

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCXCVI.

1899

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME VIII.

1° SEMESTRE



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1899

Fisiologia. — *Sulla natura e sulla azione fisiologica del veleno dello Spelerpes fuscus.* Nota del dott. A. BENEDECENTI e di ORESTE POLLEDRO ⁽¹⁾, presentata dal Socio MOSSO.

Al genere *Spelerpes* (*Geotriton*, *Pseudotriton*) appartengono diverse specie. Knauer ⁽²⁾ ne cita cinque, fra le quali lo *Spelerpes fuscus* noto anche coi sinonimi di *Geotriton fuscus* (Bonaparte), *Geotriton Genei* (Tschudi) e *Salamandra Genei* (Schleg). Questa specie è propria dell'Italia centrale e della Sardegna; abita di preferenza i luoghi elevati ed è abbastanza comune nelle colline di Firenze donde provengono gli esemplari che noi abbiamo studiato.

Lo *Spelerpes fuscus* è un tritone lungo da 7 a 11 cm.; ha il muso tronco e piatto, gli occhi sporgenti, la coda rotonda; la pelle è di un colore giallo-bruno variegato con punteggiature, e va sfumando leggermente verso il grigio chiaro sul ventre.

Le glandole velenose nello *Spelerpes* sono distribuite come nella *Salamandra* comune ⁽³⁾. Poche si trovano nella regione posteriore della testa e sul dorso; numerosissime e ricche di veleno sono sulla faccia dorsale della coda.

Per provocare la secrezione di queste glandole si possono usare diversi metodi. Jourdan ⁽⁴⁾ otteneva abbondante secreto nella *Salamandra* con iniezioni di muscarina, e Kobert ⁽⁵⁾ con iniezioni di cloruro di Bario. Capparelli ⁽⁶⁾ si servì con vantaggio della corrente indotta che noi pure abbiamo adoperato servendoci di due elementi Leclanchè e della slitta Du-Bois Reymond, distanza dei rocchetti 4-5 cm.

Eccitando l'animale, la pelle si ricopre presto di uno strato notevole di veleno di aspetto bianco, lattiginoso, denso come la panna e simile perciò al veleno del tritone crestato. Come questo, lasciato a sè si rapprende in una massa appiccaticcia indi essiccandosi diviene trasparente, duro, omogeneo, d'aspetto vitreo, fragile e fendentesi all'aria spontaneamente. L'odore del veleno è viroso e irrita fortemente la mucosa. Il liquido venefico è inoltre dotato di reazione spiccatamente acida. È solubile nell'acqua cui imparte un aspetto opalescente è poco solubile nell'alcool a freddo. La soluzione ac-

(1) Lavoro eseguito nel laboratorio fisiologico della R. Università di Torino.

(2) Knauer, *Naturgeschichte der Lurche*, pag. 114.

(3) Lewin, *Toxicologie*, pag. 414.

(4) Jourdan, *Z. Kenntniss. pharm. Gruppe Muscarin*.

(5) Kobert, *Intoxicationen*, pag. 750.

(6) Capparelli, *Arch. Italien. Biologie*, vol. IV, 1883.

quosa preparata di recente dà un precipitato fioccoso abbondante col tannino, e coll'acido picrico un lieve precipitato di colore giallognolo. Precipita pure, ma assai debolmente col reattivo di Meyer, col reattivo di Marmè, col ioduro di potassio iodurato, col cloruro di platino, col fosfomolibdato sodico.

Abbiamo sottoposto la pelle di venti *Spelerpes* al metodo Stas-Otto per l'estrazione degli alcaloidi triturandola finamente acidificando con acido tartarico e trattando poscia la massa con alcool, in apparecchio a ricadere per 48 ore senza che la temperatura superasse i 75 gradi centigradi.

L'alcool filtrato a freddo, venne distillato a bagno maria sotto pressione ridotta, ad una temperatura inferiore ai 50 gradi. Il residuo acido ottenuto fu estratto con quattro volte il suo volume di etere solforico puro, ridistillato. Dalla evaporazione dell'etere si ottenne un residuo liquido di colore bruno, di odore assai penetrante, che si intorbidava leggermente coi principali reattivi degli alcaloidi. Questo liquido acido non si poteva fissare con una base alcalina come la soda.

Sciogliemmo questo residuo acido del peso di circa $\frac{1}{2}$ gr. in 5 cm³ di acqua distillata e iniettammo 1 cm³ della soluzione sotto la cute di due passerii. Questi animali presentarono viva agitazione; poco dopo l'iniezione incominciarono a saltellare nella gabbia senza posa, facevano pigolii lamentevoli, avevano respiro frequente e notevole iperestesia. Non presentarono imponenti fenomeni convulsivi, ma al periodo di eccitamento subentrò più tardi uno stato di sonnolenza, interrotta da leggere scosse durante le quali gli uccelli rimasero cogli occhi socchiusi, le ali penzolanti, le piume arruffate. Si trovarono morti nelle loro gabbie al giorno seguente. Alcune gocce del residuo acido vennero pure instillate nell'occhio di un coniglio e si ebbe irritazione della congiuntiva, lagrimazione, leggiera fotofobia.

Il liquido che aveva servito all'estrazione acida venne poscia alcalinizzato con carbonato di sodio ed estratto quattro volte con etere. L'etere filtrato, essiccato con cloruro di calcio, evaporato, lasciò un residuo brunastro solubile in acqua. Questa soluzione precipitava coll'acido picrico, col tannino, col ioduro di potassio iodurato, col reattivo di Marmè e di Meyer, ma non aveva proprietà venefiche.

Il veleno dello *Spelerpes* è adunque una sostanza di natura acida simile probabilmente al veleno del *Triton cristatus* studiato da Capparelli. Parecchi veleni di anfibi hanno reazione acida. Calmels (1) attribuì l'acidità del veleno dei rospi all'acido isocianacetico: $\text{CH}^2(\text{NC})\text{COOH}$. Nel veleno dei tritoni pensò che esistesse l'acido α -isocianpropionico: $\text{CH}^3\text{CH}(\text{NC})\text{COOH}$ e un derivato di questi acidi cioè l'isocianetile $\text{C}^2\text{H}^2\text{NC}$. Nel veleno della *Salamandra* maculata si troverebbe l'isocianamide: $\text{C}^5\text{H}^{11}\text{NC}$. I farmacologi tedeschi negano però a questi derivati cianici una grande tossicità. Anche

(1) Calmels, Compt. rend., vol. 98, pag. 536.

Coppola (1), studiando l'etere etilico dell'acido isocianico e Pohl (2) studiando l'acido cianacetico, vennero alle stesse conclusioni. Noi abbiamo voluto studiare l'azione fisiologica dell'etere cianacetico: $CN \cdot CH_2 \cdot CO \cdot OC^2H_5$ di confronto all'azione fisiologica del veleno dello *Spelerpes* per vedere se avessero fra loro qualche punto di contatto.

Abbiamo veduto che nelle rane alla dose di gr. 0.1 sottocutaneamente l'etere cianacetico produce abolizione dei movimenti volontari indi dei riflessi e dei movimenti ioidei in tre o quattro minuti. Le pulsazioni cardiache vanno poco alla volta diminuendo e il cuore si arresta in diastole. Nei conigli alla dose di 0,6 per chilo non è mortale, ma produce un notevole aumento nella frequenza del respiro e stato di agitazione; alla dose di gr. 1,5 per chilo vi ha acceleramento, indi notevole rallentamento nel respiro; si nota una forte risoluzione muscolare, accompagnata da contrazioni fibrillari dei muscoli della faccia e degli arti. Subentra quindi paralisi dei movimenti volontari e riflessi, rallentamento dei battiti cardiaci e infine morte senza convulsioni. Questo quadro finale ricorda molto, come vedremo, quello della morte per veleno dello *Spelerpes* o di altri anfibi. Già nel secolo passato Laurentius (3) descriveva la morte per veleno della *Salamandra* dicendo che gli animali avvelenati « ultimo omnem facultatem motu omittent et placide moriebantur ». Phisalix Langlois (4), e Gratiolet (5) hanno invece fatto osservare le proprietà convulsivanti della Salamandrina.

Qui non entriamo in altri particolari sull'azione fisiologica dell'etere cianacetico, solamente vogliamo ricordare che anche questo veleno come quello ottenuto dallo *Spelerpes*, agisce sulla crasi sanguigna e distrugge lo stroma dei corpuscoli rossi, mentre allo spettroscopio si trovano ancora le strie della ossiemoglobina.

Allo scopo di ottenere il veleno dello *Spelerpes* allo stato di maggiore purezza, tentammo, anche come Gratiolet, di estrarre il veleno secco con alcool caldo. Perciò facemmo bollire 1,5 gr. di veleno essiccato con 50 cm³ di alcool in apparecchio a ricadere per 18 ore. Dall'alcool filtrato ed evaporato ottenemmo un residuo oleaginoso del peso di circa 2 decigrammi, dotato di debole proprietà tossica. Questo residuo precipitava col tannino, col l'acido picrico, col reattivo di Lugol e con quelli di Mayer e di Marmè. Lo stesso risultato abbiamo ottenuto sottoponendo il residuo secco alla estrazione con cloroformio.

Il veleno dello *Spelerpes*, e specialmente quello fresco, ha una energica azione locale. Introducendo una goccia di soluzione acquosa nell'occhio di

(1) Coppola, Acc. Lincei, Rendiconti 1889, pag. 380.

(2) Pohl, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XXIV, pag. 148.

(3) Laurentius, Specimen med. exhib. Sinop. Reptil. Vienna 1768.

(4) Phisalix e Langlois, Compt. rend., t. 109, pag. 405.

(5) Gratiolet, Compt. rend., t. 34, pag. 629.

un coniglio si ha subito forte iperemia della congiuntiva palpebrale e bulbare, lacrimazione e fotofobia. Poco dopo la congiuntiva si tumefà, l'occhio diviene dolente e l'animale rifiuta di cibarsi. Occorrono circa 24 ore prima di avere la completa restitutio ad integrum. Anche uno di noi ebbe involontariamente a provare l'azione locale del veleno dello *Spelerpes*, essendo casualmente caduta nell'occhio destro una minima particella di veleno recentemente essiccato. Si ebbe iperemia forte della congiuntiva, bruciore, lacrimazione. Dopo una lavatura abbondante dell'occhio questi fenomeni andarono poco per volta scomparendo, ma occorsero circa 5 ore per ottenere una guarigione completa. Un caso simile racconta lo Staderini⁽¹⁾, il quale descrisse una grave oftalmia provocata dalla penetrazione in un occhio di veleno di rospo. Maneggiando gli *Spelerpes* per l'estrazione del veleno, si prova anche un molesto senso di prurito nella mucosa nasale e si ha ipersecrezione di muco e starnutazione frequentissima.

L'azione irritante del veleno dello *Spelerpes* può anche vedersi somministrandolo ad una rana per la via della bocca. L'animale muore con fenomeni di paralisi, e all'autopsia si rinvengono le mucose della cavità orale e dello stomaco straordinariamente iperemiche.

Il veleno dello *Spelerpes* arresta, anche in soluzioni acquose diluite, il movimento delle ciglia vibratili dell'epitelio della mucosa faringea della rana. I piccoli crostacei che vivono nei nostri stagni, le larve acquatiche d'insetti risentono pure molto energicamente l'azione del veleno.

In una soluzione di 0,5 ‰ cessano rapidamente di muoversi e di nuotare, cadono al fondo del recipiente nel quale erano contenuti e muoiono nello spazio di due o tre minuti.

Per brevità tralasciamo di riferire le diverse esperienze eseguite, e citiamo solo come esempio una delle diverse esperienze fatte sulle rane e sulle cavia.

Esperienza I, Rana del peso di 95 gr.:

- Ore 15.59. Iniezione sottocutanea del veleno tolto da 14 *Spelespes* e sciolto in 2 cm³ di acqua distillata,
- ” 16.15. I movimenti ioidei i quali nella rana normale erano in numero di 24 in 30'' sono saliti a 33. L'animale è immobile; lasciato a sè si mostra torpido e non cerca di fuggire.
 - ” 17 L'animale messo sul dorso è incapace di risollevarsi; notasi forte ipersecrezione cutanea. La pupilla è ristretta.
 - ” 17.10. I fenomeni di paralisi vanno accentuandosi; l'animale è incapace di camminare e si trascina a stento sul tavolo.
 - ” 17.15. Forte risoluzione muscolare. Abolizione dei movimenti volontari. Rallentamento forte dei movimenti ioidei, i quali sono discesi al disotto del normale e sono 15 in 30''.

(1) Staderini, Annali di Ottalmologia, XVII, 1880, fasc. V.

Ore 17.30. La rana pizzicata reagisce ancora, ma lasciata a sè rimane completamente immobile; il cuore diviene sempre più debole e raro. La pelle dell'animale, come già aveva fatto notare Capparelli, cambia poco alla volta di colore e da verdastra diviene grigio-bruna.

» 18.40. La rana è morta. All'autopsia si rinvennero gli organi splanchnici iperemici. Il sangue presenta le strie dell'ossiemoglobina, ma è di colorito un po' scuro.

L'animale lasciato a sè non entra in rigidità cadaverica.

Negli animali a sangue caldo come conigli e cavie gli effetti del veleno si manifestano con affanno ed aumento nella frequenza e profondità del respiro, seguito subito dopo da diminuzione della frequenza e della profondità; il cuore in principio batte assai celaramente, poscia diviene debole e lento. Si ha inoltre salivazione abbondantissima, risoluzione muscolare spiccata, dilatazione della pupilla e paralisi dei movimenti volontari. In ultimo si ha abolizione dei riflessi e arresto del respiro e del cuore. Valga come esempio una sola esperienza:

Esperienza II. Cavia normale, assai vispa, del peso di gr. 350. Respiro 40 in 30".

Ore 17.10. Iniettiamo sottocutaneamente il veleno estratto da 30 *Spelerpes* di media grossezza, sciolto in 5 cm³ di acqua distillata.

» 17.23. L'animale grida, si agita; il respiro sale a 45 in 30". Emette urina.

» 17.25. Il respiro diviene più frequente e sale a 51 in 30", è affannoso e rumoroso.

» 17.30. Cominciano i fenomeni di depressione generale. L'animale messo a giacere sul fianco, vi rimane a lungo, indi si rialza lentamente. Perde abbondante saliva dalla bocca; il cuore pulsa con grande frequenza.

» 17.40. La salivazione diviene sempre più abbondante, la respirazione si fa molto profonda; i movimenti respiratori discendono a 20 in 30". Si ha forte risoluzione muscolare, le orecchie sono fredde, la temperatura è bassa. Ogni tanto si hanno contrazioni fibrillari nei muscoli della faccia e degli arti, talora scosse e sussulti come se l'animale fosse eccitato da uno stimolo elettrico.

» 17.50. Perdita di saliva assai notevole. Respiro lento e profondo: 14 in 30". Cuore regolare e frequente.

» 17.55. La cavia respira rantolando. È coricata sul fianco e non riesce a rialzarsi. Messa in posizione normale non si sostiene e poggia col ventre sul tavolo contraendo i muscoli della nuca per tenere il capo sorretto.

» 17.58. L'animale respira abboccando l'aria. Resp. 13 in 30". Pizzicato reagisce molto prontamente. La pupilla è dilatata. Ogni tanto si nota tremore negli arti e scosse, ma giammai vere convulsioni.

» 18. Respirazioni 8 in 30". Perdita di feci e di urine. Temperatura assai bassa. Abolizione completa dei movimenti volontari; diminuzione dei riflessi.

» 18.3. L'animale muore per arresto della respirazione.

All'autopsia si trova il sangue di colorito scuro, che dà però allo spettroscopio, se esaminato colle dovute cautele, le strie di assorbimento dell'ossiemoglobina.

I polmoni sono iperemici con focolai emorragici, il fegato è di colore molto scuro e ripieno di sangue, la vescichetta biliare è enormemente dila-

tata e ripiena di un liquido citrino trasparente. Gli intestini sono iperemici.

Non possiamo per ragioni di spazio dilungarci nel riferire minutamente le altre esperienze eseguite. Diremo solo che la pressione sanguigna negli animali a sangue caldo non è molto influenzata dal veleno dello *Spelerpes*. Riguardo all'azione del muscolo cardiaco, essa si estrinseca con una diminuzione dei battiti cardiaci che conduce all'arresto del cuore in sistole. Applicato sul cuore di rana messo alla scoperto, il veleno determina prima un aumento nella frequenza poi diminuzione delle pulsazioni. Il primo periodo in cui la frequenza del cuore aumenta è molto più visibile negli animali a sangue caldo.

Il veleno agisce, come abbiamo veduto, molto energicamente sulla respirazione. Prima si ha un aumento nel numero delle respirazioni, indi un rallentamento grandissimo fino all'arresto completo. Agisce sui nervi motori non sui muscoli che conservano la loro eccitabilità. L'azione sui nervi sensibili è minima, poichè la sensibilità dell'animale avvelenato è conservata fino a pochi momenti prima della morte. Anche la coscienza da principio non è disturbata, solo più tardi sopravvenendo i sintomi di paralisi diffusa, l'animale diviene indifferente a tutto ciò che lo circonda e par si abolisca anche la coscienza.

Abbiamo fatto delle esperienze in vitro mescolando del sangue di rane e di cavie diluito con sol. fisiol. di Na Cl, con soluzioni di veleno più o meno concentrate. Abbiamo con queste esperienze acquistata la prova che il veleno altera la crasi sanguigna distruggendo il protoplasma dei globuli rossi. L'emoglobina disciolta nel siero sanguigno non perde però la proprietà di ridursi e di ossidarsi.

Tutte queste proprietà del veleno dello *Spelerpes* concordano esattamente con quelle che Capparelli rinvenne pel veleno del *Triton cristatus*. È quindi probabile che si tratti in entrambi i casi della stessa sostanza.

Giova far notare che questo veleno è dotato di una azione locale molto spiccata. Così forse può comprendersene l'ufficio, ammettendo che serva a questi piccoli animali come mezzo di difesa contro i carnivori notturni che volessero divorarli. Già Phisalix e altri autori fecero pure la stessa osservazione.

Psicologia sperimentale. — *Sul metodo di studiare i sentimenti semplici.* Nota del dott. F. KIESOW, presentata dal Socio Mosso.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.