

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXVI.

1919

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1919

superficiali sopra terreni impermeabili, essendo difatti in tale fase che la zona delle acque incanalate si fonde con quella freatica sottostante. In altri termini, i fiumi superficiali, che arrivano al calcare, come corpi d'acqua già formati entro bacini idrografici di rocce non assorbenti, continuano anche sotto terra a mantenere, salvo perdite e diramazioni, la loro individualità indipendente. Così pure le acque filtranti dalla superficie, attraverso gli inghiottitoi e le fessure dei massicci calcarei, vengono a raccogliersi, entro i condotti più ampî, in vene sotterranee, a condotta ora libera ora forzata, secondo quel cammino che, per le accidentalità puramente fortuite della fessurazione, esse trovano più facile sino a uno sbocco esterno. Questo sbocco può aprirsi in qualunque punto, a qualsiasi altezza, della superficie esteriore, o anche al di sotto del livello marino; basta che esso sia più basso delle bocche assorbenti, in modo da avere una pressione idrostatica sufficiente a mantenere il movimento di deflusso. Le maggiori cavità sotterranee comunicanti con l'esterno devono venir considerate come altrettanti sfiatatoi delle acque sotterranee scorrenti, le quali si raccolgono entro le vaste cavità interne, che per tal modo vengono a funzionare come bacini regolatori e di raccolta. Chè se, entro gli inghiottitoi e le cavità immagazzinanti, l'acqua, in un periodo di siccità, si abbassa fino al livello della risorgente, questa si arresterà, spiegandosi così il regime intermittente di molte risorgenti. Il deflusso perenne o intermittente delle risorgenti dipende quindi non dalla loro posizione, ma dall'abbondanza delle acque assorbite, dalla capacità dei bacini di raccolta e dal decorso dei condotti interni; e con ciò si spiega la presenza, sul medesimo versante di valle, di risorgenti perenni più alte delle risorgenti intermittenti.

Fisiologia. — Ricerche sulla natura del veleno dell'anguilla.
V: *Azione tossica della bile di anguilla* ⁽¹⁾. Nota del dott. G. BUGLIA,
presentata dal Corresp. V. ADUCCO ⁽²⁾.

Le presenti ricerche hanno lo scopo principale di stabilire un confronto fra l'azione tossica della bile di anguilla e quella del siero di sangue di anguilla.

Speciali ricerche sull'azione tossica della bile di anguilla non mi risulta siano state fatte. Il Wehrmann ⁽³⁾ trovò che la bile di anguilla neutralizza *in vitro* la tossicità del siero di questo animale. Camus e Gley ⁽⁴⁾ consta-

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di fisiologia della R. Università di Pisa, diretto dal prof. V. Aducco.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 12 settembre 1919.

⁽³⁾ C. Wehrmann, *Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères*. Ann. de l'Inst. Pasteur, XI, 1897, pag. 810.

⁽⁴⁾ L. Camus et E. Gley, *Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille: contribution* ecc. Arch. internat. de pharmacologie, V, 1898, pag. 247.

tarono che codesto liquido, anche in quantità relativamente elevata, ha una lieve azione globulicida: in alcuni casi, però, neutralizzando la bile (trovata leggermente acida alle cartine di tornasole), questi Autori osservarono che acquistava la proprietà di produrre una notevole diffusione dell'emoglobina.

La quantità di bile, che ho potuto raccogliere dalla cistitellea delle anguille, è piccola: da anguille di circa 500 gr. ne ottenni $\frac{1}{3}$ cc., ma non sempre.

Il colore per lo più è verde-cupo; spesso però si trova anche un colore bruno giallastro con qualche riflesso verde, più o meno marcato. Notai molte volte una certa corrispondenza fra il colore della bile e quello del sangue, nel senso che i riflessi verdastri di questo erano tanto più accentuati quanto più intensa era la colorazione verde del bile.

La reazione, saggiata con le cartine di tornasole, mi risultò quasi sempre neutra, vale a dire che non arrossava le cartine azzurre, nè rendeva azzurre le cartine rosse.

Otteni costantemente positiva la reazione di Pettenkofer.

a) *Azione tossica sugli animali.* — Dagli esperimenti sulle rane (del peso medio di 20 gr.) è risultato che la bile di anguilla, iniettata nell'addome in quantità di cc. 0.2-0.3, produce la morte entro un periodo di tempo variabile da ore 1 a 6 circa; in quantità inferiore, dà un intossicamento lento, e la morte avviene dopo molte ore od anche dopo alcuni giorni.

Nell'avvelenamento rapidamente letale, i fenomeni tossici più salienti sono questi: appena fatta l'iniezione, si osservano movimenti vermiformi delle pareti addominali: dopo circa 15', l'animale cade facilmente in istato catalettico, per cui, capovolto, rimane a lungo nella posizione in cui viene messo, se però viene stimolato, si risveglia e si raddrizza spontaneamente, dimostrando la vivacità normale; dopo 30' circa, od anche meno, presenta fenomeni di paresi e paralisi, e gli arti posteriori assumono una posizione di semi-flessione; in questo periodo il ventre e il lato interno delle coscie sono arrossati; se si affatica l'animale, capovolgendolo più volte, durante gli sforzi che compie per raddrizzarsi, ha tremori e contratture; tremori e contratture agli arti posteriori si osservano anche in seguito a stimolazioni meccaniche, e, più di rado, spontaneamente; col progredire dell'intossicamento, la paralisi si accentua e l'animale, messo in posizione supina, non è più capace di raddrizzarsi; il suo corpo è flaccido; le stimolazioni meccaniche provocano soltanto qualche atto di doglutizione; la sensibilità corneale persiste sino alla morte; dopo morte, il cuore trovasi per lo più arrestato in sistole e l'arrossamento al ventre ed alle coscie è scomparso. Nelle forme di avvelenamento lento i fenomeni suddetti si manifestano molto più tardivamente e sono meno accentuati. La pelle dell'animale, negli ultimi periodi, diventa asciutta, e il corpo appare insecchito.

Dal complesso dei risultati sperimentali si può dunque concludere che la bile di anguilla esercita, sugli animali eterotermi (rane), un'azione elettiva sul sistema nervoso, producendo fenomeni tossici a carattere prevalentemente ipnotico e paralizzante.

Fenomeni molto somiglianti si osservano anche nell'avvelenamento da siero di anguilla, così che si può stabilire, fra l'azione tossica dei due liquidi, una certa analogia, come risulta dalla seguente tabella in cui sono riuniti alcuni esperimenti, fatti contemporaneamente, con siero e bile di anguilla, su rane di peso pressochè eguale (20 gr.):

SIERO DI SANGUE DI ANGUILLA (ottenuto dal sangue di varie anguille)		BILE DI ANGUILLA (ottenuta da varie anguille)	
	Siero cc.	Soluz. fisiol. cc.	Osservazioni
1° esp.	0.1	0.9	1° esp. Ore 16.35' si fa l'iniezione " 20 l'animale è vivace; nella notte muore
2° "	0.2	0.8	" 9.40' si fa l'iniezione " 15.50' incapace di raddrizzarsi " 17.5' completa paralisi (il cuore com- pie 52 pulsaz. al 1')
3° "	0.3	0.7	" 9.45' si fa l'iniezione " 14 inizio paralisi arti posteriori " 15 tremori, contratture in seguito a stimolazione meccanica
4° "	0.4	0.6	" 16 completa paralisi (il cuore com- pie 66 pulsaz. al 1') " 9.30' si fa l'iniezione " 14 inizio paralisi arti posteriori " 15 incapace di raddrizzarsi; tre- mori, contratture in seguito a stimolazione meccanica
5° "	0.6	0.4	" 15.20' completa paralisi (il cuore com- pie 60 deboli pulsaz. al 1') " 9.35' si fa l'iniezione " 10.30' paralisi arti posteriori " 10.40' tremori, contratture " 10.50' paralisi completa (il cuore com- pie 23 pulsaz. al 1')
6° "	0.8	0.2	" 9.38' si fa l'iniezione " 11.25' paralisi arti posteriori " 11.35' tremori, contratture " 11.45' paralisi completa (il cuore com- pie 18 pulsaz. al 1')
	Bile cc.	Soluz. fisiol. cc.	Osservazioni
1° esp.	0.1	0.9	Ore 9.50' si fa l'iniezione " 20 vivace; muore dopo 48 ore
2° "	0.2	0.8	" 9.52' si fa l'iniezione " 11.30' inizio paralisi " 15 tremori, contratture in seguito a stimolazione
3° "	0.3	0.7	" 19 paralisi completa " 9.55' si fa l'iniezione " 10.30' inizio paralisi " 10.37' paralisi completa (cuore arre- stato in sistole)
4° "	0.4	0.6	" 9.58' si fa l'iniezione " 10.20' incapace di raddrizzarsi; tremori, contratture " 10.30' paralisi completa (cuore arre- stato in sistole)
5° "	0.6	0.4	" 9.58' si fa l'iniezione " 10.30' incapace di raddrizzarsi; tremori, contratture " 10.35' paralisi completa (cuore arre- stato in sistole)

Un'altra evidente analogia fra bile e siero di anguilla sta nel carattere di termostabilità che presentano gli elementi tossici dell'una e dell'altro. Il calore non distrugge nè altera le sostanze tossiche della bile e del siero, ma, in presenza di sostanze albuminose, esse vengono per così dire immobilizzate, e la loro azione tossica, in certo qual modo, è sospesa⁽¹⁾. Infatti, anche la bile che, sottoposta all'azione del calore, conserva inalterata la sua tossicità, diventa innocua se si riscalda dopo l'aggiunta di sostanze albuminose. E come i processi disgregativi fanno riacquistare al siero la tossicità perduta per effetto del riscaldamento⁽²⁾, così anche accade per la bile, quando viene riscaldata in presenza di sostanze albuminose:

(29-V-919). 1 cc. di bile, ottenuto da una grossa anguilla di gr. 1350, si diluisce con 6 cc. di soluzione fisiologica.

Il liquido è di un bel colore verde; ha reazione neutra.

Ore 9.30': 2 cc. della bile diluiti si iniettano nell'addome di una rana (di gr. 21).

" 9.35. L'animale, capovolto, è incapace di raddrizzarsi; ha contratture agli arti posteriori; il ventre è arrossato.

" 11. Si trova morto l'animale.

3 cc. della bile diluiti si riscaldano a bagnomaria (70° C) per 30'. Il liquido diventa più trasparente e assume una colorazione verde-smeraldo; la reazione rimane neutra.

Ore 10.30': 2 cc. della bile così riscaldata si iniettano nell'addome di una rana (di gr. 23).

" 10.55. L'animale presenta gli stessi fenomeni di intossicamento dell'animale precedente: paresi, paralisi, contratture e arrossamento addome.

" 12. Muore.

(12-VI-919). 1 cc. di bile, ottenuta da tre anguille, si diluisce con 3 cc. di soluz. fisiologica. Il liquido ha reazione neutra.

Ore 17: 3 cc. della bile diluita si riscaldano a bagnomaria (100° C) per 30'.

" 17.45': 2 cc. della bile così riscaldata si iniettano nell'addome di una rana (di gr. 20).

" 18.15': paresi e paralisi agli arti posteriori; contratture in seguito a stimolazione meccanica; arrossamento ventre e coscie.

" 18.25': tremori, contratture, morte.

A 1 cc. della bile diluita si aggiunge 1 cc. di siero di anguilla e si riscalda la mescolanza a 70° C per 30'. Il liquido rimane limpido.

Ore 19: 2 cc. di questo liquido si iniettano nell'addome di una rana (di gr. 22).

" 20: l'animale non presenta fenomeni tossici; è vivacissimo.

13-VI, ore 8, id.

15 " " " id.

16 " " 15, muore.

(¹) Secondo Bayer (ved. *Fisiologia* di Beaunis e Aducco, cap. *Fisiologia della nutrizione*, pag. 375), le sostanze albuminose del siero sanguigno impedirebbero l'azione tossica dei sali biliari in genere, perchè tra essi e le sostanze proteiche del siero si formerebbe una combinazione *sui generis*, essenzialmente consistente in un fenomeno di adsorbimento.

(²) G. Buglia, *Ricerche sulla natura del veleno dell'anguilla*. Note I e III. Atti della R. Acc. dei Lincei 1919.

(16-6-919). A 1 cc. di bile diluita, con soluz. fisiol., al decimo, si aggiunge 1 cc. di soluz. fisiol.

- Ore 10.5': si inietta la mescolanza nell'addome di una rana (di gr. 27)
- " 11.15': inizio paresi e paralisi.
- " 11.45': l'animale, capovolto, è incapace di raddrizzarsi.
- " 11.50': tremori spontanei agli arti posteriori e contratture in seguito a stimolazione.
- " 12.15': muore.

A 1 cc. della bile stessa, diluita al decimo, si aggiunge 1 cc. di estratto di *cieche* (gr. 5 di *cieche* + cc. 10 di soluz. fisiol.). Si riscalda la mescolanza a bagnomaria (75° C) per 15'. Si forma un abbondante precipitato fioccoso.

- Ore 10.30': si inietta la mescolanza nell'addome di una rana (di gr. 24).
- " 12: nessun fenomeno tossico; l'animale è vivace.
- " 20, id.

17-VI, ore 20, idem.

19 " " " "

20 " " " movimenti torpidi.

21 " " 8, si trova morto l'animale.

(9-VII-919). 2 cc. di bile, ottenuti da cinque anguille del peso medio di 300 gr., si diluiscono con 10 cc. di soluz. fisiol. Il liquido è di colore giallo-verdastro; ha reazione neutra.

A 1 cc. della bile così diluita si aggiungono 2 cc. di soluz. fisiol. Si riscalda il liquido a 100° per 5'.

- Ore 16.15': 2 cc. si iniettano in una rana (di gr. 25).
- " 20: inizio paresi e paralisi arti posteriori.

10-VII, ore 8, si trova morto l'animale.

A 2 cc. della bile diluita si aggiungono 4 cc. di estratto di muscoli di rana (muscoli gr. 5 + cc. 15 di soluz. fisiol.). Si riscalda la mescolanza a 100° C per 15'. Si forma un precipitato fioccoso che si allontana con la centrifugazione.

- Ore 16.30': 2 cc. del liquido centrifugato si iniettano in una rana (di gr. 28).

10-VII, ore 8. L'animale non presenta fenomeni tossici; è vivace.

11 " " " idem.

12 " " " movimenti torpidi.

13 " " " si trova morto.

4 cc. della suddetta mescolanza (bile + estratto muscolare) si riscaldano a 100° C per 5'. Si macina il liquido in mortaio, con cristalli di quarzo.

- Ore 16.40': 2 cc. di liquido macinato si iniettano in una rana (di gr. 24).
- " 20 inizio paresi e paralisi degli arti posteriori.
- " 22 L'animale è incapace di raddrizzarsi spontaneamente.

10-VII, ore 8, si trova morto.

Ma, nonostante le sopraddette proprietà comuni alla bile e al siero, esiste, fra l'azione tossica di questi due liquidi, una divergenza sostanziale, consistente nel fatto che la bile non produce, negli animali a sangue caldo, quelle alterazioni del ritmo respiratorio e della funzione cardio-vascolare, che contribuiscono a dare uno speciale carattere all'avvelenamento da siero di anguilla. Difatti, in un esperimento che feci sul cane, sebbene iniettassi, in una delle giugulari, una quantità di bile corrispondente alla dose di siero rapidamente letale (cc. 0.3 per kg. d'animale), non ottenni notevoli

modificazioni nè del ritmo respiratorio nè della pressione arteriosa. L'animale, irrequieto, dopo l'iniezione diventò calmo e rimase per lungo tempo in uno stato di evidente torpore e sonnolenza (1).

b) *Azione emolitica.* — Più sopra ho ricordato le prove del Camus e del Gley sull'azione emolitica della bile di anguilla.

In un caso soltanto (usando sangue defibrinato di bue), trovai che la bile di anguilla non esercitò azione emolitica *in vitro*. In molti altri casi invece (usando sangue defibrinato di cane) constatai che la bile ha un'azione emolitica abbastanza intensa e che non viene distrutta o alterata dal calore.

L'aggiunta di alcali aumenta considerevolmente il potere emolitico della bile; ma è da ritenere che ciò sia dovuto all'azione emolitica propria dell'alcali, azione che si aggiunge a quella della bile.

Una differenza fra l'azione emolitica *in vitro* della bile e quella del siero di anguilla, consisterebbe nel fatto che l'azione della bile si manifesta più rapidamente.

CONCLUSIONI.

La bile di anguilla produce negli animali eterotermi (rane) un'azione tossica prevalentemente ipnotica e paralizzante; negli omotermi (per via endovenosa) non dà notevoli alterazioni, nè del ritmo respiratorio, nè della pressione arteriosa. Nel primo caso esiste un'evidente analogia fra l'azione tossica della bile e quella del siero di anguilla; nel secondo caso, invece, v'è una sostanziale differenza fra l'azione tossica dei due liquidi.

Il calore non distrugge nè altera l'azione tossica della bile: ma, se alla bile si aggiungono sostanze albuminose, il riscaldamento ha per effetto di renderla innocua, perchè le sostanze tossiche in essa contenute vengono immobilizzate (non distrutte nè alterate) dalla sostanza albuminosa.

Il carattere di termostabilità della bile di anguilla e il suo comportamento in presenza di sostanza albuminosa trovano perfetta corrispondenza nel siero del sangue di questo stesso animale.

La bile, come il siero del sangue di anguilla, ha un'evidente azione emolitica sul sangue defibrinato di cane.

(1) Accenno di sfuggita che, sotto questo aspetto, l'azione tossica della bile di anguilla, invece che col siero normale, presenta affinità con l'azione tossica del liquido proveniente dalla dialisi del siero, che in precedenza viene sottoposto ad un'azione disgregativa (v. G. Buglia, *Ricerche sulla natura del veleno d'anguilla*. Nota IV. Atti della R. Acc. dei Lincei, 1919).