

RE  
A T T I  
DELLA  
REALE ACCADEMIA NAZIONALE  
DEI LINCEI

ANNO CCCXVII.  
1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

grande copia nell'autunno che sussegue il periodo della loro caduta al suolo. Ora l'alta germinazione di codesti granelli non va esclusivamente prospettata in dipendenza del fatto per cui le abbondanti piogge li incolgono allorchè hanno nel frattempo subite quelle intime modificazioni che loro hanno permesso di « perfezionarsi » o divenire « pronti alla germinazione », ma ancora in dipendenza delle più basse temperature del periodo autunnale.

CONCLUSIONI. — Le osservazioni, cui si riferisce la brevissima odierna comunicazione, mentre costituiscono una netta conferma dei rilievi di G. T. Harrington circa la facoltà che hanno i semi così detti freschi di alcune specie di germinare prontamente appena raccolti se collocati in letto a bassa temperatura, porterebbero insieme a dover modificare le idee fondamentali sulla interpretazione del meccanismo della quiescenza di alcune categorie di semi. Il supposto, secondo cui l'embrione di questi semi non sarebbe al momento della raccolta ancora « fisiologicamente perfezionato » o « privo di diastasi suscettibili di dissolverne le riserve », non troverebbe di che appoggiarsi sui rilievi di Harrington e nostri. Il problema merita d'essere ripreso.

Patologia. — *Azione del siero di gravida su estratti placentari.* Nota dei professori MAURIZIO ASCOLI e GUIDO IZAR, presentata dal Socio BATTISTA GRASSI (1).

A suo tempo, in ricerche inedite, abbiamo avuto occasione di indagare se colla reazione meiostragmica stalagmometrica (R. M. S.) fosse possibile mettere in evidenza in condizioni patologiche nel siero di sangue sostanze reagenti con estratti di organi in modo diverso dal siero normale. L'esito fu negativo, fatta eccezione per i tumori maligni.

C'è parso opportuno riprendere queste ricerche con la modificazione (reazione meiostragmica precipitante: R. M. P.) proposta da uno di noi (Izar, Accad. Gioenia, 1920) per la sierodiagnosi dei tumori maligni ed allo stesso risultata applicabile, in linea generica, alle forme infettive.

Comunichiamo oggi le osservazioni raccolte con sieri di gravide messi a reagire con estratti placentari secondo tecnica analoga.

#### TECNICA:

**Antigeno:** placenta lavata bene con soluzione clorosodica ripetutamente rinnovata per togliere i disinfettanti ed il sangue; tolto il cordone e le membrane; spremuta in soluzione clorosodica finchè il liquido di lavaggio resta chiaro; asciugata spremendo fra panno pulito, poi fra carta bibula; triturrata finamente alla macchina; pesata un'aliquota e triturrata in mortaio con polvere di quarzo fino a consistenza friabile; lavaggio con

(1) Pervenuta all'Accademia il 29 settembre 1920.

2-3 parti di alcool a 95° che si getta dopo 24 ore di contatto; il residuo, ripreso in boccia a tappo di gomma con 10 parti di alcool a 95°, lasciato a 37° per 8 giorni, agitando almeno una volta al dì. Il soluto alcoolico, filtrato su carta Laurent o Schleicher e Schüll n. 590, si fa evaporare in capsula piana nel vuoto a 37°-40°. Il residuo, ripreso con 3 parti di alcool a 99,3° (Schiapparelli-ridistillato), si filtra come sopra e si conserva sotto CO<sub>2</sub> in bottiglie di vetro bleu o giallo a tappo a smeriglio, oppure nelle speciali fialette descritte per l'antigeno neoplastico.

**Titolazione:** in una serie di provette (accuratamente lavate con alcali, acidi, acqua still., alcool, etere e seccate alla stufa) si introduce con pipetta secca 1 cm<sup>3</sup> di antigeno e si aggiungono rispett. 4-9-14-19-24-29 cm<sup>3</sup> di alcool a 99,3°. Ad 1 cm<sup>3</sup> di ciascuna di queste diluzioni alcooliche, posta in provetta secca, si aggiunge 1/2 cm. di acqua still. e dopo 10'-60' 7 cm<sup>3</sup> di soluzione clorosodica al 10 % (Cloruro sodio secco gr. 10 più acqua still. sino a 100 cm<sup>3</sup>; filtrazione su carta spessa prima dell'uso); si emulsiona capovolgendo tre volte.

In una serie di provettine ben pulite e ben secche si pongono 0,1 cm<sup>3</sup> di siero normale e rispett. in una altra serie di provettine 0,1 cm<sup>3</sup> di siero di gravida. Ad una provetta per ciascuna serie si aggiunge 1 cm<sup>3</sup> di ciascuna delle emulsioni prima preparate. Tutte le prove si lasciano per 24 ore a 37°. Dopo tale tempo si procede alla lettura. Si avrà un precipitato in tutte e due le serie sino ad una certa diluzione di antigeno, al di là della quale si osserverà precipitato solo nella serie con siero di gravida. Sarà questo il limite minimo della diluzione.

In una prova successiva si preciserà con più esattezza questo limite stabilendo delle diluzioni intermedie di antigeno. Così se nella prima prova si è avuto precipitato in tutte e due le serie con la diluzione 1/6 e precipitato solo col siero di gravida con la diluzione 1/10, si stabilirà una serie intermedia con diluzioni di antigeno 1/6-1/7-1/8-1/9 scegliendo fra queste diluzioni quella che dà più netto precipitato con siero di gravida, nessun precipitato con siero normale.

Dopo queste prove preliminari, per maggior sicurezza, giova cimentare l'antigeno con diversi sieri normali ed altri sieri di gravide per assicurarsi dell'attività e del titolo.

*Le diluzioni alcooliche e le emulsioni dell'antigeno non si possono conservare in nessun modo: volta per volta va preparata la diluzione di antigeno in alcool e l'emulsione. La soluzione madre invece si conserva purchè si rinnovi il CO<sub>2</sub> ogni volta che si apre la bottiglia contenente tale soluzione: quanto alle fiale, una volta aperte per una esperienza il residuo non può essere conservato.*

L'inosservanza di queste regole conduce al fallimento delle prove.

**Sieri in esame:** il sangue deve essere prelevato con siringa secca direttamente da una vena, non con puntura di un dito, per evitare tracce di pigmenti ematici. Coagulazione spontanea del siero a T. ambiente od in ghiacciaia: prelevamento del siero con pipetta secca; centrifugazione prolungata con forte centrifuga elettrica. La prova va eseguita infra le 12 ore successive al prelevamento del sangue, non più tardi. I sieri non possono essere conservati in apparecchi congelatori, solo in ghiacciaia.

**Prova:** S'introduce dapprima 0,1 cm.<sup>3</sup> del siero in esame, misurati con pipetta perfettamente pulita e secca (acqua still., alcool, etere) in provettina di vetro sottile e perfettamente incolore (accuratamente lavata con alcali, acidi, acqua still., alcool, etere e seccata alla stufa; indi si aggiunge 1 cm.<sup>3</sup> dell'emulsione di antigeno al titolo già determinato di fresco preparata; si agita dolcemente la provettina per alcuni secondi senza provocare la formazione di schiuma; si pone in termostato a 37° per 24-36 ore.

La temperatura del termostato non deve assolutamente superare i 37° perchè il precipitato potrebbe ridisciogliersi.

Dopo tale tempo si procede alla lettura. I sieri normali mostrano appena una lieve opalescenza; i sieri di gravida una sospensione più o meno fine e più o meno distinta di minute particelle in liquido limpido. Il precipitato nel maggior numero dei casi è visibile ad occhio nudo: talvolta però occorre l'uso della lente. La lettura va fatta contro luce diffusa: se a luce artificiale in modo che la provetta sia tenuta ad un livello più basso sia della sorgente luminosa che dell'occhio dell'osservatore situati circa alla stessa altezza.

Talora il liquido non è limpido, ma ancora più o meno opalescente pure rilevandosi il precipitato: occorre allora riporre le prove a 37° e ripetere la lettura dopo altre 6-12 ore: il liquido si è allora chiarificato ed il precipitato fatto più distinto. Coi sieri fortemente positivi talora il precipitato si raccoglie sul fondo della provetta.

Solo a titolo di completezza notiamo che, sia coi sieri normali sia con quelli di gravida, si osserva subito dopo l'aggiunta dell'antigeno un'opalescenza più o meno spiccata del liquido, che va diminuendo più o meno rapidamente nel siero normale, pronunciandosi o dichiarandosi addirittura in un precipitato in quelli gravidici. Ma ciò non conta pel risultato: conta solo la lettura definitiva.

Con questa tecnica abbiamo sinora esaminati 11 sieri di gravide delle quali: una nel primo mese di gravidanza, una nel secondo mese, due nel quarto mese, una nel quinto mese, una nel sesto mese, due nell'ottavo mese, tre a termine, con 10 risultati positivi ed 1 risultato negativo col siero di gravida al 5° mese.

Come controlli furono esaminati 38 sieri di soggetti di sesso maschile; 7 sieri di ragazze dai 6 agli 11 anni, 9 sieri di donne di oltre 60 anni, 23 sieri di donne dai 14 ai 55 anni nubili o sposate. Tutti questi sieri hanno dato risultato negativo. Fra essi figurano sieri di soggetti portatori di tumori maligni (3 casi) e benigni (4 casi), di soggetti affetti da morbo di Basedow (3 casi), diabete (3 casi), splenomegalie di diversa natura (4 casi), malattie infettive, luetici a R. W. positiva ecc.

La natura del materiale a disposizione del nostro Istituto ci ha permesso di saggiare soltanto un numero ristretto di sieri di gravide; ed anche i controlli, sebbene più numerosi, riguardano per forza un numero limitato di forme morbose. Esperienze su base più larga potranno stabilire quanto costante sia la reazione e di quali limitazioni passibile. Così pure è da vedere se tutte le placentare forniscano un estratto attivo: noi ne usammo due diverse con risultati ugualmente buoni. Sta comunque l'interesse dottrinale del fenomeno.

Al riguardo, per quanto concerne la sua natura, è ovvio figurarsi ch'esso vada messo in rapporto col passaggio in circolo di prodotti del ricambio placentare e che questo passaggio determini nell'equilibrio umorale una modificazione, di natura da precisare, per la quale il siero di donna gravida si differenzia nella cennata proprietà da quello normale e patologico.

I fatti esposti fan ritenere verosimile, ed in ogni modo invitano ad indagare, se in condizioni patologiche naturali compaiano analoghe modificazioni della capacità precipitante del siero rispetto ad estratti di organi omologhi a quelli offesi (<sup>1</sup>), o, a titolo di riprova, possano provocarsi sperimentalmente tanto mediante riassorbimento parziale di un viscere quanto mediante iniezioni di estratti di organi omologhi, quesiti che ci riserbiamo di studiare metodicamente.

(<sup>1</sup>) Così ad esempio in due casi di morbo di Basedow, il siero, cimentato (con qualche modificazione alla tecnica descritta) con estratto alcoolico di tiroide, diede R. M. P. positiva.

G. C.