Biblioteca nazionale centrale di Roma

181 Per. Ital. 58

Vol. XVIII Gennaio 1933 Num. 1-2-3-4

Bimestrale C. C. con la Posta

ARCHIVIO DI SCIENZE BIOLOGICHE

(ORGANO UFFICIALE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA SPERIMENTALE)

Fisiologia - Farmacologia - Patologia sperimentale

BIBLIOTECA NAZIONALE V.E. ROMA 28 GIU 1933 * RIVISTE *

PUBBLICATO DA

FILIPPO BOTTAZZI

IN COLLABORAZIONE CON

P. Albertoni, *Bologna* - A. Benedicenti, *Genova* - D. De Blasi, *Napoli*
V. Ducceschi, *Padova* - P. Enriques, *Padova* - C. Foà, *Milano* - A. Herlitzka, *Torino* - P. Marfori, *Napoli* - B. Morpurgo, *Torino* - I. Novi, *Bologna*
E. Pantanelli, *Bari* - M. Patrizi, *Bologna* - G. Pianese, *Napoli*
A. Pugliese, *Milano* - P. Rondoni, *Milano* - V. Scaffidi, *Napoli* - I. Simon, *Padova* - G. Sacerdotti, *Pisa*
A. Valenti, *Milano* - G. Vinci, *Messina*

66/28

Redattore Capo: G. QUAGLIARIELLO

XIV CONGRESSO INTERNAZIONALE DI FISIOLOGIA
CONFERENZE E SUNTI DELLE COMUNICAZIONI

BOLOGNA - LICINIO CAPPELLI - EDITORE

Biblioteca nazionale centrale di Roma

RICERCHE COMPARATIVE SOPRA LA STIMOLAZIONE CHIMICA DELLA CUTE E DEI NERVI CHE AD ESSA SI PORTANO.

Di Pietro Tullio e Luigi di Bella.

(Dall'Istituto di Fisiologia e Chimica Biologica della R. Univ. di Messina)

Mentre la stimolazione dei nervi mediante l'elettricità fin dall'inizio ha attirato in maniera sempre più preponderante l'attenzione dei fisiologi, la stimolazione mediante agenti chimici, dopo essere stata oggetto di studio da parte di eminenti fisiologi, è stata in certo qual modo trascurata.

Le prime osservazioni complete sopra l'eccitazione e mortificazione dei nervi mediante agenti chimici sono state fatte da A. von Humboldt (1) a cui seguirono specialmente quelle di Eckard, Köllicer e Kühne (2).

Le sostanze chimiche che hanno il potere di eccitare i nervi sono state distribuite in vari gruppi: acidi, alcali, sali neutri, sali di metalli pesanti, sostanze organiche e sostanze che provocano una modificazione del contenuto acquoso del nervo stesso.

Humboldt aveva ritenuto che gli acidi esplicassero solamente azione distruggente. Eckardt (4) trovò che fra gli acidi minerali l'acido nitrico e l'acido cloridrico in concentrazione minore del 20% agiscono fortemente eccitando; l'acido solforico solamente in modo sicuro sopra il 60% e che l'acido fosforico generalmente non era eccitante. Kühne trovò che l'acido cromico eccita anche al 5%.

Degli acidi organici l'acido acetico, piruvico e lattico solo a grandi concentrazioni. Secondo Harless bastano solo l'esalazioni di acido nitrico per produrre l'eccitazione.

Degli alcali, secondo Eckhardt, i caustici agiscono in modo sicuro fino alla concentrazione dell'1,8% e alcune volte anche a 0,8 %; Kühne trovò anzi che il limite più basso di concentrazione

Biblioteca nazionale centrale di Roma

era 0,1 %. In riguardo all'ammoniaca alcuni trovarono che eccita, altri che mortifica il nervo senza eccitarlo.

I sali neutri di metalli alcalini agiscono generalmente eccitando, specialmente a soluzioni concentrate; ECKHARDT trovò che basta una concentrazione di cloruro di sodio quasi uguale a quella che si trova nel sangue per avere fenomeni eccitatori, mentre KÖLLIKER stabilisce per limite minimo 4-5% e crede che la concentrazione più attiva sia quella del 20-30%. Terminato il tetano il nervo rimane ineccitabile, ma può riprendere la sua eccitabilità immergendolo nell'acqua e con ciò reintegrando quell'acqua che era stata tolta. Infatti tutte le sostanze che producono una disidratazione eccitano, e fra queste la più studiata nella sua azione è stata la glicerina.

Fra i sali di metalli pesanti, secondo ECKHARDT, solo il nitrato di argento eccita, mentre dalle ricerche successive e accurate di KÜHNE (4) risulta che anche i due acetati di piombo in soluzione concentratissima, il cloruro di ferro al 20-30%, il solfato di zinco al 20%, il cloruro di zinco al 3-5% e il nitrato mercuroso, ad una concentrazione non esattamente stabilita, eccitano. Risultati analoghi ottennero SCHELSKE e WUNDT (5) cogli acidi minerali forti e cogli alcali caustici e così pure VALENTIN con soluzioni diluitissime.

Fra le sostanze organiche l'urea e lo zucchero a soluzioni concentrate eccitano, probabilmente perchè sottraggono l'acqua come la glicerina. FONTANA non attribuisce alcuna azione eccitante all'alcool, mentre HUMBOLDT attribuì ad esso azione eccitante, confermata da ECKHARDT e KÜHNE; meno evidente è l'azione eccitante dell'etere e del cloroformio. Il creosoto e l'acido fenico, pure secondo i precedenti autori, agiscono eccitando; l'acido tannico agisce secondo tutti gli autori uccidendo il nervo.

Ma le ricerche più accurate e relativamente recenti sull'argomento si debbono a GRÜTZNER (5) il quale studiò non solo l'azione eccitante ma anche le modificazioni che progressivamente subisce l'eccitabilità del nervo, allo stimolo elettrico, immerso in soluzioni equimolecolari di sostanze diverse appartenenti a gruppi chimicamente omogenei, e trovò che quantità chimicamente uguali di queste sostanze in generale tanto più eccitano quanto più alto è il loro peso molecolare.

Quanto più l'ecitazione era forte tanto più le contrazioni apparivano rapidamente e si tramutavano in tetano forte e continuo.

Così fra i sali di sodio degli alogeni in soluzioni equimolecolari eccita al massimo l'ioduro di sodio, ad esso segue il bromuro e,

Biblioteca nazionale centrale di Roma

di regola, a questo molto vicino il cloruro di sodio. Dalla serie si estranea il floruro di sodio, come pure per le sue qualità chimiche, il quale eccita più di tutti gli altri. Seguendo l'andamento dell'eccitabilità del nervo mediante la slitta di Du Bois Reymond si nota che se il floruro di sodio aumenta di più e più rapidamente l'eccitabilità esso anche la spegne pù rapidamente, ovverosia, per le soluzioni più concentrate usate da quest'autore, in 15′, l'ioduro in 33′, il bromuro in 96′, e il cloruro in 167′.

Dei metalli al contrario danneggiano di più quelli che hanno più basso peso molecolare: il potassio più che il rubidio e il cesio e il calcio più che lo stronzio e il bario. La loro azione comparativa sulla eccitabilità varia invece con la concentrazione della soluzione.

In un successivo lavoro Grützner (6) ha rivolto le sue ricerche alla eccitazione dei nervi sensibili. Già Eckhardt (7) aveva osservato che l'eccitazione chimica dei nervi misti o delle radici posteriori può provocare dei riflessi mentre Setschenow vide che la potassa, la soda, gli acidi concentrati e le soluzioni saline sature producevano dapprincipio riflessi che poi inibivano, azione inibente che sola appariva per l'ammoniaca, per gli alcali e gli acidi diluiti e per gli acidi organici; cioè l'eccitazione è generalmente seguita dalla depressione e mortificazione del substrato nervoso. Grützner, tagliato lo sciatico della rana, vide che il moncone centrale e il periferico erano ugualmente sensibili all'azione elettrica, che provocava moti di eccitazione riflessa e diretta, mentre essi si comportavano in maniera differente rispetto agli stimoli chimici. Infatti una soluzione normale di cloruro di sodio (5,85%) causa contrazioni pressocchè uguali sia del moncone centrale che del periferico, mentre la corrispondente soluzione di cloruro potassico (7,44%) applicata sul moncone centrale causa dopo pochi secondi (8″-20″) fortissimi riflessi, mentre è assolutamente inefficace se applicata sul moncone periferico. L'ioduro di sodio agisce, sia sul moncone centrale che sul periferico, più fortemente del cloruro di sodio. Anche come stimolo cutaneo i sali di potassio si mostrano più attivi dei sali di sodio.

Bernstein (8) eccitando chimicamente i nervi motori del coniglio alla contrazione tetanica udì unirsi un rumore.

Hirschmann (9) ricercò la concentrazione delle soluzioni saline necessaria per fare entrare in eccitazione il nervo e il muscolo che lo accompagna.

Egli trovò per i sali di sodio necessario raggiungere una concentrazione pressochè uguale per tutti per provocare la contrazione (Na

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Cl 0,44 gran mole per litro; Na I 0,44 g. m. p. l.; Na N 0_3 0,44 g. m. p. l.; Na_2SO_4 0,40 g. m. p. l.; $Na_2C_4H_4O_6$ 0,42 g. m. p. l.); lo stesso vale per il litio, solamente che le concentrazioni sono più alte; per il potassio non ottenne alcun fenomeno eccitatorio. Le differenze che si riscontrano con le esperienze di GRÜTZNER sono dovute alla differente tecnica usata e mostrano che non solo i cationi ma anche gli anioni hanno influenza sull'eccitazione motoria.

Vogliamo citare anche le recenti ricerche di KAUFFMANN e STEINHAUSEN (10) sopra il tempo di latenza. Questi autori, mediante il metodo di Türck, osservarono che il tempo di latenza aumenta col diminuire della concentrazione con andamento iperbolico, crescendo da 1″,2 a 19″,7 mentre la concentrazione dell'acido solforico diminuisce da 1,5% a 0,05%.

A riprendere lo studio della eccitazione dei nervi mediante agenti chimici siamo stati condotti da una esperienza fatta in occasione di una dimostrazione dei riflessi spinali, provocati mediante acido acetico applicato alla cute delle zampe posteriori. Ci venne allora in mente di studiare l'effetto comparativo della stimolazione coll'acido acetico non solo della cute ma anche del nervo che ad essa si porta. Vedemmo allora che mentre il toccamento della cute della zampa con un bastoncino di vetro, immerso prima in soluzione di ac. acetico al 10%, causava dopo pochi secondi vivaci movimenti di detersione da parte della rana spinale, il medesimo applicato ripetutamente sullo sciatico, e in diversi punti, non provocava affatto alcun movimento. L'esperienza fu fatta sopra una rana ibernante, essendo in gennaio. Ripetuto l'esperimento su diverse rane nello stesso giorno e in giorni successivi, usando anche ac. acetico puro, si ebbe sempre il medesimo risultato.

Intraprendemmo perciò una ricerca sistematica dell'azione comparativa delle varie sostanze sul nervo e sulla cute.

La tecnica che noi abbiamo usata in quasi tutte le esperienze è stata la seguente: la rana spinale veniva preparata tagliando il midollo nel segmento cervicale in modo che le zampe anteriori pinzettate non reagissero più allo stimolo meccanico; dopo averla posta su una mattonella di maiolica si dissecava longitudinalmente la pelle di una coscia nella sua parte posteriore e scorrendo con un bastoncino di vetro appuntito nel solco fra i muscoli bicipite e semimembranoso si poneva a nudo lo sciatico. Il nervo, dopo essere stato separato dall'arteria satellite, veniva isolato dai muscoli sottostanti mediante un rettangolino di gomma para della lunghezza di ca. 2 cm

Biblioteca nazionale centrale di Roma

e della larghezza di ca. 1 cm, il quale veniva posto al di sotto del nervo tenendo questo lievemente sollevato col bastoncino di vetro. Nelle prime esperienze abbiamo ricercato anche la soglia di eccitazione elettrica comparativa della cute e del nervo con un elettrodo di Ludwig a punte di platino in comunicazione con i due poli del secondario di una slitta di Du Bois Reymond, trovando il nervo sempre più eccitabile della cute. Per l'applicazione della sostanza chimica sul nervo si adoperava un tubicino di vetro del diametro interno di ca. 2 mm riempito di cotone idrofilo, imbevuto nella sostanza chimica con la quale si voleva stimolare il nervo; adoperando questo bastoncino si poteva stimolare chimicamente un tratto di nervo sempre uguale e inoltre evitare che la sostanza venisse a contatto oltre che col nervo coi tessuti circostanti, mantenendosi così sempre il contatto fra il nervo e il liquido in esame. Per saggiare la soglia di eccitabilità cutanea si usava il metodo del Türck: si immergeva il piede più o meno profondamente nella soluzione tenendo sospesa la rana per la mandibola e provando successivamente soluzioni sempre più diluite. Col diminuire della concentrazione aumentava il tempo di latenza e diminuiva l'intensità dell'effetto. Veniva presa come « diluizione limite » quella al disopra della quale, per quanto a lungo si tenesse il piede immerso, non si notava alcun effetto sulla rana.

Esponiamo ora i risultati delle nostre ricerche cominciando con gli acidi, cui faremo seguire gli alcali, i sali, gli alogeni e alcune sostanze organiche scelte specialmente quelle di cui è nota l'azione irritante sopra la pelle e le muccose.

I. - Azione degli acidi.

Si sono impiegati gli acidi: acetico, solforico, citrico, tannico.

a) *Acido acetico.* - Cominceremo con l'acido acetico col quale è stata fatta la prima esperienza che ci ha condotti al presente lavoro. Come è stato detto, usando una concentrazione del 10%, e poi anche l'acido acetico puro, la rana aveva mostrato delle reazioni vivacissime allo stimolo cutaneo; applicando lo stesso stimolo chimico sul nervo non ottenemmo alcun movimento riflesso da parte dell'animale. Nei giorni successivi ripetuta l'esperienza sopra numerose rane ottenemmo sempre il medesimo risultato, usando varie concentrazioni da acido acetico puro a soluzioni diluitissime. Bisogna

Biblioteca nazionale centrale di Roma

notare che queste esperienze furono fatte su rane ibernanti, portate direttamente dalla campagna e tenute in laboratorio da uno o vari giorni prima di essere saggiate. Mano mano che andavamo ripetendo la prova con acido acetico e altri acidi inorganici si vide con l'inoltrarsi della primavera, che questa così netta differenza nell'eccitabilità fra cute e nervo andava scomparendo, poichè alcune rane presentavano oltre che vivacissima la reazione allo stimolo cutaneo anche reazioni allo stimolo chimico applicato sul nervo. Però il movimento con lo stimolo applicato al nervo avveniva per una concentrazione molto maggiore di quella applicata alla cute. Nelle rane d'estate invece i movimenti riflessi si presentavano in tutte le rane, tanto se lo stimolo era applicato al nervo, tanto se applicato alla cute.

Nell'autunno abbiamo osservato come, col ritornare le rane in ibernazione, scompariva l'eccitabilità del nervo allo stimolo chimico per alcune e poi per tutte.

Tenendole nel laboratorio ad una temperatura quasi costante di giorno e di notte e superiore a quella esterna, le rane, che nei primi giorni non presentavano eccitabilità nervea, la potevano riacquistare. Lo stato d'ibernazione e le modificazioni cui va incontro l'organismo nello stabilirsi di esso e nello sparire alla primavera, modificano quindi lo stato d'eccitabilità del nervo allo stimolo chimico mentre non hanno una grande influenza sopra la eccitabilità chimica cutanea.

Crediamo che questa influenza della stagione sia la ragione per cui tanto differenti appaiono i risultati degli autori precedenti colle stimolazioni chimiche dei nervi e come si debba tenere in gran considerazione lo stato dell'animale in questo genere di esperienze. Infatti il Cyon, nel suo classico trattato sulla vivisezione, insiste sopra l'importanza della stagione dell'anno, sopra l'attività e l'eccitabilità dei nervi e dei muscoli nella rana. Secondo quest'autore le rane nell'epoca primaverile — nei mesi di marzo, aprile — sono quasi inservibili per ricerche di questo genere. Come egli scrive allora: « le proprietà elettriche dei nervi e dei muscoli sono notevolmente indebolite e si spengono rapidamente appena questi vengono staccati dal corpo. Le cose non stanno meglio per quanto concerne l'eccitabilità; sebbene anche spesso stimoli direttamente applicati bastino per la loro attività tuttavia si esaurisce la loro irritabilità ben presto dopo le prime eccitazioni. Egualmente queste rane primaverili sono poco adatte per le esperienze sopra i riflessi. Le loro

Biblioteca nazionale centrale di Roma

reazioni verso gli stimoli sono lente ed estremamente variabili verisimilmente in causa della diminuita capacità d'azione delle masse nervose centrali. La maggior parte di questi individui è dimagrita ed idropica ». Bisogna tener conto, come pure nota il CYON, che l'influenza della stagione dell'anno ha importanza più o meno grande a seconda delle zone nordiche o temperate in quanto in queste zone il periodo critico della eccitabilità compare in epoche differenti.

L'esperienza che ora esporremo, fatta con acido acetico, e che servirà anche come paradigma per le altre che riassumeremo, è stata fatta sopra una rana uscita fuori d'ibernazione, in un periodo relativamente precoce rispetto ad altre regioni dato il clima mite di Messina.

Tempo	25 aprile = Bufo viridis (di media grandezza)
0'	Si taglia il bulbo.
3'	Si immerge il piede in soluzione di ac. acetico al 0,75 %.
3'5"	Flessione tonica di tutto l'arto, che cessa lavandolo con soluzione fisiologica.
12'	Si scoprono i due sciatici.
14'	Si taglia lo sciatico destro.
15'	Si applica ac. acetico al 3 % sul moncone centrale dello sciatico destro. Nessun movimento.
16'	Si applica ac. acetico al 3 % sullo sciatico sinistro.
16'12"	Leggerissime contrazioni fibrillari della regione tarsica sinistra.
16'15"	Lievissima flessione del piede sulla gamba.
17'	Si applica ac. acetico al 6 % sullo sciatico sinistro.
17'10"	Lievissime contrazioni fibrillari.
18'	Si applica ac. acetico al 50 % sullo sciatico sinistro. Nessun movimento.

Come appare da questa esperienza una concentrazione del 0,75 % applicata sulla cute provoca riflessi dopo 5". Tale concentrazione ha sempre stimolato la cute e il tempo di latenza è variato per essa da 5" a 8". Aumentando la concentrazione diminuisce il tempo di latenza cosicchè ad una concentrazione del 10% la rana ritira istantaneamente con moto rapido ed ampio tutto l'arto ed eseguisce movimenti di detergimento. Con concentrazioni ancora più forti i movimenti di detergimento durano ancora più a lungo, diventano più ampi, più energici e la rana arriva sempre a togliersi la para sottoposta al nervo, raggiungendo col piede la regione cloacale.

Se durante questi movimenti si immergono i due arti in acqua o soluzione fisiologica essi ritornano in flessione tonica; e se si soffrega con cotone imbevuto d'acqua la parte stimolata con l'acido

Biblioteca nazionale centrale di Roma

si distendono gradatamente ma non ritornano alla posizione primitiva; infatti fra i due talloni rimane una distanza maggiore di quella esistente prima di applicare la sostanza.

L'acido acetico al 3% applicato al tronco del nervo non sempre riesce a stimolarlo; in caso positivo il tempo di latenza variabilissimo varia da 5″ a 55″. Invece alla concentrazione del 6% riesce sempre a provocare riflessi più o meno ampi dopo un tempo di latenza che va da 5″ a 13″ e questi consistono in movimenti di flessione più o meno decisi e rapidi. Aumentando la concentrazione le flessioni divengono più ampie e il tempo di latenza diminuisce; ad una concentrazione del 50% si ha una flessione istantanea con movimenti di detergimento energici e coordinati omo- e controlaterali, dopo i quali l'arto resta atono, immobile, privo di sensibilità nella sua regione posteriore; cioè la eccitabilità e conducibilità del nervo sono per sempre scomparse.

Ad una stessa concentrazione l'effetto sulla cute è sempre maggiore di quello sul nervo.

Se si taglia uno sciatico e si applica sul moncone centrale una soluzione di acido acetico, essendo integro lo sciatico controlaterale, si notano, non sempre però, delle lievi contrazioni controlaterali; concentrazioni anche fortissime invece non riescono mai a stimolare il moncone periferico. Il fatto che non sempre si sia ottenuta una stimolazione dell'acido acetico del moncone centrale può attribuirsi a due cause:

1) al fatto che lo stimolo non riesca a propagarsi ai centri da cui dipende il nervo omonimo dell'altro lato.

2) allo shock conseguente al taglio del nervo.

Perciò crediamo che l'azione dell'acido si esplichi esclusivamente sulle fibre sensitive e non su quelle motorie.

Se inoltre su uno sciatico si applicano successivamente soluzioni di ac. acetico a concentrazioni crescenti, incominciando da soluzioni diluitissime, si vede che i primi movimenti avvengono a concentrazioni molto più elevate di quelle occorrenti normalmente per eccitare il nervo, avendo le prime soluzioni diminuita l'eccitabilità alle successive.

Riassumendo:

1) Nelle rane ibernanti l'acido acetico non stimola il nervo a qualsiasi concentrazione, mentre stimola la cute a concentrazioni minori o uguali a quelle necessarie per stimolare la cute di rane fuori del periodo d'ibernazione.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

2) Stimola sempre la cute ad una concentrazione del 0,75%, variando per essa il tempo di latenza da 5″ a 8″.

3) Stimola il nervo nelle rane non ibernanti a concentrazioni che vanno dal 3% (con un tempo di latenza che varia da 5″ a 55″) al 6% (tempo di latenza 5″-13″). Come si vede il campo di variabilità del tempo di latenza diventa più ristretto coll'aumentare della concentrazione.

4) Il rapporto delle concentrazioni necessarie per stimolare la cute e il nervo che ad essa si porta è di 0,75/3 cioè di 1/4, oppure di 0,75/6 cioè di 1/8.

La differenza fra l'eccitabilità della cute e del nervo aumenta sempre più coll'entrare delle rane in ibernazione.

5) Agisce solo sulle fibre sensitive.

b) *Acido solforico.*

Tempo	27 aprile = Bufo viridis medio
0'	Si taglia il bulbo.
3'	Si immerge il piede sinistro in soluzione di ac. solforico al 0,25 % e si notano subito fortissime contrazioni dell'arto.
6'	Si immerge il piede destro in ac. solforico al 0,125 %.
6' 2"	Energiche contrazioni dell'arto. Si lava con soluzione fisiologica.
24'	Si scoprono i due sciatici.
27'	Si stimola con ac. solforico al 0,05 % lo sciatico sinistro.
27' 55"	L'arto si flette lentamente.
30'	Si stimola con ac. solforico al 0,05 % lo sciatico destro.
30' 45"	Flessione lenta dell'arto.

Come appare da questa esperienza una concentrazione del 0,125 % applicata sulla cute provoca energiche flessioni di tutto l'arto dopo soli 2″, mentre una concentrazione del 0,05 % sul nervo non produce che un lento movimento di flessione incompleta del piede sulla gamba, di questa sulla coscia e della coscia sul corpo della rana.

Con una concentrazione del 0,0125% applicata sulla cute si ottengono ancora movimenti dopo un tempo di latenza di 1′,55″ limitati al solo segmento distale dell'arto; essi consistono in una lieve flessione del piede sulla gamba e possono anche limitarsi a una semplice divaricazione delle dita del piede. Concentrazioni minori non stimolano la cute. Anche per l'acido solforico con l'aumentare della concentrazione diminuisce il tempo di latenza e aumenta l'intensità della contrazione: così una soluzione al 0,25% applicata sulla cute provoca istantaneamente notevoli movimenti di detergimento.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Caratteristico dell'acido solforico è che i movimenti si manifestano con grande celerità dopo il tempo di latenza, variabile secondo la concentrazione usata. Infatti se si immerge il piede di una rana in una soluzione di acido solforico al 0,025% l'arto rimane perfettamente immobile per 1'30", ma alla fine di questo tempo reagisce con una forte flessione del piede sulla gamba e una debole della gamba sulla coscia. Esso resta tonicamente flesso per qualche tempo dopo il quale incomincia a distendersi lentamente.

L'estensione incomincia subito, svolgendosi però sempre lentamente, se si lava la zona cutanea stimolata con acqua o soluzione fisiologica. Una tonicità per quanto lieve rimane però sempre nei muscoli dell'arto in quanto i due talloni nella rana appesa si trovano ad una distanza maggiore di quella esistente prima dell'applicazione dell'acido.

È notevole ancora che i movimenti, con diluizione limite, sono limitati a quel segmento dell'arto su cui si è portato lo stimolo chimico e che, con l'aumentare della concentrazione, si estendono ai segmenti contigui.

La soluzione del 0,5% applicata sul tronco dello sciatico è sufficiente a provocare dei movimenti riflessi e il tempo di latenza varia da 12" a 55". Aumentando la concentrazione aumenta l'intensità dei movimenti e diminuisce il tempo di latenza. Così una concentrazione del 50% applicata sul nervo provoca istantaneamente moti rapidissimi di detergimento, con una serie di flessioni ed estensioni durante le quali il piede soffrega con energia contro la regione cloacale. Tali movimenti durano però brevissimo tempo per probabile distruzione delle fibre nervose imbevute dell'acido.

Riassumendo:

1) L'acido solforico non stimola il nervo nelle rane ibernanti a qualsiasi concentrazione, mentre può provocare riflessi nelle stesse rane se applicato sulla cute a concentrazioni anche minori del 0,0125%.

2) Stimola la cute alla diluizione limite del 0,0125%, con un tempo di latenza di ca. 1'55".

3) Stimola il nervo nelle rane fuori ibernazione alla concentrazione minima del 0,5%, variando per questa il tempo di latenza da 12" a 55".

4) Il rapporto delle concentrazioni necessarie per stimolare la cute e il nervo è quindi, di 0,0125/0,5 cioè di 1/40. La differenza

Biblioteca nazionale centrale di Roma

fra l'eccitabilità della cute e del nervo aumenta sempre più coll'entrare delle rane in ibernazione.

5) Pare agisca soltanto sulle fibre sensitive.

c) *Acido citrico.* - Per quest'acido si sono adoperate solo soluzioni sature al 70%. Se si immerge il piede di una rana nella soluzione suddetta tutto l'arto si contrae istantaneamente con estrema rapidità e subito dopo segue un movimento consimile controlaterale. Si hanno così energici ed ampi movimenti di detergimento, con rapidissime flessioni ed estensioni bilaterali contemporanee. Se si lava durante questi movimenti la cute dei due arti (in quanto durante i rapidissimi movimenti descritti la soluzione dell'acido si è estesa alla cute delle due zampe) i movimenti si arrestano e i due arti rimangono in flessione tonica. Dopo un tempo variabile i due arti si estendono gradatamente a piccoli scatti; prima il controlaterale, poi quello stimolato direttamente. Il rilasciamento dei muscoli a estensione compiuta non è perfetto perchè la distanza fra i due talloni è maggiore di quella esistente prima di stimolare la rana.

La stessa soluzione applicata sul nervo non lo stimola subito ma dopo un tempo di latenza che varia da 22″ a 25″. Alla fine di questo periodo sopravvengono istantaneamente fortissimi movimenti di detergimento omo- e controlaterali.

Riassumendo:

1) L'acido citrico al 70% stimola subito la cute provocando riflessi bilaterali.

2) Alla stessa concentrazione stimola il nervo dopo un tempo di latenza di 22″-25″, provocando anche riflessi controlaterali.

d) *Acido tannico.* - Per quest'acido si sono impiegate soluzioni al 50%.

Questa concentrazione non stimola la cute, e nè questa nè quella al 25% agiscono sul nervo.

Considerazioni generali sull'azione degli acidi. - Le concentrazioni minime per la stimolazione della cute e del nervo differiscono come si è visto fra loro. Il loro rapporto varia da acido ad acido. Così per l'acido acetico tale rapporto varia da 1/4 a 1/8, mentre per l'acido solforico è di 1/40, sempre nelle rane fuori del periodo d'ibernazione.

Una classificazione dei diversi acidi usati in base alla loro di-

Biblioteca nazionale centrale di Roma

luzione limite sarebbe la seguente: diluz. limite ac. solforico < d.l. ac. acetico < d.l. ac. tannico.

Ora il grado di dissociazione è appunto maggiore per l'acido solforico, diminuisce per l'acido acetico e diventa estremamente piccolo per l'acido tannico; possiamo dunque ben dire che l'intensità d'azione esplicata da un acido è probabilmente una funzione del suo grado di dissociazione. L'azione stimolante degli acidi è legata agli idrogenioni ed i movimenti della rana appaiono sempre ugualmente nella stessa forma e con le identiche modalità in seguito all'applicazione dei diversi acidi.

II. - Azioni degli alcali.

a) *Idrato sodico.*

Tempo	28 aprile = Bufo viridis medio
0'	Si taglia il bulbo.
3'	Si immerge il piede sinistro in una soluzione di NaOH al 0,05 %.
3'5"	Flessione lenta del piede sinistro. Si lava con soluzione fisiologica; Si notano contrazioni ritmiche del piede sulla gamba a intervalli progressivamente maggiori.
6'	Si immerge il piede destro in soluzione di NaOH al 0,025 %.
6'15"	Leggera flessione del piede. Ogni 10" si hanno altre contrazioni.
15'	Si scoprono i due sciatici.
18'	Si applica NaOH 0,5 % sullo sciatico sinistro.
18'45"	Lenta flessione del piede che si risolve subito in rapidissimi movimenti di detergimento di ambedue gli arti.
20'	Si applica NaOH al 0,5 % sullo sciatico destro.
22'	Qualche dubbio movimento delle dita.

Come si vede da questa esperienza la concentrazione del 0,025% provoca ancora riflessi se applicata alla cute dopo un tempo di latenza di 15". La diluzione limite è però del 0,01% e per questa il tempo di latenza varia da 45" a 2'. I movimenti causati dalla soda possono manifestarsi dopo lungo tempo dall'applicazione.

Alte concentrazioni (10%) sulla cute provocano subito energici movimenti di detergimento con flessioni ed estensioni rapidissime bilaterali; è bene notare che la stimolazione sia della cute che del nervo con la soda provoca con facilità riflessi controlaterali.

Concentrazioni più basse provocano movimenti d'intensità gradatamente decrescente; così alla concentrazione del 0,10% si ha una semplice e rapida flessione dei tre segmenti dell'arto inferiore, alla

Biblioteca nazionale centrale di Roma

concentrazione del 0,05% la flessione dei vari segmenti dell'arto avviene come sopra ma lentamente; alla concentrazione del 0,025% il piede lievemente si flette sulla gamba e questa molto poco sulla coscia, ed ambedue i movimenti sono eseguiti contemporaneamente e con grande lentezza. Ma ciò che più caratterizza l'azione della soda a basse concentrazioni è che al primo movimento, succede una serie di scosse che si ripetono a intervalli di tempo tanto più brevi quanto più alta è la concentrazione usata. Gli intervalli di tempo, fra due scosse consecutive, rimangono costanti per un certo tempo dopo il quale aumentano considerevolmente e infine le scosse finiscono. Così con la soda al 0,1% il tempo di latenza è di 5″ e le scosse si ripetono circa ogni due secondi; con la soda al 0,025% (cioè 4 volte più diluita della precedente) il tempo di latenza è di 15″, e le scosse si susseguono ogni 10″, cioè ad un intervallo di tempo circa 4 volte maggiore. C'è quindi una notevole proporzionalità fra le due diluzioni e gli intervalli di tempo fra due scosse consecutive.

La diluzione limite per la cute è di 0,01% e per questa il tempo di latenza e di ca. 1'17″.

La soda stimola il nervo anche nelle rane ibernanti però con un tempo di latenza, a parità di concentrazione, più lungo che non sulle rane fuori d'ibernazione. Applicata sul nervo a forti concentrazioni provoca subito energici e rapidi movimenti di detergimento bilaterali, in modo da scacciare la para sottoposta allo sciatico, arrivando con la pianta e con la faccia mediale dei due piedi a soffregarsi la regione cloacale.

Alla concentrazione dell'1% applicata sul nervo i tre segmenti della zampa si flettono l'uno sull'altro e la coscia sul corpo dell'animale con un tempo di latenza di ca. 13″. Poi incomincia un'estensione lenta durante la quale sopravvengono contrazioni clonico-fibrillari dei muscoli posteriori della coscia e del polpaccio dopo la quale le dita del piede si espandono e si avvicinano, si estendono e si flettono, combinandosi variamente questi movimenti fra di loro. Alla fine del movimento estensorio l'arto forma tre angoli retti, situati rispettivamente fra le dita e il metatarso, fra questo e la gamba, fra la gamba e la coscia, in questa posizione perdurano le contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio e, meno evidenti, i movimenti delle dita.

Concentrazioni ancora minori (0,5%) stimolano il nervo dopo

Biblioteca nazionale centrale di Roma

ca. 45″ mentre concentrazioni più basse di questa non hanno alcun effetto.

Notevole è il modo di eccitazione del nervo a questa concentrazione: dopo il tempo di latenza incomincia un lentissimo movimento di flessione che si risolve tosto in rapidissimi movimenti di detergimento bilaterali.

La stimolazione di uno sciatico con la soda inibisce la eccitabilità del controlaterale; infatti quella stessa concentrazione che basta a provocare movimenti anche notevoli applicata ad uno sciatico, non ha nessun effetto o quasi se applicata sul nervo dell'altro lato subito dopo.

Se dopo scoperto uno sciatico si taglia e si applica la soda a forte concentrazione sul moncone periferico, si notano movimenti dell'arto corrispondente: se lo stimolo poi si applica sul moncone centrale si hanno movimenti omo- e controlaterali. La soda ad alte concentrazioni (10%) stimola quindi le fibre afferenti ed efferenti. Essa poi distrugge in breve tempo le fibre nervose.

Riassumendo:

1) La soda stimola la cute e il nervo in rane ibernanti e fuori del periodo d'ibernazione, nelle prime con un tempo di latenza più lungo che nelle seconde.

2) Stimola la cute alla diluizione limite del 0,01%, con un tempo di latenza di ca. 1′17″.

3) Stimola il nervo alla diluzione limite del 0,5%, con un tempo di latenza da 45″ a 2′. Aumentando la concentrazione diminuisce il campo di variabilità del tempo di latenza.

4) Il rapporto fra le concentrazioni necessarie per stimolare la cute e il nervo è 0,01/0,5 cioè 1/50. La differenza fra l'eccitabilità della cute ed il nervo aumenta, ma meno che per gli acidi, man mano che le rane entrano in ibernazione.

5) Stimola sia le fibre afferenti che quelle efferenti causando con facilità moti controlaterali.

III. - Azione dei sali inorganici.

Si sono studiati i seguenti sali: NaCl, KCl, $CaCl_2$, $KMno_4$.

a) *Cloruro di sodio.* - Il coruro di sodio è stato usato in tutte le esperienze alla concentrazione del 20%. A tale concentrazione

Biblioteca nazionale centrale di Roma

stimola il nervo nelle rane ibernanti e non ibernanti, con un tempo di latenza ordinariamente più lungo nelle seconde.

Tempo	4 maggio = Bufo viridis grosso
0'	Si taglia il bulbo.
2'	Si immerge il piede sinistro in soluzione al 20 % di NaCl.
2'2"	Flessione di tutto l'arto.
2'15"	Si hanno tre movimenti di detergimento.
2'20"	L'arto torna in flessione.
5'57"	Estensione rapida dell'arto. A intervalli leggere flessioni.
12'	Si immerge il piede destro in soluzione dl NaCl al 20 %.
12,'2"	Flessione dell'arto.
14'	Si lavano ambedue le zampe con acqua corrente.
21'	Si scopre lo sciatico destro, e si applica la soluzione al 20 % di NaCl.
22'5"	Si notano tremori delle dita che vanno aumentando e si estendono alla gamba provocando una rotazione interna.
27'	Si scopre lo sciatico sinistro, e si applica la soluzione detta di NaCl.
28'	Incomincia a muoversi un dito; il movimento si estende tosto alle altre dita, al polpaccio, alla coscia. Si notano successivamente estensioni e flessioni poco estese, rotazione interna, abduzione e adduzione.

Applicato sulla cute provoca subito una rapidissima flessione di tutto l'arto, che rimane in tale posizione per ca. 13″-15″, dopo di che si estende e si flette rapidamente per 2-3-5 volte, arrivando qualche volta a detergere la regione cloacale, e infine restando in flessione tonica. Dopo un tempo variabile da pochi secondi a ca. 3′-30″, di scatto la coscia si estende sul corpo e la gamba sulla coscia; il piede, che era rimasto un po' flesso sulla gamba, si estende successivamente.

Il quadro sopradescritto, altamente caratteristico, può modificarsi nelle rane ibernanti per il fatto che i movimenti diventano più torpidi, meno ampi e gli intervalli di tempo fra un movimento e l'altro diventano più lunghi.

Non meno caratteristici sono i movimenti che il cloruro di sodio, causa applicato sul nervo. Il tempo di latenza, variabilissimo, varia da 15″ a 1′15″; dopo di che un solo dito del piede s'innalza e si abbassa rapidissimamente e tosto il movimento si propaga a tutte le altre dita. Successivamente si notano contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio che, prima limitate in estensione, si espandono ben presto fino a invadere l'intero muscolo, aumentano gradatamente d'intensità e sono accompagnate ogni tanto da contrazioni cloniche. I movimenti fibrillari si estendono anche ai muscoli della coscia sicchè a questo punto si vede tutta la regione poste-

Biblioteca nazionale centrale di Roma

riore dell'arto inferiore in preda a moto fibrillare vivacissimo. L'arto, rimasto fermo « in situ » sin'ora, si flette molto lievemente fra la gamba e la coscia, quindi si estende tetanicamente, subisce una rotazione interna e si abduce, resta in abduzione per un certo tempo, durante il quale perdurano le contrazioni fibrillari, e infine si adduce di un angolo piccolissimo. Resta, allora, in tal posizione finchè diminuiscono e poi finiscono le contrazioni fibrillari e i muscoli diventano atoni.

Se si taglia uno sciatico e si applica sul moncone periferico la soluzione al 20% di cloruro di sodio il segmento distale dell'arto si muove con movimenti che variano da rana a rana.

Riassumendo:

1) Alla concentrazione del 20% il cloruro di sodio stimola la cute di rane sia ibernanti che fuori ibernazione.

2) Alla stessa concentrazione stimola la cute subito, o al massimo dopo 2″.

3) Stimola il nervo dopo un tempo di latenza variabile da 15″ a 65″.

4) Stimola le fibre efferenti e, forse, le afferenti.

b) *Cloruro di potassio.* - Il KCl è stato sempre impiegato in soluzione al 20%.

Tempo	5 maggio = Bufo viridis medio
0'	Si taglia il bulbo.
2'	Si immerge il piede destro in una soluzione acquosa di KCl al 20 %
3' 30"	Improvvisa flessione dell'arto che resta tenicamente flesso.
7' 50"	Rapido rilasciamento della zampa.
24'	Si scopre lo sciatico destro.
24,' 30"	Si applica la soluzione di KCl al 20 % sul tronco nervoso.
25' 27"	Si notano tremori alle dita che si tramutano in contrazioni cloniche estendosi alla gamba e alla coscia; quindi si ha abduzione e rotazione interna in tetano. Incominciano tosto moti clonico-fibrillari con lieve adduzione e infine contrazioni cloniche a intervalli, che finiscono dopo ca. 10'.
35'	Si scopre lo sciatico sinistro.
35' 30"	Si applica sul nervo la soluzione al 20% di KCl.
37' 30"	Incominciano tremori delle dita che si risolvano in movimenti identici a quelli descritti.

Il KCl alla concentrazione del 20% stimola la cute di rane ibernanti e non ibernanti con un tempo di latenza variabilissimo, sempre però minore di 2'. Dopo questa latenza la zampa si flette tonicamente, restando in tal posizione per ca. 5', dopo che si estende rapidamente di scatto. Se dopo la flessione si lava con acqua di

Biblioteca nazionale centrale di Roma

fonte, la cute del piede stimolata, l'estensione dell'arto avviene dopo un periodo più breve e con minor velocità.

Il KCl stimola il nervo delle rane sia ibernanti che fuori ibernazione, con un tempo di latenza più lungo nelle prime che nelle seconde; e in questo caso varia da 50″ a 1′50″. La stimolazione del nervo si manifesta con movimenti caratteristici: due o più dita del piede incominciano a tremare simultaneamente ed il tremore si estende tosto alle altre dita; in breve incominciano contrazioni fibrillari dei muscoli della regione posteriore del polpaccio che si estendono ai muscoli posteriori della coscia. Successivamente i movimenti da fibrillari divengono clonici, i muscoli vanno gradatamente aumentando di tono e passano allo stato tetanico; infine tutto l'arto compie un movimento atetosico per cui, in seguito a una completa estensione, si abduce con lentezza e nello stesso tempo ruota internamente. Abdottosi l'arto di un angolo variabile (alle volte fino di 90°) rimane in tal posizione. Allora incomincia ad abbassarsi il tono muscolare, ricompaiono gradatamente molto evidenti le contrazioni cloniche e poi fibrillari le quali ultime non erano mai cessate del tutto; infine si notano solo contrazioni cloniche dei muscoli del polpaccio che si fanno più rade man mano fino a cessare completamente dopo 10′ dall'applicazione della soluzione salina sul nervo.

Riassumendo:

1) Il KCl stimola la cute di rane sia ibernanti che fuori ibernazione.

2) Alla stessa concentrazione del 20% stimola il nervo di rane ibernanti e non ibernanti con un tempo di latenza più lungo nelle prime che nelle seconde.

c) *Cloruro di calcio*. - Anche il CaCl è stato studiato alla concentrazione del 20%.

A questa concentrazione stimola la cute subito o al massimo dopo 2″-3″, e provoca flessione energica, rapida e completa del piede sulla gamba e di questa sulla coscia, mentre la coscia forma un angolo variabile col corpo dell'animale. Dopo circa 12″-25″ la coscia e la gamba cominciano ad estendersi e la estensione diventa completa dopo un tempo più o meno lungo, sempre però inferiore a 30″. Anche il piede si estende contemporaneamente sulla gamba ma di un angolo che non oltrepassa i 90°. Finita l'estensione l'arto si flette a intervalli di tempo e con intensità progressivamente crescenti.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Queste flessioni possono però mancare se già è stato applicato il sale sulla cute dell'arto controlaterale.

Il $CaCl_2$ applicato sul nervo non lo stimola affatto ma ne distrugge dopo pochi minuti le fibre sensitive. Infatti nè pinzettando le dita del piede nè applicandolo in soluzione sulla cute della zampa della quale si è già stimolato lo sciatico, si hanno riflessi; invece se il $CaCl_2$ si applica nel dorso della rana, si nota flessione di ambedue le zampe cioè, le fibre motrici del nervo non sono state distrutte.

Riassumendo:

1) Il $CaCl_2$ al 20% stimola la cute subito o al massimo dopo 3".

2) Non stimola il nervo e distrugge le fibre sensitive prima delle motrici.

d) *Permanganato potassico.*

Tempo	2 maggio = Bufo viridis medio
0'	Si taglia il bulbo.
3'	Si immerge il piede sinistro in $KMnO_4$ all' 1 %.
3'20"	Le dita si flettono ad angolo retto sul piede e questo sulla gamba, mentre la gamba e la coscia si flettono pochissimo. Si ha leggera abduzione dell'arto e delle flessioni che si ripetono ad intervalli.
6'	Si immerge il piede destro in $KMnO_4$ all'1 %.
6'28"	Si notano uguali movimenti a quelli descritti per l'arto sinistro.
9'	Si scopre lo sciatico sinistro.
9'20"	Si applica $KMnO_4$ all'1 %. Nessun movimento. Si lava il nervo con sol. fis.
18'	Si applica soluzione satura di permanganato sullo sciatico sinistro.
18'35"	Lievissime flessioni delle dita.
21'	Si scopre lo sciatico destro.
21'30"	Si applica soluzione satura di permanganato sullo sciatico destro.
21'55"	Tremuli movimenti delle dita che durano per 10"-15", dopo di che le fibre nervose rimangono distrutte.

La soluzione di $KMnO_4$ all'1 % stimola la cute delle rane fuori ibernazione con un tempo di latenza variabile da 20" a 28". L'arto si dispone tipicamente ad uncino alla sua estremità distale con i due angoli retti situati rispettivamente fra le dita e il metatarso e fra questo e la gamba; esso sta in leggera flessione tonica e presenta delle contrazioni ad intervalli.

La stessa concentrazione applicata sul nervo non lo stimola affatto. Una soluzione satura invece lo stimola dopo ca. 35" suscitando tremuli movimenti delle dita che durano 10"-15"; poi tutte le fibre nervose rimangono distrutte.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Riassumendo:

1) Il permanganato potassico all'1% stimola la cute dopo un tempo di latenza di 20″-28″.

2) La soluzione satura stimola il nervo dopo ca. 35″ e ne uccide le fibre dopo ca. 50″ dall'applicazione.

IV. - Azione alogeni.

a) *Bromo.* - Se si sospende una rana spinale verticalmente per mezzo di un gancio attaccato alla mandibola e sotto in corrispondenza ad uno dei piedi si pone una bottiglia aperta contenente del bromo liquido, appena i vapori del metalloide vengono a contatto della cute l'animale compie una serie di fortissimi e rapidissimi movimenti di detergimento omo- e controlaterali.

Per saggiare la stimolazione del nervo per mezzo dell'alogeno bisogna ricoprire prima la cute di tutta la zampa con para lasciando scoperto solo lo sciatico.

Se in tali condizioni si applica sul nervo il Br liquido la zampa incomincia istantaneamente a flettersi, ma molto lievemente; le fibre nervose rimangono distrutte pochi secondi dopo.

Riassumendo:

1) il Br stimola istantaneamente la cute, anche con i soli vapori.

2) Stimola subito il nervo distruggendolo rapidamente.

b) *Iodio.* - Descriveremo prima l'azione dell'iodio sublimato in scaglie e poi l'azione della soluzione alcoolica.

Se si pongono poche scagliette di I sulla cute del polpaccio, la rana compie subito una serie di rapidissimi movimenti di detergimento omo- e controlaterali che si esauriscono lavando con acqua di fonte la regione cutanea stimolata.

Scaglie di I sublimato, applicate sul nervo scoperto, non lo stimolano affatto.

La soluzione alcoolica dell'iodio al 10% applicata sulla cute produce istantaneamente rapidissimi moti di detergimento bilaterali, mentre a contatto con il nervo non causa alcun movimento, ma ne distrugge dopo pochi secondi le fibre sensitive e poi le motrici. È identica dunque l'azione svolta dall'iodio sia allo stato solido che in soluzione alcoolica

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Riassumendo:

1) L'iodio stimola subito la cute.

2) Non stimola il nervo, ma lo distrugge in breve tempo.

V. - Sostanze organiche.

a) *Glicerina*. - È stata adoperata allo stato puro. Applicata sulla cute non la stimola ordinariamente, specie nelle rane ibernanti, mentre rare volte provoca una lieve flessione del piede sulla gamba, dei tremori delle dita del piede appena osservabili e di tanto in tanto qualche clono dei muscoli del polpaccio.

Applicata sul nervo invece lo stimola sia nelle rane ibernanti che in quelle fuori ibernazione, e per quest'ultime il tempo di latenza è di 33″-35″. I movimenti iniziano con tremori delle dita del piede, cui seguono contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio; quindi, mentre il piede si flette sulla gamba, questa si estende rispetto alla coscia; poi i muscoli del polpaccio entrano in tetano e le loro forme trasparíscono chiaramente attraverso la cute; infine anche il piede si estende sulla gamba. Incomincia allora una lenta abduzione dell'arto di pochi gradi seguita da un'adduzione di un angolo uguale. Cessata la contrazione tetanica dei muscoli del polpaccio, tutto l'arto sembra rientrare nello stato normale. Successivamente però si ripete lo stesso quadro: tremori delle dita del piede, contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio, flessione del piede sulla gamba ed estensione di questa sulla coscia; poi estensione del piede sulla gamba, tetano dei muscoli del polpaccio, abduzione, adduzione, ritorno allo stato normale.

Così questi quadri, sempre uguali ma con movimenti di intensità progressivamente decrescente, si ripetono un certo numero di volte fino a quando rimane distrutto il nervo (dopo ca. 16′).

Scoperto lo sciatico e tagliatolo, applicando la glicerina pura sul moncone periferico, l'insieme dei movimenti del segmento distale della gamba non segue l'ordine descritto. Infatti dopo un tempo di latenza di ca. 35″ incomincia qualche clono del polpaccio, al quale ne seguono altri a intervalli di tempo di pochi secondi e quindi compaiono movimenti tremuli delle dita. Il piede si flette sino a formare un angolo retto con la gamba e le dita formano un altro angolo retta col metatarso. Quindi la zampa si adduce e si abduce disordinatamente e con celerità.

Quasi nulla ed incerta è l'azione esplicata dalla glicerina sul moncone centrale.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Riassumendo:

1) Allo stato puro la glicerina non stimola ordinariamente la cute; qualche rana può fare eccezione.

2) Stimola il nervo con un tempo di latenza di 33″-35″.

3) Agisce sulle fibre efferenti mentre non esplica forse alcuna azione sulle afferenti.

b) *Urea.* - È stata studiata l'azione della sua soluzione acquosa al 50 %. A questa concentrazione stimola la cute dopo 2″ e i movimenti provocati consistono in rapide ma brevi flessioni del piede sulla gamba che terminano poco dopo.

Applicata sul nervo invece non causa alcun movimento.

c) *Aldeide formica.* - È stata adoperata la soluzione al 40%. Applicata sulla cute provoca istantaneamente energici e rapidissimi movimenti di detergimento bilaterali, i quali cessano dopo ca. 20″, rimanendo le due zampe tonicamente flesse. Il tono dei muscoli dell'arto controlaterale cessa dopo ca. 7′, mentre nella zampa su cui si è portato lo stimolo, cessa dopo ca. 8′. Però durante i movimenti di detergimento bilaterali parte di aldeide formica si è portata sulla cute della zampa non stimolata.

La stessa soluzione applicata sul nervo causa una fortissima e rapidissima flessione con latenza variabile da 3″ a 15″, dopo di che le fibre nervose rimangono distrutte.

Riassumendo:

1) L'aldeide formica al 40% stimola subito la cute.

2) Alla stessa concentrazione stimola il nervo con un tempo di latenza di 3″-15″ distruggendone subito le fibre.

b) *Alcool etilico.* - L'alcool etilico applicato sulla cute provoca subito una rapida flessione di tutto l'arto, mentre nessun movimento si nota se si mette a contatto col nervo.

c) *Cloroformio.* - Stimola subito la cute causando leggere flessioni ed estensioni ripetute del piede e della zampa. Applicato sul nervo produce, non sempre, lievi contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio, che cessano dopo pochi secondi.

d) *Solfuro di carbonio.* - Il CS_2 applicato sulla cute causa subito rapide ed energiche flessioni ed estensioni della gamba sulla coscia.

Messo a contatto col nervo dopo 2″ si notano movimenti tremuli delle dita e dopo 7″ si hanno tentativi di flessione della gamba sulla coscia. Il nervo è ucciso in ca. 2′.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

e) *Acetone.* - L'acetone applicato sulla cute causa subito flessioni ed estensioni con lievi contrazioni fibrillari dei muscoli del polpaccio. Le fibre nervose sono distrutte in meno di 1′ dall'applicazione della sostanza.

f) *Benzolo.* - Il benzolo applicato sulla cute produce subito rapide e fortissime flessioni ed estensioni di tutto l'arto. Non stimola invece il nervo e ne distrugge subito le fibre.

e) *Fenolo.*

Tempo	2 maggio = Bufo viridis piccolo
0'	Si taglia il bulbo.
6'	Si applica una soluzione di acido fenico all'1 % sul piede destro; Si notano subito forti contrazioni bilaterali.
9'	Si applica una soluzione di acido fenico al 0,5 % sul piede sinistro.
9'2	Incominciano forti contrazioni che finiscono in flessioni ritmiche di tutto l'arto.
15'	Si scopre lo sciatico sinistro.
15'30"	Si applica una soluzione di fenolo al 90 % sul nervo, avendosi subito una fortissima flessione tonica di tutto l'arto. Dopo di che la zampa rimane insensibile a qualsiasi stimolo e paralizzata.
18'	Si scopre lo sciatico destro.
18'30"	Si applica soluzione di fenolo al 0'5 %. Immobilità.
20'	Le fibre nervose sono distrutte.

L'acido fenico in soluzione acquosa al 0,5 % stimola subito la cute in modo da provocare energiche flessioni della gamba sulla coscia e di questa sul corpo dell'animale. Tali contrazioni si ripetono a intervalli.

La concentrazione dell'1% sulla cute causa velocissimi movimenti, anche controlaterali, mentre non è capace di stimolare il nervo, che distrugge in breve tempo. La concentrazione del 5% sul nervo causa la flessione della zampa e ne distrugge le fibre nervose dopo ca. 1'25". La concentrazione del 90% stimola il nervo, causando una fortissima flessione di tutta la gamba e distrugge le fibre nervose in pochi secondi.

g) *Canfora.* - Per studiare l'azione della canfora si è sciolta in olio di vaselina, il quale non stimola nè la cute nè il nervo.

La soluzione oleosa di canfora al 20% stimola la cute dopo 4", flettendosi il piede sulla gamba fino a formare un angolo retto con essa; contemporaneamente compaiono contrazioni tonico-cloniche dei muscoli del polpaccio, alle quali si accompagnano lievissime flessioni delle dita del piede controlaterale, che si susseguono a intervalli di tempo variabili.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

La stessa soluzione non stimola il nervo, ma ne distrugge le fibre sensitive 2'-4' dopo l'applicazione.

h) *Timolo*. - Anche per il timolo è stata adoperata la soluzione in olio di vaselina al 20%. A questa concentrazione stimola la cute provocando subito flessione del piede sulla gamba. Dopo ca. 2'30" possono notarsi movimenti tremuli delle dita del piede controlaterale. Alla stessa concentrazione non causa alcun movimento applicato sul nervo.

i) *Bisolfato di chinina*. - Si è studiata l'azione della sua soluzione acquosa al 10%. A questa concentrazione stimola la cute dopo un tempo di latenza di ca. 5". flettendosi il piede sulla gamba, questa sulla coscia e la coscia sul corpo ma non completamente, nello stesso tempo si ha un leggero moto di proiezione in fuori. Alla stessa concentrazione non stimola il nervo.

l) *Nitrato di stricnina*. - Si è studiata l'azione della sua soluzione all'1%. Applicato sulla cute non provoca alcun movimento. Neanche il nervo è stimolato.

m) *Essenza di senape*. - Applicata sulla cute causa istantaneamente fortissimi movimenti di detergimento omo- e controlaterali, coordinati, sia nelle rane ibernanti che in quelle fuori ibernazione. Non stimola il nervo.

n) *Essenza di trementina*. - Applicata sulla cute provoca immediatamente fortissimi movimenti di detergimento bilaterali sia nelle rane ibernanti che in quelle fuori ibernazione.

A contatto col nervo non lo stimola.

o) *Pepe* (in polvere). - Sparso sulla cute non lo stimola; una rapida flessione si ottiene invece aggiungendo una goccia d'acqua alla sostanza in polvere.

Parimenti la polvere asciutta non stimola il nervo mentre se si bagna con l'aggiunta di una goccia d'acqua incominciano subito a manifestarsi delle flessioni lievissime delle dita del piede.

VI. - Considerazioni generali.

Possiamo dividere tutte le sostanze impiegate dal punto di vista chimico in 5 classi: acidi, basi, sali, alogeni, corpi organici.

Gli *acidi* sia organici (ac. acetico, ac. citrico) sia inorganici (ac. solforico) agiscono stimolando la cute e il nervo; solo l'ac. tannico, che ha una costante dissociazione piccolissima, non stimola nè la cute nè il nervo.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

L'intensità d'azione di un acido sarebbe funzione del suo grado di dissociazione e l'azione stimolante sarebbe dovuta agli idrogenioni, in quanto l'insieme dei movimenti della rana non differisce coi diversi acidi.

La *soda* stimola la cute e il nervo, e di questo le fibre centrali e le periferiche. Caratteristica è la sua proprietà di esplicare la sua azione dopo un lungo periodo di latenza. Probabilmente anche per le basi, come per gli acidi, l'intensità della loro azione è funzione del rispettivo grado di dissociazione.

Per i *sali* anzitutto sembra da escludersi che il meccanismo loro d'azione sia da ricercarsi solamente nella capacità imbibente o disidratante dei loro ioni. Infatti la soluzione straordinariamente ipertonica di $CaCl_2$ (20%) non stimola il nervo mentre concentrazioni uguali (20%) di cloruri di Na e K producono estesi movimenti. L'azione disidratante o imbibente (quale quella esplicata dall'acqua distillata) ha dunque una grande importanza nella distruzione del nervo, ma non sulla sua eccitazione, che è essenzialmente dovuta all'attività dei diversi ioni liberantisi nella dissociazione delle singole sostanze.

Dando uno sguardo all'insieme dei movimenti causati coll'applicazione di soluzioni saline sul nervo, si vede che essi sono differenti e, diremo quasi specifici per ogni sale. La causa poi dell'eccitazione dei nervi sarebbe da ricercarsi nell'azione svolta dai cationi; infatti i cloruri di Na, K e Ca mostrano differente azione e in essi non varia che il catione rimanendo costante l'anione Cl.

Se in seguito all'applicazione del permanganato potassico sul nervo si nota soltanto la prima fase dei movimenti causati da KCl, mancando tutto il resto del quadro, ciò è verisimilmente dovuto al fatto che il nervo è distrutto in pochi secondi, mancando così l'ulteriore azione del sale.

Vi sono poi delle sostanze che a seconda della concentrazione agiscono differentemente sulle fibre nervose; così ad es. l'acido fenico, il quale a piccole concentrazioni distrugge il nervo senza eccitarlo, ad alte concentrazioni lo uccide quasi subito eccitandolo.

Dal punto di vista biologico possiamo dividere invece le sostanze in quattro categorie, secondo che siano capaci di eccitare: *a*) la sola cute; *b*) il solo nervo; *c*) la cute e il nervo; *d*) nè la cute nè il nervo.

Appartengono alla prima categoria: Br. J, $CaCl_2$, bisolfato di chinina, essenza di senape e di trementina, alcool etilico, tintura di iodio, urea, benzolo, timolo, canfora.

Biblioteca nazionale centrale di Roma

Costituisce la seconda categoria la sola glicerina, la quale però di rado può eccitare la cute.

La terza categoria è la più numerosa e comprende: NaOH, H_2SO_4, ac. acetico, acido citrico, NaCl, KCl, $KMnO_4$, CS_2, HCHO, cloroformio, etere solforico, fenolo, pepe bagnato.

Alla quarta categoria appartengono: acido tannico, nitrato di stricnina, pepe asciutto. Abbiamo già riportato al principio del nostro lavoro i risultati del GRÜTZNER, che indicano come le varie sostanze chimiche agiscano in concentrazione equimolecolari differentemente a seconda della serie a cui appartengono, del loro peso molecolare, e che tale differenza si esplichi in un differente comportamento sia sui nervi motori che sui nervi sensitivi. Le nostre esperienze confermano i risultati del GRÜTZNER e mostrano che le varie sostanze agiscono in modo differente non solo a seconda che i nervi siano afferenti od efferenti, ma anche con intensità e modalità differenti se applicate alle espansioni periferiche di essi o ai tronchi nervosi. Anzi alcune di queste sostanze sembrano avere una specifica elettività per le terminazioni cutanee, mentre non agiscono sui nervi e viceversa. Tale azione è differente a seconda delle condizioni in cui si trova l'animale sia nello stato di piena attività — nel periodo estivo — o di torpore — nel periodo invernale — torpore, che si esplicherebbe non solo sulle attività motorie, ma anche sui processi chimici che avvengono nei substrati viventi.

Inoltre abbiamo notato che le sostanze che hanno carattere nocivo, sia a deboli concentrazioni sia che lo acquistino per la loro concentrazione, applicate alla cute provocano generalmente dei movimenti che dal loro ordinato svolgersi mostrano di avere un determinato scopo fisiologico, quello di allontanare la causa e di detergere la parte offesa. Applicate invece al tronco nervoso o non producono movimenti o, se li provocano, essi sono differenti da quelli prodotti dall'applicazione cutanea. Tale differenza si esplica nell'intensità, forma e decorso dei movimenti in maniera da renderli per alcune di queste sostanze veramente specifici, così che dal movimento fatto dall'animale si potrebbe quasi stabilire la sostanza applicata al nervo. Ciò dimostra non solo che queste sostanze stimolano determinate fibre del tronco nervoso a preferenza di altre, ma che lo stimolo chimico provoca nei nervi dei processi per intensità e andamento differenti fra di loro.

Forse l'analisi delle variazioni elettriche che a questi moti si

Biblioteca nazionale centrale di Roma

accompagnano potrebbe darci più precisa conoscenza dei fenomeni provocati nei nervi da questi stimoli chimici.

Già LAUDER-BRUNTON, nel suo classico trattato di Farmacologia e Terapia, aveva notato questi rapporti che passano fra la natura chimica delle sostanze e gli effetti che producono, e il GOWERS nel suo trattato delle malattie nervose aveva detto come alcuni veleni hanno speciale tendenza a colpire e distruggere determinati nervi a preferenza di altri; queste osservazioni ed ipotesi collimano coi fatti da noi sopra descritti.

RIASSUNTO.

Si sono studiati sulla rana comparativamente gli effetti degli stimoli chimici sulla cute e sul nervo che ad essa si porta.

1) Nelle rane ibernanti la sensibilità cutanea è uguale o leggermente superiore a quella delle rane fuori ibernazione; l'eccitabilità nervea è inferiore a quella della cute.

2) Nelle rane fuori ibernazione gli stimoli chimici agiscono con intensità e modalità differenti secondo che siano applicati sulla cute o sul nervo.

Le reazioni motorie dell'animale sono per alcune sostanze altamente caratteristiche e quasi specifiche per ogni singola sostanza.

BIBLIOGRAFIA.

(1) Humboldt (von) A. - Versuche über die gereitze Muskel und Nervenfaser. S. 171, Posen und Berlin, 1797.

(2) Hermann L. - Handbuch der Physiologie Nervensystem. II Band, I Theil, 1879, 97.

(3) Eckhard - *Ztschr. f. rat. Med.* (r) 1851, 303.

(4) Kühne W. - *Arch. für Anat. und Physiol.*, 1859, 213; 1860, 315.

(5) Grützner P. - Ueber chemische Reizung von motorischen Nerven. *Pflüger's Archiv*, 1893, **53**, 83; **136**, 105.

(6) Grützner P. - Ueber die chemische Reizung sensibler Nerven. *Ibidem*, 1894, **58**, 69.

(7) Vedi (3).

(8) Idem, 105.

(9) Hirmschman E. - Ueber die Reizung motorischen Nerven durch Lösungen von Neutralsalzen. *Pflüger's Arch.*, 1891, **49**, 301 ed Hamburger's Osmotischer Druck, Bd. III, p. 156.

(10) Steinhausen W. - Allg. Phys. der Nerven act. in *Bethe's Handbuch der Normalen u. Paht. Phys.*, Bd. 9, p. 677.

(11) Cyon E. - Methodik der Phys. Exper. und Vivisectionen. 1876, p. 26.