ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

Fisiologia. — *Nuove ricerche sui muscoli striati e lisci di animali omeotermi* (1). Nota VIII: *Azione dei gas della respirazione sul preparato frenico-diaframmatico* (parte 1ª), del Corrispondente FILIPPO BOTTAZZI.

I.

Introduzione e notizie storiche sull'argomento.

L'importanza delle ricerche risguardanti l'influenza che sulla funzione muscolare esercitano, da una parte la sottrazione dell'ossigeno, e dall'altra la presenza in eccesso dell'acido carbonico, consiste in ciò: che esse possono gettar nuova luce sulla capacità dei muscoli di contrarsi in un ambiente povero o privo di ossigeno, e sull'azione di uno dei prodotti del metabolismo muscolare qual'è appunto l'acido carbonico. Queste ricerche vanno riprese con tanto maggior lena, ora che si vengono formulando nuove ipotesi (2) circa il meccanismo della contrazione muscolare e le relazioni che con le varie fasi di questa presentano i gas della respirazione.

Le presenti ricerche sono state fatte sul preparato frenico-diaframmatico (3) immerso continuamente in liquido di Ringer a temperatura costante, ovvero immerso per certi periodi della sopravvivenza e per altri sospeso nell'aria umida della camera-termostato (4), o finalmente immerso solo per una parte variabile della sua lunghezza. Per la camera facevo poi passare a volontà i varî gas: ossigeno, azoto e acido carbonico, dopo che avevano attraversato bocce di lavatura tenute in bagno-maria a temperatura costante eguale a quella della camera-termostato.

Spesso, l'esperimento era fatto simultaneamente su due preparati dello stesso animale, tenuti nella medesima camera-termostato, e i loro movimenti erano registrati sopra un unico cilindro affumato rotante a piccola velocità,

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di fisiologia sperimentale della R. Università di Napoli.

(2) Vedi il mio articolo: *L'attività muscolare*, in «Scientia», pag. 101 (1916).

(3) Ved. Fil. Bottazzi, Memorie della R. Accad. dei Lincei (5), vol. X, fasc. 13, pag. 26 (1914).

(4) Ibidem, pag. 35 e figg. 2-4.

mediante due leve sovrapposte, o sopra due cilindri distinti. Mediante un interruttore automatico rotativo, di cui potevo variare a volontà la velocità di rotazione, stimolavo ritmicamente, con scosse d'apertura di corrente indotta di frequenza variabile, l'unico preparato, o i due preparati simultaneamente o alternativamente. Più volte, esposti due preparati dello stesso animale alle identiche condizioni, stimolai uno solo di essi, mentre l'altro rimaneva a riposo per tutta la durata dell'esperimento, saggiandone solamente l'eccitabilità in principio, e poi a intervalli variabili, mediante uno o due stimoli.

Si può ritenere che il preparato si trova in un ambiente povero di ossigeno quando per il liquido di Ringer, in cui esso è sospeso, non si fa gorgogliare nessun gas, perchè in tali condizioni una piccola quantità di ossigeno può essere assorbita dall'atmosfera. Naturalmente, il liquido non essendo attraversato da alcun gas, l'acido carbonico, che il preparato produce durante la sua attività, in parte vi si accumula.

Per contro, quando si fa gorgogliare ossigeno in grande quantità, il preparato si trova in un ambiente ricchissimo di questo gas, ma poverissimo di acido carbonico, che ne è scacciato dalla corrente dell'altro gas.

Facendo gorgogliare azoto, tanto l'ossigeno quanto l'acido carbonico sono eliminati dal liquido di Ringer; e siccome tutta l'aria della camera viene a essere sostituita dall'azoto, il preparato non può giovarsi nemmeno della piccola quantità di ossigeno che altrimenti avrebbe potuto assorbire dalla atmosfera.

L'acido carbonico, finalmente, a volte l'ho fatto gorgogliare solo e per un tempo considerevole, in guisa da eliminare tutto l'ossigeno; a volte l'ho aggiunto, in quantità variabile, all'ossigeno o all'azoto continuamente gorgoglianti per il liquido di Ringer.

In realtà, la sola condizione sperimentale meno dissimile dalla normale sarebbe quella in cui nell'ambiente che circonda il preparato fossero costantemente mantenute una tensione parziale dell'ossigeno e una dell'acido carbonico identiche a quelle che i detti gas hanno nel sangue circolante per i muscoli. Tale condizione è difficile a realizzare in pratica, onde si considera come normale quella in cui per il liquido di Ringer vien fatto gorgogliare moderatamente il solo ossigeno. Tuttavia, non sarà superfluo rammentare che in tal caso la tensione parziale dell'acido carbonico nel liquido, e quindi nel tessuto, ordinariamente è minore di quella che il gas presenta nel sangue circolante.

*
* *

I primi a dimostrare che varî animali pecilotermi e tessuti, particolarmente i muscoli, possono vivere lungamente in un'atmosfera priva di

ossigeno, furono L. Spallanzani [1], L. Hermann [2], C. Ludwig [3] e Pflüger [4]. In seguito, Loeb [5] osservò che il cuore dell'embrione di *Fundulus* continua a contrarsi per non meno di 12 ore in assenza di ossigeno; e Broca e Richet [6] potettero constatare che nell'asfissia le contrazioni dei muscoli di cani cessano con le ultime respirazioni *dopo essere aumentate d'intensità*, e che, se l'asfissia è interrotta al momento giusto, facendo la respirazione artificiale, esse tornano a manifestarsi più gagliarde di prima. Anche Waller e Sawton [7] osservarono nei muscoli di rana curarizzati e non curarizzati un aumento delle contrazioni massimali sotto l'influenza di CO_2, che essi paragonarono al fenomeno della scala.

Ma le ricerche più complete sull'argomento sono senza dubbio quelle di von Lotha. In un primo lavoro, fatto sui muscoli di rana separati dal corpo [8], questi osservò: che l'acido carbonico provoca una cospicua contrattura del muscolo, e un aumento della durata della contrazione a spese principalmente della fase di decontrazione; un aumento delle altezze delle contrazioni, che si verifica però e dura maggiormente quando gl'intervalli fra gli stimoli sono notevolmente lunghi, mentre, se sono brevi, le contrazioni diminuiscono subito di altezza; che l'azione nociva dell'acido carbonico si manifesta tanto più presto, quanto più intensa è l'attività (maggiore la frequenza degli stimoli) a cui il muscolo viene sottoposto; che il muscolo può restaurarsi benissimo, anche se l'acido carbonico produsse totale ineccitabilità; e che, finalmente, l'acido carbonico esercita un'azione conservatrice o di risparmio sul muscolo, inibendone l'attività, onde la produzione di CO_2 durante l'attività muscolare deve essere considerata non solo come l'espressione di

(1) L. Spallanzani, *Opuscoli di fisica animale e vegetabile*, vol. I, parte I, cap. VII, pag. 117; vol. II, opusc. III: *Osservazioni e sperienze intorno agli animali e ai vegetali chiusi nell'aria*, pp. 127 e segg., Modena 1776. — Idem., *Memorie sulla respirazione* (Opere, vol. V. Milano, Soc. tipogr. de' classici italiani, 1826).

(2) L. Hermann, *Untersuchungen über den Stoffwechsel der Muskeln, ausgehend vom Gaswechsel derselben*, pp. 28 e 43. Berlin, 1867.

(3) Cit. da C. Lhotàk von Lhota (ved. appresso).

(4) E. W. Pflüger, *Ueber die physiologische Verbrennung in den lebenden Organismen*. Pflüger's Arch. X, pag. 251 (1875).

(5) J. Loeb, *Untersuchungen über die physiologischen Wirkungen des Sauerstoffmangels*. Pflüger's Arch. LXII, pag. 249 (1895) (ved. pp. 277-287).

(6) A. Broca e Ch. Richet, *De la contraction musculaire anaérobie*. Arch. de physiol. norm. et path. XXVIII, pag. 829 (1896).

(7) A. D. Waller and S. C. M. Sawton, *Action of carbon dioxide on voluntary and cardiac muscle*. Journ. of physiol. XX, pag. XVI (1896).

(8) C. Lhotàk von Lhota. *Untersuchungen über die Verhänderungen der Muskelfunction in einer Kohlendioxydatmosphäre*. Arch. f. (Anat. u.) Physiol., pag. 45 (1902). Idem, *Recherches expérimentales sur la conservation du potentiel musculaire dans l'atmosphère de l'anhydride carbonique*. Journ. de Physiol. et de Path. génér., pag. 976 (1902).

processi catabolici, ma anche come una disposizione regolatrice tendente a impedire il completo esaurimento del muscolo.

Debbo a questo punto notare che già Lopriore [1] aveva accennato a una simile influenza regolatrice dell'acido carbonico sui protoplasmi vegetali, il cui accrescimento ne sarebbe agevolato.

Nei muscoli degli animali omeotermi, lo stesso von Lhota [2] osservò che, durante l'asfissia, le contrazioni dei muscoli, lasciati *in situ*, prima aumentano di altezza (in certi casi, perfino del doppio), ma per brevissimo tempo (5-20 contrazioni); quindi diminuiscono, fino a scomparire del tutto.

Ma questa ineccitabilità, costituente il secondo stadio dell'azione dell'acido carbonico, sarebbe solo apparente, perchè con stimoli più forti si possono ancòra provocare mediocri contrazioni. Segue poi il terzo stadio, che è il premortale, durante il quale riapparisce una mediocre eccitabilità per gli stimoli forti. L'A. non spiega l'aumento della eccitabilità del primo stadio, che ricorda il fenomeno della scala; e spiega l'apparente ineccitabilità del secondo stadio come un fenomeno d'inibizione causato dai prodotti tossici del metabolismo rimasti non ossidati. Tuttavia, egli ha osservato che l'ineccitabilità si presenta anche se il muscolo, durante l'asfissia, non è affatto stimolato. La capacità funzionale del muscolo asfittico si restaura da sè, anche negli animali omeotermi, specie se lo si irrora di nuovo con sangue ricco di ossigeno.

Osservazioni analoghe a quelle sopra ricordate trovansi nelle pubblicazioni di Joteyko [3], di Polimanti [4] ecc.

La critica di esse conviene che sia fatta dopo l'esposizione dei risultati sperimentali.

* * *

Le mie ricerche sul preparato diaframmatico isolato dal corpo riguardano le variazioni del tono, della durata di sopravvivenza, della fatica e del tempo in cui si manifesta l'accorciamento terminale da rigidità, dell'altezza delle contrazioni ecc., in condizioni diverse, e cioè: nell'assenza assoluta di ossigeno, in presenza di poco o di molto ossigeno, in presenza di quantità variabili di acido carbonico solo, o di acido carbonico misto con ossigeno ecc.

Riassumo brevemente, in questa prima Nota, i risultati ottenuti riguardanti: l'azione dell'acido carbonico sul tono dei preparati diaframmatici sospesi, durante l'esperimento, in ambiente saturo di umidità, ma non im-

(1) G. Lopriore, *Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma der lebenden Pflanzenzelle.* Jahrb. f. wiss. Botan. XXVIII, pag. 531 (1895).

(2) C. Lhoták von Lhota, *Functionsänderungen des Warmblütermuskels beim Sauerstoffmangel.* Pflüger's Arch. XCIV, pag. 622 (1903).

(3) J. Joteyko, *La fatigue et la respiration élémentaire du muscle.* Paris 1896. — Idem, *La vie anaérobie du muscle.* Journal médic. de Bruxelles, n. 31, 8 agosto 1898.

(4) O. Polimanti, *Ricerche sulla fisiologia generale dei muscoli.* Roma 1906.

mersi nel liquido di Ringer; sulla eccitabilità delle giunzioni neuro-muscolari, cioè sulla conduttività neuro-muscolare; sull'altezza delle contrazioni provocate da stimoli di minima frequenza.

II.

Influenza dell'acido carbonico sulla conduttività neuro-muscolare, sul tono del preparato diaframmatico, e sull'altezza delle contrazioni provocate a lunghi intervalli.

In quegli esperimenti della durata di più ore, durante i quali si stimola ritmicamente il preparato diaframmatico (con stimoli di varia intensità e di frequenza non inferiore a 30-20 al 1'), in guisa da far ad esso registrare una « curva di fatica », bisogna distinguere due specie di accorciamenti durevoli: quelli *tonici* o *contratture*, che si presentano al principio dell'esperimento, quando cioè il muscolo è ancòra fresco e dotato di notevole capacità funzionale; e quelli *terminali*, che sono indizio di rigidità.

Se il muscolo è tenuto a temperatura nè troppo bassa nè troppo alta, è stimolato non troppo frequentemente, ed è abbondantemente fornito di ossigeno, raramente il tracciato presenta al principio contratture degne di nota.

Tuttavia queste si osservano (ved. per es. le figg. 11, 12 e 13 della mia « prima Memoria »); e più spesso sogliono presentarsi, quando il muscolo è eccitato da stimoli forti e frequenti, specie se l'ossigeno è somministrato in scarsa quantità; o in certi preparati i quali, per cause ignote, appariscono originariamente dotati di una particolare disposizione alle contratture.

In tali casi, io credo che la contrattura sia provocata principalmente dalla formazione in breve tempo di una quantità eccessiva di acido lattico, che le condizioni sperimentali non permettono che sia nè eliminato nè in qualche modo metabolizzato.

Volendo quindi indagare se l'acido carbonico provoca per sè stesso la contrattura iniziale, e quale influenza questa esercita sulle contrazioni rapide, è necessario stimolare il muscolo a grandi intervalli, in guisa da ridurre al minimo la formazione dell'acido lattico.

Nell'esperimento, cui si riferisce la fig. 1, in 1. si cominciò a sostituire l'ossigeno con acido carbonico, la cui quantità fu poi aumentata in 2. Come dimostra il tracciato, in primo luogo sotto l'azione di CO_2 le contrazioni provocate mediante stimolazioni del nervo (N) mano mano diminuirono di altezza fino a scomparire del tutto; in secondo luogo, specialmente dopo 2., le *contrazioni provocate da stimoli diretti, non che diminuire di altezza, aumentarono un poco e progressivamente*; e in fine *il muscolo*

presentò un cospicuo accorciamento tonico, che non poteva dipendere dalle cause sopra dette, data la piccolissima frequenza degli stimoli, ma doveva essere causato dall'acido carbonico. Cessato il passaggio di questo gas, e somministrato di nuovo ossigeno al muscolo (in 3.), le contrazioni aumentarono grandemente di altezza, fino a raggiungere quella delle contrazioni del muscolo freschissimo (non riprodotte nella figura), e il tono incominciò ad abbassarsi.

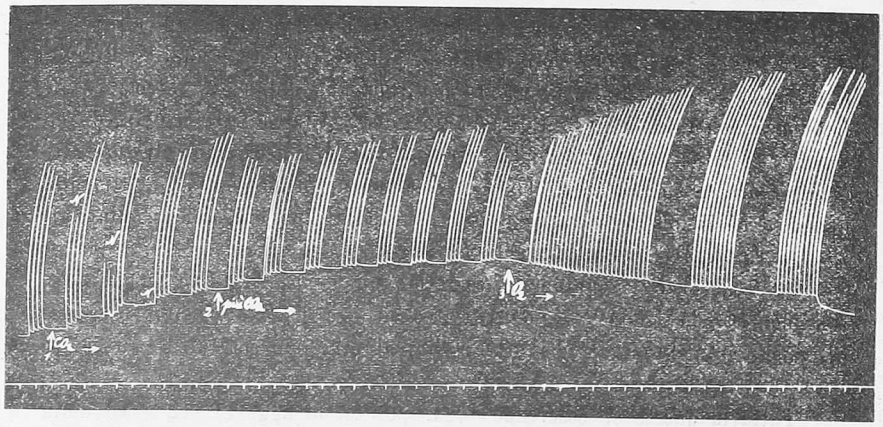

Fig. 1.

Analogo risultato ebbi nell'esperimento, cui si riferisce la fig. 2. In questo caso la contrattura prodotta da CO_2 fu assai debole. Ma per compenso il tracciato dimostra evidentemente *la restaurazione della eccitabilità, non solo del muscolo, ma anche delle giunzioni neuro-muscolari*, dopo che all'acido carbonico fu sostituito l'ossigeno. Le contrazioni N sono quelle provocate mediante stimolazioni del nervo; le M, quelle provocate mediante stimolazione diretta del muscolo. Come si vede, le contrazioni N diminuirono mano mano d'altezza, e finalmente scomparvero; ma poi tornarono ad apparire, prima piccole e poi sempre più alte. Le contrazioni M, prima diminuirono di altezza: poi, come l'accorciamento tonico si venne accentuando, crebbero, e quindi di nuovo diminuirono, causa l'azione prolungata di CO_2. Ma, somministrato di nuovo l'ossigeno, le contrazioni M tornarono ad aumentare progressivamente di altezza, finchè raggiunsero quasi quelle delle contrazioni precedenti l'azione di CO_2.

La fig. 3 riproduce il tracciato ottenuto in un altro esperimento, che dette risultati simili. La restaurazione delle giunzioni neuromuscolari e del muscolo, dopo l'azione dell'acido carbonico, non fu in questo caso tanto co-

spicua quanto nel precedente, ma si verificò in grado notevole. Si osservi il progressivo aumento e poi la diminuzione dell'altezza delle contrazioni dei gruppi centrali della figura.

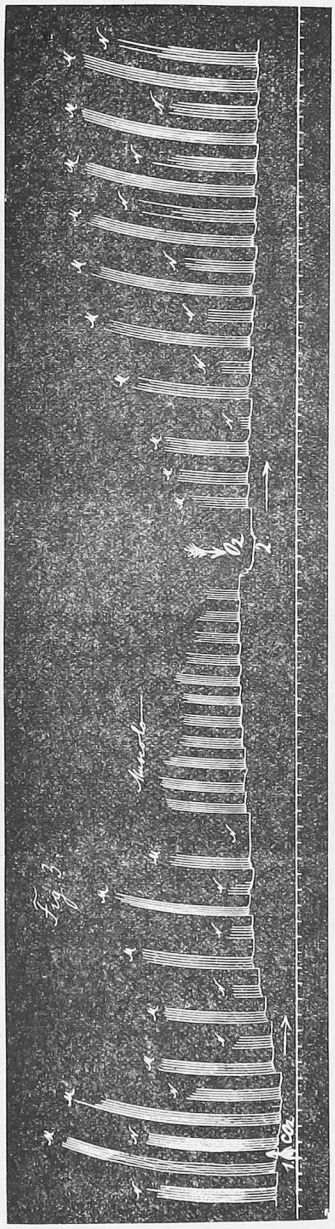

Fig. 2.

Se il muscolo, però, *non è stimolato affatto, la contrattura iniziale non si verifica* (ved. fig. 4), o solo in minimo grado.

Essa si verifica, invece, ed è molto più cospicua, quando il muscolo è stimolato più frequentemente che non negli esperimenti ai quali si riferiscono i tracciati delle figg. 1, 2 e 3. Nella fig. 5, per es., i tracciati A e B furono registrati da due preparati diaframmatici dello stesso cane, simultaneamente. Il preparato A, tenuto sempre in atmosfera di ossigeno, non presentò contrattura degna di nota, mentre il preparato B, tenuto in atmosfera di acido carbonico, ne presentò una evidentissima.

Affatto distinto dalla contrattura iniziale è l'*accorciamento terminale da rigidità*. Questo *si presenta sempre, sotto l'influenza dell'acido carbonico, e assai più presto che in condizioni normali, tanto nei muscoli stimolati* (ved. fig 6), *quanto in quelli non stimolati* (fig. 4) e che perciò non presentarono una contrattura iniziale.

Anche nel tracciato della fig. 6 la contrattura iniziale è nettamente distinta dall'accorciamento terminale.

La contrattura iniziale differisce dall'accorciamento terminale perchè:

1) la prima è tanto più cospicua quanto maggiore è la capacità funzionale e tonica del muscolo;

2) essa, contrariamente alla rigidità, si risolve presto;

3) durante e dopo la contrattura, il muscolo rimane eccitabile, mentre durante la completa rigidità il muscolo si dimostra ineccitabile.

In generale, una seconda contrattura dopo la prima non si presenta mai, quando il muscolo è stimolato ritmicamente; ma dopo un lungo riposo in presenza di molto ossigeno, l'acido carbonico può provocare una nuova contrattura.

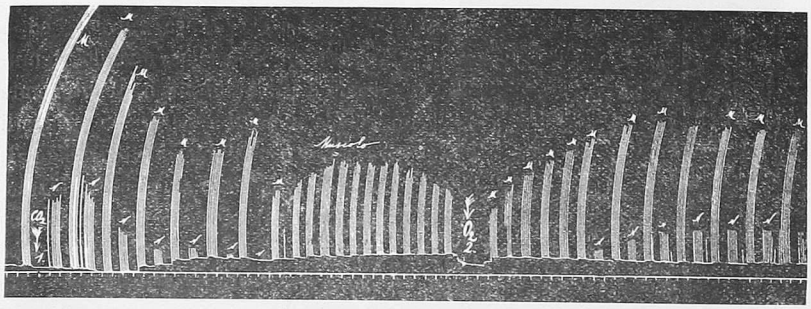

Fig. 3.

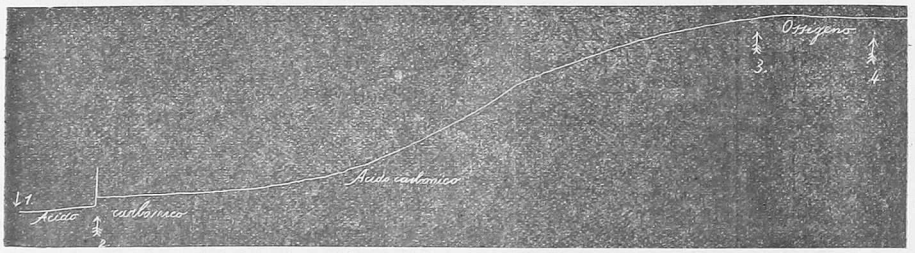

Fig. 4.

La contrattura iniziale da acido carbonico differisce da quella che producono gli altri acidi (per es., l'acido lattico) e altre sostanze (per es., la veratrina, la nicotina, gli alcali, il cloroformio, il cloruro di tetrametilammonio ecc.), perchè essa non si è mai verificata, negli esperimenti finora da me fatti, se non quando il muscolo era stato stimolato con stimoli di piccola o di mediocre frequenza. Ciò dimostra che a produrla contribuisce l'addizione degli accorciamenti residuali delle singole contrazioni provocate. Ma questo non è l'unico fattore, e nemmeno il principale.

L'acido carbonico, incapace per sè stesso di provocare una contrattura, esalta nel muscolo la tendenza all'accorciamento tonico.

Che la capacità tonica propria del muscolo influisca molto sul fenomeno della contrattura provocata da CO_2, è dimostrato dal fatto che, negli esperimenti di von Lhota, i muscoli di tartaruga presentarono una contrattura assai maggiore che non quelli di rana; e anche dal nostro esperimento, al quale si riferisce il tracciato della fig. 6. In questo caso, in cui il preparato eseguiva contrazioni ritmiche automatiche (a sinistra di 1), le quali sono

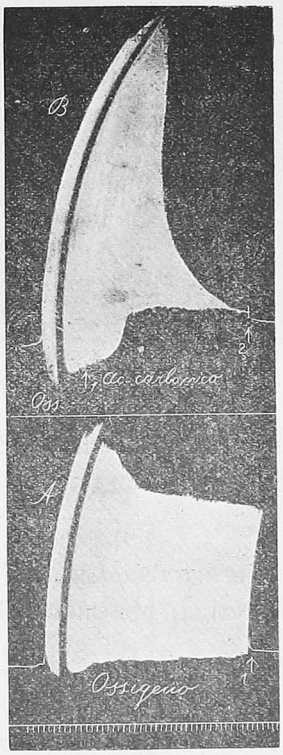

Fig. 5.

indizio di una grande eccitabilità delle giunzioni neuro-muscolari, e presentava evidente tendenza all'accorciamento tonico automatico, la contrattura prodotta dall'acido carbonico fu non solo assai accentuata, ma si svolse anche rapidamente.

In questi esperimenti non abbiamo osservato un aumento assoluto dell'altezza delle contrazioni rapide causato dall'acido carbonico. Quell'aumento, che si scorge nei gruppi della parte media del tracciato nelle figg. 1 e 3, dipende dalla contrattura ed è analogo a quello che presentano le contra-

zioni « sostenute »; tuttavia le contrazioni dei detti gruppi sono sempre meno alte, sia di quelle che il muscolo eseguiva prima di subire l'azione dell'acido carbonico, sia anche di quelle che eseguì durante la successiva restaurazione in ossigeno.

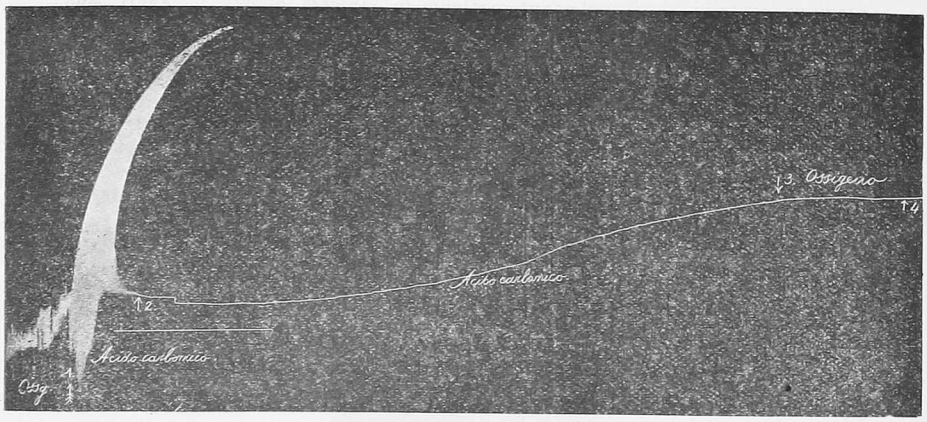

Fig. 6.

Ma sul fenomeno descritto da Broca e Richet, da Waller e da von Lhota, tornerò nelle Note successive.

Matematica. — *Sopra un'applicazione della convergenza in media.* Nota II di Pia Nalli, presentata dal Corrisp. G. Bagnera.

1. Dimostrerò la seguente proposizione:

Sia

$$f(s) = \sum_{n=1}^{\infty} a_n e^{-\lambda_n s} \tag{1}$$

una serie di Dirichlet, appartenente alla classe considerata nella Nota I e convergente nel semipiano $\sigma > \beta$. *Posto*

$$f(s) = \alpha(\sigma, t),$$

condizione necessaria e sufficiente perchè $\alpha(\sigma, t)$, *al tendere di* σ *a* β *per valori maggiori di* β, *converga in media, in* $(-\infty, +\infty)$, *verso una funzione* $p(t)$, *è che la serie*

$$\sum_{n=1}^{\infty} |a_n|^2 e^{-2\lambda_n \beta}$$

sia convergente.