

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXI.

1914

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

indubbiamente nell'orina artificiale, essendo chiaro che la formazione di un qualsiasi complesso non può avvenire per il semplice contatto, a temperatura ambiente, delle due sostanze. 4°) Ricordiamo, infine, che gran parte dell'acido fosforico ha la stessa origine dell'acido urico: le nucleine. Naturalmente, non tutto l'acido fosforico dovrebbe essere combinato, e dalle variazioni della percentuale libera dipenderebbero sopra tutto le differenze fra le varie urine.

**Fisiologia.** — *Sull'adattamento degli Anfibì all'ambiente liquido esterno, mediante la regolazione della pressione osmotica dei loro liquidi interni: III. Proprietà chimiche e fisico-chimiche dei liquidi interni di animali tenuti in acqua distillata ed in soluzioni Ringer ipertoniche.* Nota di BRUNO BRUNACCI, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Nelle due Note precedenti ho riferito i risultati delle esperienze relative al limite massimo di adattamento, ed i fenomeni constatabili ad una semplice osservazione. Riferisco ora i dati analitici chimici e fisico-chimici relativi al sangue, alla linfa dei sacchi ed all'urina di animali tenuti in acqua distillata ed in soluzioni Ringer ipertoniche, dopo aver soggiornato — come si disse — in acqua di condotta fino a depurazione.

Su i vari liquidi raccolti — come pure sul liquido ambiente — vennero determinati il  $\Delta$  col Beckmann e la resistenza elettrica a 22° C. al Ponte di Kohlrausch.

Per il sangue si fecero queste determinazioni dapprima sul sangue *in toto* dopo defibrinazione; e successivamente sul siero dello stesso, ottenuto mediante centrifugazione (20' con centrifuga elettrica a 3000 giri al 1'). Tanto sul siero di sangue, quanto sulla linfa dei sacchi defibrinata, si determinarono inoltre il residuo secco a 110° C., le ceneri, e l'N totale col metodo Kjeldahl.

Le esperienze sono state divise nelle serie seguenti: **SERIE A:** *Rane escul. estive tenute in acqua distillata.* — **SERIE B:** *Rane esculente estive tenute per un breve periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica massima.* — **SERIE C:** *Rane esculente estive tenute per un breve periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica ultramassima.* — **SERIE D:** *Rane esculente estive tenute per un lungo periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica: a) soluzione leggermente ipertonica; b) soluzione più ipertonica.*

I risultati delle analisi sono riportati nelle annesse tabelle.

Riserbando la discussione di essi nel riassunto generale critico che seguirà l'esposizione di tutti i dati sperimentali, mi limito ora alla loro semplice esposizione.

Relativamente alle *rane provenienti dalla medesima località* — tenute in acqua distillata (Tab. 1<sup>a</sup>) — si constata che il sangue *in toto*, defibrinato, non raggiunge mai una concentrazione molecolare nè superiore a  $A = 0^{\circ},450$  nè inferiore a  $A = 0^{\circ},415$ , con una media di  $A = 0^{\circ},439$ . Così pure per il siero dello stesso sangue il valore massimo raggiunto è stato di  $A = 0^{\circ},435$ , ed il minimo di  $A = 0^{\circ},395$ , con una media  $= 0^{\circ},410$ .

La resistenza elettrica a 22° C. raggiunge il valore massimo di 55 ohms per il sangue *in toto*, ed il valore minimo di 44 ohms con una media di 49 ohms; mentre per il siero i rispettivi valori furono 38 ohms come massimo, e 31 ohms come minimo, con una media di 34 ohms.

Ho constatato (cfr. tab. 1<sup>a</sup> esp. 5<sup>a</sup>) che gli *animali provenienti da altra località* (Grosseto) presentavano — in condizioni sperimentali identiche — una concentrazione molecolare del loro sangue e del siero, notevolmente superiore a quella di tutte le altre rane esculente provenienti dai dintorni di Siena; *il che fa pensare alla possibile fissazione, nel sangue, di caratteri osmotici acquisiti dall'ambiente.*

Una prova sperimentale di questa possibile fissazione, nel sangue, di caratteri umorali acquisiti potrebbe essere anche fornita dal fatto, da me constatato, che le rane, le quali hanno soggiornato per alcuni giorni in ambiente ipertonico, quando siano poi trasportate nell'acqua dolce corrente (acqua piovana,  $A = 0^{\circ},01$ ), non raggiungono più (almeno entro il tempo di durata delle esperienze) quella concentrazione molecolare minima del loro sangue, alla quale invece arrivano se sono poste in quella medesima acqua dolce, senza essere state in precedenza in soluzione ipertonica (cfr. tabella 1<sup>a</sup> e tab. 7<sup>a</sup> [nota 4<sup>a</sup>]).

Il contenuto in azoto totale del siero, risultò in media  $=$  gr. 0,56 %; il residuo secco  $=$  gr. 3,54 %: dei quali, gr. 0,30 % appartenenti alle ceneri, e gr. 3,23 % alle sostanze organiche.

Mentre i valori relativi al  $A$  rappresentano il limite minimo al quale l'animale può giungere, gli altri valori vanno invece soggetti ad oscillazioni notevoli, perchè l'animale utilizza ora più le sostanze inorganiche, ed ora più quelle organiche, per raggiungere quel livello di concentrazione molecolare che gli permetta la vita nell'ambiente mutato.

Come risulta dalle altre tabelle, l'organismo vivo della rana si adatta all'aumentata concentrazione dell'ambiente liquido esterno elevando la concentrazione dei suoi liquidi interni. *Questo aumento è fatto, in primo tempo, a spese soprattutto degli elettroliti dell'ambiente, mentre successivamente esso è, invece, più a spese di sostanze organiche osmoticamente attive, costruite dall'organismo stesso dell'animale.* Ciò si rileva soprattutto confrontando i dati analitici della tabella 6<sup>a</sup> (nota 4<sup>a</sup>) con quelli delle tabelle 2-4-5 riportate in questa Nota. Infatti, mentre il sangue e la linfa di rane, che sono state in ambiente ipertonico poche ore (da 6 a 24 ore; Cfr.

tab. 6<sup>a</sup>), contengono successivamente meno azoto totale, minor residuo secco, minore quantità di sostanze organiche, e le sostanze inorganiche vanno al contrario gradatamente aumentando; nel sangue, invece, e nella linfa di rane che hanno soggiornato *vari giorni* in ambiente ipertonico, il contenuto in azoto totale, in residuo secco e in sostanze organiche, aumenta successivamente, mentre gradatamente diminuiscono le sostanze inorganiche.

In modo analogo si comporta la conducibilità elettrica della linfa e del sangue, la quale va crescendo nelle prime ore, mentre nei successivi periodi dell'adattamento essa diminuisce. Tanto nel primo caso (soggiorno di poche ore in ambiente ipertonico), quanto nel secondo caso (soggiorno di parecchi giorni), *la pressione osmotica del sangue e della linfa tende sempre a portarsi ad un livello superiore a quello dell'ambiente*; diguisachè, venendo ad aumentare la concentrazione molecolare di quest'ultimo per l'eliminazione di prodotti catabolici dell'organismo (secrezione cutanea, secrezione urinaria, secrezione del canale digerente) contenenti sostanze osmoticamente attive (urea, sali degli acidi biliari, ecc.), aumentano di pari passo i valori del  $\Delta$  del sangue e della linfa. Ciò si rileva anche dall'analisi dei valori di  $\Delta$  e della conducibilità elettrica del *liquido-ambiente* (cfr. tabelle 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup>). Si osserva, infatti, che, mentre entrambi i valori si abbassano nei primi 8 giorni di permanenza degli animali nel liquido, nei giorni successivi il  $\Delta$  va sempre aumentando, mentre il contenuto in elettroliti ritorna al valore iniziale e vi si mantiene costante.

Questi risultati mi sembra abbiano importanza anche per la risoluzione del dibattuto problema della permeabilità, in doppio senso, della cute degli anfibi per gli elettroliti, oltre che per l'acqua.

Circa *l'urina*, si constata che essa ha una concentrazione molecolare per lo più vicina a quella dell'ambiente; ma che talora può anche sorpassarla notevolmente, come si è verificato, ad es., in una delle esperienze eseguite con la soluzione Ringer ipertonica ultramassima (cfr. tab. 3<sup>a</sup>, esp. 1<sup>a</sup>).

Un altro fatto, sul quale è richiamata l'attenzione dell'osservatore durante lo svolgersi dei fenomeni di adattamento, è *la successione con la quale si formano la linfa e l'urina*.

*Dapprima si forma infatti la linfa e poi l'urina. La prima va gradatamente crescendo nelle prime ore e si mantiene in notevole quantità per i primi 8-10 giorni; poi va di mano in mano diminuendo, fino a scomparire, infine, del tutto. La seconda si forma più tardi dell'altra, ma la sua eliminazione nell'ambiente è continua.*

Dalle presenti ricerche risulta, inoltre, che *in questi fenomeni di regolazione osmotica prendono parte diversa i corpuscoli ed il siero del sangue*.

TABELLA 1<sup>a</sup>.  
Rane esulente estive, tenute in acqua distillata.

Serie A.

NUM. E DATA		A	P <sub>90</sub> <sup>(1)</sup> (in Ohm)	Azoto totale gr. %	Residuo secco a 110° gr. %	Ceneri gr. %	Sostanze organiche gr. %	OSSEVAZIONI
1) 20 VII 1911	Sangue defibrinato	0.450	55	...	...	...	...	Da 15 rane, in acqua distillata, per tre giorni. Niente urina, nè linfa nei sacchi
2) 23-27 VII 1911	Sangue defibrinato	0.450	55	...	...	...	...	Da 20 rane, in acqua distillata, per tre giorni. Niente urina, nè linfa nei sacchi.
" "	Siero dello stesso	0.395	—	...	...	...	...	...
3) 5-12 VIII 1911	Sangue defibrinato	0.440	55	...	...	...	...	Da 20 rane, in acqua distillata, per sei giorni. Niente urina, nè linfa nei sacchi.
4) 14-18 VIII 1911	Sangue defibrinato	0.430	45	...	...	...	...	Da 26 rane, in acqua distillata, per quattro giorni.
" "	Siero dello stesso	0.395	38	0.518	3.896	0.297	3.096	Niente urina, nè linfa nei sacchi.
5) 28 VIII-2 IX '911	Sangue defibrinato	0.500	50	...	...	...	...	Da 27 rane, provenienti da Grosseto, tenute 4 giorni in acqua distillata. Niente urina, nè linfa.
" "	Siero dello stesso	0.485	35	—	...	...	...	...
6) 23 VII 1912	Sangue defibrinato	0.415	45	...	...	...	...	Da 25 rane, in acqua distillata, per 4 giorni. Niente urina, nè linfa.
" "	Siero dello stesso	0.415	35	—	...	...	...	...
7) 30 VII 1912	Sangue defibrinato	0.450	44	...	...	...	...	Da 21 rane, in acqua distillata, per 4 giorni. Scarsa urina. Niente linfa.
" "	Siero dello stesso	0.435	31	0.610	3.685	0.315	3.370	...
MEDIE . . . . .	Sangue defibrinato	0.439	49	—	—	—	—	—
	Siero dello stesso	0.410	34	0.564	3.540	0.306	3.233	—

(1) La capacità di resistenza del vaso adoperato era = 0.31272 a 22° C.

Serie B.

TABELLA 2<sup>a</sup>.

*Rane esculente estive, tenute per un breve periodo di tempo  
in soluzione ipertonica massima.*

(Soluzione Ringer contenente il 10 ‰ di NaCl + gli altri sali in proporzione).

NUM. E DATA		$\Delta$	R <sub>25</sub> <sup>o</sup> (in Ohm)	N tot. gr. ‰	Residuo secco a 110° C. gr. ‰	Ceneri gr. ‰	Sostanze organiche gr. ‰
1) 20-21 VIII 1911	Liquido ambiente	0.650	18.5	...	...	...	...
" "	Sangue defibrinato	0.700	26	...	...	...	...
" "	Siero dello stesso	0.700	21	0.493	3.283	0.750	2.533
" "	Linfa dei sacchide- fibrinata . . . . .	0.645	19.5	0.246	2.050	0.550	1.500
" "	Urina . . . . .	—	—	—	—	—	—
2) 20-26 VIII 1911	Liquido ambiente	0.700	18.5	—	...	...	...
" "	Sangue defibrinato	0.740	27	—	...	...	...
" "	Siero dello stesso	0.705	24	0.601	3.680	0.613	3.067
" "	Linfa defibrinata	0.720	20	0.274	1.980	0.580	1.400
" "	Urina . . . . .	0.695	21	—	—	—	—

Serie C.

TABELLA 3<sup>a</sup>.

*Rane esculente estive, tenute per un breve periodo di tempo  
in soluzione ipertonica ultramassima.*

(Soluzione Ringer contenente l'11 ‰ di NaCl + gli altri sali in proporzione).

NUM. E DATA		$\Delta$	R <sub>25</sub> <sup>o</sup> (in Ohm)	N tot. gr. ‰	Residuo secco a 110° C. gr. ‰	Ceneri gr. ‰	Sostanze organiche gr. ‰
1) 5-12 VIII 1911	Liquido ambiente	0.765	16	...	...	...	...
" "	Sangue defibrinato	0.750	24	...	...	...	...
" "	Siero dello stesso	—	—	...	...	...	...
" "	Linfa defibrinata	0.745	—	...	...	...	...
" "	Urina . . . . .	0.845	16.5	...	...	...	...
2) 29 VIII-21 X 1911	Liquido ambiente	0.775	17.5	...	...	...	...
" "	Sangue defibrinato	0.780	30	...	...	...	...
" "	Siero dello stesso	0.725	19.5	0.607	3.970	0.622	3.347
" "	Linfa defibrinata	0.760	19.0	0.246	perduto!	0.750	—
" "	Urina . . . . .	0.690	18.0	0.092	...	...	...

(<sup>1</sup>) Si pongono in 15 litri di soluzione Ringer ipertonica (NaCl gr. 10; KCl gr. 0.107; CaCl<sub>2</sub> gr. 0.142; NaHCO<sub>3</sub> gr. 0.142 ‰), sessanta rane, tenute prima in acqua di condotta sino a depurazione, allo scopo di esaminarle dopo tempi diversi. — Da 20 rane: *Dopo 28 ore* di permanenza nella soluzione ipertonica. — L'urina non si è ancora formata. La linfa dei sacchi è scarsa (da 20 rane, se ne raccolgono 5 cmc.).

(<sup>2</sup>) Da 20 rane delle precedenti. *Dopo 6 giorni* di permanenza nella soluzione ipertonica. — L'urina è molto abbondante. Così pure la linfa (da 20 rane, circa 12 cmc.).

(<sup>3</sup>) Si pongono 30 rane in soluzione NaCl gr. 11 ‰, KCl gr. 0.117 ‰, CaCl<sub>2</sub> e NaHCO<sub>3</sub> gr. 0.1571 ‰. Vi si lasciano *per sei giorni*. Ne muoiono 10. Si raccolgono i liquidi dalle rimanenti. — La linfa è assai scarsa. L'urina abundantissima. — Il liquido ambiente si esamina contemporaneamente al sangue, cioè dopo 6 giorni di soggiorno degli animali.

(<sup>4</sup>) Si pongono 30 rane in soluzione ipertonica *ultramassima*. Vi si lasciano *3 giorni*. — La linfa è scarsa. L'urina è molto abbondante. — Si nota la presenza di *liquido tra i tessuti*, in quasi tutti gli animali. — I polmoni sono molti rigonfi. Il sangue è oscuro e denso; forma abbondante coagulo.



**TABELLA 4<sup>a</sup>.**  
*Rane esculente estive, tenute per un lungo periodo di tempo in soluzione ipertonica.*  
 a) Soluzione leggermente ipertonica (Ringer, contenente l'8 % di NaCl + gli altri sali in proporzione).

NUMERO, GIORNO E DATA	A	R <sub>ag</sub> <sup>o</sup> (in Ohm)	N tot. gr. %	Residuo secco a 110° C. gr. %	Ceneri gr. %	Sostanze organiche gr. %	Giorni	Liquido Ambiente	
								A	R <sub>ag</sub> <sup>o</sup> (Ohm)
1) 10° giorno (24 VII 1912)	0.510	22	—	—	—	—	1	0.510	22
" "	0.540	30	—	—	—	—	2	0.405	24
" "	0.530	22	0.420	2.260	0.349	1.911	3	0.485	23
" "	0.520	26	0.246	1.431	0.576	0.855	4	0.475	23
" "	—	—	—	—	—	—	5	0.500	24
" "	—	—	—	—	—	—	6	0.485	23
" "	—	—	—	—	—	—	7	0.495	21
" "	—	—	—	—	—	—	8	0.500	23
" "	—	—	—	—	—	—	9	0.470	23
" "	—	—	—	—	—	—	10	0.480	23
" "	—	—	—	—	—	—	—	0.510	22
2) 21° giorno (3 VIII 1912)	0.540	22	—	—	—	—	12	0.520	22.5
" "	0.580	33	—	—	—	—	14	0.525	22
" "	0.590	29	0.567	2.441	0.378	2.063	16	0.515	22
" "	0.560	25	0.282	1.342	0.469	0.873	18	0.550	22
" "	0.560	27	0.341	1.648	0.393	1.255	21	0.540	22
" "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3) 31° giorno (13 VIII 1912)	0.565	22	—	—	—	—	22	0.570	21
" "	0.605	32	0.588	2.715	0.217	2.498	24	0.550	22
" "	0.590	27	0.403	1.798	0.289	1.499	26	0.555	22
" "	0.595	27	—	—	—	—	28	0.555	22
" "	—	—	—	—	—	—	31	0.565	22

(1) Si mettono 7 rane in soluzione Ringer leggermente ipertonica (NaCl gr. 8 per litro).  
 Allo scuro. Temperatura ambiente, circa 12° C. Dopo 10 giorni, sono tutte vive e vivaci. Si  
 estrae il sangue da 20 rane. Sangue liquido acquoso. Coagula più lentamente del solito. *Linf*  
 in quantità esigue. Da 20 rane circa 65 cmc., giallo citrino-chiara, spontaneamente coagulabile  
 in una massa gelatinosa. Niente *urina*. Vesc. liquido nella cavità del corpo e tra i muscoli.  
 Poco o punto nello stomaco e nell'intestino. Gli intestini normalmente ripieni.  
 (2) Dopo 21 giorni, nessuna rana è morta da sé. Si estrae il sangue da 20 rane delle 56  
 rimaste. Delle 56 rane, solo 19 hanno *linfa* abbondantissima nei sacchi: e sono le più grosse.  
 Le altre 37 sono quasi senza *linfa*, affatto, o ben poca. (Da 15 di queste ultime rane se ne  
 ricavano 12 cmc.; nei tre da 5 di quelle con molta *linfa*, se ne ottengono 40 cmc.). La *linfa*

delle rane con poca *linfa* è più gialla e più densa dell'altra. Entrambe spontaneamente coagu-  
 labili. Il sangue esce difficilmente. Scarsa o punta *urina* in vescica. Così pare è scarso il *liquido*  
 nella cavità del corpo, nello stomaco e nell'intestino. Cloaca con parecchia bile addensata. Il  
 liquido ambiente è verdastro.  
 (3) Dopo 31 giorni, nessuna rana è morta da sé. Nella 31ª giornata, un terzo delle rane  
 contiene ancora molta *linfa* nei sacchi; due terzi, poca o punta. Coagula meno degli altri giorni.  
*Stomaco, intestino, cloaca* vuoti o quasi. Le rane che hanno molta *linfa* nei sacchi, contengono  
 altresì abbondante liquido nella cavità del corpo.  
 \* Liquido ambiente, appena preparato.

TABELLA 5<sup>a</sup>.

Serie D. *Rane esculente estive, tenute per un lungo periodo di tempo in soluzione ipertonica.*  
 b) *Soluzione più ipertonica* (Ringer, contenente circa il 10‰ di NaCl + gli altri sali in proporzione).

NUMERO, GIORNO E DATA	Δ	R <sub>25°</sub> (in Ohm)	N tot. gr. %	Residuo secco a 110° C. gr. %	Generi gr. %	Sostanze organiche gr. %	Giorni	Liquido Ambiente	
								Δ	R <sub>25°</sub> (Ohm)
1) 11° giorno (9 IX 1912)	0.610	19	—	...	...	...	2	0.620	19
"	0.640	27	—	...	...	...	4	0.605	20
"	0.645	23	0.514	3.051	0.488	2.568	6	0.610	20
"	0.665	22.5	0.336	2.171	0.538	1.633	8	0.595	20
"	0.620	—	0.165	—	—	—	10	0.620	19
"	—	—	—	—	—	—	11	0.610	18
2) 21° giorno (19 IX 1912)	0.655	19	—	...	...	...	12	0.645	19
"	0.700	33	—	...	...	...	14	0.640	19
"	0.690	25	0.690	4.136	0.404	3.732	16	0.640	19
"	0.725	23	0.427	2.277	0.442	1.835	18	0.615	19
"	—	—	—	—	—	—	21	0.655	19

(<sup>1</sup>) Si mettono 70 rane in soluzione Ringer ipertonica (NaCl, circa gr. 10‰). Allo scuro. Temperatura ambiente, circa 12° C. Si cerca di impedire quanto più è possibile l'evaporazione del liquido coprendo il recipiente con un panno umido (che si rinnova ogni giorno) e mettendo al di sopra di questo un coperchio di vetro. — Dopo 11 giorni, le rane sono tutte vive e vivaci. Se ne uccidono 20 per raccoglierne il sangue. Circa la metà hanno molta linfa nei sacchi: le altre, poca o punta (se ne raccolgono cmc. 18 circa, da 9 rane delle 20). *Meno coagulabile* di quella delle rane tenute in soluzione meno concentrata. Pochissima urina. *Sangue* più denso, coagulabile più facilmente. Il *liquido ambiente* si è colorito in verde, prima di quello meno concentrato.

(<sup>2</sup>) Dopo 21 giorni, una sola rana si è trovata morta. Si estrae il sangue da 22 rane. Solo 1/5 circa delle rane contiene linfa nei sacchi (da 7 rane si raccolgono cmc. 13 circa di linfa). Le altre non ne hanno. Tale linfa è di colore giallo-citrino-chiara; spontaneamente coagulabile. *Sangue* denso coagulabile. Dopo centrifugazione, il siero di sangue era molto colorito in rosso (emolisi pronunciata). Forse da ciò dipende in parte l'aumentata quantità di N totale e delle sostanze organiche.

\* Liquido ambiente, appena messevi le rane.