

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCC.

1903

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1903

**Fisiologia.**— *Sui così detti composti salino-proteici* <sup>(1)</sup>. Nota I  
del Corrispondente GIULIO FANO e del dott. PAOLO ENRIQUES.

In questi ultimi tempi i fisiologi hanno studiato con speciale attenzione le condizioni fisiche degli organismi viventi, applicando a queste ricerche i dati ed i metodi della chimica fisica. Queste indagini condussero a mettere in luce la grande importanza degli stati molecolari nello svolgimento delle funzioni fisiologiche, e in particolar modo di quelle determinanti la pressione osmotica. Si comprende come questo indirizzo desse risalto al significato funzionale dei sali; e come per quel che riguarda il loro modo di essere nei liquidi e nei tessuti, e il meccanismo di assimilazione e di rigetto di essi, ritornasse in voga la questione dei così detti corpi salino-proteici.

Fino dai tempi di Berzelius si sapeva che l'albumina, precipitando, trasporta seco una parte dei sali che con essa si trovano in soluzione, e li trattiene in modo tale, da non poterne essere liberata con replicate lavature; ma l'esperienza più notevole è quella di Bernard <sup>(2)</sup>, il quale per il primo osservò che se si aggiunge del lattato di perossido di ferro a siero sanguigno, il sale di ferro non è più rivelato « dalle reazioni le più proprie a metterlo in evidenza, nelle condizioni ordinarie della sperimentazione chimica ». Il Bernard adoperava in realtà, come reattivi del ferro, « i prussati giallo e rosso di potassa »; dal risultato negativo di queste mescolanze, il Bernard concludeva che « il lattato di ferro si è dunque combinato col siero ». Si aggiunga che il Bernard eliminava il sospetto che ciò potesse derivare dalla reazione alcalina del siero, neutralizzandolo con un acido organico debole. Invertendo l'esperienza, vale a dire versando qualche goccia di lattato di ferro in una mescolanza di siero e ferrocianuro potassico, la colorazione bleu apparisce; e ciò perchè, dice il Bernard, « il lattato di ferro ha incontrato il ferrocianuro di potassio prima di essersi potuto combinare colla materia organica del siero: la loro azione reciproca si è manifestata. Sicchè, tutte le volte che l'esperienza sarà fatta versando il prussiato di potassa dopo aver mescolato il sale di ferro col siero, non si avrà la reazione; tutte le volte, per contro, che si verserà il lattato di ferro in una mescolanza di ferrocianuro di potassio e di siero, si avrà la formazione di bleu di Prussia. È dunque indubitabile, egli conclude, che i sali metallici possono formare composti solubili colle materie organiche ».

<sup>(1)</sup> Lavoro eseguito nel Laboratorio di Fisiologia di Firenze.

<sup>(2)</sup> Bernard C., *Léçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses*. Paris, Baillièrè, 1857.

Queste ricerche del Bernard furono poi riprese dal Cervello (1), il quale, studiando l'assorbimento del ferro medicinale e l'azione fisiologica dei cloruri di ferro, e adoperando mezzi organici diversi, come albumina d'ovo, o pezzetti di tessuti, conclude ammettendo la combinazione dei sali di ferro coi materiali proteici dell'organismo.

Con ricerche di altro genere, e cioè studiando le condizioni che mantengono costante la concentrazione molecolare del siero sanguigno, Fano e Bottazzi (2) furono condotti a supporre che ciò sia dovuto a processi di associazioni e dissociazioni salino-proteiche, a seconda che, rispettivamente, la concentrazione molecolare del siero tende ad aumentare o diminuire.

Il Bottazzi poi (3), trovò che la mescolanza di albume con solfato di ferro determina un aumento di  $\Delta$  minore che la mescolanza della stessa quantità di acqua corrispondente a quella di albume adoperato; in altre parole il Bottazzi colle sue ricerche crioscopiche porterebbe un nuovo contributo per affermare che i sali di ferro si combinano coi corpi proteici.

Ad analoghi risultati crioscopici giunsero Bugarsky e Liebermann (4), mescolando albumina, albumosi e pepsina rispettivamente con acido cloridrico o con potassa; e alle stesse conclusioni vennero colle medesime sostanze, basandosi anche sui dati ottenuti colla determinazione della forza elettromotrice prodotta da quelle sostanze in opportune condizioni; mentre che il ClNa, sia nella determinazione crioscopica che in quella della forza elettromotrice, diede risultati negativi, sebbene l'albumina fosse preventivamente dializzata.

Galeotti (5) alla sua volta studiò la conducibilità elettrica di vari organi e tessuti, in varie condizioni; e tra le altre venne alla conclusione che le modificazioni postmortali della resistenza si dovessero attribuire ad associazioni, per le quali il sale, entrando a far parte di una molecola molto complessa, non è più elettroliticamente dissociabile.

Queste conclusioni non potrebbero accordarsi coll'osservazione fatta da Oker-Blom (6), che cioè, nei processi digestivi, la depolimerizzazione dei proteici

(1) Cervello V., *Assorbimento del ferro medicinale e sue trasformazioni chimiche nel tubo digestivo*. Arch. di farmacologia e terapeutica, vol. VI, fasc. 4, estr. pp. 12, 1896.

(2) Fano G. e F. Bottazzi, *Sur la pression osmotique du sérum du sang et de la lymphe en différentes conditions de l'organisme*. Arch. Ital. Biol., vol. 26, p. 45-61, 1897.

(3) Bottazzi E., *Contributo alla conoscenza dell'importanza fisiologica delle sostanze minerali*. Lo Sperimentale, vol. 51, pp. 239-258, 1897.

(4) Bugarsky S. u. L. Liebermann, *Ueber das Bindungsvermögen eiseisartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz*. Arch. f. gesamm. Physiol. 72 B. p. 51-74, 1898.

(5) Galeotti G., *Ricerche sulla conducibilità elettrica dei tessuti animali*. Lo Sperimentale, vol. 51, p. 750-814, 1901.

(6) Oker-Blom M., *Thierische Säfte und Gewebe in physikalisch-chemischer Beziehung*. VI Mitth.: *Die elektrische Leitfähigkeit und die Gefrierpunktniedrigung als Indicatoren der Eiweisspaltung*. Skandinav. Arch. f. Physiol. 30 B., p. 359-374, 1902.

non è, nei primi stadi almeno, accompagnata da modificazioni apprezzabili della conducibilità del liquido. Ma su questo argomento torneremo tra poco.

Come si vede la questione dei composti salino-proteici non è ancora chiaramente risolta. Riprendendola in esame abbiamo cominciato col riscontro delle osservazioni fatte da Bernard. Da queste nostre prime ricerche risulta anzitutto confermato entro certi limiti il fatto che, quando si aggiunga ferrocianuro di potassio ad una mescolanza di siero e di un sale ferrico, non si ha la reazione del ferro: non è invece esatta l'affermazione inversa, che si abbia sempre la reazione, quando al siero si aggiunga prima il ferrocianuro e poi il sale ferrico. Abbiamo rammentato questo risultato, perchè, come già si disse, il Bernard interpretava il fatto della avvenuta reazione ammettendo che il lattato di ferro avesse incontrato il ferrocianuro di potassio, prima di essersi potuto combinare colle sostanze proteiche del siero. S'intende del resto che in ogni caso queste reazioni danno effetto negativo soltanto entro certi limiti, al di là dei quali avviene sempre la reazione del ferro, in qualunque ordine siano aggiunti i reagenti. Avvertiamo a questo proposito che neppure si può rivelare la presenza del ferro con solfocianuro di potassio e con acido salicilico; mentre adoperando l'acido tannico e il solfuro d'ammonio la reazione avviene sempre; e ciò, rimanendo nel concetto primitivo di Bernard, si potrebbe comprendere ammettendo che, mentre il ferro non si rivela col ferrocianuro o solfocianuro di potassio, o coll'acido salicilico, perchè nei composti salino-proteici esso non è ionizzabile, ciò avviene invece quando si adoperino reattivi che, distruggendo quelle combinazioni tanto complesse, conducano il ferro a formare molecole elettricamente dissociabili. (Vedi, per quanto riguarda ciò che si è detto fino ad ora, le esperienze citate nelle tabelle della Serie I. — Le Tabelle di queste e delle successive esperienze saranno pubblicate in una seconda Nota).

Sul significato di questa mancata reazione nè Bernard, nè quelli che dopo di lui hanno ripetuto l'esperienza, mettono dubbio. Essi affermano che il ferro non si rivela perchè si è combinato coi corpi proteici. Le cose avvengono proprio così, o, per lo meno, avvengono esse esclusivamente in tal modo?

Previa diluizione e neutralizzazione con acido acetico, abbiamo coagulato i corpi proteici del siero, e nel liquido filtrato e ricondotto al volume primitivo, abbiamo fatto l'esperienza di Bernard, ottenendo circa gli stessi risultati. Abbiamo ripetuto le stesse ricerche, determinando l'eliminazione dei proteici in altro modo. E cioè, dopo aver raccolto in un crogiuolo di porcellana una certa quantità di siero secco, quale si trova in commercio, lo abbiamo coagulato mantenendolo per un giorno in un bagno d'aria alla temperatura di 130°. Dopo ciò ne abbiamo estratto i sali, con una quantità di acqua che desse una concentrazione presso a poco normale, e in questo li-

quido abbiamo di nuovo fatto l'esperienza di Bernard, e sempre con risultati analoghi a quelli del siero in toto. (Vedi tabelle della Serie II). In queste indagini, fatte con soluzioni prive di corpi proteici, si osserva che l'aggiunta del sale di ferro determina la formazione di un precipitato, che, raccolto su un filtro e analizzato, si dimostra contenere fosfato di ferro in notevole quantità. Era naturale il sospetto che la scomparsa del ferro nel siero di sangue non fosse dovuta alla combinazione di esso coi corpi proteici, ma piuttosto ai composti insolubili che esso forma coi fosfati, sempre presenti nel siero. Per mettere in chiaro tale questione, abbiamo fatto due serie di ricerche. Nella prima serie, abbiamo aggiunto un poco di fosfato di ferro al siero sia normale che acidificato con acido cloridrico, o alcalinizzato con carbonato sodico, sia neutralizzato con cura. E abbiamo visto che il fosfato di ferro da noi aggiunto non si ridiscioglie, almeno completamente, tranne il caso che il siero sia stato fortemente alcalinizzato o acidificato, ciò che è facile a spiegarsi. Invece il precipitato che si forma coll'aggiunta di cloruro ferrico al siero, e che ha tutto l'aspetto di essere in gran parte formato da corpi proteici, dopo un tempo più o meno lungo, si ridiscioglie completamente, qualunque sia la reazione, anche neutra, del liquido in questione. In questo e in molti altri casi, noi ci limitiamo a descrivere il risultato delle nostre ricerche, consapevoli che per il momento sarebbe inutile il tentativo di una spiegazione. In tutto ciò apparisce però manifesto che la presenza di corpi colloidali deve essere considerata come un elemento che nel decorso di molte reazioni porta condizioni nuove, le quali conducono a effetti inattesi.

Nell'altra serie di ricerche, abbiamo sottoposto il siero di sangue alla dialisi molto prolungata, fatta in soluzione di  $\text{ClNa}$  al 0,9 %, perchè non precipitassero le sostanze proteiche. (Vedi tabelle della Serie III). Questo siero dializzato presenta, rispetto ai sali di ferro, alcune particolarità degne di nota. Se immediatamente dopo il sale ferrico, che può essere anche in piccola quantità, aggiungiamo il ferrocianuro di potassio, noi possiamo dimostrare la presenza del ferro; se invece il reattivo viene aggiunto dopo un certo intervallo di tempo, allora il ferro non si manifesta più, ciò che si accorda colla osservazione del Cervello, che il ferro, mescolato a corpi proteici, diventa sempre meno rivelabile, quanto più tardi se ne fa il saggio. Abbiamo inoltre osservato che il bleu di Prussia, formatosi nel siero per l'aggiunta di un eccesso di sali ferrici e di ferrocianuro di potassio, può dopo un certo tempo scomparire. Di più, se al siero dializzato aggiungiamo fosfato di sodio e poi il sale ferrico, possiamo osservare come il ferro si sottragga alle reazioni molto più rapidamente e in quantità maggiore del solito; questi fatti sono accompagnati dalla formazione del solito precipitato, che però in breve si ridiscioglie nel liquido. Evidentemente le differenze tra siero normale e siero dializzato rispetto ai sali di ferro, dipendono da che il primo contiene

fosfati, e il secondo no, o solo in tracce. Ma certo ciò non può darci ragione di due cose: 1°, anche nel siero dializzato una certa quantità di ferro, benchè meno rapidamente, viene sottratta all'azione dei soliti reattivi; 2°, il precipitato di fosfato ferrico, mentre è permanente in soluzione acquosa, scompare dopo un po' di tempo, quando sia ottenuto in presenza di siero.

Da che dipendono queste differenze? Si tratta qui veramente della formazione di composti salino-proteici, o piuttosto la presenza di corpi colloidali non hanno essi determinato condizioni fisiche particolari che possano opporsi alla combinazione del ferro col prussiato? La scomparsa del precipitato di fosfato di ferro è dovuta a una soluzione, o ad una combinazione di esso coi proteici? Benchè consapevoli della difficoltà di mettere in chiaro simili questioni, quando soprattutto si pensi per quali stadî infinitesimali si passi da un miscuglio omogeneo ad una combinazione propriamente detta, pure abbiamo voluto ricercare se la determinazione della concentrazione molecolare del siero nelle diverse condizioni sopra nominate potesse darci qualche indicazione in proposito. Ci siamo perciò rivolti alle determinazioni della resistenza elettrica di questi liquidi, perchè evidentemente, se combinazioni salino-proteiche avvengono, queste conducono alla sottrazione, almeno parziale, di quelle sostanze elettroliticamente dissociabili che determinano il valore della conducibilità elettrica di una soluzione.

Per determinare la resistenza elettrica dei nostri liquidi ci siamo serviti dell'apparecchio di Kohlrausch, con rocchetto d'induzione e telefono. Il liquido da esaminare è posto in un vaso cilindrico, contenente gli elettrodi ed un termometro Baudin, che segna il decimo di grado; il vasetto è immerso in una grande quantità d'acqua, per mantenere costante la temperatura durante le osservazioni. La quantità di liquido adoperata per la determinazione è sovente di 75 cmc.; ma il livello del liquido nel vaso è abbastanza più alto del livello degli elettrodi, perchè non si riscontri nessuna differenza nell'adoperare 65 o 85 cmc. di liquido; ciò che abbiamo empiricamente stabilito. Qualche volta abbiamo adoperato un vaso più grande, con altri elettrodi, ottenendo dati che non sono paragonabili con gli altri; ciò è esplicitamente notato nelle Tabelle delle singole ricerche.

Il metodo ora descritto fu applicato da noi allo studio del siero normale e del dializzato, ai quali si erano aggiunti sali di ferro, come si può vedere dalle sopra ricordate tabelle; e i dati così ottenuti sono stati confrontati con quelli che ci hanno fornito soluzioni di sali di ferro fatte sia in acqua distillata, sia in soluzioni di ClNa isoconduttrici rispetto ai sieri da noi adoperati.

Per renderci conto del valore delle nostre osservazioni, rammentiamo che le differenze in più o in meno che abbiamo potuto ritrovare, possono attribuirsi rispettivamente a possibili combinazioni, o a eventuali dissociazioni



dei sali aggiunti al siero, e che questi due fatti antagonistici possono reciprocamente mascherarsi; non dissimulandoci che la combinazione, in quanto diluisce la soluzione, può essere alla sua volta un fattore di dissociazione; che inoltre lo stato colloidale del siero può per suo conto, indipendentemente dai fattori chimici, avere influenza sulla conduttività del liquido. Premesse queste dichiarazioni, perchè il lettore si renda conto delle difficoltà del problema, e delle ragioni particolari delle nostre ricerche, riassumiamo in alcuni enunciati i risultati ottenuti: il cloruro di ferro si dissocia molto più notevolmente nell'acqua distillata, che in una soluzione al 0,6 % di Cl Na (isoconduttrice rispetto al siero), nella quale anzi si dissocia assai poco. Nel siero di sangue l'aggiunta di una soluzione isoconduttrice di cloruro di ferro determina un aumento della resistenza; lo stesso effetto si osserva col siero dializzato, però meno intensamente, il che si concilia col fatto già prima osservato della minore capacità di questo a mascherare il ferro. Quando per l'aggiunta di un eccesso di ferro si forma un precipitato, allora si ha un aumento di resistenza che permane anche dopo il ridisciogliersi di questo precipitato. Che esso sia formato per la maggior parte di corpi proteici, è dimostrato dalla sua abbondanza, e soprattutto dal fatto che esso si osserva anche nel siero dializzato. (Vedi le tabelle della Serie IV).

In tutte le sopra citate esperienze fatte aggiungendo cloruro ferrico al siero, può venire il dubbio che l'aumento di resistenza che si è osservato, sia dovuto alla acidità delle soluzioni del sale ferrico; può darsi che i fosfati e i carbonati alcalini del siero reagiscano coll'acido della soluzione, e parte dell'anidride carbonica si svolga dal liquido, ciò che, evidentemente, deve portare ad un aumento di resistenza. Ma noi abbiamo potuto dimostrare che, se un tale fatto avviene nelle nostre ricerche, esso non è certamente il solo che si produca, quando il sale ferrico si aggiunge al siero. Ciò risulta da varie nostre indagini.

In primo luogo, abbiamo reso acido il siero, con acido cloridrico, e, partendo da questo siero acido, abbiamo ad esso aggiunto un poco di soluzione di cloruro ferrico; ebbene, anche in questo caso abbiamo osservato l'aumento di resistenza, nonostante che la soluzione ferrica fosse molto conduttrice. Questa esperienza ripetuta più volte, modificandola in vario modo, diede sempre lo stesso risultato. In alcuni casi p. e. fu determinata la resistenza del siero, ed aggiunta qualche goccia di HCl, fino a reazione acida (la resistenza intanto diminuiva, essendo la soluzione cloridrica assai più conduttrice del siero); si è aggiunto poi ancora un poco di soluzione di cloruro ferrico, e constatato l'aumento di resistenza; per più volte si sono fatte alternativamente queste operazioni, notando una diminuzione di resistenza quando si versava nel liquido l'HCl, ed un aumento quando invece la soluzione ferrica. Naturalmente questo aumento di resistenza non è senza limite, essendo la soluzione ferrica molto più conduttrice del siero; prendendo poco siero e

molta soluzione ferrica, si è potuto avere un liquido più conduttore del siero stesso.

Abbiamo anche tentato di stabilire come agisse l'HCl sulla conducibilità del siero. Il fatto che esso diminuisce la resistenza, quando viene aggiunto in forma di soluzione molto conduttrice non ci indica quello che accade tra l'acido e le sostanze del siero. Abbiamo perciò preparato una soluzione di HCl, isoconduttrice rispetto al siero, e determinata la resistenza di mescolanze dei due liquidi fatte in varia proporzione. In questi casi si ha sempre un aumento di resistenza, che diviene molto forte quando è grande la quantità della soluzione cloridrica aggiunta. Ma non possiamo dare valore a queste forti differenze, perchè soltanto finchè la soluzione cloridrica è in scarsa quantità, il liquido si mantiene limpido; dopo si va formando un precipitato che molto probabilmente contiene, insieme a sostanze proteiche, materiali ionizzabili. Abbiamo perciò modificato le condizioni dell'esperienza, evitando la soverchia diluzione del siero, sicchè il liquido non si intorbidasse, pur diventando notevolmente acido; e ciò aggiungendo al siero poche gocce di HCl concentrato. La mescolanza della soluzione isoconduttrice di acido cloridrico con questo siero acidificato determinò, come prima, l'aumento di resistenza, benchè mancasse qualunque precipitato. Per lumeggiare il significato delle qui esposte osservazioni, ad una soluzione di carbonato sodico isoconduttrice rispetto al siero abbiamo aggiunto HCl, in varie condizioni. Abbiamo riprodotto alcuni fenomeni che si ottengono col siero: aumento di resistenza per aggiunta di HCl quando esso si trova in soluzione isoconduttrice, diminuzione quando si trova in soluzione più concentrata; ma quando si è aggiunto al liquido già acidificato, acido cloridrico in soluzione isoconduttrice, non si è più avuto aumento, ma al contrario diminuzione di resistenza; e lo stesso fenomeno, per aggiunta della soluzione di cloruro ferrico. Nulla di strano in questi risultati: la soluzione di carbonato sodico acidificata, era divenuta evidentemente una soluzione di cloruro sodico, più anidride carbonica, sulle quali sostanze l'acido cloridrico non poteva più agire chimicamente; ed aggiungendone ancora, per le leggi delle dissociazioni, si poteva avere un piccolo aumento di conducibilità. Ma questi fenomeni così semplici non avvengono nel siero, nel quale perciò si potrebbe a prima vista sospettare la presenza di una sostanza capace di combinarsi coll'acido cloridrico e col cloruro ferrico, anche quando i sali alcalini sono stati più che neutralizzati dall'acido cloridrico. Questi ultimi risultati erano certo prevedibili, e avremmo potuto risparmiarci tali prove che possono a prima vista sembrare puerili; ma in fatti di determinismo tanto complesso non abbiamo creduto di avere il diritto di concederci alcuna conclusione aprioristica. (Vedi le tabelle della serie V).

Una nuova obiezione, alla quale abbiamo accennato al principio di questo scritto, risulta dalla possibilità che lo stato colloidale del siero che inceppa



le movenze dei ioni, possa render conto delle differenze da noi riscontrate nella conducibilità elettrica del siero, indipendentemente da fatti associativi o dissociativi. Per mettere in chiaro tale questione, abbiamo aggiunto cloruro ferrico a soluzioni di gomma. I due liquidi adoperati (soluzione di gomma e di cloruro ferrico) essendo tra loro isoconduttori, e la gomma assai concentrata, (10 %), abbiamo osservato un notevole aumento della resistenza, quando essi venivano mescolati insieme; tale aumento si verifica anche quando il liquido contiene ormai una quantità di gomma molto minore (5-3 %) essendo stato diluito colla soluzione ferrica; e si noti che in questo caso la soluzione ferrica che si aggiunge successivamente è di per sé assai meno resistente del miscuglio a cui partecipa. Abbiamo avuto diminuzione di resistenza, anziché aumento, quando abbiamo aggiunto ad una soluzione di gomma al 2,5 %, qualche cmc. di una soluzione ferrica che offriva una resistenza circa 10 volte più piccola. Risultato questo assai facile ad intendersi. Ma anche con una soluzione di gomma al 2 %, che è stata resa più conduttrice mediante l'aggiunta di un poco di  $\text{ClNa}$ , e che, data la sua concentrazione, è meno viscosa del siero, abbiamo avuto il solito aumento di resistenza; e si noti che anche qui la soluzione ferrica è un poco più conduttrice della gommosa. Avvertiamo inoltre che non solo il cloruro ferrico delle nostre soluzioni è sempre acido, ma anche la soluzione di gomma da noi adoperata.

I risultati ottenuti in queste ultime ricerche ci dimostrano che una soluzione di gomma isoviscosa col siero, e *a fortiori* una più viscosa di esso, influisce sui valori della conducibilità elettrica, riguardo ai sali ferrici, presso a poco come fa il siero, benchè la soluzione gommosa, non mascherando nessuna reazione del ferro, non possa ingenerare il sospetto di fatti associativi, che conducano alla sottrazione di ioni. Non pretendiamo certo che una soluzione isoviscosa di gomma riproduca interamente l'ambiente fisico determinato dal siero; ma non possiamo disconoscere il carattere molto suggestivo dei nostri risultati. (Vedi tabelle della Serie VI).

Da quanto abbiamo esposto finora risulta: che una parte del ferro viene sottratta alla soluzione come fosfato ferrico, e che lo stato colloidale del siero può renderci conto, nei limiti dei valori trovati, delle differenze di resistenza, invero molto piccole, che noi abbiamo riscontrato. Ma chi ben guardi ai molti fatti che si osservano in conseguenza delle mescolanze di siero con sali di ferro, dovrà riconoscere che siamo in un campo circondato da incognite, e che sarebbe, pel momento almeno, prematuro l'affermare che i sali di ferro si combinano coi corpi proteici del siero, nonostante la sparizione della reazione del ferro, ed il fatto che il precipitato di prussiato può ridisciogliersi nel siero stesso, e che nel siero non privato dei suoi corpi proteici non si osserva il precipitato di fosfato di ferro.

Abbiamo voluto ripetere le ricerche eseguite sui sali di ferro, in forma sommaria, anche sui sali di mercurio, dando la preferenza a questo metallo, per l'attenzione che si volle richiamare sugli effetti delle iniezioni endovenose di sublimato corrosivo.

Il cloruro mercurico mescolato al siero normale o dializzato non è rivelabile, col ioduro di potassio, che quando arrivi ad una certa concentrazione; ma anche in questo caso il sale mercurico non è dimostrabile che da una certa quantità di reattivo, sicchè le prime gocce di questo danno la reazione soltanto quando il sublimato è tanto da provocare una notevole precipitazione dei corpi proteici. Chi non dubita dei così detti composti salino-proteici, potrà in questo caso affermare che la formazione del ioduro di mercurio, quando si tratti di quantità di cloruro mercurico non eccedenti certi limiti, avvenga solo quando il ioduro di potassio possa, per azione di massa, spostare il mercurio dalla sua combinazione colle proteine.

La reazione del siero non ha nessuna influenza sopra lo svolgimento dei fatti sopra descritti; perchè essi avvengono ugualmente e colla stessa intensità, o quando si adoperi siero normale alcalino, o quando invece il siero sia acidificato. (Vedi le tabelle della Serie VII).

Le nostre esperienze non ci hanno condotto, come speravamo, a dimostrare la possibilità di ottenere in vitro la combinazione di corpi proteici con certi determinati sali. Ma ciò non dimostra che i corpi proteici non possano già trovarsi combinati con sali, o che speciali trasformazioni di quelli non possano dar luogo a simili combinazioni. Da ciò il pensiero di depolimerizzare le proteine, per vedere se in conseguenza di questo processo che aumenta le superfici di contatto fra le molecole proteiche e l'ambiente che le circonda, avvenissero fatti di associazione o di dissociazione coi sali. A questo proposito ricordiamo che il prof. Galeotti ha affermato che la morte di un tessuto è accompagnata da una associazione dei corpi proteici coi materiali salini. Noi ci siamo detti che, se ciò in realtà avviene, può darsi che sia perchè le depolimerizzazioni, che probabilmente accompagnano o seguono la morte, stabilendo maggiori superfici di contatto tra gli aggrupamenti proteici ed i sali, determinano migliori condizioni per le loro combinazioni. Condotti da questo concetto, ed ignorando allora le indagini istituite da Oker-Blom, abbiamo sottoposto l'albumine d'ovo alla digestione peptica e triptica, mescolandolo rispettivamente con cloruro e carbonato di sodio. Nessuna variazione di conducibilità abbiamo potuto osservare in questi liquidi, anche quando già si potevano rivelare in essi notevoli quantità di peptone; ciò che era stato notato anche dal sopra citato Autore. A esperienze finite ci giunse una Nota di Henri (1), che dalla digestione triptica della

(1) Henri V. et Languier des Bancel, *Loi d'action de la trypsine sur la gélatine*. C. R. Soc. Biol., vol. 55, p. 563-565, 1903.

gelatina ottenne invece notevoli aumenti di conducibilità. Non sappiamo invero a quali cause attribuire questa diversità di risultati, se non forse ad una maggiore intensità dell'atto digestivo, per la maggiore labilità del materiale adoperato.

Per analoghi scopi abbiám fatto ricerche sul siero e sull'albumine d'ovo messi a putrefare, senza ottenere neppure in questo caso risultati degni di nota, dimodochè possiamo affermare che nei processi di depolimerizzazione non avvengono fatti di associazione tra i corpi proteici e i sali. Per quanto riguarda la putrefazione, dobbiamo anzi avvertire che quando essa sia spinta molto innanzi, avviene un notevole aumento nella conducibilità del liquido, dovuto evidentemente alla formazione di materiali elettrolitici, a spese di sostanze proteiche distrutte dai saprofiti. Ci limitiamo a riprodurre qui i risultati delle esperienze della putrefazione, perchè quelle della digestione non sono che una ripetizione delle indagini di Oker-Blom. (Vedi le tabelle della Serie VIII).

A queste ricerche tendenti a mettere in chiaro ciò che avviene tra sali e corpi proteici, abbiamo voluto aggiungerne altre allo scopo di renderci conto di ciò che accade quando si mettano in presenza i nucleoproteidi con sali che si riscontrano nel nostro organismo. Abbiamo cominciato coll'estrarre col metodo di Wooldridge i nucleoproteidi della milza e del fegato, sciogliendoli in soluzioni di carbonato di sodio, delle quali si era preventivamente determinata la conducibilità; e abbiamo visto che il fatto della soluzione dei nucleoproteidi nel liquido alcalino sopra citato non determina alcuna modificazione nella conducibilità di detto liquido. Questo risultato, per i nucleoproteidi, male si accorda colla ingegnosa interpretazione di fatti crioscopici data dal Fredericq<sup>(1)</sup> a proposito di proteine, che queste cioè non si trovino nelle soluzioni saline veramente disciolte, ma in uno stato che molto più ricorda quello della sospensione.

Il dato della conducibilità elettrica non ci permette dunque alcuna conclusione positiva intorno alla possibilità della combinazione del carbonato di sodio col nucleoproteide, benchè a spiegare questo risultato negativo della conducibilità, si possa supporre che il nucleoproteide per azione di massa si sia sostituito ad una parte dell'acido carbonico, formando dei proteidati alcalini. Dobbiamo però notare che quando alla soluzione alcalina del nucleoproteide si aggiunga cloruro mercurico, non si ha quel precipitato di cloruro basico di mercurio, che avviene quando questa reazione si faccia in una semplice soluzione di carbonato sodico, senza la presenza del nucleoproteide. Questo risultato negativo è esso dovuto a che il cloruro mercurico si sottrae

(1) Fredericq L., *Sur la concentration moléculaire des solutions d'albumine et de sels*. Bull. Acad. roy. de Belgique (Classe des sciences), p. 437-444, 1902.

alla nota reazione, combinandosi coi nucleoproteidi? Non potendo noi invertire l'ordine col quale il carbonato ed il cloruro vengono aggiunti al nucleoproteide, non possiamo neppure tentare di dare una risposta a tale questione. Resta però in ogni modo molto strano il fatto che il nucleoproteide, insolubile nell'acqua, sia reso solubile dalla presenza del carbonato alcalino, senza che i dati della conducibilità ci rivelino alcuna reciproca reazione; tanto più che lo scioglimento dei nucleoproteidi nelle soluzioni alcaline avviene immediatamente. E a questo proposito ricordiamo i fatti negativi ottenuti da Bugarsky e Liebermann, per quel che riguarda la combinazione del cloruro di sodio coll'albumina.

Di fronte ai risultati negativi ottenuti col carbonato sodico, ci siamo chiesti se i sali di potassio, che prevalgono negli elementi strutturali degli organismi viventi, là dove appunto si trovano quei nucleoproteidi, che sono quasi assenti nei liquidi dell'organismo, ricchi di sali di sodio, se i sali di potassio, diciamo, non presentassero coi nucleoproteidi quell'affinità che le nostre esperienze hanno resa discutibile per quanto riguarda i sali di sodio.

Abbiamo a questo scopo ripetuto le stesse ricerche, adoperando carbonato di potassio, ed abbiamo ottenuto gli stessi identici risultati che col carbonato di sodio. (Vedi tabelle della Serie IX).

Riassumendo quanto risulta dalle nostre ricerche, nulla ci permette di affermare che in realtà i sali entrino in vera combinazione chimica coi proteici o i proteidi, come nulla ci prova che in realtà i corpi proteici siano nei liquidi organici combinati coi sali. Neppure l'aumento di conducibilità ottenuto colla putrefazione protratta, perchè questa, determinando una modificazione dello stato colloidale, può concedere ai ioni già liberi quella maggiore mobilità che valga in parte a determinare la diminuzione della resistenza, mentre dalla molecola proteica distrutta si formano sostanze elettrolitiche, che prima come tali non partecipavano alla sua architettura molecolare.

Una cosa soprattutto si dimostra evidente, ed è che in un mezzo colloidale le reazioni chimiche si fanno in modo diverso che nelle soluzioni comuni. Quando si pensi alla importanza che ogni giorno più vanno acquistando le proprietà fisiche della materia vivente nelle nostre rappresentazioni funzionali, si troverà che questo risultato non è certamente trascurabile.