



111801

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXIII, serie 6^a, 1^o sem., fasc. 7. — Roma, aprile 1936-xiv.

Fisiologia. — *Liberazione di una sostanza acetilcolino-simile dalla superficie di taglio del nervo durante l'eccitamento fisiologico*⁽¹⁾. Nota di G. BERGAMI⁽²⁾ presentata⁽³⁾ dal Socio C. Foà.

Dale e collaboratori hanno in questi ultimi anni messo in evidenza che l'eccitamento delle fibre nervose colinergiche si accompagna con la liberazione di una sostanza acetilcolino-simile a livello delle terminazioni nervose e delle sinapsi, senza peraltro dare alcuna prova che tale liberazione avvenga anche lungo le fibre nervose. Anzi Feldberg e Vartiainen (« Journ. Physiol. », 83, 1935, p. 127), a questo proposito dicono « Impulses passing along the vagus fibres through its ganglion without synaptic interruption, liberate no acetylcholine, and antidromic impulses into the cells of the sympathetic ganglion are similarly ineffective. It is concluded that the liberation of acetylcholine by preganglionic impulses occurs at the synapses ».

Secondo Bacq (« Ergebnisse d. Physiol. », 37, 1935, p. 163) le osservazioni di Feldberg e collaboratori « réduisent à néant les observations assez étonnantes de Calabro » che nelle sue pubblicazioni del 1933 e 1935 sostiene la liberazione di un « quid » attivo dalle estremità tagliate dei nervi per effetto della stimolazione faradica.

Secondo le ricerche di Calabro, immergendo la superficie di taglio del nervo vago in semplice soluzione di Ringer, e stimolando ripetutamente il nervo a monte del taglio, si osserva la diffusione nel Ringer di una sostanza che esercita un'azione vagale sul cuore isolato, sulla pressione sanguigna e sull'ansa intestinale. Analoghi esperimenti eseguiti dal Calabro su nervi simpatici, dimostrerebbero la liberazione di una sostanza ad azione simpatico-simile.

La liberazione di queste sostanze sarebbe però condizionata in modo assoluto alla stimolazione faradica del nervo, essendo risultati inattivi i liquidi nei quali erano stati immersi fino a sei ore nervi non sottoposti alla stimolazione faradica.

Dai risultati di Calabro non si può pertanto stabilire se anche durante l'eccitamento fisiologico il nervo liberi una sostanza attiva e se questa sostanza sia, ad esempio nel caso del vago, una sostanza acetilcolino-simile, preservabile con eserina.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia della R. Università di Milano.

(2) Hanno collaborato alla esecuzione delle ricerche gli studenti G. CAMRONI e T. GUALPIEROTTI.

(3) Nella seduta del 5 aprile 1936.

Handwritten signatures and initials.

D'altra parte Binet e collaboratori hanno dimostrato che estratti di nervi (ad esempio vago), triturati in Ringer eserinizato, contengono una sostanza acetilcolinosimile la cui quantità aumenta se il nervo è stato precedentemente stimolato. Stimolando artificialmente un frammento di nervo vago immerso in Ringer-Locke, Binet e Minz non hanno però potuto rilevare la diffusione di una sostanza acetilcolina simile, mentre risultò evidente la liberazione di una sostanza, termostabile e ossidabile che, come l'eserina, sensibilizza il muscolo dorsale di sanguisuga verso l'acetilcolina.

Questi risultati, tra loro contraddittori, mi hanno indotto ad indagare, in opportune condizioni sperimentali, se dalla superficie di taglio dei nervi si libera una sostanza ad azione acetilcolino-simile quando le fibre nervose sono percorse da stimoli fisiologici.

In questa comunicazione che ha carattere preliminare, mi limito a descrivere l'esperimento-tipo.

I. - MONCONE CEFALICO DEL NERVO FRENICO.

Cane in narcosi da cloralosio o da morfina. Tracheotomia e respirazione artificiale. Si apre ampiamente la gabbia toracica e si isola uno dei nervi frenici, tagliandolo in prossimità del diaframma. Si immerge l'estremità tagliata in un bicchierino contenente 12 cc. di liquido di Ringer⁽¹⁾ per anfibi, addizionato di solfato di eserina Sanloz (concentrazione 1:600.000).

Dopo due minuti primi di immersione, il liquido nel quale è stata immersa l'estremità tagliata del nervo, viene saggiato su un preparato di muscolo dorsale di sanguisuga, allestito con la tecnica conosciuta e la cui sensibilità per l'acetilcolina è stata precedentemente tarata.

Il preparato risponde con una contrazione acetilcolino-simile, tanto più forte quanto più evidenti erano state durante l'esperimento, le contrazioni dell'altra metà del diaframma.

2. -- MONCONE CEFALICO E MONCONE DISTALE DEL NERVO VAGO.

Cane in narcosi da cloralosio e da morfina. Si isola un lungo pezzo di vago al collo, lo si seziona e si immergono i due monconi in due bicchierini contenenti il Ringer eserinizato. Dopo due minuti i due liquidi vengono saggiati nel preparato di sanguisuga; il muscolo si contrae.

Questi esperimenti dimostrano che quando un nervo, come il frenico ed il vago, è percorso da stimoli fisiologici, della superficie di taglio del

(1) La composizione del Ringer, che è risultata la più adatta per ottenere la massima sensibilità per l'acetilcolina del preparato di sanguisuga, è la seguente:

NaCl 0,65; KCl 0,014; CaCl₂ 0,006; NaHCO₃ 0,02; NaH₂PO₄ 0,001; H₂O 100.
Come si vede il contenuto in calcio deve essere mantenuto piuttosto basso; è consigliabile controllarlo analiticamente.

moncone congiunto coi distretti centrali o periferici donde trae origine lo stimolo, libera una sostanza ad azione acetilcolinica.

Era necessario provare se la liberazione di questa sostanza fosse strettamente legata all'attività fisiologica del nervo ed io ricercai se la sostanza ancora si liberasse oppure no dalla superficie di sezione del nervo quando la conduzione lungo il fessetto fosse bloccata dal freddo, o cogliendo momenti nei quali fosse sospeso il lancio lungo il nervo di stimoli fisiologici.

I. — CONTROLLO COL BLOCCO DA FREDDO DELLA CONDUZIONE NERVOSA.

Si provoca un blocco da freddo dello stesso frenico, applicando un piccolo cubo di ghiaccio sulla parte più distale del nervo, verso il collo. Dopo 5-15 minuti, sempre mantenendo il ghiaccio sulla porzione distale del nervo, si immerge l'estremità periferica tagliata in un altro bicchierino contenente la stessa quantità di Ringer addizionata dalla stessa quantità di eserina.

Dopo due minuti primi di immersione, si torna a saggiare il liquido sul preparato di muscolo dorsale di sanguisuga.

Il preparato non presenta contrazione alcuna, oppure, se il blocco da freddo non è stato completo, una contrazione molto piccola.

Si toglie il blocco da freddo e si ripete tale e quale l'esperimento dopo 10-15 minuti. Il liquido nel quale viene mantenuta immersa per due minuti la superficie di taglio dello stesso frenico, ritorna ad essere attivo provocando una forte contrazione del muscolo di sanguisuga corrispondente a quella ottenuta nel primo esperimento.

II. — CONTROLLO DURANTE LA INATTIVITÀ FISIOLÓGICA DEL NERVO FRENICO PROVOCATA DALL'APNEA.

Preparazione del cane come nell'altro tipo di esperimento. Taglio, in prossimità del diaframma, di un frenico e saggio, sul muscolo di sanguisuga, del liquido di immersione (due minuti) dell'estremità tagliata; risultato nettamente positivo; il muscolo si contrae.

Si intensifica la respirazione artificiale finchè non siano più visibili contrazioni dell'altra metà del diaframma.

Si ripete l'immersione dell'estremità tagliata del frenico per due minuti: risultato negativo o molto ridotto (il preparato dopo un piccolo inizio di contrazione, tende ad allungarsi anzichè ad accorciarsi).

Si interrompe la respirazione artificiale; quando l'altra metà del diaframma ricomincia a contrarsi nei conati respiratori asfittici, si immerge l'estremità del frenico per due minuti nel Ringer eserinizato.

Si saggia il liquido di immersione sul preparato di muscolo dorsale di sanguisuga; contrazione fortissima.

Prove di controllo eseguite sia con liquidi nei quali erano stati immersi per vari periodi di tempo nervi inattivi, sia con liquidi addizionati a sangue dello stesso animale, hanno sempre dato risultati negativi.

Sono in corso esperimenti *in vivo* e *in vitro*, anche con altri nervi, che mentre confermano la liberazione di una sostanza acetilcolino simile dalla superficie di taglio del nervo durante l'eccitamento, sia spontaneo sia provocato da stimolo elettrico, ne mettono in luce un particolare comportamento rispetto al glucosio.

55766