

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

Fisiologia. — *Ricerche sulla natura del veleno dell'anguilla.*
I: *L'ittiotossico è termostabile* (1). Nota del dott. G. BUGLIA, presentata dal Corresp. V. ADUCCO (2).

Angelo Mosso (3), studiando il veleno dell'anguilla, constatò che il siero del sangue di questo animale perde l'azione tossica, se viene riscaldato a 100° C. Ugolino Mosso (4), nelle ricerche che fece per stabilire la natura di detto veleno, trovò che la temperatura di 70° C è già sufficiente per distruggere l'azione tossica del siero dell'anguilla. Più recentemente Camus e Gley (5) ottennero la scomparsa dell'azione globulicida del siero di anguilla portandolo alla temperatura di 58° C per 15'. Io stesso, riferendo i risultati di alcune mie ricerche sulla tossicità dell'estratto acquoso del corpo delle giovani anguille ancora trasparenti (*cieche*), della pelle di anguilla adulta e del *liquido filante*, secreto esternamente dalle *cieche* e dalle anguille (6), emisi l'opinione che la sostanza tossica, contenuta in detti liquidi, venga alterata o distrutta dal calore.

Da tutte queste ricerche risulterebbe dunque che il veleno dell'anguilla è una sostanza *termolabile*.

Occupandomi di nuovo presentemente dell'azione tossica dell'estratto acquoso del corpo di giovani anguille (*cieche*), ho avuto occasione di fare esperimenti anche col siero di sangue dell'anguilla adulta e studiare gli effetti del riscaldamento su questi liquidi.

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

(2) Pervenuta all'Accademia il 17 luglio 1919.

(3) A. Mosso, *Un venin dans le sang des murénides*. Arch. it. de biol., tom. X, 1888, pag. 141-169.

(4) U. Mosso, *Recherches sur la nature du venin qui se trouve dans le sang de l'anguille*. Rend. d. R. Acc. dei Lincei, 2 giugno 1889, pag. 804; Arch. it. de biol., tom. XII, 1889, pag. 229-236.

(5) L. Camus et E. Gley, *Recherches sur l'action physiologique du serum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise*. Arch. intern. de pharmacodyn., vol. V, 1898, pag. 247-305; E. Gley, *Travaux du laboratoire*, tom. I, Masson et C. éd., Paris 1912, pag. 18-86.

(6) G. Buglia, *Sull'azione tossica che gli estratti acquosi del corpo delle giovani anguille ancora trasparenti (cieche), esercitano sul sangue*. Atti d. Soc. Tosc. di Sc. Nat. Vol. XXXI, 1917; Arch. it. de biol., 1919, tom. LXIX, pp. 119-133; G. Buglia, *Sulla tossicità degli estratti acquosi del corpo delle giovani anguille ancora trasparenti (cieche)*. Atti d. Soc. Tosc. di Sc. Nat., vol. XXXII, 1919; Arch. it. de biol., 1919, tom. LXIX.

I risultati ottenuti dimostrano, contrariamente a quanto risulta dalle ricerche precedenti, che il veleno dell'anguilla è una sostanza *termostabile*.

Il riscaldamento fa scomparire l'azione tossica dell'estratto acquoso del corpo di *cieche* e del siero di sangue di anguilla, non perchè distrugga il veleno, ma perchè provoca fenomeni di adsorbimento da parte delle sostanze albuminose, che sono contenute in questi liquidi e che coagulano sotto l'azione del calore. Infatti con opportuni mezzi si riesce facilmente a ridare al liquido, reso innocuo dall'azione del calore⁽¹⁾, la sua tossicità normale.

Ho ottenuto questo risultato, sottoponendo a disgregazione meccanica (mercè la macinazione in mortaio di vetro, con cristallini di quarzo) il precipitato fioccoso dato dall'estratto di *cieche* e il coagulo gelatinoso formatosi dal siero di anguilla, quando vengono riscaldati per un certo tempo a temperature prossime o superiori a quella di 60° C. Anche con la digestione triptica ho potuto raggiungere effetti analoghi a quelli ottenuti col disgregamento meccanico, però non costantemente e non sempre in modo così manifesto.

Riferisco alcuni esperimenti, in cui sottoposi all'azione del disgregamento meccanico l'estratto acquoso del corpo di *cieche* e il siero del sangue di anguilla, dopo averli tenuti alla temperatura di 70° e 100° C, rispettivamente per 30' e 15'.

I. — *Esperimenti con estratto acquoso del corpo di CIECHE:*

A) Si prepara l'estratto di *cieche* tritando nel mortaio, con cristalli di quarzo, 10 gr. di *cieche* e aggiungendo alla poltiglia 20 cc. di soluzione di NaCl al 0,9%. La miscela viene agitata e centrifugata. L'estratto ha reazione neutra; sottoposto all'azione del calore, dà abbondante precipitato fioccoso.

a) *Azione tossica generale:*

2 cc. di estratto di *cieche*, iniettati nella cavità addominale di una rana, producono la morte (dando i soliti fenomeni di avvelenamento, analoghi a quello del siero di anguilla) in 4 ore.

2 cc. dello stesso estratto, portati alla temperatura di 70° C per 30', iniettati nella cavità addominale di una rana, non producono fenomeni tossici degni di nota. L'animale muore dopo 3 giorni.

2 cc. dell'estratto, portati a 70° C per 30', vengono disgregati in mortaio. Si ottiene una miscela di colore grigio giallastro che, dopo averla lasciata sedimentare per qualche minuto, si inietta nella cavità addominale di una

(1) In realtà il calore non rende del tutto innocui l'estratto di *cieche* e il siero di anguilla: infatti l'iniezione di questi liquidi riscaldati produce negli animali, sebbene dopo lungo tempo, fenomeni di intossicamento più o meno gravi, ed anche la morte. La qual cosa si potrebbe spiegare ammettendo che in questi liquidi, pervenuti nell'organismo vivente, si metta in libertà dopo un certo tempo, la sostanza tossica adsorbita.

rana. Un'ora circa dopo l'iniezione, compaiono evidenti fenomeni di avvelenamento (catalessi, paresi, paralisi e contratture fibrillari agli arti posteriori). La morte avviene entro 5 ore.

b) Azione emolitica:

Soluzione di Na Cl 0.9 % cc.	Estratto di cieche gocce	Sangue defibrinato di cane gocce	Dopo 6 ore
1	—	1	niente emolisi
"	2	"	emolisi
"	5	"	emolisi
"	2 a 70° per 30'	"	niente emolisi
"	5 id.	"	niente emolisi
"	2 a 70° per 30' eppoi disgregato	"	emolisi
"	5 id.	"	emolisi

B) Si prepara l'estratto di *cieche* come precedentemente.

a) Azione tossica generale:

2 cc. di estratto di *cieche*, iniettati nella cavità addominale di una rana, danno la morte in ore 1 e 45'.

2 cc. dello stesso estratto, portato alla temperatura di 100° C per 15', iniettati nella cavità addominale di una rana, non producono fenomeni tossici degni di nota. L'animale muore dopo 2 giorni.

2 cc. dell'estratto, portato a 100° C per 15' eppoi disgregato in mortaio, iniettati nella cavità addominale di una rana, dopo 2 ore danno fenomeni di avvelenamento consistenti in paralisi degli arti posteriori, tremori, contratture. La morte avviene dopo 7 ore e 30'.

b) Azione emolitica:

Soluzione di Na Cl 0.9 % cc.	Estratto di cieche cc.	Sangue defibrinato di cane	Dopo 12 ore
1	—	1 cc.	niente emolisi
"	1	" "	emolisi
"	1 a 100° C per 15'	" "	niente emolisi
"	1 a 100° C per 15' eppoi disgregato	1 "	niente emolisi
"	1 id.	1 goccia	lieve emolisi

II. — *Esperimenti con siero di sangue di anguilla:*

A) Il siero venne ottenuto dal sangue raccolto recidendo la coda di 4 grosse anguille del peso medio di 300 grammi. Colore giallo bruno con qualche riflesso verdastro, reazione leggermente alcalina. Riscaldato a 70° C, non precipita in fiocchi ma forma una massa gelatinosa di colore verdastro opaco.

a) Azione tossica generale:

$\frac{1}{2}$ cc. di questo siero, iniettato nella cavità addominale di una rana, ne produce la morte (dando i caratteristici fenomeni di avvelenamento) in ore 3 e 15'.

$\frac{1}{2}$ cc. dello stesso siero, portato alla temperatura di 70° C per 30' e iniettato in una rana, non produce fenomeni tossici degni di nota. Dopo 2 giorni l'animale è ancora vivo.

$\frac{1}{2}$ cc. del siero, riscaldato a 70° C per 30', viene disgregato in mortaio. La mescolanza, di colore grigio verdastro, si lascia sedimentare per qualche tempo, eppoi si inietta nella cavità addominale di una rana. Produce la morte dell'animale (dando fenomeni analoghi a quelli prodotti da siero normale), in 5 ore.

b) Azione emolitica:

Soluzione di Na Cl 0,9% cc.	Estratto di cieche gocce	Sangue defibrinato di cane gocce	Dopo 6 ore
1	—	1	niente emolisi
"	2	"	lieve emolisi
"	5	"	emolisi
"	2 a 70° per 30'	"	niente emolisi
"	5 id.	"	niente emolisi
"	2 a 70° per 30' eppoi disgregato	"	emolisi
"	5 id.	"	emolisi

B) Siero di sangue ottenuto da 3 grosse anguille. Colore verdastro, reazione leggermente alcalina. Riscaldato a 100° C non flocchifica, ma dà un coagulo gelatinoso di colore verdastro, opaco.

a) Azione tossica generale:

$\frac{1}{2}$ cc. di questo siero, iniettato nell'addome di una rana, ne produce la morte (dando i caratteristici fenomeni di avvelenamento) in ore 2 e 10'.

$\frac{1}{2}$ cc. dello stesso siero, portato alla temperatura di 100° C per 15' e iniettato nell'addome di una rana, non produce alcun fenomeno tossico degno di nota. L'animale muore dopo 3 giorni.

$\frac{1}{2}$ cc. del siero, riscaldato a 100° C per 15' eppoi disgregato in mortaio, iniettato nell'addome di una rana l'uccide, dando i soliti fenomeni del siero normale, in ore 4.

b) Azione emolitica:

Soluzione di Na Cl 0.9 % cc.	Estratto di cieche gocce	Sangue defibrinato di cane gocce	Dopo 6 ore
1	—	1	niente emolisi
"	2	"	emolisi
"	2 a 100° per 15'	"	niente emolisi
"	5 id.	"	lieviss. emolisi
"	2 o 100° per 15' eppoi disgregato	"	emolisi
"	5 id.	"	emolisi

Una prova indiretta che la tossicità dell'estratto di *cieche* e del siero di anguilla scompare col riscaldamento, perchè il veleno viene adsorbito dalle sostanze albuminose contenute in questi liquidi e che coagulano per l'azione del calore, si può avere sperimentando con la bile di anguilla che è priva, o quasi del tutto, di sostanze albuminose.

La bile di anguilla (come quella di altri animali) conserva inalterata la sua tossicità anche se riscaldata a 100° C; la perde, invece, se si riscalda dopo aggiunta di sostanze albuminose (ad es. estratto di muscoli).

I risultati che ho riferito dimostrano dunque che il veleno dell'anguilla, contrariamente a quanto si riteneva è una sostanza termostabile.