accaduto di contare una volta trenta larve all'incirca, tra quelle contenute nel *labium*, ridotto ad un vero sacco cilindrico, nei palpi e nel capo; altre ve ne erano nel torace, le quali facevano ressa allo stretto passaggio del collo (porzione ristretta del protorace). E ovvio che l'eventualità in discorso dipende dall'entità dell'infezione contratta dalla zanzara.

Si comprende ora facilmente la ragione di un fatto, rimasto alquanto oscuro nella mia precedente Memoria.

Ho quivi rilevato (p. 335) come nei tuboli malpighiani gli stadii più avanzati si rinvergono quasi sempre verso l'estremità distale, mentre mano a mano che si risalgano questi organi, s'incontrino larve più arretrate nello sviluppo. Ciò anche in quei casi in cui l'infezione è contratta in una sola puntura. La causa della non contemporaneità dello sviluppo sta certamente nel disagio provocato dalla presenza di un numero abbondante di individui in uno spazio relativamente ristretto. Ma aggiungevo: « la ragione, poi, per cui anche in quei casi nei quali il numero dei parassiti è relativamente

piccolo, giungano in precedenza a completo sviluppo quelli giacenti alla estremità libera dei tubi malpighiani, non mi riesce ancora chiara - .

Ormai, dopo quanto ho detto sui pericoli derivanti alla specie parassita da un soverchio accumulo di filarie nel *labium*, la cosa è pienamente spiegata, se non nelle sue intime cause, nella sua relazione coi fatti successivi.

Passiamo al secondo punto.

La questione che mi sono proposta è la seguente:

Qual'è il determinismo del particolare spostamento delle larve adulte, le quali abbandonati i tubi malpighiani si avviano e si raccolgono inevitabilmente alle regioni poste più all'innanzi del corpo della zanzara? Questo fenomeno, che ha in sè qualche cosa di meraviglioso, ove lo si colleghi alla migrazione definitiva che sarà per compiersi, sta a rappresentare una semplice reazione del nematode ad uno stimolo che parta dall'ambiente, chimico o fisico esso sia, o l'atto di una volontà, che abbia recato seco dalla nascita un carattere di necessità, quale sarebbe quello di un istinto specifico (1)?

Veramente, mi era sorto il dubbio che nel primo, più che nel secondo punto, dovesse ricercarsi la ragione del fenomeno ed aveva supposto non fosse questo altro che un esempio di *geotropismo negativo*, così diffuso nel mondo animale. Il nematode, in questo caso, si sarebbe innalzato, in opposizione alla forza di gravità, che, data la disposizione ordinaria del corpo della zanzara, tenderebbe a farlo abbassare, ed elevandosi, avrebbe raggiunta la proboscide che occupa infatti la posizione più alta. Noto di passaggio, che devesi escludere ogni azione chemiotattica, e per la mancanza nel *labium* di organi particolari, capaci di esercitarla, e perchè è facilissimo riscontrare filarie nei palpi, oltrechè nel *labium*.

Gli esperimenti fatti al riguardo hanno però risposto negativamente a questa ipotesi, poichè, non ostante che io mantenessi dal nono giorno in poi — dal giorno, cioè, in cui, durante l'estate, le filarie compiono la muta e si accingono ad uscire — le zanzare in posizione orizzontale o che le appendessi, mercè un filo, col capo all'ingiù, i nematodi hanno sempre, ciò non ostante, raggiunta la loro sede ordinaria.

Si potrebbe tuttavia pensare che la causa anzidetta se non agisce attualmente sia però stata, in origine, il vero stimolo al movimento in quella data direzione e che abbia poi, colla continua ripetizione dell'atto, determinato un vero istinto speciale, incapace ormai di esplicitarsi diversamente.

(1) Grandissimo numero di parassiti offrirebbero materia di studio a proposito dei loro istinti; si intende che le considerazioni che faccio in questo luogo si riferiscono soltanto alla *Filaria immitis*.

Nella Nota definitiva, di prossima pubblicazione, svilupperò meglio le idee qui espresse.

mente. Disgraziatamente, non posso venire al riguardo ad una conclusione decisiva, poichè l'esperienza ora descritta vien complicata e lo stimolo direttivo forse integrato da un'altra forza, ossia dalla corrente sanguigna dell'insetto, avviata appunto in senso inverso. Non è improbabile, anzi è molto verosimile che il nematode si avvii al capo in opposizione a questa corrente e, siccome tale stimolo agisce ora anche attualmente, così è facile comprendere come non possa definirsi con precisione la causa ricercata.

Tuttavia, non volendo cadere in una spiegazione teleologica, dobbiamo pur ammettere che la causa debba sussistere in una delle ipotesi accennate e forse anche nella coincidenza di tutte.

Fisiologia. — *Critica sperimentale delle ipotesi emesse per spiegare l'iperglobulia dell'alta montagna.* Nota II del dott. CARLO FOÀ, presentata dal Socio A. Mosso (1).

Alla ipotesi che i mutamenti del sangue sulle Alpi siano costituiti da una vera iperglobulia da neoformazione di corpuscoli rossi venne già fatta la seguente obbiezione: Come può una tale iperglobulia scomparire in un tempo tanto breve (36 ore e anche meno), quando l'individuo ritorna al piano, senza che si abbia emoglobinuria in causa di tanta distruzione di corpuscoli rossi?

Guidato da questo concetto intrapresi qualche ricerca per vedere se non fosse possibile di trovare nell'urina e negli organi di animali ritornati dall'alta montagna, le tracce di una forte distruzione di corpuscoli rossi.

A tale scopo feci la ricerca microchimica del ferro nel fegato, nella milza, e nel midollo delle ossa, e dosai l'urobilina dell'urina. Questa infatti si origina, secondo le vedute più accreditate, dai pigmenti ematici. Per evitare gli effetti della fatica avrei dovuto studiare l'urina degli animali che vennero portati in casse sul Monte Rosa, ma sarebbe stato troppo complicato il trasporto di gabbie adatte a raccogliere l'urina delle 24 ore, perciò studiai le urine emesse da me stesso sul Monte Rosa e nei giorni del ritorno al piano. Pur non avendo mantenuto un regime costante di alimentazione potei constatare che l'urobilina emessa nelle 24 ore è pressochè indipendente dalla qualità dei consueti cibi ingeriti.

Secondo le ricerche di Mac Menu e di Sallet, non esiste nell'urina normale urobilina, sibbene un cromogeno che si trasforma in urobilina per azione dell'aria e della luce. Perciò tutte le operazioni necessarie alla determinazione

(1) Lavoro eseguito nella quarta spedizione sul Monte Rosa diretta dal prof. A. Mosso.