

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXV.

1918

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1918

RENDICONTI

DELLE SEDUTE

DELLA REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

Seduta del 17 marzo 1918.

Presidenza del Socio anziano E. MONACI

MEMORIE E NOTE DI SOCI O PRESENTATE DA SOCI

Fisiologia. — *Ricerche sulla « Ghiandola salivare posteriore » dei Cefalopodi* (1). Nota I del Corrispondente FILIPPO BOTTAZZI.

La « Ghiandola salivare posteriore » dei Cefalopodi, particolarmente degli Ottopodi, è stata oggetto di ricerche sperimentali fatte da vari autori, fra i quali meritano di essere segnalati principalmente Krause (2), Hyde (3), Bottazzi ed Enriques (4), Livon e Briot (5), Henze (6) e Bottazzi (7). Queste

(1) Ricerche eseguite nel Laboratorio di Fisiologia della Stazione Zoologica di Napoli.

(2) R. Krause, [1] *Die Speicheldrüsen der Cephalopoden*. Centr. f. Physiol., vol. IX, pag. 273 (1895); Idem, [2] *Ueber den Bau und Function der hinteren Speicheldrüsen der Octopoden*. Sitzungsber. d. k. Akad. zu Berlin, 1897, pag. 1085.

(3) J. H. Hyde, *Beobachtungen über die Secretion der sogenannten Speicheldrüsen von Octopus macropus*. Zeit. f. Biol., vol. XXV, pag. 459 (1897).

(4) Fil. Bottazzi e P. Enriques, *Sulle proprietà osmotiche delle glandole salivari posteriori dell'Octopus macropus nel riposo e in seguito all'attività secretiva*. Volume giubil. dedic. a L. Luciani. Milano, 1900.

(5) Ch. Livon et A. Briot, *Sur le suc salivaire des Céphalopodes*. Journ. de Physiol. et de Path. génér., vol. VIII, pag. 1 (1906). (Qui sono citate le precedenti pubblicazioni di questi autori).

(6) M. Heuze, [1] *Chemisch-physiologische Studien an den Speicheldrüsen der Cephalopoden: Das Gift und die stickstoffhaltigen Substanzen des Sekretes*. Zentr. f. physiol., vol. XIX, pag. 986 (1906); Idem, [2] *Ueber das Vorkommen des Betains bei Cephalopoden*. Zeit. f. physiol. Chem., vol. LXX, pag. 253 (1910-11); Idem, [3] *p-Oxyphenyläthylamin, das Speicheldrüsengift der Cephalopoden*. Zeit. f. Physiol. Chem., vol. LXXXIII, pag. 51 (1913).

(7) Fil. Bottazzi, *Ricerche sulla Ghiandola salivare posteriore dei Cefalopodi*. Pubblicaz. della Staz. Zool. di Napoli, vol. I. pp. 59-146 (con 33 figure nel testo) (1916).

ricerche sono state rivolte allo studio, sia della composizione chimica della ghiandola e del secreto, come anche dell'azione fisiologica degli estratti ghiandolari e del secreto (¹). Circa la morfologia e la struttura della ghiandola, notizie soddisfacenti si trovano nei lavori di Rawitz (²) e di Krause (³), non che in quelli di Pfefferkorn (⁴), Wülker (⁵), Hillig (⁶) e Richter (⁷). Altri lavori di minore importanza trovansi citati nella mia precedente Memoria o saranno rammentati via via in queste Note.

L'organo risulta di due corpi ghiandolari distinti, aventi la forma di mandorla o di cuore, dal cui ilo, situato più vicino alla loro estremità prossimale, partono i condotti escretori, che dopo un breve percorso di lunghezza ineguale si fondono in un condotto unico piuttosto lungo, il quale finalmente va ad aprirsi nella cavità boccale.

I corpi ghiandolari ricevono sangue per due piccole arterie staccantisi dall'aorta dorsale o dai due rami principali di questa; e sono inclusi in un seno venoso comune, nel quale giunge sangue che proviene dall'apparato digerente, e che, assorbito dalla ghiandola come da un spugna (ved. appresso), serve alla funzione secretiva di essa. Si comprende, quindi, come questa ghiandola separata dal corpo e immersa in sangue dello stesso animale si trova, più di qualsiasi altra, in condizioni molto simili alle normali, e tali da permetterle una lunga sopravvivenza.

La ghiandola è del tipo tubolare. I tuboli presentano una parete costituita essenzialmente di uno strato interno di cellule cilindriche secernenti, e di uno strato circolare esterno di elementi contrattili che ricordano piuttosto le cellule muscolari lisce che le fibre muscolari striate. La parete dei condotti escretori, invece, oltre ad elementi connettivali ed epiteliali, contiene tre strati di elementi muscolari striati: due longitudinali, interno ed esterno, e uno medio circolare.

I nervi ghiandolari decorrono nella parete dei condotti escretori, e non sono isolabili. Essi contengono almeno due specie di fibre: motrici e secretrici.

(¹) Vedi a questo riguardo anche: S. Lo Bianco, *Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del golfo di Napoli*. Mitt. Zool. Stat. zu Neapel, vol. XIII, pag. 530 (1899).

(²) B. Rawitz, *Ueber den feineren Bau der hinteren Speicheldrüsen der Cephalopoden*. Arch. f. mikr. Anat., vol. XXXIV, pag. 596 (1892).

(³) Loc. cit. (²).

(⁴) A. Pfefferkorn, *Das Nervensystem der Octopoden*. Zeit. f. wiss. Zool., vol. CXIV, pag. 425 (1915).

(⁵) G. Wülker, *Ueber japanische Cephalopoden*. Abhandl. d. Akad. zu München (II. Klasse), Suppl.-Bd. 3, 1. Abhandl. (1910).

(⁶) R. Hillig, *Das Nervensystem von Sepia officinalis L.* Zeit. f. wiss. Zool., vol. CI, pag. 736 (1912).

(⁷) K. Richter, *Das Nervensystem der Oegopsiden*. Zeit., f. wiss. Zool., vol. CVI, pag. 289 (1913).

Per stimolare questi nervi bisogna stimolare il condotto escretore comune o i due rami in cui questo si biforca. L'effetto della stimolazione è molteplice: contrazione rapida dei condotti escretori, facilmente registrabile; contrazione rapida dei corpi ghiandolari, anch'essa registrabile, dovuta al fatto che anche le ramificazioni intraghiandolari dei condotti contengono muscolatura striata; contrazione lenta impercettibile dei tuboli ghiandolari, dovuta alla tonaca muscolare (liscia) di essi; finalmente, emissione di secreto, per esempio, per una cannulina di platino infissa nel condotto escretore, emissione che può anche essere registrata graficamente ⁽¹⁾, al fine di studiare il tempo di latenza, la soglia della eccitabilità ghiandolare, la velocità con cui il secreto è espulso ecc.

I condotti escretori, siano essi ancora uniti ai corpi ghiandolari o separati da questi, presentano vivaci movimenti automatici, la cui frequenza varia da quattro a sette contrazioni al minuto, alla temperatura media di 20° C. Essi si iniziano all'ilo del corpo ghiandolare, e quindi si comprende come quelli dei due rami possano presentare un ritmo diverso. I corpi ghiandolari non presentano movimenti visibili. Se l'automatismo sia neurogeno o miogeno è impossibile dire prima di fare ricerche istologiche per vedere se la parete dei condotti escretori contiene, o no, cellule nervose gangliari.

L'atropina e la p-idrossifenilettilamina aumentano la frequenza delle contrazioni automatiche del condotto, diminuendone l'altezza. La veratrina e la pelletierina vi provocano forte contrattura. Il secreto ghiandolare (qualche goccia), versato sulla superficie esterna del condotto, vi provoca contrattura e aumento della frequenza delle contrazioni ritmiche.

Le stimolazioni elettriche (stimoli unici o tetanizzanti di corrente indotta, corrente continua) sono molto efficaci. La soglia della eccitabilità muscolare del condotto escretore è più bassa di quella della muscolatura dei condotti intraghiandolari, e ancora più bassa della eccitabilità secretiva della ghiandola.

Il peso medio della ghiandola è di gr. 5,77. Esso varia da un minimo di gr. 4,30 a un massimo di gr. 7,68. Ma alcune ghiandole pesano fino a gr. 12 e gr. 15. Ho trovato che le ghiandole di peso maggiore sono sempre quelle degli *Octopus macropus* maschi, indipendentemente dalla stagione in cui gli animali sono pescati, dal periodo di loro maturità sessuale ecc. Si intende, che io mi riferisco esclusivamente a *Octopus* pescati nel golfo di Napoli. L'*Octopus vulgaris* ha sempre ghiandole di peso assai minore, e lo stesso può dirsi di quelle della *Eledone moschata*. Ma in questi ultimi Cefalopodi non ho fatto osservazioni circa una eventuale differenza di peso

(1) Per quanto riguarda l'apparecchio da me usato per registrare i movimenti spontanei e provocati del condotto escretore, i movimenti provocati dei corpi ghiandolari, la velocità di emissione del secreto ecc., ved. il mio lavoro precedente ⁽²⁾.

delle loro ghiandole, secondo che appartengono a individui di sesso maschile o femminile.

Le ghiandole rappresentano, nei maschi, circa l'1,41 % del peso del corpo degli animali; nelle femmine, circa il 0,58 %.

Il residuo secco delle ghiandole (stimolate) è, in media, di gr. 25,33 %, e varia da gr. 22,71 % a gr. 27,87 %. Secondo Hyde (1), esso oscilla fra gr. 23 e gr. 25 %.

Il residuo secco del secreto fu trovato da me, una volta di gr. 17,75 % e un'altra volta di gr. 20,90 %: in media, quindi, di gr. 19,32 %. Secondo Hyde (2), il residuo secco del secreto ottenuto da ghiandole immerse in sangue sarebbe maggiore (22 %) di quello del secreto di ghiandole immerse in acqua di mare (18 %). Secondo Krause (3), il contenuto in sostanze organiche del secreto varia da gr. 8,4 a gr. 19,8 %, e il contenuto in ceneri da gr. 2,4 a gr. 3,4 %. Il contenuto in ceneri sarebbe, dunque, notevolmente minore di quello dell'acqua di mare delle vasche dell'Acquario (circa gr. 4 %).

Il secreto prodotto dalle ghiandole stimulate elettricamente rappresenta, in media, il 22,15 % del peso delle ghiandole stimulate. Il valore minimo trovato è stato il 12 %, il valore massimo, il 30 %. Il Krause (4) trovò, che le ghiandole possono dare una quantità di secreto variabile dal 20 al 30 % del proprio peso. Mi sono persuaso che tali differenze dipendono, non solo dalla diversa eccitabilità e capacità funzionale delle ghiandole, ma, qualche volta, anche dal fatto che, verso la fine dell'esperimento, il secreto, divenuto eccessivamente denso e filante, ostruisce la cannula infissa nel condotto escretore. Infatti, da che uso cannule di platino aventi un lume maggiore, e ho cura di introdurre in questo di tanto in tanto uno stiletto, la quantità di secreto che ottengo è maggiore.

Il residuo secco del sangue arterioso di *Octopus macropus* è stato da me trovato, in media, di gr. 10,57 %, con variazioni da gr. 7,56 % e gr. 13,35 %. Tali variazioni dipendono principalmente dal fatto, che raccogliendo il sangue da animali ampiamente dissecati, è impossibile evitare che ad esso si mescoli una quantità variabile di acqua di mare, la quale penetra nel sistema vasale per le estremità periferiche aperte di alcuni vasi sanguigni più sottili. Krause (5) ha osservato che il sangue, in cui sia stata

(1) Loc. cit. (4).

(2) Loc. cit. (4).

(3) Loc. cit. (2 [2]).

(4) Loc. cit. (2 [2]).

(5) Loc. cit. (2 [2]).

immersa una ghiandola attiva, apparisce più concentrato, aumentando il suo residuo secco da gr. 14 % a gr. 18 %. D'accordo con questa osservazione sta il fatto, che il sangue, in cui è stata immersa una ghiandola attiva, presenta una concentrazione molecolare alquanto superiore a quella del sangue fresco. In un caso, io stesso potei constatare che il sangue aveva perduto il 19 % del proprio peso.

La pressione osmotica del secreto è alquanto superiore a quella del sangue, come dimostrano i seguenti dati numerici da me ottenuti:

I. Acqua di mare	$\Delta = 2,30^\circ \text{C}$
Sangue di <i>O. macropus</i>	" = 2,20° "
Sangue nel quale erano rimaste immerse le ghiandole durante l'attività . . .	" = 2,51° "
Secreto	" = 2,70° "
II. Sangue misto di due <i>Octopus</i>	" = 2,18° "
Secreto misto delle ghiandole di essi . . .	" = 2,80° "

Contrariamente ad altri secreti di invertebrati marini, i quali come io stesso osservai sono isosmotici rispetto al sangue, questo della « Ghiandola salivare posteriore » dei Cefalopodi è dunque un poco iperosmotico. E ciò è dovuto, probabilmente, al fatto che nelle cellule ghiandolari, durante la loro attività, avvengono scissioni di sostanze complesse, con formazione di sostanze osmoticamente attive, le quali, passando nel secreto, ne aumentano la concentrazione molecolare.

Per contro, la conduttività elettrica del secreto è quasi eguale a quella del sangue:

Sangue	$K_{18,5} = 411 \cdot 10^{-4}$
Secreto	" = 412 \cdot 10^{-4}

Nel secreto, abbandonato a se stesso in condizioni tali da non poter subire putrefazione, dopo 2-3 settimane appariscono covoni e rosette di cristalli di tirosina in numero considerevole. Esso però dà una forte reazione di Millon, anche a freddo, subito dopo essere stato raccolto, vale a dire assai prima della comparsa dei cristalli di tirosina; esso, inoltre, col tempo, tenuto esposto alla luce diffusa, si colora in giallo bruno. La sostanza che dà la reazione di Millon è, molto probabilmente, la p-idrossifeniletilamina, scoperta da Heuze ⁽¹⁾ negli estratti alcoolici delle ghiandole; e da essa verosimilmente nasce la tirosina, per una reazione, catalizzata da una carbossilasi, inversa a quella per cui nelle ghiandole la tirosina sarebbe trasformata in p-idrossifeniletilamina. Ho in corso di esecuzione ricerche dirette a saggiare tale mia ipotesi.

(1) Loc. cit. (7 [8]).

Sebbene il secreto, esaminato col metodo degl' indicatori, abbia reazione neutra o assai leggermente alcalina ($p_H = 7 - 7,9$), bollito, diventa assai opalescente, ma non coagula. Tuttavia, trattato con quattro volumi di alcool a 97 %, dà un abbondante precipitato, il che dimostra che esso contiene sostanze proteiche termostabili, o che si trovano nel liquido in condizioni tali da non coagulare al calore.

Negli estratti acquosi delle ghiandole (fatti con acqua potabile o con acqua di mare), l'autolisi delle sostanze proteiche procede non troppo lentamente, anche alla temperatura dell'ambiente, come dimostra il fatto che dopo circa un mese, vi rimangono pochissime proteine coagulabili dal calore, mentre la reazione del biurete svela la presenza di proteosi che sono precipitabili con alcool.

Anche in questi estratti, prima limpidissimi, col tempo si formano numerosi covoni di cristalli di tirosina, mentre i liquidi si vanno colorando sempre più intensamente in giallo-bruno, come le soluzioni di p-idrossifenilettilamina e quelle di adrenalina. Essi danno la reazione di Millon, intensissima e a freddo, anche subito dopo la loro preparazione, e anche se le ghiandole furono, immediatamente dopo l'asportazione dal corpo degli animali, buttate in acqua distillata bollente, per distruggerne gli enzimi, e in essa tritate. La sostanza che dà la reazione di Millon rapidamente a freddo preesiste, dunque, nelle ghiandole, e non può essere che la stessa p-idrossifenilettilamina, che in quantità maggiore può ottenersi mediante l'estrazione con alcool.

Il secreto e l'estratto non digeriscono l'amido cotto nè il glicogeno, e non idrolizzano il saccarosio. Digeriscono, invece, non molto lentamente, i muscoli freschi di *Maja Squinado* sospesi in acqua di mare, cioè in ambiente leggermente alcalino, e provocano la formazione di grande quantità di tirosina in una soluzione di peptone Witte. Essi dunque contengono enzimi proteolitici e peptolitici, contrariamente a quanto era stato affermato da altri autori (¹).

I detti liquidi fanno anche coagulare lentamente il latte.

(¹) P. Bert, Jousset de Bellesme, Krükenberg, Bourquelot, Griffiths, cit. da O. v. Fürth, Vergl. chem. Physiol. der niederen Tiere. Jena, 1903, pag. 215 e segg.