

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIX.

1912

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1912

Io spero che questa Nota critica possa servire a bene orientare sui fatti finora acquisiti, in ordine alla sfera visiva corticale dei cani, gli allievi del mio e di altri laboratori fisiologici, che intendono di proseguire le indagini su questo interessante argomento, per risolvere adeguatamente i difficili problemi che vi sono coinvolti.

Chimica-fisica — *Proprietà chimiche e chimico-fisiche del succo di muscoli striati e lisci* <sup>(1)</sup>. Nota del Corrisp. F. BOTTAZZI <sup>(2)</sup>.

Le presenti ricerche sono state eseguite, da me e dal mio Assistente dottor G. Quagliariello, su muscoli striati di toro, di cane, di *Scyllium stellare* e di *Dentex vulgaris*, e su muscoli lisci (*m. retractor penis*) di toro. Nei cani fu fatta la lavatura del sistema vasale con soluzione 0,9 % NaCl, raffreddata o no, prima di asportare i muscoli.

In quasi tutti i casi, i muscoli furono conservati in recipienti asciutti e raffreddati, nettati dal grasso e dal tessuto connettivo, spezzettati, tritati, pestati lungamente con sabbia di quarzo e polvere di diatomee, spremuti al torchio idraulico di Buchner a pressioni che raggiunsero per lo più il massimo di 350 atm. (indicate dal manometro).

In qualche esperimento, l'animale (*Scyllium*) fu reso ineccecitabile mediante graduale raffreddamento del corpo fino a circa  $-2^{\circ}$  C., prima di procedere alla asportazione delle masse muscolari.

I succhi ottenuti furono raccolti in recipienti asciutti, centrifugati in una potente centrifuga (4000 giri al minuto) per un'ora, e conservati in ghiacciaia. I succhi di muscoli striati di mammiferi furono sempre intensamente colorati in rosso, non ostante la lavatura dei vasi sanguigni, e più torbidi; quelli di Selacii e di Teleostei, più pallidi; i succhi di muscoli lisci furono sempre un poco opalescenti e assai poco colorati in rosso.

L'esame microscopico dei succhi (fatto con obiettivi apocromatici a immersione omogenea) non rivelò, a ingrandimenti di 1500 diametri, traccia di elementi morfologici o di granuli: il liquido apparve sempre perfettamente omogeneo.

L'esame ultramicroscopico, invece, rivelò sempre nei succhi la presenza di innumerevoli granuli splendenti minutissimi, oltre a granuli più grossolani. Questi ultimi sono granuli di grasso o di glicogeno o di detriti nucleari ecc.; il loro numero è scarsissimo e variabile secondo i muscoli dai quali pro-

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia di Napoli. Il lavoro sarà pubblicato per esteso in *Archives internationales de Physiologie*. I risultati principali di queste ricerche furono da me comunicati, il giorno 11 settembre, alla sezione di Fisiologia dell'82<sup>a</sup> meeting della « British Association for the advancement of science », in Dundee.

(2) Pervenuta all'Accademia il 19 settembre 1912.

viene il succo. Importa occuparsi solo degli altri, che non furono prima osservati da alcuno.

Nel succo originale, la concentrazione dei granuli è talmente grande, che il campo ultramicroscopico si presenta, per lo più, quasi uniformemente illuminato, e i singoli granuli non si distinguono, ma solo qualche volta si intravedono. Diluito il succo con liquido di Ringer, i granuli si liberano, e appaiono come corpicciuoli brillanti, dotati di vivace movimento browniano, su fondo omogeneo oscuro.

Si esclude che siano granuli di precipitazione di una proteina sciolta nel succo, perchè:

1°) essi sono insolubili in alcali deboli. La precipitazione della proteina non potrebbe essere causata che dall'acido lattico (e altre sostanze acide) che si forma nei muscoli; ma, in tal caso, dovrebbe essere reversibile, cioè gli alcali dovrebbero far scomparire i granuli. I granuli sono insolubili anche in acidi di concentrazione moderata, i quali anzi li agglutinano; essi aumentano inoltre il numero di granuli nel succo, perchè precipitano la mioproteina sciolta. Nessun reagente sperimentato scioglie e fa sparire i granuli;

2°) essi si trovano in numero presso che eguale in succhi espressi da muscoli raffreddati fino a divenire inecceitabili.

La loro concentrazione è maggiore nei succhi di muscoli striati che non in quelli di muscoli lisci.

Il succo muscolare, dunque, è una sospensione di granuli ultramicroscopici in liquido che, oltre ai sali minerali e le note sostanze estrattive, contiene certamente una proteina allo stato di vera soluzione colloidale. Infatti, il succo, liberato dai granuli, si presenta otticamente omogeneo all'ultramicroscopio; ma l'aggiunta di un acido, o il riscaldamento oltre i 55°, vi provoca la comparsa di granuli ultramicroscopici, che sono granuli di precipitazione della proteina sciolta. Questa proteina sciolta possiamo chiamarla *mioproteina*; la proteina di cui sono costituiti i granuli possiamo chiamarla *miosina*. L'esistenza di altre proteine non è provata.

I granuli ultramicroscopici sono verosimilmente prodotto di disgregazione del materiale delle miofibrille, lisce o striate; sono quindi preesistenti nel succo, in ogni succo. La loro preesistenza, anzi l'inevitabilità della loro presenza, s'intende, pensando che i due materiali — il fibrillare e il sarco-plasmico — formano, nelle fibre muscolari normali, due fasi distinte, le quali debbono necessariamente rimanere tali nel succo. Trovandosi la fase fibrillare nel succo suddivisa in granuli, è verosimile che questi siano elementi costitutivi delle miofibrille, conforme alle vedute di M. Heidenhain.

Il materiale granulare tende a precipitare spontaneamente; ma l'agglutinazione e precipitazione spontanee dei granuli sono processi assai lenti, a causa della piccolezza dei granuli e della grande viscosità del liquido di sospensione.

La diluizione (con acqua, con soluzioni neutre o debolmente alcaline o acide ecc.), la dialisi, il riscaldamento a temperature relativamente basse (fino a 30° C. circa), accelerano la precipitazione dei granuli, la quale, quando avviene spontaneamente (cioè senza l'influenza acceleratrice di alcun agente fisico o chimico), simula la *coagulazione spontanea* ammessa dagli autori; la quale in realtà non esiste, nè nel senso di coagulazione enzimatica, nè in quello di coagulazione termica. Fenomeni simili a quelli descritti da Kühne, di coagulazione quasi istantanea del succo muscolare raffreddato quando è esposto alla temperatura dell'ambiente, non abbiamo mai osservato.

La precipitazione del materiale granulare è grandemente accelerata dalle temperature fra 38° e 54° C. Si forma in breve tempo una massa compatta di precipitato, dalla quale poi si separa un liquido giallo-rossastro limpidissimo. Questo fenomeno, comunemente interpretato dagli Autori come *coagulazione termica* di una proteina sciolta nel succo o estratto muscolare, è invece, essenzialmente, anch'esso una agglutinazione e precipitazione in massa degl'innumerevoli granuli che sono sospesi nel succo. Quando la concentrazione di essi è molto grande, il liquido coagula apparentemente in massa.

Similmente, il precipitato abbondante che si forma nelle prime 24-48 ore di dialisi del succo è costituito, essenzialmente, non da una proteina già sciolta, ma dal materiale granulare. Talora il succo nel dializzatore si trasforma in un coagulo compatto, simile a un coagulo di sangue.

La coagulazione termica della mioproteina sciolta si svolge come un processo continuo, che non può dirsi totalmente compiuto nemmeno verso gli 80° C. Non potendosi escludere che esso s'inizii già verso i 50° C., si deve ammettere la possibilità che il precipitato del materiale granulare, che si ottiene riscaldando fino a 54°-55° C., contenga anche una porzione di mioproteina.

Questa proteina muscolare precipita totalmente durante una dialisi intensa e prolungata per più mesi, contrariamente a quanto è ammesso dagli autori (von Fürth ecc.). Siccome anche questo processo di precipitazione per dialisi è continuo, non si può escludere che s'inizii già nelle prime 24-48 ore, e che quindi il primo precipitato (granulare) contenga una piccola porzione di mioproteina.

Nel liquido lungamente dializzato rimane sempre una traccia di proteina, che probabilmente è sieralbumina, la quale non può essere mai esclusa del tutto, nemmeno mediante lunga lavatura dei vasi sanguigni.

I pigmenti muscolari (emoglobina, mioematine di Mac Munn) in parte sono trascinati dai granuli durante la loro precipitazione, e in parte precipitano, nella dialisi intensa e prolungata, insieme con la mioproteina; di guisa che, da ultimo, il liquido può divenire incolore. I granuli e la mioproteina dializzati presentano, esposti all'azione di un campo elettrico, sempre migrazione anodica: sono, dunque, elettronegativi.

Dei succhi muscolari è stato determinato: il rendimento in succo della spremitura, il residuo secco, il contenuto in proteine totali e in ceneri, il peso specifico, l'abbassamento del punto di congelamento, la conduttività elettrica, la viscosità, la tensione superficiale, la reazione attuale col metodo elettrometrico delle pile di concentrazione. I valori ottenuti in queste determinazioni si trovano raccolti nelle seguenti tabelle I, II, III e IV:

TABELLA I. — *Rendimento in succo della spremitura.*

MUSCOLI	Succhi — Numero	Peso dei muscoli in kg.	Pressione raggiunta al torchio in atm.	Peso del succo ottenuto in gr.	Rendimento
M. striati di <i>Scyllium</i> .	VII	1,067	circa 350	666	62 %
M. striati di tori . .	VIII	0,938	" 350	592	63
M. striati di <i>Dentex</i> .	IX	0,894	" 50	217	24
M. lisci di tori . . .	V	1,184	" 350	580	50
M. striati di cane . .	XI	0,829	" 350	339	40
M. lisci di tori . . .	XII	1,190	da 50 a 350	562	47

TABELLA II. — Residuo secco, proteine totali e ceneri dei succhi muscolari.

SUCCHI MUSCOLARI	Residuo secco % in gr.	Acqua % in gr.	Proteine totali % in gr.	Ceneri % in gr.	Residuo secco — (proteine + ceneri) % in gr.
<b>A) Muscoli lisci:</b>					
succo III - (m. lisci di toro) . . .	6,86	93,14	3,63	1,32	1,91
" IV - " " " . . .	6,43	97,57	3,37	1,30	1,76
" V - " " " . . .	6,192	93,808	3,15	1,148	1,894
" VI - " " " . . .	5,874	94,126	2,75	1,37	1,754
" XII - " " misto	6,73	93,27	3,37	1,30	2,06
frazione a)	7,24	92,76	4,13	—	—
" b)	6,40	93,60	2,90	—	—
" c)	6,01	93,99	2,67	—	—
<b>B) Muscoli striati:</b>					
succo II - (m. striati di toro) . . .	8,914	91,086	4,530	1,739	2,645
" VIII - " " " . . .	7,43	92,57	3,65	0,85	2,93
" IX - (m. striati di <i>Dentec</i> )	16,10	83,90	11,10	1,82	3,18
" VII - (m. striati di <i>Scyllium</i> )	9,64	90,36	3,04	1,80	4,80
" X - " " " . . .	—	—	3,36	—	—
" Xa - " " " . . .	—	—	2,38	—	—
" XI - (m. striati di cane) . . .	12,63	87,37	3,85	1,50	7,28

TABELLA III. — Proprietà chimico-fisiche dei succhi muscolari.

Succhi — Numero	MUSCOLI dai quali fu spremuto il succo	Peso specifico	Abbassa- mento del punto di conge- lamento ( <i>d</i> )	Condutti- vità elettrica (K 18°)	Viscosità ( <i>q</i> 25°)	Tensione superfi- ciale a 25° ( $100 \frac{z_{10}}{z}$ )	Reazione chimica (C.n. 10°)	OSSERVAZIONI
III	M. lisci di toro . .	1,026	—	—	—	—	—	Succo normale fresco.
IV	" " " . .	1,024	0,806°	—	—	—	—	" " "
V	" " " . .	1,023	0,761	—	4,13	73,15	7,44	" " "
VI	" " " . .	1,021	0,730	0,0144	3,04	76,76	6,18	" " "
XII	" " " misto frazione a)	1,024	0,804	—	4,48	73,34	7,3	Succo misto di spremiture fino a 350 atm.
	" " " b)	1,026	0,812	—	5,98	69,34	—	Succo spremuto a circa 50 atm.
	" " " c)	1,025	0,812	—	3,68	74,67	—	" " " 200 "
VII	M. striati di <i>Scyllium</i>	1,023	0,810	—	2,96	76,27	—	" " " 350 "
VIII	" di toro . .	1,027	2,455	0,0147	1,59	—	11,1	Succo di muscoli non raffreddati.
IX	" di <i>Dentov.</i>	1,027	0,868	0,0107	1,75	78,19	31,4	Succo normale di animale macellato.
X	" di <i>Scyllium</i>	1,049	1,196	0,0120	2,82	76,22	12,5	Succo di muscoli dell'animale raffreddato.
	" frazione Xa	1,024	2,337	0,0149	3,71	72,9	5,65	} Succhi di muscoli di tre <i>Scyllium</i> molto raf- freddati.
	" di cane . .	1,024	2,494	0,0150	1,71	73,1	6,50	
XI	" " " . .	1,039	1,088	—	2,24	68,90	10,6	Tre ore dopo la spremitura.
	" (1) . . .	1,037	1,016	—	—	70,00	35,0	Il giorno appresso; il succo tramandava odore di acidi grassi volatili.

TABELLA IV. — *Reazione chimica dei succhi muscolari freschi e variazioni di essa nel tempo.*

SUCCHI MUSCOLARI	ASPETTO DEI SUCCHI	[H <sup>+</sup> ].10 <sup>7</sup>	Aumento percentuale di [H <sup>+</sup> ]
I. (Succo V: m. lisci, retrattori del pene di toro):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	7,44	
Lo stesso, lasciato 6 ore alla temperatura ambiente . . . . .	"	7,64	2,6
Lo stesso, lasciato 24 ore alla temperatura ambiente . . . . .	si vede un po' di precipitato	42,5	471
Altro campione rimasto 48 ore in ghiacciaia . . . . .	più torbido	11,4	53
II. (Succo VI: m. lisci, retrattori del pene di toro):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	6,18	
Lo stesso, dopo essere rimasto 8 ore a temperatura ambiente . . . . .	"	6,98	12
Lo stesso, dopo essere rimasto 24 ore a temperatura ambiente . . . . .	molto torbido	6,52	5,5
III. (Succo VII: m. striati di <i>Scyllium</i> ):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	11,1	
Lo stesso, lasciato 12 ore a temperatura ambiente . . . . .	"	12,1	10
IV. (Succo VIII: m. striati di toro):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	31,4	
Lo stesso, lasciato 7 ore a temperatura ambiente . . . . .	è un poco più torbido	34,4	9,5
V. (Succo IX: m. striati di <i>Dentex</i> ):			
Campione fresco . . . . .	molto opalescente	12,5	
Lo stesso, lasciato 7 ore a temperatura ambiente . . . . .	molto torbido	12,8	1,6
VI. (Succo X: m. striati di <i>Scyllium</i> ):			
Campione fresco . . . . .	molto concentrato e torbido	5,65	
Lo stesso lasciato 9 ore a temperatura ambiente . . . . .	"	5,98	5,8
Succo ottenuto a pressione maggiore (Xa) . . . . .	meno torbido	6,56	
VII. (Succo XI: m. striati di cane):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	10,6	
Lo stesso, dopo 15 ore a temperatura ambiente . . . . .	molto torbido	35,0	220
VIII. (Succo XII: m. lisci, retrattori di pene di toro):			
Campione fresco . . . . .	opalescente	7,3	

Il rendimento in succo variò dal 40 al 63 %, per pressioni che non superarono mai le 350 atmosfere.

Il residuo secco è minore per i muscoli lisci (circa 6 %), maggiore per i muscoli striati (7-12 %).

Il contenuto in sostanze proteiche totali è relativamente basso (3-4 %), inferiore a quello del siero del sangue (per i mammiferi). Il contenuto in ceneri è alto, e alto è anche il contenuto in sostanze organiche non proteiche. In generale, il residuo secco e il contenuto in proteine totali sono inversamente proporzionali alla pressione con cui il succo fu ottenuto.

Siccome il peso specifico si avvicina molto a quello del siero del sangue (nei mammiferi), non ostante il minor contenuto in proteine, si deve ammettere che ad elevarlo contribuiscono i sali minerali e le sostanze estrattive (oltre ai grassi e lipoidi, il glicogeno ecc.).

La pressione osmotica è sempre notevolmente superiore a quella del sangue.

La reazione è sempre acida: lo è meno nei succhi dei muscoli lisci e in quelli di muscoli striati molto raffreddati prima dell'asportazione dal corpo; lo è più nei muscoli striati dei mammiferi. Alcuni valori molto alti della concentrazione degli idrogenioni sono verosimilmente dovuti a fermentazione (batterica) acida dei succhi (dello zucchero, dei grassi). Generalmente la reazione acida aumenta col tempo; ma essendo per lo più piccolo l'aumento, bisogna ammettere, d'accordo con Fletcher, che il massimo di produzione delle sostanze acide ha luogo in brevissimo tempo nei muscoli dopo la separazione dal corpo.

Verosimilmente, l'alta pressione osmotica dei succhi muscolari è dovuta, almeno in parte, alle stesse sostanze che ne determinano l'acidità.

I valori della conduttività elettrica (relativamente bassa) e della viscosità (relativamente alta) sono in accordo con la costituzione corpuscolata dei succhi. Ma l'altissima viscosità dei succhi di muscoli lisci forse non può spiegarsi, se non ammettendo in essi la presenza di qualche sostanza proteica, derivante non dalle cellule muscolari, ma dal connettivo interstiziale.

La tensione superficiale dei succhi è generalmente maggiore di quella del siero del sangue.

Questi risultati sono, per vari rispetti, in completa opposizione di fronte a quelli, accettati universalmente, delle ricerche finora fatte, da Kühne a von Fürth.

L'interpretazione nuova dei fenomeni della così detta « coagulazione spontanea », della prima « coagulazione termica » ecc., fu imposta dalla scoperta, fatta mediante l'osservazione ultramicroscopica, della costituzione granulare dei succhi muscolari.

I tentativi fatti per mettere in evidenza una colorazione elettiva degli aggregati granulari, simile a quella delle miofibrille, e la doppia rifrangenza di essi, dettero risultati negativi; il che, del resto, era da prevedersi, date le dimensioni dei granuli e degli aggregati granulari.