

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIV.

1907

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVI.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1907

Patologia. — *Sul meccanismo di scomposizione in vitro del virus rabido per mezzo del radio.* 7^a Comunicazione preventiva del Socio GUIDO TIZZONI e del dott. ALESSANDRO BONGIOVANNI.

Il Rehns fu il primo a dimostrare che il radio esercita un'azione scomponente in vitro sul virus rabido. Infatti, in una breve Nota ⁽¹⁾ che precedette di pochi giorni la nostra prima Comunicazione preventiva sullo stesso argomento ⁽²⁾, e nella quale sono riferite alcune ricerche fatte, dall'Autore insieme al Viala, preparatore dell'Istituto Pasteur, il Rehns annunciò che il radio scompone nella provetta il virus fisso, e che tale scomposizione è dovuta essenzialmente alle emanazioni, mentre le radiazioni non vi prendono parte alcuna.

A questo fine egli provò che 1 cc. di emulsione di virus fisso filtrato per carta, introdotta in una piccola ampolla di vetro nella quale era fatto il vuoto, perde dopo 24 ore ogni potere patogeno, quando è messa successivamente in comunicazione con un'altra ampolla contenente 30 milligrammi di bromuro di radio sciolto in 5 cc. di acqua distillata, mentre i controlli operati con lo stesso virus mantenuto in identiche condizioni di temperatura muoiono in tempo normale.

Invece qualche goccia di emulsione di virus fisso posta in un sottile tubo di vetro e tenuta per 72 ore sopra la solita scatoletta contenente 10-20 milligrammi di bromuro di radio, ma a $\frac{1}{2}$ cm. di distanza dalla superficie radiante, conserva inalterata tutta la sua virulenza.

Quindi nel primo caso le emanazioni che si sprigionano da una soluzione di radio, trascinate dal vuoto, avrebbero determinata la scomposizione completa del virus, mentre nel secondo la stessa emulsione mantenuta sotto le radiazioni e fuori della sfera d'azione delle emanazioni, che allora si riteneva erroneamente sollevarsi solo a breve altezza dalla superficie radiante, rimane inalterata. Da ciò, appunto, il Rehns si credè autorizzato a concludere che la scomposizione in vitro del virus rabido è dovuta intieramente alle emanazioni.

⁽¹⁾ Rehns, *Sur quelques effets du radium*, Compt. rend. de la Société de biologie, Séance du 18 mars 1905, pag. 491.

⁽²⁾ Tizzoni e Bongiovanni, *L'azione dei raggi del radio sul virus rabido in vitro e nell'animale*, 1^a Comunicazione preventiva letta alla R. Accad. delle Scienze di Bologna nella seduta del 9 aprile 1905, Rendiconti, anno 1904-1905; Riforma Medica, anno XXI, num. 18.

Quanto siano attendibili tali conclusioni, specie per quello che riguarda gli esperimenti diretti a conoscere l'influenza delle radiazioni sul virus rabido, questo fu già detto in altra occasione ⁽¹⁾.

Noi, per parte nostra, abbiamo potuto pienamente confermare la importanza che hanno le emanazioni nella scomposizione in vitro del virus rabido: soltanto, mentre fu provato nell'animale, in modo diretto ed assoluto, che l'azione curativa del radio nella rabbia è dovuta alle sole radiazioni, come lo dimostrano le guarigioni ottenute nel coniglio con campioni di radio chiusi in tubo di vetro saldato alla lampada in cui le emanazioni sono rigorosamente escluse, invece nelle esperienze in vitro ci limitammo a dare ragione del fenomeno con prove indirette, dimostrando che manca tale scomposizione del virus rabido tutte le volte in cui siano assolutamente eliminate le emanazioni.

Ciò fu da noi provato in due modi: sia impedendo la fuoriuscita delle emanazioni dall'apparecchio chiudendolo in una scatola di piombo a perfetta tenuta e saldando con mastice a caldo un sottile vetrino copri-oggetti in corrispondenza di un foro lasciato nella scatola stessa al disopra della superficie radiante in modo da aversi il libero passaggio delle radiazioni; sia impedendo che le emanazioni arrivassero in contatto coll'emulsione del virus col chiudere ermeticamente la bocca della provetta di alluminio mediante un tappo di vetro saldato collo stesso mastice. Nell'un caso e nell'altro il virus conservò tutta la sua potenza, anche quando fu esposto al radio per 24 ore anziché per 6, per un tempo cioè 4 volte maggiore di quello necessario per aversi la scomposizione del virus in parola; provandoci con questo che la completa esclusione delle emanazioni impedisce che avvenga la scomposizione in vitro del virus rabido per mezzo del radio.

Terminate le ricerche sull'animale era quindi opportuno di riprendere a studiare tale questione per vedere se e quali effetti avessero sul virus rabido le sole emanazioni, e se per aversi la sua scomposizione, oltre alle emanazioni, occorresse anche il concorso delle radiazioni.

Il determinare poi le precise condizioni nelle quali avviene la scomposizione in vitro del virus rabido col mezzo del radio è cosa certo di grandissimo interesse; e non solo per la risoluzione di un problema scientifico, ma ancora per le applicazioni pratiche che potessero ricavarsi nella preparazione di un vaccino antirabico efficacemente sostituibile, e con qualche vantaggio, a quello che oggi comunemente si adopera.

A questo riguardo noi abbiamo prima esattamente ripetute le esperienze del Rehns, facendo pervenire in un tubo al vuoto in cui era contenuto 1 cc. di emulsione rabida filtrata le emanazioni che si sprigionano da una solu-

⁽¹⁾ Tizzoni e Bongiovanni, *Sopra alcune condizioni necessarie per aversi la scomposizione in vitro del virus rabido col mezzo del radio*, 6^a Comunicazione preventiva, Rendiconti della R. Accad. dei Lincei, vol. XV, serie 5^a, 2^o sem., fasc. 5^o.

zione di radio (2 ctg. bromuro di radio a 10.000 U. R. a centigrammo in 5 cc. di acqua distillata) e facendole rimanere per 24 ore, in ambiente freddo, in contatto colla ricordata emulsione.

Ma per quanto ripetessimo le esperienze, sempre negativi furono i risultati, essendo morti di rabbia, e nello stesso tempo dei controlli, i conigli operati sotto la dura madre col virus così trattato.

Con questo, peraltro, noi non intendiamo menomamente d'impugnare i risultati ottenuti a tale riguardo dal Rehns, sia perchè un fatto negativo non vale certo ad infirmarne uno positivo, sia perchè nei nostri esperimenti, dobbiamo riconoscerlo, noi abbiamo dovuto, in mancanza di meglio, usare una sorgente di emanazioni molto debole, assai più debole di quella adoperata dal Rehns.

Noi possiamo solo affermare che nelle nostre mani l'esperimento è fallito, e ciò non può dipendere che da due ragioni: o da non esserci messi nella ricerca nelle precise condizioni di quella del Rehns o da qualche errore che in questa ne abbia turbato il risultato.

Dato l'insuccesso ottenuto in questi primi tentativi, noi abbiamo creduto nostro dovere di esaminare la questione in tutta la sua larghezza, sperimentando separatamente colle emanazioni e colle radiazioni o con le une e le altre riunite insieme dopo averle artificialmente separate; e questo, tanto per soluzioni di radio che si sa emettere una quantità maggiore di emanazioni, quanto per radio allo stato solido contenuto nella solita scatola inglese, col quale appunto erano state fatte la maggior parte delle nostre precedenti ricerche.

In tali ricerche, poi, abbiamo operato sempre con virus fisso, che dava febbre alla fine della 4^a giornata o nel corso della 5^a e che uccideva costantemente in 6 $\frac{1}{2}$ -7 giorni, come quello che ci avrebbe permesso di concludere dopo un tempo minore di osservazione.

a) *Esperienze con sali di radio usati in soluzione.* — Per queste esperienze noi ci siamo valse dello stesso campione che aveva servito per quelle precedenti; la rispettiva soluzione fatta, come dicemmo, in 5 cc. di acqua distillata, era contenuta in un apparecchio analogo a quello produttore di emanazioni fabbricato dalla casa Armet de Lisle e del quale possiamo risparmiarci la descrizione rimandando alla figura e relativa descrizione date nell'ultimo catalogo della casa stessa.

Da tale apparecchio le emanazioni venivano condotte mediante un tubo di vetro attraversante un tappo di gomma fin quasi alla superficie della emulsione di virus posta nel fondo di una provetta nella quantità di $\frac{1}{2}$ cc. circa.

In una seconda serie di ricerche, al dispositivo sopra ricordato, si aggiungeva un secondo campione di radio chiuso in tubo di vetro (1), campione

(1) Questo campione che appartiene all'Istituto di Chimica di Bologna fu messo a

che veniva messo direttamente nella emulsione sottoposta alle emanazioni.

Finalmente in altre ricerche si faceva uso solo del detto campione chiuso in tubo di vetro saldato alla lampada che s'immergeva nell'emulsione di virus come nelle precedenti.

In tal modo nel primo caso si sperimentava solamente colle emanazioni, nel secondo colle emanazioni e radiazioni insieme e nell'ultimo esclusivamente colle radiazioni.

I risultati di queste ricerche furono i seguenti:

Tutti gli animali inoculati col virus sul quale avevano agito le sole emanazioni (2) per la durata di 24 ore morirono di rabbia contemporaneamente ai controlli; invece sopravvissero quelli (3) operati con virus esposto contemporaneamente, e per la stessa durata dei precedenti, alle emanazioni ed alle radiazioni: in ultimo morirono di rabbia come i controlli gli animali iniettati con emulsione esposta, sempre per lo stesso tempo, alle sole radiazioni.

Questo significa che le emanazioni e le radiazioni separate, nelle condizioni di esperimento in cui ci siamo posti, non hanno alcuna azione in vitro sul virus rabido; e che per ottenere la sua scomposizione occorre fare agire contemporaneamente sullo stesso virus le une e le altre insieme. Ciò troverà piena conferma nei risultati conseguiti con l'altra serie di esperimenti.

b) Esperienze con sali di radio usato allo stato secco. — In tali esperienze ci siamo valse di due campioni di radio che sapevamo, nelle condizioni accennate nelle nostre precedenti pubblicazioni, scomporre completamente il virus fisso dopo una esposizione di 6 ore.

Di questi campioni, uno, contenuto nella solita scatoletta modello inglese e costituito da 1 deg. di bromuro di radio a 500.000 U. R. a Ctg., serviva come sorgente per le emanazioni, l'altro, costituito da 2 Ctg. di bromuro di radio a 100.000 U. R. a Ctg., come sorgente per le radiazioni.

A questo fine, e per eliminare rigorosamente la fuoriuscita dall'apparecchio delle emanazioni, e nello stesso tempo per non variare affatto le condizioni relative al passaggio delle radiazioni, la solita scatoletta inglese che conteneva il campione in parola, era stata chiusa entro una scatola di piombo a perfetta tenuta con un foro in corrispondenza della superficie radiante sul quale era fissato con mastice a caldo lo stesso schermo di mica tolto dallo interno dell'apparecchio.

Per usufruire poi delle sole emanazioni del campione n. 1 ci si valeva del fatto che queste possono essere condotte mediante un tubo di vetro, e

nostra disposizione dal ch.mo prof. G. Ciamician, che qui ci piace di ringraziare; era costituito da 5 millig. di bromuro di radio acquistato dalla casa D. Richard Stheiner di Hamburgo; non era dichiarato quale valore radio attivo possedesse.

che le radiazioni sono completamente arrestate da uno schermo di piombo, ed in conformità di questi concetti si disponeva il relativo apparecchio.

Questo era quindi costituito da una piccola camera di vetro a perfetta tenuta che conteneva la scatoletta col campione n. 1 e le emanazioni che fuoriescono erano condotte mediante un tubo di vetro a doppia piegatura ad angolo retto con angoli alterni interni fra loro, in un'ampolla, pure di vetro, nella quale doveva essere collocata la provetta di alluminio con la piccola quantità di emulsione di virus rabido da sperimentare; l'ampolla in parola e tutta la parte superiore dell'apparecchio erano protette dalle radiazioni che s'irradiavano dallo stesso campione mercè un grosso schermo di piombo.

Quando poi si voleva sperimentare insieme l'effetto delle emanazioni e delle radiazioni, allora la provetta di alluminio contenente il virus si faceva poggiare entro l'ampolla di vetro ricordata sopra il secondo campione protetto, come è stato detto, per impedire assolutamente la fuoriuscita delle emanazioni.

Il risultato di queste esperienze è stato molto netto; morirono nello stesso tempo dei controlli tutti gli animali operati con virus sottoposto alle sole radiazioni (4) anche se la durata della esposizione fu di 16-24 ore; invece vissero tutti tre i conigli inoculati sotto la dura madre colla emulsione rabida stata esposta contemporaneamente per 16 ore alle emanazioni ed alle radiazioni.

Riguardo al tempo necessario per aversi in tal modo la scomposizione completa del virus rabido, noi non abbiamo cercato il termine minimo; interessandoci più che altro l'accertamento del fatto. Possiamo solo affermare che mediante l'azione contemporanea delle emanazioni e delle radiazioni provenienti da sorgenti separate, come fu operato con l'apparecchio precedentemente descritto, il tempo necessario per aversi la scomposizione completa del virus è un poco maggiore di quello dato dai due campioni, quando per ciascuno di essi si utilizzano in modo diretto e nella maniera da noi indicata le emanazioni e le radiazioni che regolarmente producono.

Infatti, mentre in questo ultimo caso bastano 6 ore per annullare completamente ogni azione patogena del virus rabido inoculato sotto la dura madre dei conigli, invece quando si fanno agire sullo stesso virus le emanazioni e le radiazioni che vengono rispettivamente da due campioni diversi, una esposizione per ugual tempo non è più sufficiente per aversi i medesimi effetti e l'emulsione rabida provata sotto la dura madre del coniglio determina la morte come nei controlli.

E che la cosa debba essere così è facile a comprendersi, perchè col dispositivo che abbiamo dovuto adottare per sperimentare l'azione combinata delle emanazioni e delle radiazioni sul virus rabido, le prime debbono fare un cammino assai più lungo per arrivare alla emulsione di sistema nervoso

e quindi, in ragione del maggior tempo necessario perchè le emanazioni stesse possano riempire tutto l'apparecchio, deve verificarsi un ritardo nella loro azione.

Questi risultati, pertanto, ci permettono di concludere che, nelle condizioni in cui ci siamo posti, per aversi la scomposizione del virus rabido, tanto con soluzioni di sali di radio, quanto con gli stessi sali allo stato secco, è assolutamente necessaria la presenza delle emanazioni come già risultava dalle nostre precedenti ricerche.

Inoltre ci fanno conoscere che a tale effetto le sole emanazioni non sono sufficienti e che occorre insieme il concorso delle radiazioni. In altre parole la scomposizione in vitro del virus rabido è data dall'azione contemporanea delle emanazioni e delle radiazioni, mentre nell'animale, come abbiamo detto, bastano le sole radiazioni per impedire od arrestare gli effetti dello stesso virus e guarire la malattia.

Tutto questo, poi, sempre che si ottemperi alla condizione già accennata in altro lavoro, cioè di sottoporre in vitro all'azione del radio solo piccola quantità di emulsione rabida (alcuni decimi di cc.) e di dare alla massa esposta la maggior superficie possibile. Che se la quantità del virus esposto fu assai maggiore (5-10 cc.) allora buona parte della emulsione si sottrae all'azione delle emanazioni e le prove subdurali con essa praticate uccidono nello stesso tempo dei controlli.

Quindi, se con le nostre ricerche può dirsi risolta la questione scientifica relativa alle ragioni che determinano la scomposizione in vitro del virus rabido a mezzo del radio, lo stesso non può affermarsi per la questione pratica diretta ad ottenere grandi quantità di virus scomposto da servire come vaccino e intorno alla quale ci stiamo adesso appunto occupando.

È facile poi intendere la differenza notata fra l'azione in vitro e quella nell'animale quando si ricorda quanto fu accennato in altro lavoro ⁽¹⁾ a riguardo di quest'ultima, cioè che essa si esplica efficacemente solo in alcuni periodi della malattia che corrispondono alle prime fasi di sviluppo del germe in cui verosimilmente si hanno forme evolutive facilmente attaccate e distrutte dai raggi del radio, mentre fallisce in modo costante nei periodi più tardivi della malattia in cui si trovano forme maggiormente resistenti che poco o nulla sono influenzate dallo stesso mezzo fisico. Ne viene quindi che mentre nell'animale si può agire vittoriosamente nella rabbia colpendo la malattia in quel periodo in cui si hanno solo forme iniziali del germe che sono facilmente distrutte dalle radiazioni, invece queste, come non sono più sufficienti a produrre lo stesso benefico effetto nell'ultimo periodo della malattia, così non possono agire da sole sul virus preso dal cadavere che

⁽¹⁾ Tizzoni e Bongiovanni, *Dell'azione curativa dei raggi del radio nella rabbia da virus di cane*. Rendiconti della R. Accad. delle Scienze di Bologna, anno 1905-1906, seduta 26 nov. 1905.

contiene ugualmente le forme più resistenti del germe e per la distruzione delle quali, oltre alle radiazioni, occorre anche il diretto concorso delle emanazioni.

In tal modo i fatti da noi osservati in vitro e nell'animale non stanno fra di loro in aperta contraddizione come a prima vista potrebbe sembrare, ma anzi si completano, s'integrano a vicenda.

Dopo ciò, volendo risalire dalle cose riferite alla loro ragione di essere è lecito domandarci per prima quale è la parte che prendono le radiazioni nella scomposizione in vitro del virus rabido; cioè servono esse indirettamente valendo a determinare una specie di conducibilità del metallo per le emanazioni in modo che queste possano arrivare fino a contatto del virus, oppure agiscono direttamente sulla emulsione rabida, sia concorrendo con le emanazioni alla sua distruzione, sia operando semplicemente a guisa di una sensibilizzatrice ed in modo che il virus possa mediante questa risentire più efficacemente gli effetti delle emanazioni? Il fatto che le emanazioni trascinate da sole meccanicamente nel tubo col vuoto contenente il virus da sperimentare non riescono in nessuna maniera a determinare la scomposizione anche dopo un lungo contatto, mentre tale scomposizione si ottiene in modo completo solo che alle stesse emanazioni si aggiungano le radiazioni che provengono da un campione chiuso in tubo di vetro saldato alla lampada e immerso direttamente nel virus, ci sembra escludere la prima ipotesi che in difetto di cognizioni più precise noi avevamo avanzata nelle nostre precedenti pubblicazioni.

Al fine, poi, di rischiarare maggiormente tale questione noi abbiamo voluto vedere ancora se in vitro la natura del metallo di cui è costituita la provetta che contiene l'emulsione avesse qualche influenza sulla scomposizione del virus rabido in vitro; e ciò anche per stabilire possibilmente se l'influenza in questione si esercitasse secondo le note leggi della conduzione elettrica, oppure secondo il grado di permeabilità dei singoli metalli per le emanazioni emesse dal radio.

Ma a questo riguardo abbiamo potuto solamente osservare che, all'infuori dell'alluminio, tutti gli altri metalli da noi sperimentati (rame, zinco, piombo) si comportano allo stesso modo del vetro, cioè sono assolutamente inadatti a permettere che nella provetta si determini a mezzo del radio la scomposizione del virus rabido.

Così, mentre con la provetta di alluminio nelle condizioni da noi indicate basta un minimo di 6 ore di esposizione al radio per ottenersi costantemente la scomposizione completa del virus rabido fisso, invece questo virus mantiene inalterata tutta la sua potenza, e gli animali operati con esso sotto la dura madre muoiono di rabbia come i controlli, o poco tempo dopo, quando al tubo di alluminio si sostituisce un tubo di rame, di zinco o di piombo, od anche semplicemente un tubo di vetro.

E ciò pure nel caso in cui si allunga la posa ordinaria di 6 ore fino ad un tempo massimo di 24 ore cioè si espone il virus al radio per un tempo 4 volte superiore a quello necessario per ottenere effetti positivi con tubi di alluminio. Solo con provette di rame ebbe a notarsi un qualche ritardo dopo una posa abbastanza prolungata, ritardo che fu di $1\frac{1}{2}$ -4 giorni col virus esposto rispettivamente al radio per 10-24 ore.

Quindi a riguardo della provetta che contiene l'emulsione noi possiamo affermare che la natura del metallo di cui essa provetta è costituita ha un importanza grandissima nella scomposizione in vitro del virus rabido; che di tutti i metalli provati, alluminio, rame, zinco, piombo, solo il primo, che si sa possedere la maggiore permeabilità per i raggi del radio, si mostrò atto alla produzione del fenomeno di cui è questione; che nelle esperienze in scala non fu possibile rilevare l'esistenza di un rapporto diretto fra la scomposizione del virus rabido e il grado di conducibilità elettrica dei singoli metalli o della loro permeabilità per i raggi del radio.

Matematica. — Sopra le superficie algebriche che hanno le coordinate del punto generico esprimibili con funzioni meromorfe quadruplamente periodiche di due parametri. Nota I di G. BAGNERA e M. DE FRANCHIS, presentata dal Corrispondente ENRIQUES.

1. È noto che, se

$$(1) \quad X = \Phi_1(u, v) \quad , \quad Y = \Phi_2(u, v) \quad , \quad Z = \Phi_3(u, v)$$

sono funzioni meromorfe di u, v , che posseggano le quattro coppie di periodi fondamentali:

$$(2) \quad \begin{array}{c} \omega_1, \omega_2, \omega_3, \omega_4 \\ \omega'_1, \omega'_2, \omega'_3, \omega'_4, \end{array}$$

e tali che esse non si possano considerare come funzioni di un solo parametro dipendente da u, v , fra X, Y, Z intercede una sola relazione algebrica irriducibile:

$$(3) \quad F(X, Y, Z) = 0.$$

Conviene distinguere due casi:

1) Ad un punto della superficie F corrisponde, a meno di periodi, una sola coppia di parametri u, v .

Allora diremo che F è una superficie *iperellittica appartenente* alla tabella (2); ogni funzione meromorfa di u, v che possedga i periodi (2) si esprime, com'è noto, *razionalmente* con X, Y, Z .

2) Ad un punto della superficie F corrisponde un numero $n > 1$ di coppie incongrue di parametri u, v .